

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

化学物質等の検出状況を踏まえた
水道水質管理のための総合研究
(19LA1005)

令和元年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 松井 佳彦（北海道大学）

令和2(2020)年 3月

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

化学物質等の検出状況を踏まえた
水道水質管理のための総合研究

(19LA1005)

令和元年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 松井 佳彦

令和2(2020)年 3月

目 次

I . 総括研究報告	
化学物質等の検出状況を踏まえた水道水質管理のための総合研究-----	1
松井 佳彦	
II . 分担研究報告	
1 . 微生物（ウイルス）に関する研究 -----	17
秋葉道宏，片山浩之，白崎伸隆，三浦尚之	
2 . 微生物（細菌）に関する研究 -----	27
秋葉道宏	
3 . 微生物（寄生虫等）に関する研究 -----	35
泉山信司	
4 . 化学物質・農薬に関する研究 -----	45
浅見真理，鎌田素之，松下拓，小坂浩司	
5 . 消毒副生成物に関する研究 -----	59
伊藤慎彦，越後信哉，小坂浩司	
6 . 臭気物質に関する研究 -----	71
松下拓，越後信哉，小坂浩司	
7 . リスク評価に関する研究 -----	87
広瀬 明彦，松本真理子	
8 . 水質分析法に関する研究 -----	103
小林 憲弘，高木 総吉	
III . 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	127

令和元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）
総括研究報告書

化学物質等の検出状況を踏まえた水道水質管理のための総合研究

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

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実施した。

水道水の原水におけるウイルスの汚染実態を調査した。ノロウイルス GII、ロタウイルス A よりも PMMoV は高頻度かつ高濃度で表流水試料に含まれるウイルス除去指標として有用であることをサポートするデータが蓄積された。コクサッキーウイルス B3 型、B4、B5、エコーウイルス 11 型の野生株、およびそれぞれの基準株を用いて、遊離塩素、紫外線、およびオゾンによる処理性を評価した。その結果、遊離塩素では基準株と比して 2.3 倍、オゾンでは 2 倍程度高い耐性を有す株が存在した。従属栄養細菌数とレジオネラ汚染の関係性に関する文献考察を行った。HPC レベルとレジオネラ属菌数またはその陽性率の間の関係については、議論継続中であることが明らかとなった。

動向の注目されているクロラントラニプロールが 0.235 $\mu\text{g/L}$ で検出された。エチプロールを塩素処理したところ、エチプロールは検出されず、主な分解物としてエチプロールスルホンが検出された。

代謝を考慮した ChE 活性阻害性試験を構築し、この試験を用いてダイアジノンとそのオキソンの毒性を評価したところ、この 2 つの物質は同程度の毒性を有することが分かった。活性炭による PFASs 除去について、文献調査を行った。GAC、PAC のいずれも、PFOS、PFHxS、PFOA の順に除去率は高い傾向にあった。GAC では時間経過とともに除去率が低下するが、特に炭素数の小さい PFASs において顕著である。微粉炭は、PAC に比べて、短い接触時間で PFASs の除去が向上することが示された。

淀川水系周辺における実態調査により、3,5-ジメチルピラゾール（DMP）及び DMP 塩素化物が検出された。DMP の処理法として、塩素添加前のオゾン処理と GAC 処理の有効性を示した。1,3,5-トリヒドロキシベンゼン、アセチルアセトン及びアセトンジカルボン酸は溶存オゾンが検出される条件であれば、オゾン処理及び GAC 処理において対応が可能であることを示した。マンガンイオンはクエン酸およびクエン酸と類似の化学構造を持つアコンニト酸の八口酢酸生成能を増加させることを示した。

カルキ臭代替指標としての全揮発性窒素（TPN）の妥当性評価の準備として、 NCl_3 の中性域の回収率が濃度に依存せずほぼ一定であることを確認した。GC/olfactometry（GC/O）による分析の前処理に用いる、固相マイクロ抽出法（SPME）の回収率は 22% 以上であり、SPME 法を前処理とした GC/O の方法は概ね間違っていないと判断された。カルキ臭に関する対応集に記載予定である、30 種の含窒素化合物のカルキ臭生成能は 20～400 TON であり、多くの場合、TPN に寄与する主な物質は NCl_3 であった。4 種類のアミン類を対象に誘導体化 GC/MS による分析を試み、検出可能であることを確認した。

リスク評価に関する研究の成果は以下のものである。ベンゼンの揮発経由の吸入曝露や経皮曝露を合算評価すると、水質基準値は現行の値の半分程度が妥当であると示唆された。短期的な水道水質汚染が生じた際に参考とすべき参照値として水道水質基準項目のうち 6 項目について亜急性参照値を設定した。カドミウム、セレン、水銀の亜急性参照値は基準値の 3~10 倍以上の値となったが、ヒ素、鉛及び六価クロムの亜急性参照値は基準値と同値となった。さらに PFOA 及び PFOS のついて最近の国際評価について情報を収集した。

水質分析法に関する研究として、水質分析をより簡便・迅速かつ高精度に分析できる新規分析法を開発するとともに、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を行うことができる分析手法について検討した。スクリーニング法は検査法として簡便に農薬類を測定できるだけでなく、そのデータを追加解析することにより、未知の化学物質の存在状況を把握することにも利用できることが明らかとなった。また、塩素酸(基準項目)、亜塩素酸(管理目標設定項目)の LC/MS(MS)一斉分析条件を確立した。それぞれ告示法、通知法に追加できると考えられる。

これらの成果は学術論文や学術集会で多数公表されるとともに、厚生労働省告示や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
片山 浩之	東京大学大学院工学系研究科	准教授
鎌田 素之	関東学院大学理工学部	准教授

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
高木 総吉	地独)大阪健康安全基盤研究所衛生化学部生活環境課	主任研究員
広瀬 明彦	国立医薬品食品衛生研究所安全性予測評価部	部長
松本 真理子	国立医薬品食品衛生研究所安全性予測評価部	第3室主任研究員
三浦 尚之	国立保健医療科学院生活環境研究部	主任研究官
松下 拓	北海道大学大学院工学研究院	准教授
白崎 伸隆	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(ウイルス): 水道における病原ウイルスのリスク管理に資するデータを蓄積し、指標ウイルスを用いたリスク管理方法を提案することを目的として、1) 水源における病原ウイルスおよびトウガラシ微斑ウイルス(PMMoV)の濃度変動、2) 凝集-MF膜ろ過処理におけるPMMoVの除去性、および3) 遊離塩素、紫外線、オゾン処理によるウイルスの不活化効率を調査した。

微生物(細菌): 細菌汚染として再増殖可能な病原細菌としてレジオネラ属菌などに着目し、従属栄養細菌に指標性について検討することを目的とした。

微生物(寄生虫等): 国内のクリプトスポリジウムとジアルジアの汚染状況を理解するため、全国の水道原水における検出報告の確認と、一部の下水処理水の検査を行った。

化学物質・農薬: 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、近年の使用量の増加している農薬の実態調査、有機りん系農薬の肝臓の代謝を考慮したコリンエステラーゼ(ChE)活性阻害試験の構築、農薬以外の化学物質では、有機フッ素化合物(PFASs)の活性炭処理による除去性の情報収集・整理を行った。

消毒副生成物: ハロアセトアミド類(HAcAms)、塩素酸、塩素化パラベン、臭気物質、ハロベンゾキノン類(HBQs)、ハロ酢酸、トリハロメタン等を対象に、生成実態、分析技術、低減策について調査を行った。

臭気物質: 全揮発性窒素化合物(以下TPN: Total Purgeable Nitrogen)計についての測定条件を一部見直した上で、 NCl_3 標準液を用いて妥当性評価を実施した。GC/olfactometry(GC/O)での臭気の強さから、試料水のカルキ臭への寄与を正しく評価できるように、まずはSPMEにおける各臭気成分の回収率を評価することを試みた。GC/olfactometryによる異臭事故時の原因物質の特定に向けた分析条件を調査した。多種の窒素化合物を対象にカルキ臭生成特性などを評価した。

リスク評価管理: 水源から浄水・給配水に至るまでに多種多様に存在する微量化学物質等

の水質リスクを明らかにし、適切に管理するための評価手法を検討することを目的とし、今年度は、揮発性を考慮したベンゼンの水道水質基準値の妥当性の評価、水道汚染物質の垂急性評価値に関する研究、関心の高い物質の毒性情報整理の3項目について研究を行った。

水質分析法: 水質分析法に関する研究として、水質分析をより簡便・迅速かつ高精度に分析できる新規分析法を開発するとともに、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を行うことができる分析手法について検討した。また、これらの分析法の妥当性評価を行うとともに、水道事業体、地方衛生・環境研究所および保健所に普及させることで、水質検査に関わる機関の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、微生物(ウイルス)、微生物(細菌)、微生物(寄生虫等)、化学物質・農薬、消毒副生成物、臭気物質、リスク評価管理、水質分析法の8課題群・研究分科会を構築し、研究分担者15名の他に41もの水道事業体や研究機関などから91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8課題群に分けて、研究分科会とグループを構成し、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(ウイルス)分科会(研究分担者4名、研究協力者8名)、微生物(細菌)(研究分担者1名、研究協力者3名)、微生物(寄生虫等)(研究分担者1名、研究協力者7名)、化学物質・農薬分科会(研究分担者4名、研究協力者14名)、消毒副生成物分科会(研究分担者3名、研究協力者12名)、臭気分科会(研究分担者3名、研究協力者3名)、リスク評価管理分科会(研究分担者2名、研究協力者12名)、水質分析分科会(研究分担者2名、研究協力者32名)である。

微生物(ウイルス)、微生物(細菌)、微生物(寄生虫等)、化学物質・農薬、消毒副生成物、臭気物質、リスク評価管理、水質分析法の8課題群それぞれの研究方法の詳細は、分担研究報告書を参照されたい。

倫理面への配慮: 該当しない。

C. 研究結果と考察

(1-1) 微生物（ウイルス）

表流水を水源とする国内 21 箇所の浄水場において原水試料を収集し、ノロウイルス GII、ロタウイルス A およびトウガラシ微斑ウイルス (PMMoV) の汚染実態を調査した。その結果、ノロウイルス GII は、胃腸炎の非流行期に 10% の試料から検出され (濃度の幾何平均値: 2.9 log copies/L)、流行期は 48% で陽性だった (3.8 log copies/L)。ロタウイルス A は、非流行期・流行期に関わらず比較的高い検出率であり (それぞれ 67%, 81%)、濃度の幾何平均値はそれぞれ 3.8 4.3 log copies/L だった。PMMoV は、高頻度 (81-95%) かつ高濃度 (4.9-5.1 log copies/L) で表流水試料に含まれ、病原ウイルスよりも濃度が概ね高かった。表流水を水源とする浄水場におけるウイルス除去指標として有用であることをサポートするデータが蓄積された。

これまでの結果をまとめると、PMMoV は、水道水源においてノロウイルス GII よりも濃度が高く、ノロウイルス GII が陽性だった試料はすべて PMMoV が陽性だった。一方でロタウイルス A に対しては、PMMoV が概ね高い濃度で検出されたが、一部の試料では胃腸炎の非流行期・流行期に関わらずロタウイルス A の方が濃度が高かった。これらの試料が採水された水源上流域には都市が含まれないため、リアルタイム RT-PCR で検出されたロタウイルス A

株の多くは動物由来と考えられた。今後、遺伝子型を解析し、ヒト/動物由来株の存在比など、これまで報告が皆無だった水道水源で検出されるロタウイルス A 株に関する情報を蓄積する必要がある。

凝集-MF 膜ろ過処理を実施している国内の浄水場 B における PMMoV の処理性を評価した。その結果、ウイルスの除去率は 0.6-1.5 log であり、5 回の採水において得られた平均値は 1.0 log だった。この値は、浄水場 B の凝集-MF 膜ろ過処理を模した室内実験において得られた PMMoV の除去率と同程度であったことから、実浄水場におけるウイルスの除去率を室内実験により再現できることが示された。

2002-2018 年に富山県内の下水処理場の流入水、河川水中から検出されたコクサッキーウイルス B3 型 (CVB3)、CVB4、CVB5、エコーウイルス 11 型 (E11) の野生株、およびそれぞれの基準株を用いて、遊離塩素、紫外線、およびオゾンによる処理性を評価した。その結果、基準株からの遺伝的な変異に伴い遊離塩素耐性やオゾン耐性も株間で異なることが明らかになった。遊離塩素では基準株と比して 2.3 倍、オゾンでは 2 倍程度高い耐性を有す株が存在した。実験室株データを用いて遊離塩素及びオゾンによるウイルス不活化効率を推定する際は、実プラントの除去率が過大評価される可能性が示された。

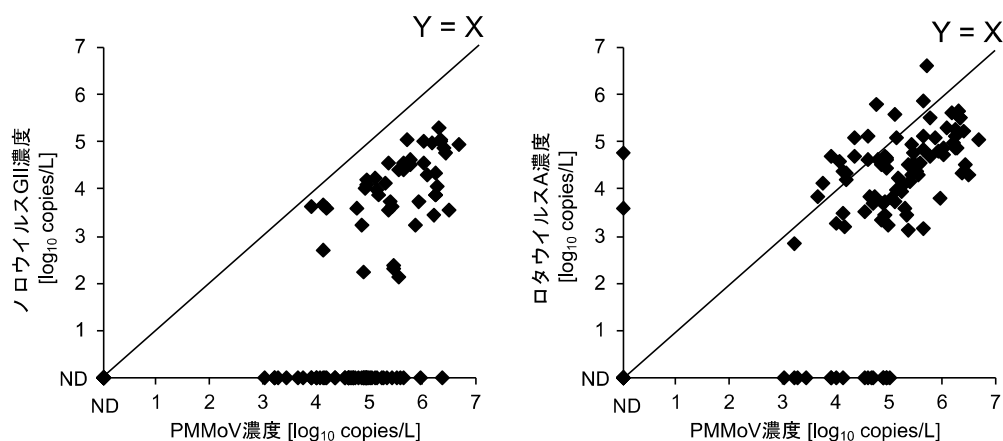


図 1 . 水道原水中の病原ウイルスと PMMoV 濃度の関係 . 2018 年 1 月から 2020 年 1 月に採水された合計 105 試料のデータをプロットした .

(1-2) 微生物（細菌）

生物活性炭処理での細菌挙動に関する情報を整理した。バイオフィームが形成している生物

活性炭層 (BAC) 内には、レジオネラ属菌やマイコプラズマ属菌などの細菌が定着・増殖し、BAC 処理水へ流出していく可能性が指摘された。これらの細菌の流出防止を含む適切な

施設運用が重要であることを指摘した。続いて、従属栄養細菌数とレジオネラ汚染の関係性に関する文献考察を行った。HPC によるレジオネラ陽性判定が可能とした報告が確認されたものの、相反する報告も多数見られた。HPC レベルとレジオネラ属菌数またはその陽性率の間の関係については、議論継続中といえる。したがって、これらの文献情報に基づき、HPC とレジオネラ汚染の関係性を定量的に評価するための、各給水システムごとに異なる特性の複合的影響をできるだけ排除可能な実験方法の検討が必要であることを指摘した。各給水システム特性の影響を排除可能な評価法の確立が求められる。最後に山間部の小規模な配水区域でレジオネラ属菌の実態調査を実施した。山間部に位置する小規模な配水区域において、管網の流下過程での遊離残留塩素の減少に従ってレジオネラ属菌や従属栄養細菌数が増加していることが確認された。また遊離残留塩素が 0.4 mg/L 以上の大半の試料で定量下限未満であったことから、残留塩素の管理の重要性を改めて指摘した。

(1-3) 微生物（寄生虫等）

水道原水は、飲料水健康危機管理実施要領に基づき報告された平成 20～30 年（2008～2018）の検出を、地図上にプロットした。水道原水におけるクリプトスポリジウムおよびジアルジアの報告数は年 50 件ほどであり、11 年間の総数はクリプトスポリジウムは 618 件、ジアルジアは 573 件あった。うち、被圧地下水からの検出が 7 件あり、深井戸であっても汚染が報告されていた。地図上では関東地方に検出が多かったものの、全国的な分布を示し、場所によらず汚染に注意を要すると考えられた。下水処理水は兵庫県内の下水道事業体の協力を得て、2018 年から 2019 年の期間に、計 22 箇所から 137 試料を検査した。浅井戸の水を塩素処理だけで給水している 1 地域と、深井戸から取水し塩素処理だけで給水している 1 地域の、下水処理水 3 試料からクリプトスポリジウムが検出された。ジアルジアは、浄水処理や地域に関係なく、32 試料と多数であった。対象地域内ではこの期間に患者届出がなかった。一定の条件が満たされれば、下水の検査はその地域の感染状況を把握できる方法として、有用と考えられた。

(2) 化学物質・農薬

平成 30 農薬年度(平成 29 年 10 月～平成 30 年

9 月)の農薬製剤出荷量は約 22.3 万 t で、前年度と比べて約 0.5 t 減少した。農薬の用途別農薬製剤出荷量は、殺虫剤が 73,174 t、殺菌剤が 39,287 t、殺虫殺菌剤が 16,648 t、除草剤が 81,691 t で、全体では前年度と比べて 2%の減少であった。登録農薬原体数は平成 29 年 9 月時点 591 種類、登録農薬製剤数は平成 30 年 9 月時点、殺虫剤が 1,069、殺菌剤が 888、殺虫殺菌剤が 475、除草剤が 1,526 で、合計で 4,282 であった。個別の農薬原体について見ると、平成 30 農薬年度出荷量が 100 t 以上であった農薬原体は 55 種であり、石灰窒素や消石灰等を除いた、水道水源で農薬として監視の必要性のある合成化学物質は 44 種であった。

令和元年度において、分科会に参画している全国 10 水道事業体（研究班）による農薬類の測定結果、および神奈川県衛生研究所が全国の 10 浄水場から提供を受けて分析を行った農薬類の測定結果（追加調査）を取りまとめた。研究班と追加調査の浄水場の原水、浄水での検出指標値の推移を比べると、原水では両調査の値に大きな違いは見られなかったが、浄水では研究班の調査の方が低い傾向を示した。

研究班による調査において、原水では 94 種、浄水では 23 種の農薬が検出された。用途別に見ると、原水、浄水ともに除草剤が最も多く、約半分を占めていた。水質基準体系での農薬の分類で見ると、対象農薬リスト掲載農薬の場合、原水では 55 種、浄水では 18 種が検出され、それ以外のカテゴリーの場合、原水ではその他農薬が 6 種、未分類農薬が 5 種、浄水ではその他農薬が 4 種、未分類農薬が 9 種、検出された。

値の最大値は、原水が 1.297、浄水が 0.178 で、前年度までの調査と同程度の値であった。個別の農薬について見ると、最大検出濃度の場合、原水、浄水では、それぞれ 9、4 種の農薬が 1 µg/L を超過した。検出率の場合、原水、浄水では、それぞれ 16、4 種の農薬で 10%以上であった。個別農薬評価値の場合、原水では、昨年度までの調査結果と同様に、テフリルトリオンがかなり高い値(1.90)を示した。浄水では、個別農薬評価値の最大値はこれまでの調査と比べて、特に高い値ではなかった。

直接注入 - LC-MS/MS 法で、定量下限値 0.03 µg/L における妥当性を満たした農薬類 180 種類のうち、神奈川県内の浄水場の水道水源の河川水からは 35 種類、浄水からは 11 種類の農薬類が検出された。全国の 10 浄水場の実態調査では、原水からは 40 種類、浄水からは 25 種類の農薬類が検出された。原水、水道水のいずれ

も目標値を超える農薬類の検出は見られなかった。全体的な検出傾向は平成 30 年度と同様であったが、令和元年度は降雨のない平常時、水田への農薬適用時期を狙った採取が増えたため、昨年度に比べて一部の水田使用農薬で濃度が高い傾向にあった。山形県最上川を原水とする浄水場の 1 つでは、原水からテフリルトリオンが目標値の 99% に相当する値 (1.97 µg/L) で検出され、秋田県雄物川を原水とする浄水場の 1 つでは、対象農薬リスト掲載農薬類外ではあるが、動向の注目されているクロラントラニプロールが 0.235 µg/L で検出された。

これまでに国内で登録があった 1,196 農薬のうち 1,006 農薬について、スルホン体やスルフィド体に変換される可能性のある物質を調査したところ、エチプロールが挙げられた。エチプロールを塩素処理したところ、分解物が検出され、その推定組成式は $C_{11}H_5N_4O_3F_3SCl_2$ で、エチプロールスルホンであると推察された。反応時間を変化させて塩素処理を行ったところ、エチプロールは塩素処理で速やかに分解されてエチプロールスルホンに変化すること、エチプロールスルホンは主な塩素処理分解物で、塩素の存在下でも比較的安定であり、24 時間後でもその大半が存在していることが確認された。

S9 を用いて試験管レベルでの代謝を行った後に超遠心分離処理を施し、その試料をコリンエステラーゼ活性阻害試験に供することにより、代謝を考慮した際のコリンエステラーゼ活性阻害性を評価することができる試験系を構築した。構築された試験系を用いて、ダイアジノンとそのオキソン体の毒性を評価したところ、代謝を考慮した場合は、これらの 2 つの物質の毒性が同程度であることが分かった。すなわち、現行の水道における水質管理目標設定項目での有機リン系農薬についての「原体とオキソン体を合算する」という取り扱いは、ダイアジノンについて妥当であると評価された。

活性炭による有機フッ素化合物除去について、文献調査を行った。粒状活性炭、粉末活性炭のいずれも、ペルフルオロオクタンスルホン酸、ペルフルオロオクタン酸、ペルフルオロヘキサンスルホン酸の順に除去率は高い傾向にあった。粒状活性炭の場合、初期では期待できるが、時間経過とともに除去率が低下すること、特に炭素数の小さい有機フッ素化合物において、顕著であることが示された。粉末活性炭の場合、除去率は粉末活性炭種によって異なることが示された。微粉炭は、粉末活性炭に比べて、短

い接触時間で有機フッ素化合物の除去が向上することが示された。

(3) 消毒副生成物

(3-1) ハロアセトアミド類に関する調査
最終工程水中の各ハロアセトアミド濃度は定量下限値付近であったがほとんどのケースで時間の経過とともに増加し、特にプロモアセトアミド (BACAm) とジクロロアセトアミド (DCACAm) が顕著であった。また、処理方法の違いによるハロアセトアミド (HACAm) 濃度の差はほとんど見られなかった。さらに、臭化物イオンが高い条件ではジプロモアセトアミド (DBACAm) が高濃度で生成することが示唆された。

ハロアセトアミドは塩素処理により生成し、活性炭処理で大幅に減少した。また、夏期に多く生成する傾向、送水過程においては流下時間が長いと多く生成する傾向が見られ、総トリハロメタンとの相関も確認された。

(3-2) 塩素酸に関する調査

塩素酸の水質基準超過事例について調査した。原因は、貯蔵槽への継ぎ足し方式の補充による、次亜の劣化であった。浄水や給水栓における塩素酸の検出状況等を確認した結果、WHO の新しい毒性評価に基づき試算される仮想指標値 0.2 mg/L を夏季に頻繁に超えている地点が数箇所あり、温調設備のない次亜塩貯留槽やアンモニア態窒素濃度等が高く次亜塩注入量が多い原水がその原因と推察された。

(3-3) 塩素化パラベン類に関する調査

パラベン類及びその塩素化物の分析方法を確立し、長沢浄水場及び多摩川流域において実態調査を行った結果、長沢浄水場における塩素化パラベン類は未検出であった。また、多摩川における実態調査から、パラベン類と下水処理水との関係が示唆された。

(3-4) 浄水処理対応困難物質に関する調査

淀川水系周辺における実態調査により、3,5-ジメチルピラゾール (DMP) 及び DMP 塩素化物が検出された。DMP の処理法として、塩素添加前のオゾン処理と GAC 処理の有効性を示した。1,3,5-トリヒドロキシベンゼン、アセチルアセトン及びアセトンジカルボン酸について、溶存オゾンが検出される条件であれば、オゾン処理及び GAC 処理において対応が可能である。

(3-5) 消毒副生成物のモニタリングと制御

三次元励起蛍光スペクトル (EEM) による各水源から石川浄水場の THMFP の予測が可能である可能性を示した。

(3-6) ハロベンゾキノン

スワニー川フルボ酸(SRFA)とポニー湖フルボ酸(PLFA)のいずれも、UV254が高い画分に2,6-ジクロロ-1,4-ベンゾキノン(DCBQ)前駆物質を多く含むこと、一方、UV254が低いPLFAの方がDCBQ前駆物質を多く含むことが示された。また、PLFAの前駆物質には芳香族アミン類が寄与していることが明らかとなった。

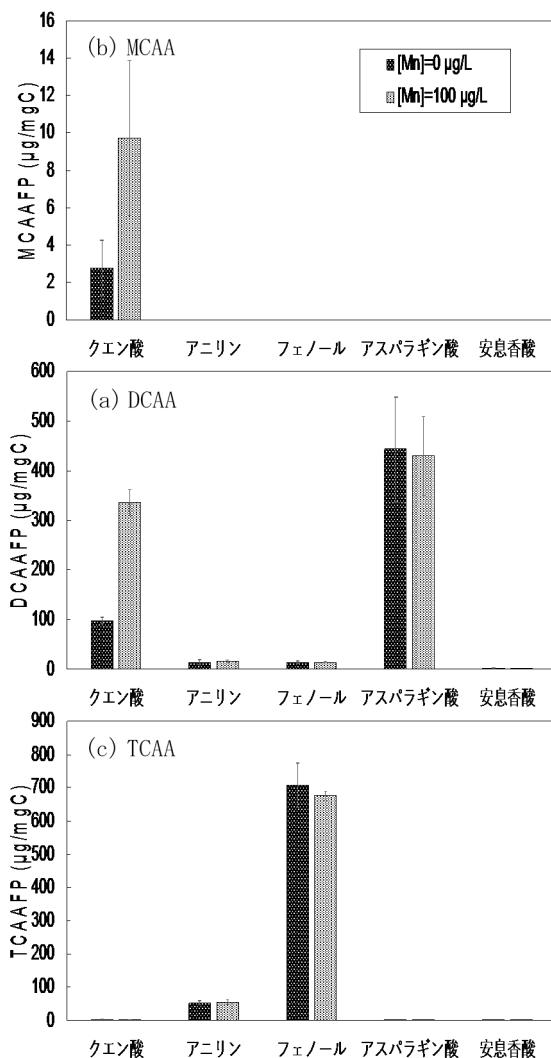


図2 共存マンガンイオンによる各物質のHAAFPの変化

(3-7) マンガンイオンが消毒副生成物に与える影響に関する調査

マンガンイオンはクエン酸およびクエン酸と類似の化学構造を持つアコニット酸のハロ酢酸生成能(HAAFP)を増加させることが示された。また、クロロ酢酸類の中で最も毒性が強い

とされるモノクロ酢酸(MCAA)が、マンガンイオンによりクエン酸から多く生成した(図2)。さらに、水道水質基準値以下のマンガン濃度であってもハロ酢酸類(HAAs)の生成に大きく寄与することが示唆された。なお、環境水のHAAsにマンガンイオンの影響を確認することはできなかった。しかし、藻類の増殖などといった微生物の発生が見られる夏場に影響を与えることも考えられ、引き続きマンガンのHAAFPへ与える影響を調査する必要がある。

(4) 臭気物質

TPN法における回収率の変動を事業体間で比較するための準備として、代表的なカルキ臭原因物質であるトリクロロアミン NCl_3 を測定対象物質として、pHや NCl_3 濃度がTPNの回収率に与える影響を調べ、中性域では NCl_3 濃度に依存せず、回収率が一定であることが分かった(図3, 図4)。今後は、異なる水源の水道水を対象としてTPN計による測定を実施し、臭気強度(TON)とTPNの関係性について確認する予定である。

SPME抽出とリキッドインジェクションでのGC/MSクロマトグラム上の面積値の比較により、SPMEでの回収率を調べる手法を構築した。構築された手法により、11種類の物質の標準品を用いて回収率を調べたところ、昨年度までの検討で用いていたSPMEファイバー(青ファイバー)での回収率は22~86%で、当初危惧していた数%の物質はなかった。従って、青ファイバーを用いて回収された臭気物質のうち臭気の強度が大きいものが、対象とした塩素処理水の主要な臭気であるとするこれまでの考え方は、概ね間違っていないと判断された。GC/Oにより、全国10ヶ所の浄水場原水の塩素処理水が有するカルキ臭を分析したところ、合計で28の異なる臭気が感知された。いずれの試料も全体臭気としては「カルキ臭」と感知されたものの、その臭気は、複数の臭気成分から構成されていると考えられた。

30種の対象物質のカルキ臭生成能は20~400TONで物質によって異なった。対象とした窒素化合物全体のカルキ臭生成特性は、分類したグループ以外に支配する因子があると考えられたが、アルキルアミンについては、第一級アミンが第二、三級アミンより臭気強度(TON)が高いことがわかった。 NCl_3 生成能とカルキ臭生成能の関係を見たところ、対象物質の多くは、 NCl_3 が主なカルキ臭原因物質であるが、8物質については、 NCl_3 以外の物質が主なカル

キ臭原因物質であると考えられた。TPN とカルキ臭生成能の関係から、多くの物質の場合、TPN に寄与する主な物質は NCl_3 であるが、一部の物質については、臭気強度の強い含窒素化合物、臭気強度の低い含窒素化合物が TPN に寄与していることが示された。

原水中に含まれるアミン類の GC/MS 法による測定法を確立するため、メチルアミン、エチルアミン、イソプロピルアミン、*t*-ブチルアミンの4種類のアミン類を対象に誘導体化 GC/MS による分析を試みたところ、各物質とも検出可能であることを確認できた。

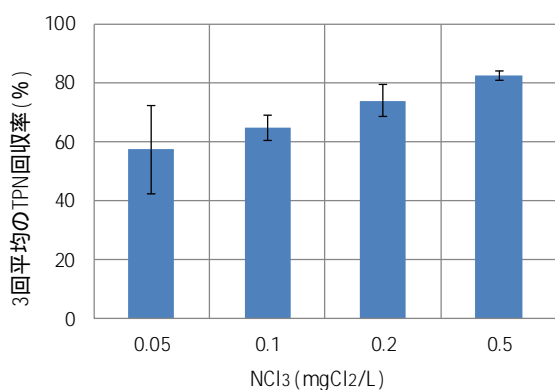


図3. 酸性条件下における NCl_3 の TPN としての回収率

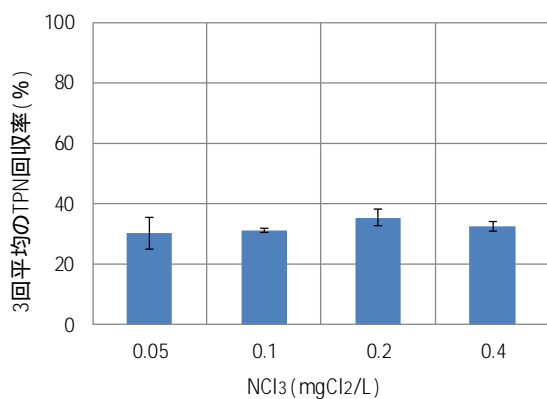


図4. 中性条件下における NCl_3 の TPN としての回収率

(5) リスク評価管理

経口経路以外の間接曝露を考慮したベンゼンの水道水質基準のリスク評価を行った。ベンゼンは経口、吸入、経皮のいずれの経路で曝露し

ても全身に行き渡り、造血系に作用することが知られているが、ベンゼンの揮発経由の吸入曝露や経皮曝露を想定すると、間接飲水を含む飲水当量の分布は図5のようになった。分布の95%ile 値をありうる最大暴露量とすれば、その値は、水質基準を算出する際に用いられる 2 L/day の直接飲水量の2倍程度であった。現行のベンゼンの水道水質基準値 $10 \mu\text{g/L}$ は直接飲水量 2 L/day に基づいて算出しているが、間接曝露を合算して考慮すれば、現行の水質基準値の値の半分の $5 \mu\text{g/L}$ 程度が導出された。

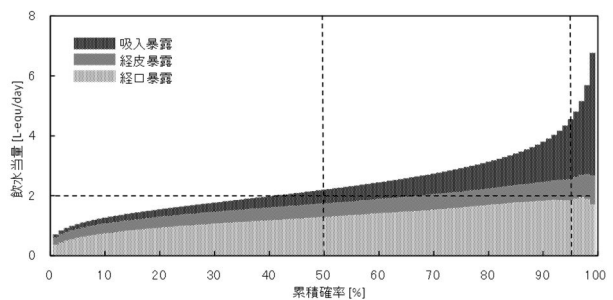


図5 ベンゼンに関する間接飲水量を含む飲水当量の分布

一方、水道水質汚染が生じた際に参考とすべき水道水中濃度[参照値(mg/L)]の算出として、水道水質基準として管理されている無機化学物質6項目について評価を行った。短期間曝露を対象とした saRfD を用いて亜急性参照値を算出した結果、3項目(カドミウム、セレン、水銀)については生涯曝露を対象とした基準値に対し3~10倍以上高い値として設定できた(表1)。しかしながら、ヒ素、鉛及び六価クロムについては、亜急性参照値は基準値と同値とすることが妥当であった。これらの項目については、一時的な水質汚染時の迅速な対応に有用であると考えられた。また、国内外で関心の高い有害物質として、パーフルオロオクタン酸(PFOA)及びパーフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)の毒性情報の整理を行った結果、今年度収集した4機関の評価状況では、PFOA及びPFOSのキーエンドポイントは動物試験の発生毒性とする一定の傾向がみられる一方、人疫学による肝臓影響をキーエンドポイントとして評価している評価機関があった。今年度収集した情報は次年度以降の評価値導出のために有用な情報となると考えられた。

表1 成人及び小児の亜急性参照値及び目標値との比較

項目名	saRfD ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)	基準値 (mg/L)	成人(mg/L)	比率	小児 (mg/L)	比率
カドミウム	1	0.003	0.03	10	0.01	3
水銀	0.6	0.0005	0.02	40	0.006	12
セレン	4	0.01	0.1	10	0.04	4
鉛	設定できない	0.01	0.01	1	0.01	1
ヒ素	設定できない	0.001	0.001	1	0.001	1
六価クロム	1.7	0.02*	0.04	2	0.02	1

注意点：この表に示した亜急性参照値は，研究班による研究成果に基づくものであり公的な指針値等に相当するものではない．この参照値は現時点で使用可能な毒性的知見を用いて算定した値であり，今後，リスク評価に関する新たな知見により変更する可能性がある．また，実際の運用等に当たっては，化学物質の物理化学的性状が利水に及ぼす影響や他法令による指針値との整合性を考慮して参照することが必要である．

*基準値導出に用いられた割当率：60%

(6) 水質分析法

(6-1) 実試料を用いた GC-MS による水道水中農薬スクリーニング分析法の評価

構築したデータベースを実際の原水・浄水に適用させ，スクリーニング法の定性・定量精度の検証を行った．その結果，通知法と同等数の農薬を検出することができ，次式で定義した定量値の一致度も高いことがわかった（図6）．

$$\text{一致度} = \frac{C_{\text{scr}}}{C_{\text{sim}}} \quad (1)$$

C_{scr} ：スクリーニング法での定量値

C_{sim} ：通知法での定量値

また，スクリーニング法で取得したデータを再解析することにより，データベースに登録されていない農薬類を同定・定量できることがわかった．このことより，スクリーニング法は検査法として簡便に農薬類を測定できるだけでなく，そのデータを追加解析することにより，未知の化学物質の存在状況を把握することにも利用できることが明らかとなった．

(6-2) 陰イオン類の LC/MS/MS 分析法の開発
塩素酸，硝酸態窒素，亜硝酸態窒素（基準項目），亜塩素酸（管理目標設定項目），過塩素酸（要

検討項目）の LC/MS/(MS)一斉分析条件を確立した．

また，12 機関によるバリデーション試験の結果，塩素酸，亜塩素酸，過塩素酸については，臭素酸と同時分析が可能であることが示された．以上のことから，本分析法を塩素酸については告示法に，亜塩素酸については通知法に追加できると考えられる．ただし，これらの陰イオンの基準値・目標値は大きく異なるため，一斉分析を行う際には，検量線の濃度範囲や注入量を，測定機器に合わせて最適化する必要がある．硝酸態窒素は基準値が高く，亜硝酸態窒素は基準値が低いため，どちらかに合わせた分析条件を設定した場合，もう一方を同時に測定することが困難であることが分かった．脱塩素処理剤に関しては，亜塩素酸以外 EDA とチオ硫酸ナトリウムのどちらを用いても試験結果に大きな差はみられなかったが，亜塩素酸に関してはチオ硫酸ナトリウムを添加した水道水では真度が低下したことから，亜塩素酸の分析には脱塩素処理に EDA を使用する必要があることが分かった．

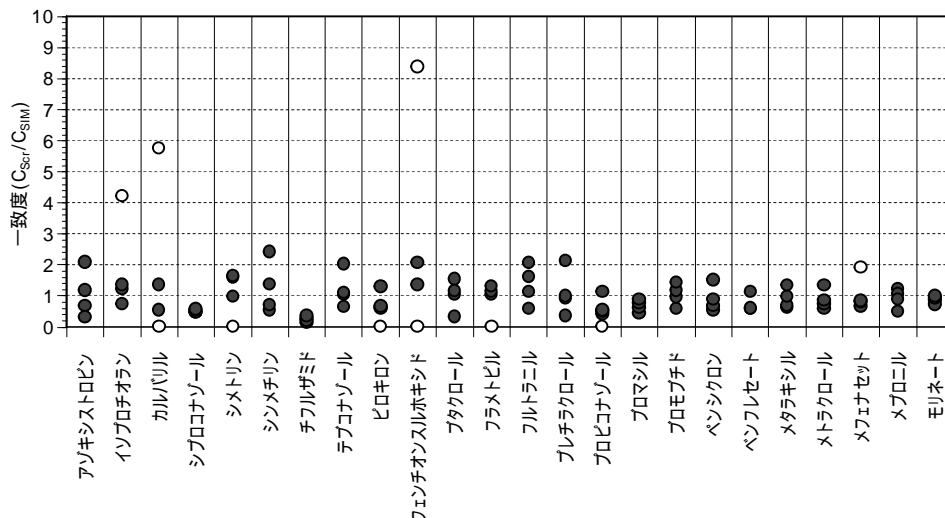


図6 4台のGC-MSの検量線情報から算出された一致度(平均値)と通知法での一致度(平均値)との比較(○:有意差が認められた装置)

D. 結論

(1-1) 微生物(ウイルス)

ウイルスの表流水中存在形態に着目して,全国の水道水源における病原ウイルスおよびPMMoV濃度を調査した.その結果,ノロウイルスGIIとロタウイルスAに比べてPMMoVは,高頻度かつ高濃度で検出され,表流水を水源とする浄水場のウイルス除去指標として有用であることをサポートするデータが蓄積された.

水環境中に存在するエンテロウイルスの遺伝子型内ではUV254耐性に大きな違いは見られなかった一方で,遊離塩素やオゾンの耐性は大きく異なることが明らかになった.実際の水環境中には多様なウイルスが含まれるため,その耐性分布幅を算入した不活化予測モデルを使用する必要がある.

(1-2) 微生物(細菌)

BAC層の中ではレジオネラ属菌やマイコバクテリウム属菌が定着・再増殖する可能性,小規模な配水区域では遊離残留塩素の減少に従ってレジオネラ属菌や従属栄養細菌数が増加していることがあり,適切な施設運用が重要である.従属栄養細菌数とレジオネラ汚染の関係性に関する文献では,両者の関係について相反する報告も多数あり,従属栄養細菌数に指標性についてはさらなる研究が求められる.

(1-3) 微生物(寄生虫等)

水道原水におけるクリプトスポリジウムおよびジアルジアの報告数は11年間でそれぞれ618,573件であった.うち,被圧地下水からの

検出報告が7件あり,井戸であっても汚染が報告されていた.本研究においても,浅井戸の1地域と,深井戸の1地域,下水処理水3試料からクリプトスポリジウムが検出された.ジアルジアは検出が多かった.一定の条件が満たされれば,下水の検査により感染状況を推定しうる可能性がある.

(2) 化学物質・農薬

平成30農薬年度の農薬製剤出荷量は約22.3万tで,前年度と比べて約0.5t減少した.しかし登録農薬原体数は増加している.農薬類の実態調査における,値の最大値は,原水が1.297,浄水が0.178で,前年度までの調査と同程度の値であった.個別の農薬について見ると,最大検出濃度の場合,原水,浄水では,それぞれ9,4種の農薬が1μg/Lを超過した.検出率の場合,原水,浄水では,それぞれ16,4種の農薬で10%以上であった.秋田県雄物川を原水とする浄水場の1つでは,対象農薬外ではあるが,動向の注目されているクロラントラニプロールが0.235μg/Lで検出された.エチプロールを塩素処理したところ,エチプロールは検出されず,主な分解物としてエチプロールスルホンが検出された.

代謝を考慮したChE活性阻害性試験を構築することができた.この試験を用いてダイアジノンとそのオキソン体の毒性を評価したところ,この2つの物質は同程度の毒性を有することが分かった.それぞれのオキソン体の濃度も測定し,それぞれの原体の濃度と,そのオキシ

ン体それぞれの濃度を原体に換算した濃度を合計して算出すること」なる取り扱いが、ダイアジノンについて妥当であると評価された。

7) 活性炭による PFASs 除去について、文献調査を行った。GAC、PAC のいずれも、PFOS、PFHxS、PFOA の順に除去率は高い傾向にあった。GAC の場合、初期では期待できるが、時間経過とともに除去率が低下するが、特に炭素数の小さい PFASs において顕著であることが示された。微粉炭は、粉末活性炭に比べて、短い接触時間で PFASs の除去が向上することが示された。

(3) 消毒副生成物

ハロアセトアミドは浄水処理最終工程水中で各定量下限値付近であったが、ほとんどのケースで時間の経過とともに増加していた。特に、臭化物イオンが高い条件ではジプロモアセトアミドが高濃度で生成することが示唆された。ハロアセトアミドは活性炭処理で大幅に減少した。塩素酸の水質基準超過事例について調査し、その原因をいくつか示した。淀川水系周辺における実態調査により、3,5-ジメチルピラゾール(DMP)及びDMP塩素化物が検出された。DMPの処理法として、塩素添加前のオゾン処理とGAC処理の有効性を示した。1,3,5-トリヒドロキシベンゼン、アセチルアセトン及びアセトンジカルボン酸は溶存オゾンが検出される条件であれば、オゾン処理及びGAC処理において対応が可能であることを示した。マンガニオンはクエン酸およびクエン酸と類似の化学構造を持つアコニット酸のハロ酢酸生成能を増加させることを示した。

(4) 臭気物質

カルキ臭代替指標としての全揮発性窒素(TPN)の妥当性評価の準備として、pHや NCl_3 濃度が NCl_3 の回収率に与える影響を調べた。中性域では回収率が NCl_3 濃度に依存せず、ほぼ一定であることが示された。

GC/olfactometry(GC/O)による分析の前処理に用いる、固相マイクロ抽出法(SPME)の回収率は22%以上であり、SPME法を前処理としたGC/Oの方法は概ね間違っていないと判断された。全国10ヶ所の浄水場原水の塩素処理水が有するカルキ臭を分析したところ、合計で28の異なる臭気が感知された。

カルキ臭に関する対応集に記載予定である、30種の含窒素化合物のカルキ臭生成能は20~400TONで物質によって異なった。多くの物質

の場合、TPNに寄与する主な物質は NCl_3 であるが、一部の物質については、臭気強度の強い含窒素化合物、臭気強度の低い含窒素化合物がTPNに寄与していることが示された。

原水中に含まれるアミン類のGC/MS法による測定法を確立するため、4種類のアミン類を対象に誘導体化GC/MSによる分析を試み、検出可能であることを確認した。

(5) リスク評価管理

ベンゼンの揮発経路の吸入曝露や経皮曝露を合算評価すると、水質基準値は現行の値の半分程度が妥当であると示唆された。水道水質基準項目のうち無機化合物6項目について短期間曝露を対象としたsaRfDを用いて亜急性参照値を算出した結果、3項目(カドミウム、セレン、水銀)については生涯曝露を対象とした基準値に対し3~10倍以上高い値として設定できた。一方、ヒ素、鉛及び六価クロムについては、亜急性参照値は基準値と同値とし、最終的に6項目について、短期的な水道水質汚染が生じた際に参考とすべき参照値(mg/L)を提案することができた。これらの値は汚染物質濃度が一時的に基準値を超えた際の、緊急的な判断材料として非常に有用であると考えられる。PFOA及びPFOSのついて最近の国際評価について情報を収集した。今年度収集した情報は次年度以降の評価値導出のために有用な情報となると考えられた。

(6) 水質分析法

これまでに構築したデータベースを実際の原水・浄水に適用させ、スクリーニング法の定性・定量精度の検証を行った。その結果、通知法と同等数の農薬を検出することができ、定量値の一致度も高いことがわかった。また、データベースに登録されていない農薬類も同定・定量できることがわかった。

また、塩素酸、硝酸態窒素、亜硝酸態窒素(基準項目)、亜塩素酸(管理目標設定項目)、過塩素酸(要検討項目)のLC/MS(/MS)一斉分析条件を確立した。塩素酸、亜塩素酸、過塩素酸については、臭素酸と同時分析が可能であることが示された。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

Miura T, Gima A, Akiba M. Detection of norovirus and rotavirus present in suspended and dissolved forms in drinking water sources. Food Environ Virol. 11(1):9-19, 2019.

Tsuchioka H, Izumiya S, Endo T, Wada T, Harada H, Hashimoto A. Hydroxyapatite powder cake filtration reduces false positives associated with halophilic bacteria when evaluating Escherichia coli in seawater using Colilert-18. J Microbiol Methods., 159:69-74 22 Feb 2019.

Nishikawa S, Matsui Y, Matsushita T and Shirasaki N, Assessment of indirect inhalation exposure to formaldehyde evaporated from water, Regulatory Toxicology and Pharmacology, 106, 43-49, 2019.

小林憲弘, 宮本紫織, 佐藤学, 木下輝昭, 高木総吉, 岩間紀知, 粕谷智浩, 古川浩司, 堀池秀樹, 齊藤香織, 京野完, 高原玲華, 五十嵐良明: 液体クロマトグラフィータンデム質量分析による水道水中の 140 農薬の一斉分析法の妥当性評価. 水環境学会誌, 42(6), 247-258 2019.

小林憲弘: 水道水中の農薬分析法に関する研究動向. 水環境学会誌, 42(A)(11), 386-389 2019.

2. 著書

なし

3. 解説・総説

なし

4. 学会発表

三浦尚之, 儀間ありさ, 徳安真理奈, 秋葉道宏. 水道原水中ウイルスモニタリングのための効率的なウイルス濃縮方法の検討. 第 56 回環境工学研究フォーラム講演集. B35, 2019.

松本 真理子, 川村 智子, 井上 薫, 山田 隆志, 広瀬 明彦: 水道水中の汚染化学物質に対する亜急性参照値の導出, 日本毒性学会 (2019 年 6 月, 大阪)

Mariko Matsumoto, Toshime Igarashi, Kaoru

Inoue, Takashi Yamada, Akihiko Hirose : Hazard assessment of hydrazine, a possible migration contaminant from drinking water apparatus, EUROTOX 2019 (2019 年 9 月, ヘルシンキ)

Matsui, Y., Akiyama, M., Niizuma, S., Narita, K., Nishikawa, S., Matsushita, T. and Shirasaki, N., Pesticides and volatile compounds in drinking water quality standard: chemical mixtures and indirect exposure assessment. Keynote Lecture. 11th Micropol & Ecohazard Conference 2019, Seoul, Korea, 20-23 October 2019.

鈴木知美, 越後信哉, 小坂浩司, 秋葉道宏. LC-MS/MS によるシアヌル酸の高感度分析, 令和元年度全国会議(水道研究発表会)講演集. 2019, 776-777.

Nakai T., Kosaka K., Asami M., Akiba M. Removal of halobenzoquinone precursors during ozone/biological activated carbon process. IWA Specialist Conference on Natural Organic Matter in Water 2019. 2019, C-4-4.

Tada Y., Okuta E., Cordero J.A., Kosaka K., Echigo S., He K., Funaoka H., Kurata A., Itoh S. Characterization of trichloroacetic acid precursors originated from raphidophytes using HPLC fractionation. IWA Specialist Conference on Natural Organic Matter in Water 2019. 2019, D-6-3.

Shirakawa, D., Shirasaki, N., Yamashita, R., Koriki, S., Matsumura, T., Matsushita, T., Matsui, Y. Evaluation of virus removal efficiency in an actual drinking water treatment plant by using a novel virus concentration method and pepper mild mottle virus as a process indicator. Water and Environment Technology Conference 2019, Suita, Japan, 13-14 July 2019.

松村拓哉, 高力聡史, 白川大樹, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦. 凝集-膜ろ過処理を導入した実浄水処理場におけるウイルスの処理性評価. 第 27 回衛生工学シンポジウム, 札幌, 2019/11/8-9.

鳥居将太郎, 板持雅恵, 片山浩之. 同種ウイルスの遊離塩素消毒耐性分布幅を考慮した不活化予測モデルの提案. 令和元年度水道研究発表会, 8-37, 2019.

Torii S, Itamochi M, Katayama H. Intra-Enterovirus B and intratypic variability in free chlorine resistance. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会, O3-4-12, 2019.

Torii S, Itamochi M, Katayama H. Variability of free chlorine resistance among *Enterovirus B* strains leads to insufficient inactivation in drinking water, 20th International Symposium on Health Related Water Microbiology, Vienna, Austria, 2019.

泉山信司, 水道水を介してクリプトスポリジウムに感染するリスクの計算, 環境技術学会, 2019年6月, 京都市

泉山信司, クリプトスポリジウム症, 平成 30 年度希少感染症診断技術研修会, 2019年2月, 東京都

泉山信司, 耐塩素性病原生物について, 水道水質検査セミナー, 2019年2月, 青森市

今健亘, 油川一紀, 洗砂機導入の検討経過について, 第 22 回水道技術事例発表会, 2019年8月, 福島県

赤坂遼平, 油川一紀, 古川紗耶香, 山崎朗子, 横内川水源涵養保安林区域生態動向調査, 日本水道協会水道研究発表会, 2019年11月, 北海道

井上亘, 荻田堅一, 鈴木雅和, 野村素行, 四方浩人, 水道水の感染リスク把握のための小規模下水処理場排水の塩素抵抗性原虫調査, 日本水道協会水道研究発表会, 2019年11月, 北海道

佐藤学, 仲野富美, 上村仁, 前田暢子, 浅見真理. 全国の浄水場における農薬類の実態調査. 第 28 回環境化学討論会プログラム集. 2019, P-079.

森智裕, 谷口佳二, 小田琢也. フィプロニル分

解物の実態調査と活性炭処理における除去効果. 令和元年度全国会議(水道研究発表会)講演集. 2019, 821~822.

知見圭悟. 相模川・酒匂川の水道原水における農薬検出状況と対応. 令和元年度日本水道協会関東地方支部水質研究発表会講演集. 2019.

佐藤学, 仲野富美, 上村仁. 神奈川県相模川流域における農薬類の年間を通じた実態調査. 第 56 回全国衛生化学技術協議会年会講演集. 2019, 206~207.

施昊, 松本創, 川口佳彦, 小坂浩司, 越後信哉, 伊藤禎彦 (2019) 窒素化合物のカルキ臭生成特性および臭化物イオンの共存影響の調査, 令和元年度全国会議(水道研究発表会)講演集, 842-843.

小坂浩司, 施昊, 松本創, 川口佳彦, 越後信哉, 伊藤禎彦 (2019) 窒素化合物由来のカルキ臭原因物質の生成特性, 環境衛生工学研究, 33(3), 97-99.

土屋裕子, 小林憲弘, 高木総吉, 五十嵐良明: 水道水中農薬の GC/MS ターゲットスクリーニング分析法に用いる検量線の定量精度に関する検討. 第 28 回環境化学討論会(2019.6.12 埼玉県さいたま市).

小林憲弘, 土屋裕子, 高木総吉, 宮脇崇, 門上希和夫, 五十嵐良明: GC/MS ターゲットスクリーニング分析法を用いた水道水・水道原水中農薬の実態調査とその定量精度の検証. 第 28 回環境化学討論会(2019.6.13 埼玉県さいたま市).

高木総吉, 小池真生子, 長谷川有紀, 安達史恵, 吉田仁, 小林憲弘, 山口進康: 水道水質における農薬類検査法としての GC-MS ターゲットスクリーニング分析法の有用性評価, 第 28 回環境化学討論会(2019.6.13 埼玉県さいたま市).

小林憲弘, 土屋裕子, 高木総吉, 五十嵐良明: GC/MS ターゲットスクリーニング分析法による水道水・水道原水中農薬の実態調査とその分析精度の評価. 第 22 回日本水環境学会シンポジウム(2019.9.6 北海道札幌市).

高木総吉: 水道原水・浄水試料における GC/MS ターゲットスクリーニング分析法の定量精

度について, 環境科学会 2019 年会 (2019.9.14 愛知県名古屋市)

土屋裕子, 小林憲弘, 五十嵐良明: 水道水中の塩素酸・亜塩素酸・過塩素酸・臭素酸の LC/MS/MS 一斉分析法の開発. 環境科学会 2019 年会 (2019.9.13 愛知県名古屋市).

Norihiro Kobayashi, Yuko Tsuchiya, Sokichi Takagi, Yoshiaki Ikarashi: Application and quantitative accuracy evaluation of GC/MS target screening analytical method for agricultural chemicals in raw and ground water. SETAC North America 40th Annual Meeting (2019.11.4 Toronto, ON, Canada).

高木総吉, 小池真生子, 長谷川有紀, 安達史恵, 吉田仁, 小林憲弘, 山口進康: ターゲットスクリーニング分析法を活用した未知農薬類の探索について, 令和元年度全国会議 (水道研究発表会) (2019.11.8 北海道函館市)

高木総吉, 小池真生子, 長谷川有紀, 安達史恵, 吉田仁, 小林憲弘, 山口進康: 水質監視手法としての GC/MS ターゲットスクリーニング分析法の応用について, 第 56 回全国衛生化学技術協議会年会 (2019.12.6 広島県広島市)

小林憲弘, 土屋裕子, 五十嵐良明: 水道水中の陰イオン類の LC/MS/MS 一斉分析法の開発と妥当性評価. 第 56 回全国衛生化学技術協議会年会 (2019.12.6 広島県広島市).

土屋裕子, 小林憲弘, 高木総吉, 五十嵐良明: 水道原水・水道水中の農薬類の GC/MS ターゲットスクリーニング分析法による実態調査と定量精度の評価. 第 56 回全国衛生化学技術協議会年会 (2019.12.5 広島県広島市).

三浦尚之, 徳安真理奈, 前田暢子, 吉田伸江, 越後信哉, 秋葉道宏. 全国の水道原水における腸管系ウイルスおよびトウガラシ微斑ウイルスの存在実態調査. 第 54 回日本水環境学会年会講演集, 386, 2020.

白川大樹, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦. 外来遺伝子を封入した人工合成ウイルス様粒子の創製: 培養困難なノロウイルスの浄水処理性評価への適用. 第 54 回日本水環境学会年

会, 盛岡, 2020/3/16-18.

鳥居将太郎, 板持雅恵, 片山和彦, 片山浩之. エンテロウイルス野生株の遊離塩素, 紫外線, オゾン処理に対する耐性分布幅の評価. 第 54 回水環境学会年会, 1-E-12-1, 2020.

鳥居将太郎, 片山浩之. CQFS を用いたオゾン処理によるウイルス不活化速度の解析. 日本オゾン協会 第 29 回年次研究講演会, 2020.

廣瀬円, 中西智宏, 浅田安廣, 伊藤禎彦: 配水末端地域における水道水中レジオネラ属菌の分布調査, 第 54 回日本水環境学会年会講演集, p. 53, 2020.

佐藤学, 上村仁, 仲野富美, 前田暢子, 吉田伸江, 浅見真理. 全国の浄水場における浄水及び原水を対象とした農薬類の実態調査. 第 54 回水環境学会年会講演集, 2020.

吉川祐司, 大森圭, 松下拓, 松井佳彦, 白崎伸隆. 塩素処理に伴う有機リン系殺虫剤の毒性変動~代謝を考慮した ChE 活性阻害試験法の構築と適用~. 第 54 回日本水環境学会年会講演集, 2020.

鈴木知美, 仲門拓磨, 倉田拓郎, 向井恵, 小坂浩司, 秋葉道宏. 塩素処理による NOM からの 2,6-ジクロロ-p-ベンゾキノン (DCBQ) の生成特性と前駆物質の特性解析. 第 54 回日本水環境学会年会講演集. 2020, 50.

多田悠人, J.A. Cordero, 越後信哉, 伊藤禎彦. 塩素処理における共存マンガニオンのハロ酢酸生成能への影響, 第 54 回日本水環境学会年会講演集. 2020, 52.

林寛之, 池永健太郎, 松下拓, 松井佳彦, 白崎伸隆 (2020) GC-O を用いたカルキ臭原因物質の分離・回収と Orbitrap 質量分析計を用いた構造推定, 第 54 回日本水環境学会年会, 年会優秀発表特別賞 (クリタ特別賞).

F. 知的財産権の出願・登録状況

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)

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。

表 A

< 微生物 (ウイルス) 分科会 >

北澤 弘美	(公社)日本水道協会 工務部
小田 琢也	神戸市 水道局事業部 水質試験所
佐野 大輔	東北大学 大学院環境科学研究科
鳥居 将太郎	東京大学 大学院工学系研究科
板持 雅恵	富山県衛生研究所 ウィルス部

< 微生物 (細菌) 分科会 >

大河内 由美子	麻布大学 生命環境科学部
浅田 安廣	国立保健医療科学院 生活環境研究部
中西 智宏	京都大学大学院 工学研究科

< 微生物 (寄生虫等) 分科会 >

井上 亘	兵庫県立健康科学研究所 健康科学部
鎌田 智子	神奈川県内広域水道企業団技術部
田部井 由紀子	東京都健康安全研究センター環境衛生研究科
中嶋 直樹	神奈川県衛生研究所
黒木 俊郎	岡山理科大学獣医学科
橋本 温	県立広島大学生命環境学

	部
古川 紗耶香	青森市企業局水道部横内浄水課

< 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
関川 慎也	八戸圏域水道企業団
寺嶋 誠	仙台市水道局
浅見 真紀	茨城県企業局
吉田 岳己	千葉県水道局
藤巻 志津恵	神奈川県内広域水道企業団
高橋 英司	新潟市水道局
山本 徹	奈良県水道局
谷口 佳二	神戸市水道局
友永 裕一郎	広島市水道局
佐藤 卓郎	福岡県南広域水道企業団
佐藤 学	神奈川県衛生研究所
成田 健太郎	株式会社 NJS 東部支社
町田 高広	(公社)日本水道協会 工務部

< 消毒副生成物分科会 >

小牧 裕佳子	静岡県立大学
大瀬 俊之	東京都水道局
柴 雅彦	茨城県企業局
豊田 大晃	北千葉広域水道企業団
柿沼 良介	川崎市上下水道局
船岡 英彰	京都市上下水道局
北本 靖子	大阪市水道局
孝石 健	大阪広域水道企業団
片木 孝徳	阪神水道企業団
中谷 悠	奈良県水道局
愛甲 俊郎	沖縄県企業局
鈴木 知美	国立保健医療科学院生活環境研究部

< 臭気分科会 >

大瀬 俊之	東京都水道局水質センター
清宮 佳幸	千葉県企業局
庭山 秀一	新潟市水道局

< リスク評価管理分科会 >

鈴木 俊也	東京都健康安全研究センター
西村 哲治	帝京平成大学
小林 憲弘	国立医薬品食品衛生研究

	所
井上 薫	国立医薬品食品衛生研究所
山田 隆志	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
長谷川 隆一	国立医薬品食品衛生研究所
江馬 眞	国立医薬品食品衛生研究所
山口 治子	国立医薬品食品衛生研究所
重田 善之	国立医薬品食品衛生研究所
磯 貴子	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

< 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
土屋 裕子	国立医薬品食品衛生研究所
吉田 仁	(地独)大阪健康安全基盤研究所
安達 史恵	(地独)大阪健康安全基盤研究所
小池 真生子	(地独)大阪健康安全基盤研究所
長谷川 有紀	(地独)大阪健康安全基盤研究所
鈴木 俊也	東京都健康安全研究センター
木下 輝昭	東京都健康安全研究センター
小杉 有希	東京都健康安全研究センター

飯田 春香	東京都健康安全研究センター
山崎 貴子	東京都健康安全研究センター
渡邊 喜美代	東京都健康安全研究センター
坂田 脩	埼玉県衛生研究所
渡邊 弘樹	埼玉県衛生研究所
橋本 博之	千葉県衛生研究所
豊崎 緑	千葉県衛生研究所
上村 仁	神奈川県衛生研究所
仲野 富美	神奈川県衛生研究所
大窪 かおり	佐賀県衛生薬業センター
山田 早紀	佐賀県衛生薬業センター
門上 希和夫	北九州市立大学 環境技術研究所
寺中 郁夫	埼玉県企業局 水質管理センター
代 龍之介	埼玉県企業局 水質管理センター
野村あづみ	川崎市上下水道局水管理センター
古口 健太郎	川崎市上下水道局水管理センター
林 幸範	横須賀市上下水道局
平林 達也	大阪市水道局工務部水質試験所
粕谷 智浩	(一財)千葉県薬剤師会検査センター
浴口 典幸	(一財)千葉県薬剤師会検査センター
中村 弘揮	(一財)岐阜県公衆衛生検査センター
岩間 紀知	(一財)岐阜県公衆衛生検査センター
古川 浩司	(一財)三重県環境保全事業団

令和元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）
「化学物質等の検出状況を踏まえた水道水質管理のための総合研究」
分担研究報告書

指標ウイルスを用いたリスク管理方法の検討
－ 微生物（ウイルス）分科会 －

研究分担者	秋葉道宏	国立保健医療科学院 生活環境研究部
	片山浩之	東京大学 大学院工学系研究科
	白崎伸隆	北海道大学 大学院工学研究院
	三浦尚之	国立保健医療科学院 生活環境研究部
研究協力者	北澤弘美	（公社）日本水道協会 工務部
	小田琢也	神戸市 水道局事業部 水質試験所
	佐野大輔	東北大学 大学院環境科学研究科
	鳥居将太郎	東京大学 大学院工学系研究科
	板持雅恵	富山県衛生研究所 ウイルス部

研究要旨

表流水を水源とする国内 21 箇所の浄水場において原水試料を収集し、ノロウイルス GII，ロタウイルス A およびトウガラシ微斑ウイルス（PMMoV）の汚染実態を調査した。その結果、ノロウイルス GII は、胃腸炎の非流行期に 10% の試料から検出され（濃度の幾何平均値：2.9 log copies/L），流行期は 48% で陽性だった（3.8 log copies/L）。ロタウイルス A は、非流行期・流行期に関わらず比較的高い検出率であり（それぞれ 67% ,81% ）、濃度の幾何平均値はそれぞれ 3.8 , 4.3 log copies/L だった。PMMoV は、高頻度（81–95%）かつ高濃度（4.9–5.1 log copies/L）で表流水試料に含まれ、病原ウイルスよりも濃度が概ね高かった。表流水を水源とする浄水場におけるウイルス除去指標として有用であることをサポートするデータが蓄積された。

凝集–MF 膜ろ過処理を実施している国内の浄水場 B における PMMoV の処理性を評価した。その結果、ウイルスの除去率は 0.6–1.5 log であり、5 回の採水において得られた平均値は 1.0 log だった。この値は、浄水場 B の凝集–MF 膜ろ過処理を模した室内実験において得られた PMMoV の除去率と同程度であったことから、実浄水場におけるウイルスの除去率を室内実験により再現できることが示された。

2002–2018 年に富山県内の下水処理場の流入水、河川水中から検出されたコクサッキーウイルス B3 型（CVB3）、CVB4、CVB5、エコーウイルス 11 型（E11）の野生株、およびそれぞれの基準株を用いて、遊離塩素、紫外線、およびオゾンによる処理性を評価した。その結果、基準株からの遺伝的な変異に伴い遊離塩素耐性やオゾン耐性も株間で異なることが明らかになった。遊離塩素では基準株と比して 2.3 倍、オゾンでは 2 倍程度高い耐性を有す株が存在した。実験室株データを用いて遊離塩素及びオゾンによるウイルス不活化効率を推定する際は、実プラントの除去率が過大評価される可能性が示された。

A. 研究目的

水道における病原ウイルスのリスク管理に資するデータを蓄積し、指標ウイルスを用いたリスク管理方法を提案することを目的として、1) 水源

における病原ウイルスおよびトウガラシ微斑ウイルス（PMMoV）の濃度変動、2) 凝集–MF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性、および 3) 遊離塩素、紫外線、オゾン処理によるウイルスの不

活化効率を調査した。これら3つのタスクの具体的な目的・概要を以下に示す。

A1. 水源における病原ウイルスおよびPMMoVの濃度変動

PMMoVはヒトの糞便中に高濃度で含まれ、下水や下水処理水、河川水や地下水からも検出されることが報告され始めている植物ウイルスであるが¹⁾、水道水源におけるPMMoVの存在実態は十分に把握されていないのが現状である。胃腸炎の非流行期(2019年10月)および流行期(2020年1月)に表流水を水源とする国内21箇所の浄水場の原水試料を収集し、感染性胃腸炎を引き起こすノロウイルスおよびロタウイルス、そして浄水処理プロセスにおける指標ウイルスとして検討しているPMMoVによる汚染実態を明らかにすることを目的とした。さらに、上記のうち水源に都市排水を含む3箇所の浄水場においては、春季および夏季にも原水試料を収集し、ウイルス濃度の季節変動を調べた。

A2. 凝集-MF膜ろ過処理におけるPMMoVの除去性

これまでに室内実験において、代表的な物理的処理である凝集沈澱-砂ろ過処理、MF膜ろ過処理、凝集-MF膜ろ過処理、およびUF膜ろ過処理におけるPMMoVの除去率と水系感染症ウイルスの除去率の間に高い相関関係が認められた。また、PMMoVの除去率は、水系感染症ウイルスの除去率と同程度、あるいはやや低く^{2,3)}、水系感染症ウイルスの凝集沈澱-砂ろ過処理性、膜ろ過処理性を評価する上での挙動指標としてのPMMoVの有効性が示された。

今年度は、これまでに構築したウイルス濃縮法を適用することにより、凝集-MF膜ろ過処理を実施している国内の浄水場におけるPMMoVの処理性評価を実施した。また、実浄水場の処理工程水を用いた凝集-MF膜ろ過処理の室内添加実験を実施し、室内実験の有効性を評価した。

A3. ウイルス遺伝子型内の耐性分布幅を考慮した遊離塩素、紫外線、オゾン処理の不活化評価

消毒剤のウイルスに対する不活化効果は、これまで基準株を対象に評価されてきた⁴⁻⁶⁾。ウイル

スは核酸変異率が極めて高い⁷⁾ため、野生のウイルス株は基準株と遺伝的に乖離しており、不活化速度に差がある可能性がある。USEPAのContaminant Candidate List 4 (CCL4)に掲載されているエンテロウイルスの野生株を対象に、野生株と基準株の消毒剤(遊離塩素、紫外線、オゾン)への耐性の違い、および種内や遺伝型内での分布幅を評価することを目的とした。

B. 研究方法

以下にタスクごとの研究方法の概要を示す。より詳細な方法は、研究分担者による研究報告書を参照されたい。

B1. 水源における病原ウイルスおよびPMMoVの濃度変動

(1) 試料の収集

河川、湖沼、ダムを水源とする国内21箇所の浄水場の協力を得て、水道原水試料(10L)を収集した。試料の採水は、2019年10月および2020年1月に実施し、計42検体を収集した。対象は、国内の主要な河川流域をカバーする北海道から九州・沖縄地方の浄水場とした。21箇所のうち水源に都市排水を含む3箇所の浄水場においては、2019年4月および7月にも採水を行い、3ヶ月毎の季節変動も調査した。試料は、地下水試料と同様に冷蔵状態で輸送し、採水から48時間以内に分析に供した。

(2) 試料からのウイルス濃縮とRNA抽出

病原ウイルスおよびPMMoVの汚染レベルを調査することに加えて、ウイルスの存在形態を明らかにするために、試料を孔径の異なるろ過膜を用いて分画し、懸濁態と溶存態画分に含まれるウイルスを測定した⁸⁾。すなわち、試料1LにマウスノロウイルスS7-PP3株をおよそ 10^8 copies 添加・混合し、孔径10 μm 、直径90mmの親水性PTFE膜(JCWP09025, Merck)でろ過し、回収したる液を孔径0.45 μm 、直径90mmのMCE膜(HAWP09000, Merck)でろ過した。それぞれの膜を回収し、 $>10\mu\text{m}$ および0.45–10 μm 懸濁態画分とした⁸⁾。続いて、回収したる液を陰電荷膜法により10mLまで濃縮し、溶存態画分とした^{8,9)}。回収したそれぞれの画分から、NucliSENS mini

MAG (bioMérieux)を用いてウイルス RNA を抽出・精製した。

(3) ウイルス遺伝子の定量検出

マウスノロウイルス, ノロウイルス GII, ロタウイルス A, およびトウガラシ微斑ウイルスの RNA 濃度は, 既往のプライマー・プローブ, RNA UltraSense One-Step Quantitative RT-PCR System (Thermo Fisher Scientific), および LightCycler 480 System II (Roche)を用いたリアルタイム RT-PCR 法により定量した。

B2. 凝集-MF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性

(1) 使用したウイルスの培養および定量

PMMoV pepIwate-Hachiman1 株, ヒトノロウイルスの代替として広く用いられているマウスノロウイルス I 型 CW1 株, 水系感染症ウイルスの代替として広く用いられている大腸菌ファージ MS2 をそれぞれ *Nicotiana benthamiana* RAW264.7 細胞, 大腸菌を用いて培養し, 実験に使用した。QIAamp MinElute Virus Spin Kit (Qiagen) を用いてウイルスの RNA を抽出し, High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit with RNase Inhibitor (Applied Biosystems) を用いた逆転写反応により cDNA を合成した。この後, 合成した cDNA を, TaqMan Universal Master Mix II, no UNG (Applied Biosystems), Distilled water, それぞれのウイルスに特異的なプライマー・プローブと混合した後, リアルタイム定量 PCR 装置 (Applied Biosystems 7,300, Applied Biosystems) に供することにより, ウイルス濃度を定量した。

(2) 実浄水場の浄水処理工程水へのウイルス濃縮法の適用

実浄水場における PMMoV の処理性を評価するため, これまでに構築したウイルス濃縮法を適用し, 浄水場 B の原水および浄水処理工程水 100–2,000 L における PMMoV の濃度を定量した。2018 年 5 月, 7 月, 11 月, 2019 年 1 月, 7 月に浄水場 B 内において原水 100–200 L, チオ硫酸ナトリウムのインライン添加により残留塩素を中和した前塩素処理水 100–200 L, マンガン接触ろ過水(凝集-MF 膜ろ過前水) 100–400 L, および浄水(凝集

-MF 膜ろ過水; 膜材質: PVDF, 膜孔径: 0.1 μm) 100–2,000 L を, ポンプを用いて 4–6 L/min の初期流束にて専用ハウジングに収容されたナノセラム陽電荷膜(膜孔径: 2 μm)に通水した。通水後, pH 9.5 の 1.5% (w/w) ビーフエキス溶液(0.05 M グリシン含有)合計 2 L を用いてウイルスを回収し, 濃縮した(一次濃縮)。pH を HCl にて 3.5 に調整した後, 攪拌することにより, 溶液中のビーフエキスを凝集した。これを 2,500 \times g にて 15 分間遠心分離することにより, 上澄水と凝集フロックを分離した。上澄水については, タンジェンタルフローUF 膜(分画分子量: 300 kDa)を用いて 20 mL まで精製・濃縮した(二次濃縮[上澄み])。一方, 凝集フロックについては, pH 9 の 0.15 M リン酸バッファーを添加し, 溶解した(二次濃縮[フロック])。二次濃縮[上澄み]試料および二次濃縮[フロック]試料それぞれの PMMoV を定量することにより, 浄水場 B の原水, 前塩素処理水, マンガン接触ろ過水, 浄水の PMMoV 濃度を算出し, 除去率 (Log 除去率 (Log[C₀/C]; C₀: 処理前の PMMoV 濃度, C: 処理後の PMMoV 濃度)) を算出した。

B3. ウイルス遺伝子型内の耐性分布幅を考慮した遊離塩素, 紫外線, オゾン処理の不活化評価

(1) エンテロウイルス株の分離

2002–2018 年にかけて富山県内の下水処理場の流入水, 河川水中から分離したエンテロウイルス B を 30 株 (CVB3: 8, CVB4: 9, CVB5: 12, E11: 1) 用いた。各株の全ゲノム配列は, ディープシーケンスにより決定した。

(2) ウイルスの培養, 精製, 感染価測定

分離株を BGM 細胞により培養し, 濃縮した後, 塩化セシウムを使用した等密度勾配遠心¹⁰⁾により精製した。感染価は, 96 穴プレートを用いた 5 連 MPN 法¹¹⁾により測定した。

(3) 消毒試験

本研究では, 野生株に加え, CVB3, CVB5, E11 の基準株の計 33 株を消毒試験に供した。遊離塩素および UV₂₅₄ 消毒試験は回分式で実施した。1 試験では, 経時的に 4 試料(初期濃度測定用を含める)を採取した。本試験を各消毒剤および各ウイ

ルス株に対して2連で実施した。遊離塩素試験では、初期遊離塩素濃度を0.3 mg/L程度とした。全ての試験において、試験終了時に遊離塩素濃度が83%以上維持されていることを確認した。紫外線照射には低圧水銀ランプを用いた。オゾン試験は連続流式反応槽(Continuous quench flow system)にて実施し、手法はTorii et al. under review(論文発表1))に従った。消毒試験では、ウイルス分散媒として10 mMリン酸緩衝液(pH7.0)を使用した。水温は 22 ± 1 °Cであった。初期濃度は $5 \times 10^5 - 10^5$ MPN/mLであった。

C. 結果及び考察

以下にタスクごとの研究結果の概要を示す。より詳細な結果は、研究分担者による研究報告書を参照されたい。

C1. 水源における病原ウイルスおよびPMMoVの濃度変動

(1) 全国21箇所の浄水場原水中のウイルス濃度

ノロウイルスGIIは、胃腸炎の非流行期(2019年10月)に0.45–10 µm懸濁態画分および溶存態画分から検出され(検出率はそれぞれ10%、5%)、濃度はそれぞれ2.1–3.4、3.2 log copies/Lだった。胃腸炎の流行期(2020年1月)には、48%の試料から検出され、濃度の幾何平均値は3.8 log copies/Lだった。非流行期と比較して、検出率および濃度が高かったが、平成30年度の調査結果¹²⁾よりも小さくなっていた。2019–2020年冬季は、ノロウイルスによる胃腸炎患者数が全国的に少ないこと¹³⁾が原因として考えられた。ノロウイルスGIIが検出された画分は、溶存態画分が多かったが、濃度は0.45–10 µm懸濁態画分と同程度だった。

ロタウイルスAは、胃腸炎の非流行期・流行期に関わらず比較的高い頻度で検出された(それぞれ、67、81%)。流行期の濃度の幾何平均値(4.3 log copies/L)は非流行期(3.8 log copies/L)よりも高く、ヒト集団から排出されたロタウイルスA株による水源の汚染を示していた。また、非流行期においても濃度が比較的高かったことから、収集した表流水試料にはウシやブタなどの動物由来のロタウイルスA株も含まれていたことが考えられた。それぞれの画分に検出されたロタウイルス

A濃度は、懸濁態よりも溶存態画分が有意に高かった(対応のあるt検定、 $P < 0.01$)。すなわち、表流水中においてロタウイルスAは、フリーで或いは溶存有機物と吸着して存在する割合が多いことが示された。

PMMoVは、胃腸炎の非流行期・流行期に関わらず、水道原水として取水された表流水試料に高頻度(81–95%)かつ高濃度(4.9–5.1 log copies/L)で含まれていた。また、PMMoVの濃度は、ロタウイルスAと同様に懸濁態よりも溶存態画分の方が有意に高かった(対応のあるt検定 $P < 0.01$)。

PMMoVとノロウイルスGIIまたはロタウイルスAの濃度の関係を調べるために2019年10月、2020年1月を含めて2018年1月以降に採水されたすべての試料(N=105)の濃度をプロットした(図1)。その結果、PMMoVは、水道水源においてノロウイルスGIIよりも濃度が高く、ノロウイルスGIIが陽性だった試料はすべてPMMoVが陽性だった。一方でロタウイルスAに対しては、PMMoVが概ね高い濃度で検出されたが、一部の試料では胃腸炎の非流行期・流行期に関わらずロタウイルスAの方が濃度が高かった。これらの試料が採水された水源上流域には都市が含まれないため、リアルタイムRT-PCRで検出されたロタウイルスA株の多くは動物由来と考えられた。今後、遺伝子型を解析し、ヒト/動物由来株の存在比など、これまで報告が皆無だった水道水源で検出されるロタウイルスA株に関する情報を蓄積する必要がある。

(2) 3箇所の浄水場原水中のウイルス濃度変動

21箇所の浄水場のうち、水源に都市排水を含む3箇所の浄水場においては、ウイルス濃度の3ヶ月毎の季節変動も調査した。懸濁物質に吸着したウイルスを分画する操作を行った場合と行わなかった場合について、ノロウイルスGII、ロタウイルスA、PMMoV濃度を測定した(図2)。一部の濁度が高かった試料では、分画を行わなかった場合に、マウスノロウイルス回収率が低く、またロタウイルスAおよびPMMoVの濃度が低く測定される傾向が確認された。3箇所の浄水場I、J、Nにおける分画を行った場合のPMMoV濃度は、それぞれ5.4–5.9、5.7–6.2、5.7–6.4 log copies/Lであり、共通して冬季に最高値となるものの変動の

幅は最大で 0.5 log と小さかった。以上の結果から、PMMoV は、水系感染症ウイルスと処理性が類似しているという微生物分科会のこれまでの研究成果と共に、ウイルス除去指標として有用であることをサポートする結果が得られた。

C2. 凝集-MF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性

(1) 実浄水場における PMMoV の処理性

浄水場 B において上述した濃縮法を適用し、PMMoV の処理性を評価した(図 3)。PCR 法にて評価した原水における PMMoV 濃度は $10^{0.4-2.1}$ copies/mL となり、濃縮との組み合わせにより定量可能な程度の高濃度で PMMoV が存在していることが明らかとなった。また、前塩素処理水及びマンガン接触ろ過水における PMMoV 濃度はそれぞれ $10^{0.3-2.1}$ copies/mL、 $10^{-0.1-1.7}$ copies/mL となり、原水と比べて濃度の低減は確認されなかった。本研究で PMMoV の定量に用いた PCR 法は、ウイルス粒子内部の遺伝子の一部を検出・定量の標的としていることから、前塩素処理及び塩素添加を伴うマンガン接触ろ過処理においてウイルスが不活化した場合であっても標的の遺伝子の一部が残存していれば検出・定量されるため、これらの処理におけるウイルスの不活化効果を過小評価している可能性がある。従って、PCR 法にて評価された前塩素処理及びマンガン接触ろ過処理における除去率(低減率)の解釈には注意が必要である。一方で、マンガン接触ろ過処理による PMMoV 濃度の低減が確認されなかったことから、マンガン接触ろ過処理によるウイルスの物理的な除去効果は期待できないものと推察された。これに対し、浄水、すなわち、凝集-MF 膜ろ過水における PMMoV 濃度は $10^{-1.1-0.6}$ copies/mL となり、マンガン接触ろ過水(凝集-MF 膜ろ過前水)に比べて濃度の低減が確認された。従って、凝集-MF 膜ろ過処理はウイルスの除去に有効であることが示された。また、得られた除去率は、0.6-1.5 log (平均: 1.0 log)であった(図 4; マンガン後と MF 後の差)。

二次濃縮後の試料に人工的にマウスノロウイルス及び MS2 を添加し、滅菌蒸留水に添加した場合との PCR 法による定量結果を比較することにより、PCR 阻害性(遺伝子抽出工程・逆転写反

応・PCR 反応における阻害性)を評価した。二次濃縮[フロック]の試料においては、添加したマウスノロウイルス及び MS2 の定量効率は、滅菌蒸留水に添加した場合(定量効率: 100%)に比べて幾分低下したものの、30-60%程度の値となった。一方、二次濃縮[上澄み]の試料においては、添加したマウスノロウイルス及び MS2 の定量効率は、二次濃縮[フロック]の試料に添加した場合に比べて大きくなり、50-80%程度の高い値となった。以上の結果から、本研究においては、PMMoV 濃度の定量における阻害の影響は小さく、上述した浄水場 B における PMMoV 濃度の定量結果、更には、評価された PMMoV の除去率は妥当であると判断した。

(2) 実浄水場における水系感染症ウイルスの処理性の推定

上述したように、計 5 回の採水において得られた除去率の平均値(図 4; マンガン後と MF 後の差)は 1.0 log となった。また、これまでに実施した凝集-MF 膜ろ過処理の室内実験において、PMMoV の除去率は、水系感染症ウイルスの除去率と同程度、あるいはやや低かったことから²⁾、PMMoV が凝集-MF 膜ろ過処理により 1.0 log 除去される浄水場 B においては、水系感染症ウイルスは少なくとも 1.0 log 程度除去されるものと推察された。一方で、浄水場 B における物理的処理(凝集-MF 膜ろ過処理)によるウイルスの除去率は 1 log 程度であり、昨年度報告した凝集沈澱-砂ろ過処理を実施している浄水場 A の場合と同様に、水道水の微生物学的安全性の確保においては、塩素処理に大きく依存していることが確認された。従って、塩素処理における水系感染症ウイルスの処理性の詳細な把握、並びに、物理的処理におけるウイルス除去の高度・高効率化に向けた取り組みの重要性が再確認された。

C3. ウイルス遺伝子型内の耐性分布幅を考慮した遊離塩素、紫外線、オゾン処理の不活化評価

各株の 4 log 不活化に必要な遊離塩素 CT 値は CVB3, CVB4, CVB5 では 0.5 - 2.4 mg・min/L の範囲であったが、E11 は 0.5 mg・min/L 以下であり、コクサッキー B 型が塩素に耐性が高いことが示された。エンテロウイルス全体では、4 log 不活

化に必要な遊離塩素 CT 値が 0.14–2.4 mg·min/L であり、株間で最大 17 倍以上の差が観察された。また、遊離塩素耐性が高いことで知られる CVB5 に関して、基準株より 2.3 倍耐性の高い野生株の存在も明らかになった。また、遊離塩素耐性は CVB5 > CVB3 ≈ CVB4 > E11 であり、塩素耐性が遺伝子型に依存することが示唆された。一方で、4 log 不活化に必要な UV₂₅₄ 線量は 23–30 mJ/cm² と、互いに最大 1.3 倍程度の差であり、分布幅は遊離塩素より小さかった。4log 不活化に必要なオゾンの CT 値は塩素に比べて非常に小さく、0.10–0.45 mg·sec/L で、エンテロウイルス内で 4.5 倍程度の差があった。以上から、多様なウイルスが含まれる環境水を消毒する際には、特に、遊離塩素において、耐性分布幅を算入した不活化予測モデルを使用する必要がある。

E. 結論

ウイルスの表流水中存在形態に着目して、全国の水道水源における病原ウイルスおよび PMMoV 濃度を調査した。その結果、ノロウイルス GII が胃腸炎の非流行期は 10% の試料から検出され（濃度の幾何平均値：2.9 log copies/L）、流行期は 48% の試料で陽性だった（3.8 log copies/L）。ロタウイルス A は、非流行期・流行期に関わらず比較的高い検出率であり（67, 81%）、濃度の幾何平均値はそれぞれ、3.8, 4.3 log copies/L だった。PMMoV は、高頻度（81–95%）かつ高濃度（4.9–5.1 log copies/L）で含まれており、病原ウイルスよりも濃度が概ね高かった。PMMoV は、都市排水を含む水源において濃度の季節変動が小さかった。以上の結果から、PMMoV は表流水を水源とする浄水場のウイルス除去指標として有用であることをサポートするデータが蓄積された。

浄水場 B において、PCR 法にて評価した凝集–MF 膜ろ過処理による PMMoV の除去率は 0.6–1.5 log であり、除去率の平均値は 1.0 log であった。この値は、浄水場 B の凝集–MF 膜ろ過処理を模した室内実験において得られた PMMoV の除去率と同程度であったことから、実浄水場におけるウイルスの除去率を、室内実験により再現できることが示された。

水環境中に存在するエンテロウイルスの遺伝子型内では、UV₂₅₄ 耐性に大きな違いは見られな

かった一方で、遊離塩素やオゾンの耐性は大きく異なることが明らかになった。実際の水環境中には多様なウイルスが含まれるため、その耐性分布幅を算入した不活化予測モデルを使用する必要がある。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 三浦尚之, 儀間ありさ, 徳安真理奈, 秋葉道宏. 水道原水中ウイルスモニタリングのための効率的なウイルス濃縮方法の検討 第 56 回環境工学研究フォーラム講演集 .B35, 2019 .
- 2) 三浦尚之, 徳安真理奈, 前田暢子, 吉田伸江, 越後信哉, 秋葉道宏. 全国の水道原水における腸管系ウイルスおよびトウガラシ微斑ウイルスの存在実態調査 . 第 54 回日本水環境学会年会講演集, 386, 2020 .
- 3) Shirakawa, D., Shirasaki, N., Yamashita, R., Koriki, S., Matsumura, T., Matsushita, T., Matsui, Y. Evaluation of virus removal efficiency in an actual drinking water treatment plant by using a novel virus concentration method and pepper mild mottle virus as a process indicator. Water and Environment Technology Conference 2019, Suita, Japan, 13–14 July 2019.
- 4) 白川大樹, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦. 外来遺伝子を封入した人工合成ウイルス様粒子の創製：培養困難なノロウイルスの浄水処理性評価への適用 . 第 54 回日本水環境学会年会, 盛岡, 2020/3/16–18 .
- 5) 松村拓哉, 高力聡史, 白川大樹, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦. 凝集–膜ろ過処理を導入した実浄水処理場におけるウイルスの処理性評価 . 第 27 回衛生工学シンポジウム, 札幌, 2019/11/8–9 .
- 6) 鳥居将太郎, 板持雅恵, 片山浩之. 同種ウイルスの遊離塩素消毒耐性分布幅を考慮した不活化予測モデルの提案 . 令和元年度水道研

究発表会 , 8-37 , 2019 .

- 7) Torii S, Itamochi M, Katayama H. Intra-Enterovirus B and intratypic variability in free chlorine resistance. 第 67 回日本ウイルス学会 学術集会 , O3-4-12 , 2019 .
- 8) 鳥居将太郎 , 板持雅恵 , 片山和彦 , 片山浩之 . エンテロウイルス野生株の遊離塩素 , 紫外線 , オゾン処理に対する耐性分布幅の評価 . 第 54 回水環境学会年会 , 1-E-12-1 , 2020 .
- 9) 鳥居将太郎 , 片山浩之 . CQFS を用いたオゾン処理によるウイルス不活化速度の解析 . 日本オゾン協会 第 29 回年次研究講演会 , 2020 .
- 10) Torii S, Itamochi M, Katayama H. Variability of free chlorine resistance among *Enterovirus B* strains leads to insufficient inactivation in drinking water, 20th International Symposium on Health Related Water Microbiology, Vienna, Austria, 2019.

H. 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

I. 参考文献

- 1) Symonds, E.M., Nguyen, K.H., Harwood, V.J., Breitbart, M. Pepper mild mottle virus: A plant pathogen with a greater purpose in (waste)water treatment development and public health management. *Water Res.* 144, 1-12, 2018.
- 2) Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y. and Murai, K. Assessment of the efficacy of membrane filtration processes to remove human enteric viruses and the suitability of bacteriophages and a plant virus as surrogates for those viruses. *Water Res.* 115: 29-39, 2017.
- 3) Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y. and Yamashita, R. Evaluation of the suitability of a plant virus, pepper mild mottle virus, as a surrogate of human enteric viruses for assessment of the efficacy of coagulation-rapid sand filtration to remove those viruses. *Water Res.* 120: 460-469, 2018.
- 4) Cromeans, T.L., Kahler, A.M., Hill, V.R. Inactivation of adenoviruses, enteroviruses, and murine norovirus in water by free chlorine and monochloramine. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 1028-1033, 2010.
- 5) Thurston-Enriquez, J.A., Haas, C.N., Jacangelo, J., Gerba, C.P. Inactivation of enteric adenovirus and feline calicivirus by ozone. *Water Res.* 39, 3650-3656, 2005.
- 6) Gerba, C.P., Gramos, D.M., Nwachuku, N., Comparative inactivation of enteroviruses and adenovirus 2 by UV light. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 5167 LP - 5169, 2002.
- 7) Sanjuan, R., Nebot, M.R., Chirico, N., Mansk y, L.M., Belshaw, R. Viral mutation rates, *J. Virol.* DOI:10.1128/JVI.00694-10.
- 8) Miura, T., Gima, A., Akiba, M. Detection of norovirus and rotavirus present in suspended and dissolved forms in drinking water sources. *Food Environ Virol.* 11(1), 9-19, 2019.
- 9) Katayama, H., Shimasaki, A., Ohgaki, S. Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and norwalk virus from coastal seawater. *Appl Environ Microbiol.* 68(3), 1033-9, 2002.
- 10) Torii, S., Hashimoto, T., Do, A.T., Furumai, H., Katayama, H. Impact of repeated pressurization on virus removal by reverse osmosis membranes for household water treatment. *Environ. Sci. Water Res. Technol.* 5, 910-919, 2019.
- 11) Meister, S., Verbyla, M.E., Klinger, M., Kohn, T. Variability in disinfection resistance between currently circulating Enterovirus B serotypes and strains. *Environ. Sci. Technol.* 52, 3696-3705, 2018.
- 12) 秋葉道宏 , 三浦尚之 . 水道水源における病原ウイルス汚染の実態調査 , 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) 「水道水質の評価及び管理に関する総合研究」平成 30 年度研究報告書 , 55-63 , 2019 .

- 13) 国立感染症研究所．病原微生物検出情報，ノロウイルス等検出状況 2019/20 シーズン（2020年2月19日現在報告数，<https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-noro.html>）

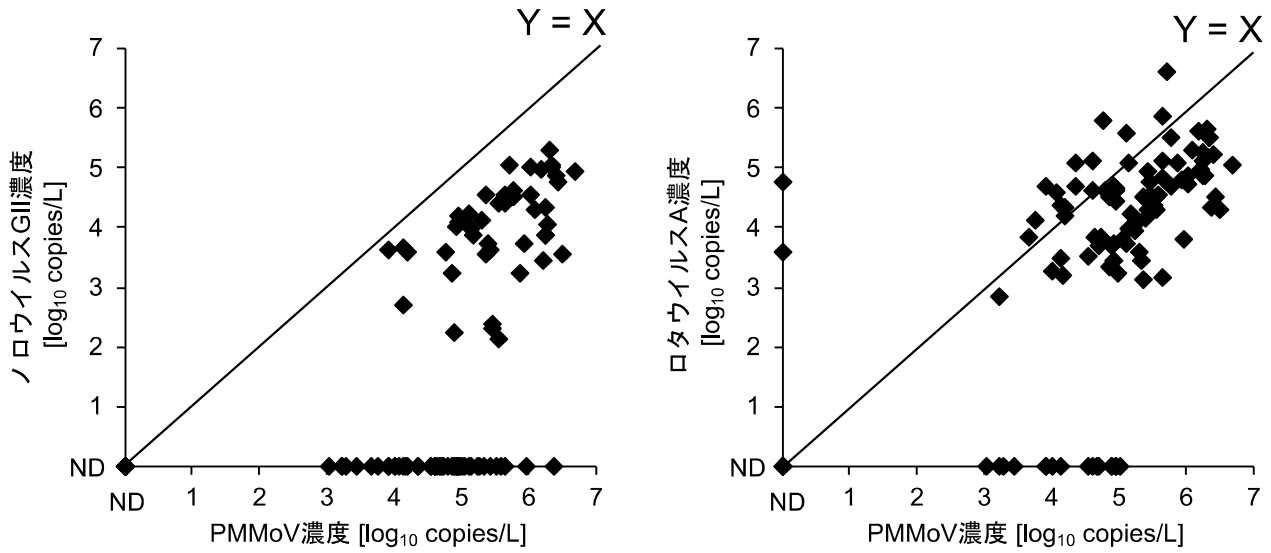


図1．水道原水中の病原ウイルスと PMMoV 濃度の関係。2018年1月から2020年1月に採水された合計105試料のデータをプロットした。

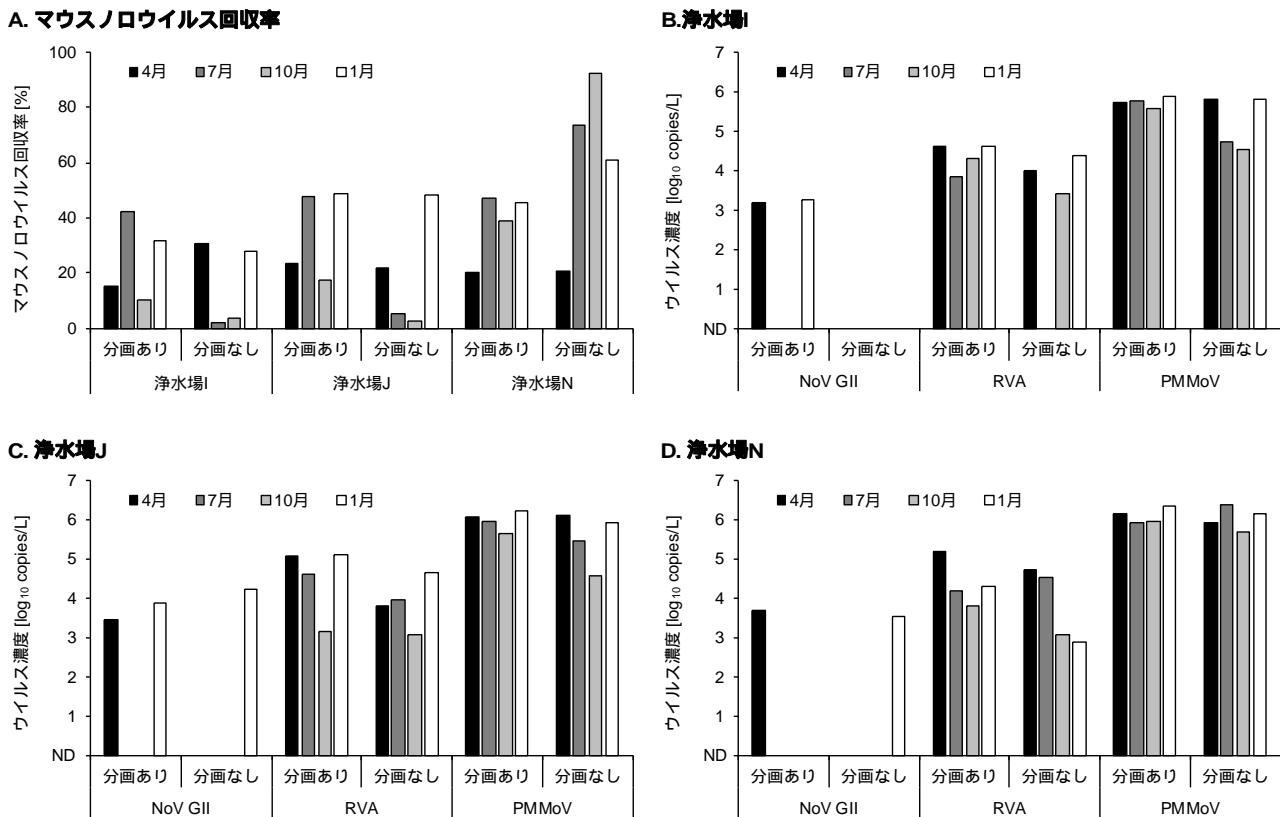


図2．水道原水中の病原ウイルスと PMMoV の濃度変動。A: 各試料からのマウスノロウイルス回収率，B～D: 浄水場I，J，Nにおけるウイルス濃度。NoV GII: ノロウイルス GII，RVA: ロタウイルス A。

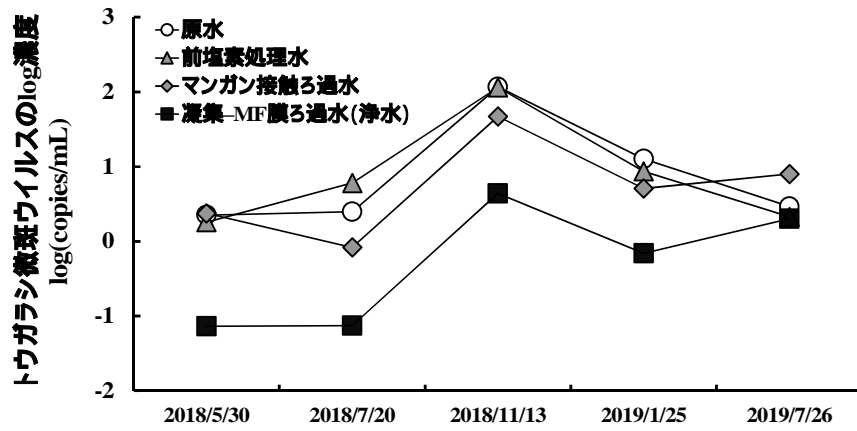


図3 . 浄水場 B の各処理工程水におけるトウガラシ微斑ウイルス濃度

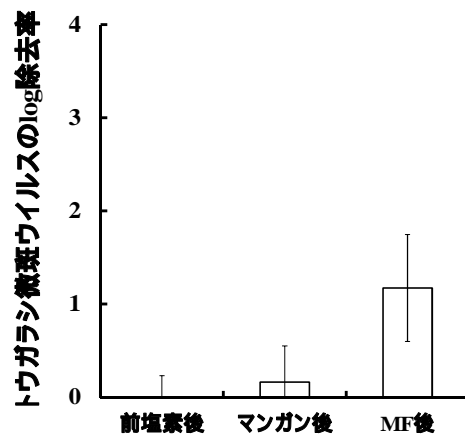


図4 . 浄水場 B におけるトウガラシ微斑ウイルスの除去率。各値は 5 回の採水の平均値を示した。

令和元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）
「化学物質等の検出状況を踏まえた水道水質管理のための総合研究」
分担研究報告書

微生物（細菌）に関する研究
レジオネラ汚染に対する従属栄養細菌の指標性に関する検討

研究分担者	秋葉道宏	国立保健医療科学院 生活環境研究部
研究協力者	大河内由美子	麻布大学 生命環境科学部
	浅田安廣	国立保健医療科学院 生活環境研究部
	中西智宏	京都大学大学院 工学研究科

研究要旨

水道システムの細菌汚染問題、特にレジオネラ汚染に関連する文献調査ならびに実態調査を行った。まず、生物活性炭処理での細菌挙動に関する情報を整理し、バイオフィルムが形成している生物活性炭層(BAC)内には、レジオネラ属菌やマイコバクテリウム属菌などの細菌が定着・再増殖し、処理水へ流出していく可能性が指摘された。続いて、従属栄養細菌数とレジオネラ汚染の関係性に関する文献考察を行い、HPC によるレジオネラ陽性判定が可能とした報告が確認されたものの、相反する報告も多数あり、各給水システム特性の影響を排除可能な評価法の確立が求められる。最後に山間部の小規模な配水区域で実施したレジオネラ属菌の実態調査において、管網の流下過程での遊離残留塩素の減少に従ってレジオネラ属菌や従属栄養細菌数が増加していることが確認され、残留塩素の管理の重要性を改めて指摘した。

A. 研究目的

水道水の微生物学的安全性の持続的な確保を目指すため、水道システムの微生物汚染問題、特に細菌による汚染に着目し、関連する文献調査ならびに実態調査を行った。なお、本研究では細菌汚染として従属栄養細菌、そして再増殖可能な病原細菌としてレジオネラ属菌に着目している。

具体的には文献調査について、浄水処理システムにおいて生物活性炭処理に着目し、生物活性炭処理での細菌挙動に関する情報を整理した。

続いて、水質管理目標設定項目である従属栄養細菌数（以下 HPC，暫定値：2000 CFU/mL 以下）とレジオネラ汚染に関する関係性を定量的に評価した既往文献の調査を行った。

実態調査について、小規模な配水区域を対象として、遺伝子レベルでのレジオネラ属菌の存在量を定量化し、残留塩素濃度や従属栄養細菌数との関連を評価した。

B. 研究方法

生物活性炭に関連する文献調査では、J-Stage、CiNii 等の論文検索サイト及び Google を用いたインターネット検索、水道研究発表会講演集、水道協会雑誌等の専門誌等を対象とした書籍検索を行った。HPC とレジオネラ汚染に関連する文献調査では、主に 2008 年以降に出版された文献を対象として調査を行った。

実態調査では、急速ろ過プロセスを実施する A 浄水場の給水エリアのうち、山間部の小規模な配水区域を調査区域とした。対象地域の管網形状と採水地点を図 1 に示す。配水池～末端に至るまでの 6 地点を採水地点とし、配水池、屋外の給水栓（3 箇所）、末端ドレン（2 箇所）からチオ硫酸ナトリウム溶液の入ったガラス瓶に水道水 2～3 L を採水した。採水期間は 2019 年 5～9 月、12 月であり、全 8 回行った。

試料 1～2L を孔径 0.2 μm のポリカーボネート

製ろ紙でろ過し、DNeasy PowerWater Kit (QIAGEN)を用いてDNAを抽出した。抽出したDNA試料に対して、レジオネラ属菌と中でも病原性を持つとされる *Legionella pneumophila* (以降 *L. pneumophila* と記載)の遺伝子数を定量PCR法で測定した。増幅対象領域は既報^{1, 2)}に示す通りである。定量PCRには StepOnePlus™ RealTime PCR System (Applied Biosystems)を用いた。また自由生活性アメーバの存在の可能性を把握するため、18S rRNA 遺伝子³⁾の検出を行った。

その他の測定項目として、各地点の遊離残留塩素濃度をハンディ水質計(アクアブ AQ-201 型)で測定した。従属栄養細菌数は検水 1~10 mL を滅菌済みメンブレンフィルターにろ過後、R2A 寒天培地(ダイゴ, 日本製薬)に貼付して 20℃ で培養した。なお、損傷状態の細菌や増殖速度の遅い細菌類まで検出するため、培養期間を通常の 7 日間から 21 日間に延長した。

C. 結果及び D. 考察

1. 生物活性炭処理での細菌挙動に関する文献調査

生物活性炭(BAC)中にはアンモニア態窒素の生物分解に寄与する硝化細菌など、処理を補助する機能性微生物が存在している。細菌の活性炭への付着能力は、各細菌が有する性質に依存するものと考えられ、特にグラム陰性細菌は陽性細菌より活性炭に対する付着能が高い傾向を示している⁴⁾。そして、BACとしての機能を有する活性炭粒子への付着細菌として *Pseudomonas* 属、*Bacillus* 属、*Micrococcus* 属等が確認されている⁵⁻⁷⁾。

BAC 前後での微生物挙動において、オゾン処理 - BAC 処理の組み合わせにおいて、オゾン処理水に比べ BAC 処理水で HPC が高い傾向が確認されており^{8,9)}、BAC で増殖した細菌が処理中に流出しているといえ、後段処理に細菌制御に必要な処理を加える必要がある。

再増殖可能な病原細菌の一つであるレジオネラ属菌に着目した場合、粒状活性炭(GAC)に微生物群の定着が進みバイオフィームが発達すると *L. pneumophila* は GAC 上に定着し、増殖したこと

を確認している。さらに、*L. pneumophila* が GAC 粒子内よりもバイオフィーム内での増殖率が高く、バイオフィームが *L. pneumophila* の生育環境として重要であることを示している¹⁰⁾。また中国のオゾン処理 + BAC 処理を含む実処理施設において、オゾン処理水と比較して BAC 処理水でレジオネラ属菌遺伝子数が増加しており、また BAC 層内にもレジオネラ属菌遺伝子が検出された¹¹⁾ことから、BAC 層内でレジオネラが再増殖し、さらに処理水に流出する可能性がある。また BAC 層通過水に含まれる微生物のバイオフィームへの定着実験より、BAC 層通過水に由来するレジオネラ属菌のほか *Acanthamoeba* 属、*Mycobacterium* 属菌、*Hartmannella vermiformis* といった微生物が自然定着¹²⁾し、BAC がこのような微生物の定着・発生源となる可能性を示している。そのため、BAC 処理を適用する場合、後段での再凝集、砂ろ過処理の配置や塩素消毒の徹底など微生物の流出防止を含む適切な施設運用が重要である。

2. 従属栄養細菌数とレジオネラ汚染の関係性に関する文献調査

ここで取り上げた文献情報を表 1 にまとめて示す。HPC は各種の培地を用いてさまざまな培養条件(温度・時間)で測定されている点に注意が必要である。

既往文献調査の結果、HPC レベルとレジオネラ属菌数またはその陽性率の間の関係については、相反する報告が出されており、議論継続中であることがわかった。HPC によるレジオネラ陽性判定が可能とした報告では、そのカットオフ値として 27~150 CFU/mL が提案されており、現在の日本の水質管理目標値(2000 CFU/mL(暫定))と比較して極めて低い点にも注目すべきである。HPC の測定法(使用培地、培養温度、培養期間)が研究者ごとに異なるため、各培地や培養温度における HPC 検出特性が影響している可能性がある。収集した文献は、各建物内の温水供給システムを対象とした実態調査の結果に基づいているため、微生物学的パラメータ以外にも水温や残留塩素濃度、その他の水質因子、配管長、設置年数やその状態、

配管材質といった複数の要因が重なり合っており、あるシステムを対象として得られた両者の関係性はそのシステムにのみ特異的と考えるのが妥当であるといえる。よって、HPC とレジオネラ汚染の関係性を定量的に評価するためには、少なくとも配管や塩素消毒の影響を排除した試料を用いて、水温等をコントロール可能な条件下で HPC の変動とレジオネラ再増殖を調べることが望ましいと考えられる。

3. 配水システムにおけるレジオネラ属菌の分布

表 2 にレジオネラ属菌、*L. pneumophila*、18S rRNA 遺伝子の検出・定量結果を示す。流下過程での残留塩素濃度の低下(図 1)に応じて従属栄養細菌が増加している様子が確認された。これより、対象管網の末端地域においては残留塩素の低下によって生物膜が形成していると考えられる。

次にレジオネラ属菌は地点 1 では検出せず、上流部の地点 2, 3 でそれぞれ 57, 43%、下流部(地点 4~6)では 100%の検出率であった。また陽性試料の遺伝子濃度は上流部よりも下流部の方が高濃度であった。*L. pneumophila* は多くが LOQ 未満であったものの各地点で 14~75%の割合で検出された。18S rRNA 遺伝子の検出率は上流(地点 1~3)で 14~38%、下流部(地点 4~6)ではいずれも検出率 100%であり、流下過程で検出率は増加した。

以上を踏まえれば、給水分岐前の配水管内においても、特に残留塩素濃度の低い管網末端部を中心にレジオネラが存在することが示された。さらに、残留塩素濃度と HPC、レジオネラ属菌との関係を図 2 に示す。遊離塩素が 0.4 mg/L 以上の試料では 1 つを除いた全試料で LOQ 未満となった。また遊離塩素が 0.9~1.2 mg/L の試料では約 70% が qPCR でも不検出であった。これより遺伝子レベルではあるがレジオネラを制御するためには高濃度の遊離塩素の残留が必要といえる。

E. 結論

E1. 配水システムにおけるレジオネラ属菌の分布
・BAC 層の中でレジオネラ属菌やマイコバクテリウム属菌が定着・再増殖する可能性があり、BAC 処理後にこれらの細菌の流出防止を含む適切な施設運用が重要であることを指摘した。

・HPC によるレジオネラ陽性判定が可能とした報告が確認されたが、HPC レベルとレジオネラ属菌数またはその陽性率の間の関係については、議論継続中であることが明らかとなった。これらの情報に基づき、HPC とレジオネラ汚染の関係性を定量的に評価するための、各給水システムごとに異なる特性の複合的影響をできるだけ排除可能な実験方法の検討が必要であることを指摘した。

・山間部に位置する小規模な配水区域において、管網の流下過程での遊離残留塩素の減少に従ってレジオネラ属菌や従属栄養細菌数が増加していることが確認された。また遊離残留塩素が 0.4 mg/L 以上の大半の試料で定量下限未満であったことから、残留塩素の管理の重要性を改めて指摘した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

- 1) 廣瀬円, 中西智宏, 浅田安廣, 伊藤禎彦: 配水末端地域における水道水中レジオネラ属菌の分布調査, 第 54 回日本水環境学会年会講演集, p. 53, 2020.

H. 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

I. 参考文献

- 1) Lu, J., Struewing, I., Yelton, S. and Ashbolt, N. Molecular survey of occurrence and quantity of *Legionella* spp., *Mycobacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa* and amoeba hosts in municipal drinking water storage tank sediments. *J. Appl. Microbiol.*, 119(1), 278–288, 2015.
- 2) Nazarian, E. J., Bopp, D. J., Saylors, A., Limberger,

- R. J. and Musser, K. A. Design and implementation of a protocol for the detection of *Legionella* in clinical and environmental samples. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 62 (2), 125-132, 2008.
- 3) Thomas, V., Herrera-Rimann, K., Blanc, D. S. and Greub, G. Biodiversity of amoebae and amoeba-resisting bacteria in a hospital water network. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72 (4), 2428-2438, 2006.
 - 4) 金周永, 杉浦則夫, 伏見聡, 稲森悠平, 西村修, 須藤隆一. 生物活性炭における細菌の付着能と高濃度基質分解特性. 日本水処理生物学会誌, 30(1), 49-56, 1994.
 - 5) Camper, A. K., LeChevallier, M. W., Broadaway, S.C., and McFeters, G.A. Bacteria associated with granular activated carbon particles in drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 52, 434-438, 1986.
 - 6) Brewer, W. S. and Carmichael, W. W. Microbial characterization of granular activated carbon filter systems. *Journal of the American Water Works Association*. 71, 738-740, 1979.
 - 7) Tobin, R. S., Smith, D. K., and Lindsay, J. A. Effects of activated carbon and bacteriostatic filters on microbiological quality of drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* 41, 646-651, 1981.
 - 8) 川西敏雄, 堤行彦, 杉本隆仁. 高度浄水処理における生物活性炭処理と活性炭吸着池の構造について. 環境技術, 17(9), 575-578, 1988.
 - 9) 大河内由美子, 石川卓, 高橋恭介, 伊藤禎彦. 水環境におけるエンドトキシンの変動要因と浄水処理過程におけるエンドトキシン除去特性. 環境工学研究論文集, 44, 247-254, 2007.
 - 10) Sharma, H. Colonization of Granular Activated Carbon Media Filters by *Legionella* and Heterotrophic Bacterial Cells. Masters Thesis, Arizona State University, 2014.
 - 11) Li, Q., Yu, S., Li, L., Liu, G., Gu, Z., Liu, M., Liu, Z., Ye, Y., Xia, Q. and Ren, L. Microbial communities shaped by treatment processes in a drinking water treatment plant and their contribution and threat to drinking water safety. *Front. Microbiol.*, 8, 2465, 1-16, 2017.
 - 12) Wang, H., Pryor, M. A., Edwards, M. A., Falkinham III, J. O. and Pruden, A. Effect of GAC pre-treatment and disinfectant on microbial community structure and opportunistic pathogen occurrence. *Water Res.*, 47(15), 5760-5772, 2013.
 - 13) Edagawa, A., Kimura, A., Doi, H., Tanaka, H., Tomioka, K., Sakabe, K., Nakajima, C., and Suzuki, Y. Detection of culturable and nonculturable *Legionella* species from hot water systems of public buildings in Japan. *J. Appl. Microbiol.* 105(6), 2104-2114, 2008.
 - 14) Bargellini, A., Marchesi, I., Righi, E., Ferrari, A., Cencetti, S., Borella, P., and Rovesti, S. Parameters predictive of *Legionella* contamination in hot water systems: association with trace elements and heterotrophic plate counts. *Water Res.* 45(6), 2315-2321, 2011.
 - 15) De Filippis, P., Mozzetti, C., Amicosante, M., D'Alò, G. L., Messina, A., Varrenti, D., Giammattei, R., Di Giorgio, F., Corradi, S., D'Auria, A., Fraietta, R., and Gabrieli, R. Occurrence of *Legionella* in showers at recreational facilities. *J. Water Health*, 15(3), 402-409, 2017.
 - 16) De Filippis, P., Mozzetti, C., Messina, A., D'Alò, G.L. Prevalence of *Legionella* in retirement homes and group homes water distribution systems. *Sci. Total Environ.*, 643, 715-724, 2018.
 - 17) Ghanizadeh, G., Mirmohamadlou, A., and Esmaeli, D. Predictive parameters of *Legionella pneumophila* occurrence in hospital water: HPCs and plumbing system installation age. *Environ. Monit. Assess.*, 188(9),

536. 2016.

- 18) Völker, S., Schreiber, C., and Kistemann, T. Modelling characteristics to predict *Legionella* contamination risk - Surveillance of drinking water plumbing systems and identification of risk areas. *Int. J. Hyg. Environ. Health.*, 219(1), 101-109, 2016.
- 19) 大屋日登美, 鈴木美雪, 政岡智佳, 中嶋直樹, 古川一郎, 前川純子, 倉文明, 泉山信司, 黒木俊郎. 医療機関の給水設備におけるレジオネラ属菌の汚染実態. *感染症学雑誌*, 92(5), 678-685, 2018.
- 20) Wiik, R. and Krøvel, A.V. Necessity and effect of combating *Legionella pneumophila* in municipal shower systems. *PLoS One.*, 9(12), e114331, 2014.
- 21) Pierre, D., Baron, J.L., Ma, X., Sidari III, F.P., Wagener, M.M., and Stout, J. E. Water quality as a predictor of Legionella positivity of building water systems. *Pathogens*, 8(4), 295, 2019.
- 22) Duda, S., Baron, J.L., Wagener, M.M., Vidic, R.D., Stout, J.E. Lack of correlation between *Legionella* colonization and microbial population quantification using heterotrophic plate count and adenosine triphosphate bioluminescence measurement. *Environ. Monit. Assess.*, 187(7), 393, 2015.

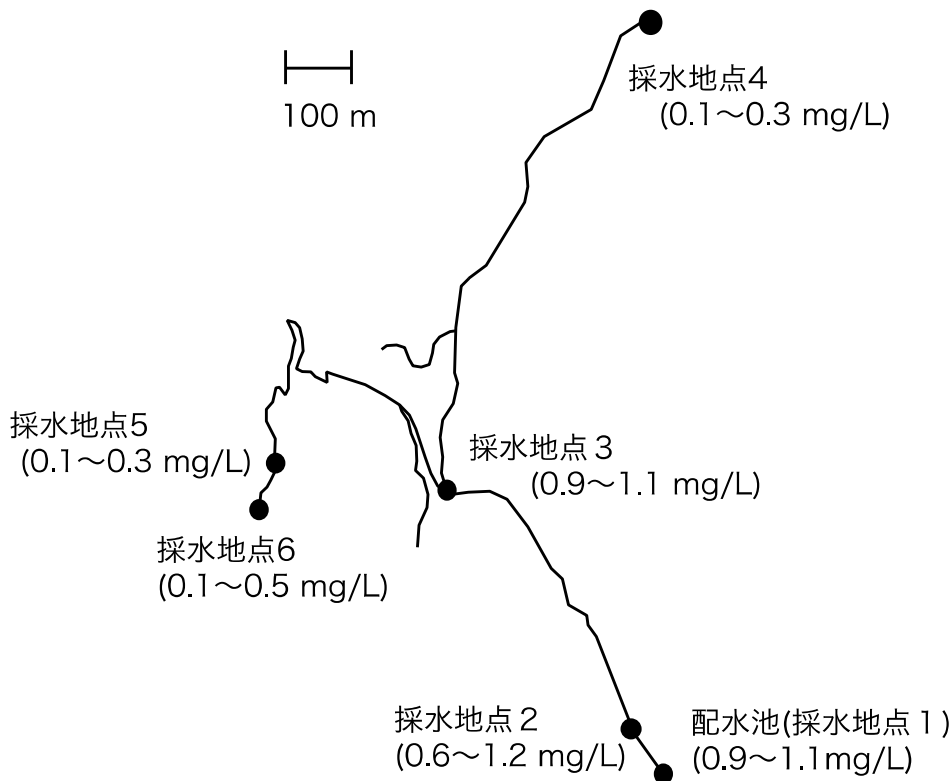


図1 調査区域の管網形状と採水地点ごとの遊離残留塩素濃度

表1 既往研究(2008以降)で報告された給水システムにおけるレジオネラ汚染と従属栄養細菌数の定量的評価の一覧

文献名	Edagawa et al. (2008) ¹³⁾	Bargellini et al. (2011) ¹⁴⁾	De Filippis et al. (2017) ¹⁵⁾	De Filippis et al. (2018) ¹⁶⁾	Ghanizadeh et al. (2016) ¹⁷⁾
対象システム	温水供給システム	温水供給システム	温水供給システム	温水供給システム	病院の給水栓水(冷水・温水)
レジオネラ検出方法・検出種	培養法/ qPCR法・レジオネラ属菌	培養法・ <i>L. pneumophila</i>	培養法・ <i>L. pneumophila</i>	培養法・ <i>L. pneumophila</i>	培養法・ <i>L. pneumophila</i>
HPC測定用培地	R2A寒天培地	標準プレートカウント培地	標準プレートカウント培地	標準プレートカウント培地	R2A寒天培地
HPC培養条件	30 °C, 7 days	37 °C・48 hr以上 22 °C・72 hr以上	37 °C・48 hr以上 22 °C・72 hr以上	37 °C・48 hr以上 22 °C・72 hr以上	35±0.5 °C, 48±2 hr
レジオネラ汚染とHPCの関係	陽性試料のHPC: 2.8 ± 8.8 × 10 ⁴ CFU/mL 陰性試料のHPC: 0.6 ± 2.9 × 10 ⁴ CFU/mL (p<0.05)	レジオネラ陽性に対する カットオフ値: HPC(22°C)→27CFU/mL HPC(37°C)→150CFU/mL	HPC(37°C)<10 CFU/mLの 場合, レジオネラ陽性率 が有意に低い	HPC(22°C)が10~300 CFU/mLの時, レジオネラ陽性率が有意 に高い	HPC>500 CFU/mLでは <i>L. pneumophila</i> が再増殖 (1000 CFU/L)
	Völker et al. (2016) ¹⁸⁾	大屋ら (2018) ¹⁹⁾	Wilk&Krøvel (2014) ²⁰⁾	Duda et al. (2015) ²¹⁾	Pierre et al. (2019) ²²⁾
対象システム	給水システム(冷水・温水・混合水)	医療機関給水設備	温水供給システム	冷却塔水・シャワー水(飲用水)	温水供給システム
レジオネラ検出方法・検出種	培養法・レジオネラ属菌	培養法/LAMP法・レジオネラ属菌	培養法・ <i>L. pneumophila</i>	培養法・レジオネラ属菌	培養法・レジオネラ属菌
HPC測定用培地	DEV培地	R2A培地	プレートカウント培地	R2A寒天培地	R2A寒天培地
HPC培養条件	36 °C・44±4 hr 20 °C・44±4 hr	20 °C, 7 days	37 °C・48 hr	36 °C, 5 days	35±0.5 °C, 48±3 hr
レジオネラ汚染とHPCの関係	100 CFU/mL超のHPC(20 °C)のみがレジオネラ汚染を精度良く予測可能	単変量ロジスティック回帰では, レジオネラ検出(培養+DNA)とHPCに正の関連あり	開栓直後の水でも30秒流した後のシステム水でも, レジオネラ汚染とHPCの間の相関は極めて低い	飲用水ではレジオネラ陽性試料を64%判別可能, しかし偽陽性率も高い	HPCとレジオネラ陽性率には明確な相関なし

表 2 調査配水区域におけるレジオネラと関連項目の検出状況

採水 地点	従属栄養細菌		レジオネラ属菌		<i>L. pneumophila</i>		18S rRNA
	検出率* (%)	濃度 (log CFU/L)	検出率* (%)	濃度** (log copies/L)	検出率* (%)	濃度** (log copies/L)	検出率* (%)
地点 1	25 (2/8)	3.3, 3.9	0 (0/8)	<LOQ (0/0)	25 (2/8)	<LOQ (0/2)	38 (3/8)
地点 2	100 (7/7)	3.2~4.2	57 (4/7)	<LOQ (0/4)	43 (3/7)	<LOQ (0/3)	14 (1/7)
地点 3	100 (7/7)	3.6~4.7	43 (3/7)	<LOQ (0/3)	14 (1/7)	<LOQ (0/1)	29 (2/7)
地点 4	100 (8/8)	4.8~5.6	100 (8/8)	3.4~4.0 (7/8)	75 (6/8)	3.0~3.1 (3/6)	100 (8/8)
地点 5	100 (7/7)	3.9~5.6	100 (7/7)	3.0~4.2 (7/7)	29 (2/7)	<LOQ (0/2)	100 (7/7)
地点 6	100 (8/8)	4.9~5.6	100 (8/8)	3.0~4.4 (8/8)	50 (4/8)	<LOQ (0/4)	100 (8/8)

* ()内は陽性数/検体数

** LOQ 以上の試料での濃度範囲。()内は>LOQ の試料数/陽性数

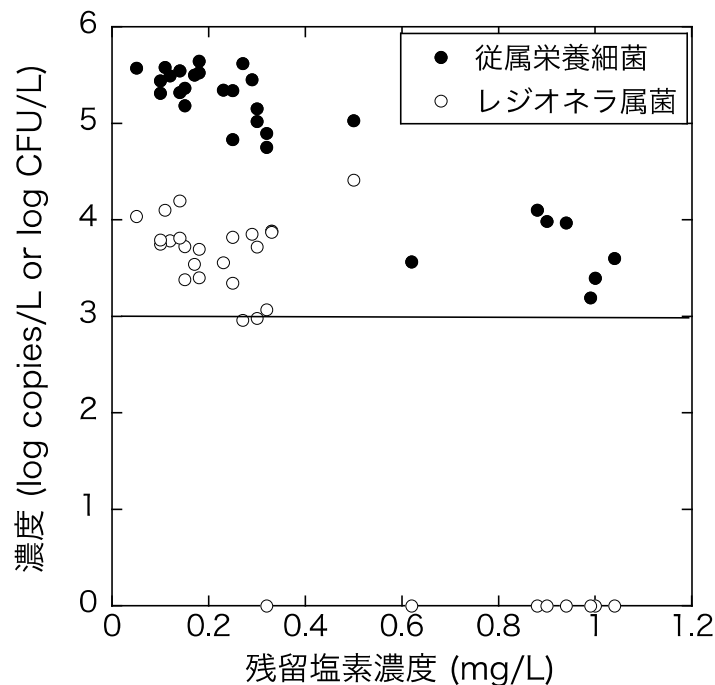


図 2 遊離残留塩素濃度と従属栄養細菌/レジオネラ属菌の関係
(実線はレジオネラの定量下限。定量下限未満の検出データは全て 0 log copies/L と表示)

令和元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）

化学物質等の検出状況を踏まえた水道水質管理のための総合研究

研究代表者 松井 佳彦（北海道大学大学院工学研究院）

微生物(寄生虫等)に関する研究

全国の水道原水と一部の下水処理水におけるクリプトスポリジウム、ジアルジアの検出状況

研究分担者	泉山 信司	(国立感染症研究所寄生動物部)
研究協力者	井上 亘	(兵庫県立健康科学研究所健康科学部)
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	鎌田 智子	(神奈川県内広域水道企業団技術部)
研究協力者	古川 紗耶香	(青森市企業局水道部)
研究協力者	田部井 由紀子	(東京都健康安全研究センター環境衛生研究科)
研究協力者	黒木 俊郎	(岡山理科大学獣医学科)
研究協力者	中嶋 直樹	(神奈川県衛生研究所)

研究要旨

国内のクリプトスポリジウムとジアルジアの汚染状況を理解するため、全国の水道原水における検出報告の確認と、一部の下水処理水の検査を行った。水道原水は、飲料水健康危機管理実施要領に基づき報告された平成 20～30 年(2008～2018)の検出を、地図上にプロットした。水道原水から年 50 件ほどの汚染が報告され、11 年間にクリプトスポリジウムは 618 件、ジアルジアは 573 件あった。うち、被圧地下水からの検出が 7 件あり、深井戸であっても汚染が報告されていた。地図上では関東地方に検出が多かったものの、全国的な分布を示し、場所によらず汚染に注意を要すると考えられた。下水処理水は兵庫県内の下水道事業体の協力を得て、2018 年から 2019 年の期間に、計 22 箇所から 137 試料を検査した。浅井戸の水を塩素処理だけで給水している 1 地域と、深井戸から取水し塩素処理だけで給水している 1 地域の、下水処理水 3 試料からクリプトスポリジウムが検出された。ジアルジアは、浄水処理や地域に関係なく、32 試料と多数であった。対象地域内ではこの期間に患者届出がなかった。一定の条件が満たされれば、下水の検査はその地域の感染状況を把握できる方法として、有用と考えられた。

A. 研究目的

非血性の水様下痢を呈するクリプトスポリジウム症とジアルジア症は、糞口感染し、塩素消毒に抵抗性があることから、水道水を介した感染が生じて問題となる。国内では、クリプトスポリジウム

による集団感染が町水道と貯水槽水道、ジアルジアは貯水槽水道において発生している^{1, 2)}。近年では欧州最大規模のクリプトスポリジウム水系集団感染が報告され、これらの対策が必要であることに、未だ変わりがない³⁾。

対策の必要性や程度を考える上で、汚染実態の把握は基本である。ところが、クリプトスポリジウム症とジアルジア症は 5 類感染症の全数届出疾患であるにも関わらず、ネグレクトされ⁴⁾、病院での検査はほとんどなされない。前者は例年 10 件程度、後者は 70 件程度と少なく、届け出数では患者数を過小評価している恐れがある^{5, 6)}。届出報告は海外に比べて非常に少なく、多くの工業先進国で 10 万人あたり年に 1~10 の報告に対して、国内は 0.01~0.1 程度に留まる⁷⁾。もし病院や患者負担をかけずに発生動向を追跡するなら、下水を調査すれば、その地域内の感染者の有無を捉えることができる可能性がある⁸⁾。

クリプトスポリジウムとジアルジアは世界のどこにでもいる、コピキタスな病原体であることが知られている⁴⁾。海外の河川の状況については、クリプトスポリジウムは、不検出~ $0.05 \sim 8.4 \times 10^4$ 個/10L⁹⁾、あるいは予測モデルとして $10^{-5} \sim 10^3/10L$ の範囲にあり¹⁰⁾、ヒト由来の高濃度な汚染が人口の集中した地域で指摘されている。ジアルジアは、不検出~ $0.01 \sim 3.2 \times 10^4/10L$ の範囲で報告されている¹¹⁾。下水処理場が整備された日本国内でこれほどの高濃度に達するとは考えにくい、患者クラスターの発生や合流式下水道からの放流など、一時的な河川への汚染負荷は生じるかもしれない²⁷⁾。国内の水道原水では、やはり全国的に検出されているが、関東地方の河川が高濃度かつ高頻度で、その他の地域では無視できるような感覚を持たれる嫌がある¹²⁻¹⁴⁾。

水道分野のクリプトスポリジウムとジアルジアは、水質基準、水質管理目標設定項目、要検討項目のいずれでも無く、日本水道協会が集計している水道水質データベース¹⁵⁾に検査結果は含まれていない。本研究では最近になって、飲料水健康危機管理実施要領¹⁶⁾に基づいて、厚生労働省水道課に、検出が報告されていることを

見出した^{12, 13)}。この要領に従うと、水道原水又は水道(小規模水道を含む。)及び飲用井戸等から供給される飲料水において、クリプトスポリジウム等の塩素処理に耐性を有する病原生物を検出したら、健康に影響を及ぼす(おそれのある)水質事故の発生が確認された場合に準じて、厚生労働省の水道課宛に、直接の情報提供が求められている。そして集計表が、報告書の形式で公開されている^{12, 13)}。ここに全ての検出が報告されているとは限らないが、国内の水道原水の汚染状況に関しては、この報告が最も充実しているものと考えられる。

本研究は、これら原虫の汚染実態の把握を目的に、上記報告内容の検討と、下水の原虫調査を行うこととした。

B. 研究方法

クリプトスポリジウムとジアルジアの検出報告は、「水道水及び水道用薬品等に関する調査等一式業務報告書」より、「4. クリプトスポリジウム等の検出状況の整理」を参照した^{12, 13)}。

検出地点の住所や施設名は、Web のジオコーディングサービスを利用して、緯度経度に変換した^{8, 17-19)}。過半は一括で変換できたが、情報の過不足で変換できなかったものは、別の方法で変換するか、手作業で 1 件ずつ変換した。変換の誤りを確認するため、緯度経度から住所に逆変換し、都道府県の不一致や大きな位置のずれを探して、いくつかの誤りを修正した。地図上でプロットが重ならない様に、および特定の地点が強調されない様に、緯度経度に -0.25 から $+0.25$ の範囲で乱数 ($+RAND()/2-0.25$) を加えた。これは緯度と経度のいずれも、大雑把に 50km のずれに相当する。検出地点の住所と緯度経度は Excel 上で管理し、KML 形式に変換した^{8, 20)}。地理院地図の Web サービスに KML ファイルを適用して、地図上におよその報告地点をプロットした²¹⁾。

下水の検査は、水道水との関連性を考慮できるように、以下の条件で採水箇所を選定した。

1. 下水の供用区域と水道水の給水区域が重なり、複雑でないこと。
2. そこに供給されている水道水の想定されるリスク(原水や処理方法)が異なり、後で比較が可能になること。
3. 畜舎や動物施設の影響のないこと。

既報の方法に従い、様々な排水試料を収集した⁸⁾。浄水場の取水方法や浄水処理方法などは、書籍²²⁾や各水道事業体の水道ビジョン、水質検査計画などから収集した。2018年度は県内3市1町を選定し、それぞれ2箇所ずつの8箇所の下水処理場から試料を採取した。2019年度は7市2町の14の下水処理場から試料を採取した(表1, 2)。試料採取の頻度は月1回程度とし、2018年5月から2019年2月に計76検体、2019年6月から11月に計61検体を得た。

各下水道事業体の協力を得て、最終処理水10Lを、ポリ容器(ウォータータンク、アイリスオーヤマ)に採取した。半分の5Lを、日本水道協会推奨の試験方法で処理した²³⁾。すなわち、検体をPTFEメンブレンフィルターでろ過し、濃縮物をボルテックスミキサーで剥離してPET溶液に懸濁した。次に免疫磁気分離法を用いて、懸濁試料よりクリプトスポリジウムとジアルジアを精製した。精製試料(約220 µL)の半分を、免疫蛍光染色し(Easy-Stain, Bio Technology Frontier社)、ピニールフレーム²⁴⁾で顕微鏡標本を作成し、微分干渉蛍光顕微鏡を用いてオーシストとシストを計数した。

C. 結果及び考察

水道原水におけるクリプトスポリジウムおよびジアルジアの報告数は^{12, 13)}、年50件程度であった(図1)。グラフの線は2年間の区間平均で表したが、11年間の長期的な推移としては、若

干の下落傾向に見受けられた。排出される汚染の減少、あるいは利用する原水の切り替えといった改善によるのか、あるいは検査頻度や能力の低下によるのか、この報告数だけではこれ以上の情報がなく、理由は不明であった。計1,018件の報告の大部分は、汚染を受けやすい地表水、表流水、伏流水、浅井戸を水源としていた(表3)。通常は汚染がないと想定される、被圧地下水からの検出報告が7件あった(表3)。偽陽性、あるいは深井戸であっても汚染される可能性が考えられた。

クリプトスポリジウムの検出は11年間に618件あり、地図にプロットすると、北は北海道、南は沖縄まで、全国的に報告されていた(図2A)。検出の多くは関東地方に集中したが、その河川が畜産廃水に汚染されやすいこと、検査頻度が高いこと、などが理由と考えられた¹⁴⁾。検査能力やそもそもの検査の有無、汚染の強い河川水を避けられるといった水事情の違いも影響するかもしれない。水道原水に使われない河川の汚染実態は、この地図には反映されないことになり、地下水等の水の豊かな地域は検出報告が少ないかもしれない。

ジアルジアは、11年間に573件の報告があった。クリプトスポリジウムと同様に、全国的な分布を示し、大きな違いはなかった(図2B)。結果には示さないが、年単位の集中や増減といった傾向は認められなかった。

下水放流水の検査結果を表4, 5に示した。クリプトスポリジウムは2%(=陽性3/全試料137)の頻度で陽性となった(D1, E1)。陽性の2検体は浅井戸から取水、もう1検体は深井戸から取水し、塩素消毒だけで給水している地区の下水排水であった。適切なる過をしている地区の下水排水は、陰性であった。

水道協会の水道水質データベース¹⁵⁾によると、D1の浄水場の原水から大腸菌が検出されており、この浅井戸は表流水の影響を受けていた。

E1 の深井戸は、一般に汚染を受けない印象を持たれるかもしれないが、井戸のケーシングの不備や別の層にある地下水の浸透によって、汚染を受ける可能性がありえる。実際に深井戸からクリプトスポリジウム等の検出報告が複数あったのは前述の通りで、繰り返しになるが 2008～2018 年の間に被圧地下水からの検出が 7 件あり、注意を要した(表 3)。浄水からクリプトスポリジウムが検出されたわけではなく、また感染者が水道水から感染したとは限らず、因果関係は明らかではないが、ろ過をしていない井戸の水道水が、クリプトスポリジウム感染に関与した恐れが考えられた。そもそも、前者の浅井戸は大腸菌が検出され、リスクの高いことが判明しており、適切なる過あるいは紫外線処理を行うことが指針にある²⁵⁾。

ジアルジアは 25%(=32/127)の陽性率であった。全 22 処理場のうち、16 の処理場の排水から検出され、継続的な傾向にあった。これらの地区に給水する浄水場の原水や浄水処理の方法とは、何ら関係性が認められなかった。ジアルジア症の場合、旅行者下痢症などが多いこと、不顕性感染が多いこと、慢性化するなどして、シストを排出する期間がクリプトスポリジウムに比べて長いことなどが原因かもしれない。

下水の検査で陽性となった地区では、この期間に、感染症発生動向調査(NESID)へのクリプトスポリジウム症とジアルジア症の届出はなかった²⁶⁾。すべての下痢症を検査するのは現実的ではなく、すべての患者発生を把握できないのは致し方ない面がある。病院や患者の負担なく、その地域の感染を推定できる方法として、下水の検査は有用と考えられた。ちなみに、下水検査は濁質や脂肪があって困難なことが問題になるが、一方で排出源に近く高濃度な検査が有利といえる。この推定方法をより確実なものとするには、検査法を改良し、さらにデータを蓄積し、評価していく必要がある。

以上の通り水道原水には、クリプトスポリジウムとジアルジアの検出報告が多数あり、検出地点は全国的に分布することを理解した。調査地域は限定されるが、下水処理水からクリプトスポリジウムとジアルジアを検出した。元々、クリプトスポリジウム症とジアルジア症はユビキタスにどこでも認められる病気であり、南国や開発途上国に限って分布すると言ったような地域特異性は無い⁴⁾。仮に現在のある地域が清浄であっても、容易に病原体が持ち込まれる恐れが考えられる。場所によらず、汚染に注意を要すると考えられた。

D. 結論

水道原水から年 50 件ほどの汚染が報告され、11 年間にクリプトスポリジウムは 618 件、ジアルジアは 573 件あった。うち、被圧地下水からの検出報告が 7 件あり、井戸であっても汚染が報告されていた。地図上では関東地方に検出が多かったものの、全国的な分布を示し、場所によらず汚染に注意を要すると考えられた。下水道事業体の協力を得て、計 22 箇所から 137 試料を検査した。浅井戸の 1 地域と、深井戸の 1 地域の、下水処理水 3 試料からクリプトスポリジウムが検出された。ジアルジアは浄水処理や地域に関係なく、32 試料と検出が多かった。対象地域内ではこの期間にクリプトスポリジウム症とジアルジア症の届出がなかった。一定の条件が満たされれば、下水の検査はその地域の感染状況を推定する方法として、有用と考えられた。

E. 参考文献

1. 埼玉県衛生部、「クリプトスポリジウムによる集団下痢症」-越生町集団下痢症発生事件-報告書(平成 9 年 3 月)
2. 岸田一則、石田篤史、本邦初のジアルジア集団感染事例について、平成 23 年度地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会、茨城県土浦市

3. 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.* Vol.20, No.4, pp.581-589 (2014)
4. Savioli L, Smith H, Thompson A. *Giardia* and *Cryptosporidium* join the 'Neglected Diseases Initiative'. *Trends Parasitol.* 2006 May;22(5):203-8.
5. 感染研感染症疫学センター. <特集>クリプトスポリジウム症およびジアルジア症 2014年7月現在. 病原微生物検出情報月報 (IASR). Vol.35, No.8, pp.185-186 (2014)
6. 国立感染症研究所感染症疫学センター、発生動向調査年別報告数一覧、五類感染症(全数) (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/ydata/8113-report-ja2017-30.html>、2020年3月11日時点)
7. 八木田健司、泉山信司、国内外におけるクリプトスポリジウム症ならびにジアルジア症の発生動向の現状と比較、第68回日本寄生虫学会東日本支部大会、2008年10月、浜松市
8. 井上亘、上村育代、川元達彦、吉田昌史、浄水処理困難物質等のリスク管理のための水道水源にある施設のデータベース化と地図化に関する研究、兵庫県立健康生活科学研究所健康科学研究センター研究報告8号: 50-53. 2017.
9. Betancourt, W. 2019. *Cryptosporidium* spp. In: J.B. Rose and B. Jiménez-Cisneros, (eds) *Global Water Pathogen Project*. <http://www.waterpathogens.org> (R. Fayer and W. Jakubowski, (eds) Part 3 *Protists*) <http://www.waterpathogens.org/book/cryptosporidium> Michigan State University, E. Lansing, MI, UNESCO.
10. Vermeulen LC, van Hengel M, Kroeze C, Medema G, Spanier JE, van Vliet MTH, Hofstra N. *Cryptosporidium* concentrations in rivers worldwide. *Water Res.* 2019 Feb 1;149:202-214.
11. Boarato-David, E., Guimarães, S., and Cacciò, S. 2017. *Giardia duodenalis*. In: J.B. Rose and B. Jiménez-Cisneros, (eds) *Global Water Pathogen Project*. <http://www.waterpathogens.org> (R.Fayer and W. Jakubowski, (eds) Part 3 *Protists*) <http://www.waterpathogens.org/book/giardia-duodenalis> Michigan State University, E. Lansing, MI, UNESCO
12. 環境管理センター、「4.クリプトスポリジウム等の検出状況の整理」、平成25年度水道水及び水道用薬品等に関する調査業務報告書より、pp.135-149.
13. 三菱ケミカルリサーチ、「4.クリプトスポリジウム等の検出状況の整理」、平成30年度水道水及び水道用薬品等に関する調査等一式業務報告書より、pp.195-207.
14. 泉山信司、秋葉道宏、松下拓他. 微生物に関する研究, pp.17-32. 水道水質の評価及び管理に関する総合研究(研究代表者: 松井佳彦)平成28年度総括・分担研究報告書. 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)(2016)

15. 日本水道協会、水道水質データベース、(<http://www.jwwa.or.jp/mizu/>、2020年3月4日時点)
 16. 厚生労働省健康局水道課長、健康危機管理の適正な実施並びに水道施設への被害情報及び水質事故等に関する情報の提供について(健水発 1025 第 1 号、平成 25 年 10 月 25 日)
 17. 谷謙二、Yahoo!マップ API を使ったジオコーディングと地図化 (<http://ktgis.net/gcode/index.php>、2020年3月4日時点)
 18. Aoba、Geocoding.jp、(<https://www.geocoding.jp/>、2020年3月4日時点)
 19. tree、住所と緯度経度を相互変換、(<https://1-dot-tree-maps-152415.appspot.com/geocoding/>、2020年3月4日時点)
 20. 国土地理院、地理院マップシート、(https://renkei2.gsi.go.jp/renkei/130326mapsh_gijutu/index.html、2020年3月4日時点)
 21. 国土地理院、地理院地図(電子国土 Web)、(<http://geolib.gsi.go.jp/node/2555>、2020年3月4日時点)
 22. 水道産業新聞社 全国浄水場ガイド、ISBN:878-4-915276-98-9、水道産業新聞社、2016.
 23. 日本水道協会 クリプトスポリジウム - 解説と試験方法 -、132-133、日本水道協会、東京、2003.
 24. 井上 亘、小田琢也、簡易なクリプトスポリジウムのオーシストの計数方法、寄生虫学研究:材料と方法(宇賀昭二、丸山治彦編) 2012年版、三恵社、名古屋、ISBN978-4-88361-998-6: 85-86、2012.
 25. 厚生労働省健康局水道課長、水道水中のクリプトスポリジウム等対策の実施について(通知)、健水発第 0330005 号(平成 19 年 3 月 30 日)
 26. 兵庫県感染症情報センター、(<http://www.hyogo-iphes.jp/kansen/infectdis.htm>、2020年3月4日時点)
 27. 井上亘、菅野淳一、下水処理場等の排水からのクリプトスポリジウムおよびジアルジアの検出. 病原微生物検出情報月報 (IASR). Vol.39, No.2, pp.27-28 (2018)
- F.研究発表
誌上発表
1. Tsuchioka H, Izumiyama S, Endo T, Wada T, Harada H, Hashimoto A. Hydroxyapatite powder cake filtration reduces false positives associated with halophilic bacteria when evaluating *Escherichia coli* in seawater using Colilert-18. J Microbiol Methods. 2019 Feb 22;159:69-74.
- 口頭発表
1. 泉山信司、水道水を介してクリプトスポリジウムに感染するリスクの計算、環境技術学会、2019年6月、京都市
 2. 泉山信司、クリプトスポリジウム症、平成 30 年度希少感染症診断技術研修会、平成 31 年 2 月、東京都
 3. 泉山信司、耐塩素性病原生物について、水道水質検査セミナー、平成 31 年 2 月、青森市
 4. 今健亘、油川一紀、洗砂機導入の検討経過について、第 22 回水道技術事例発表会、2019 年 8 月、福島県
 5. 赤坂遼平、油川一紀、古川紗耶香、山崎朗子、横内川水源涵養保安林区域生態動向調査、日本水道協会水道研究発表会、2019 年 11 月、北海道

6. 井上亘、荻田堅一、鈴木雅和、野村素行、四方浩人、水道水の感染リスク把握のための小規模下水処理場排水の塩素抵抗性原虫調査、日本水道協会水道研究発表会、2019年11月、北海道

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得、2. 実用新案登録、3. その他なし

表 1. 調査対象の下水処理場(2018 年度)

処理場名	種別	処理方法	計画処理人口(人)	下水道供用区域に給水する浄水場の処理方法
A1	農業集落排水	オキシデーションディッチ法	2,340	川・急速ろ過、浅井戸・紫外線
A2	特環公共下水道	凝集沈殿	5,800	浅井戸・膜
B1	農業集落排水	JARUS - 型	390	貯水池・膜
B2	農業集落排水	JARUS - 型 + 鉄	850	川・急速ろ過
C1	特環公共下水道	長時間エアレーション法	720	浅井戸・膜
C2	農業集落排水	JARUS-XIV型	380	浅井戸・塩素処理
D1	農業集落排水	オキシデーションディッチ法	1,650	浅井戸・塩素処理
D2	農業集落排水	JARUS - 型	500	浅井戸・膜

表 2. 調査対象の下水処理場(2019 年度)

処理場名	種別	処理方法	計画処理人口(人)	下水道供用区域に給水する浄水場の処理方法
E1	特環公共下水道	活性汚泥法	100	深井戸・塩素処理
E2	農業集落排水	オキシデーションディッチ	1,610	浅井戸・塩素処理
F1	農業集落排水	JARUS - 型	240	浅井戸・塩素処理
G1	農業集落排水	JARUS - 型	390	ダム・膜
H1	特環公共下水道	JARUS - 型 + 鉄	1,150	川・急速ろ過
I1	農業集落排水	JARUS - 型	540	浅井戸・塩素処理
I2	農業集落排水	JARUS - 型 + 鉄	810	浅井戸・UV
J1	農業集落排水	JARUS - 型 + 生物膜法	270	川・急速ろ過
J2	コミュニティープラント	オキシデーションディッチ法・接触酸化法	2,850	浅井戸・塩素処理
K1	特環公共下水道	高速エアレーション沈殿・活性汚泥法	3,620	浅井戸・塩素処理
K2	特環公共下水道	標準活性汚泥法	7,002	浅井戸・塩素処理
L1	特環公共下水道	オキシデーションディッチ	1,700	浅井戸・塩素処理
L2	公共下水道	オキシデーションディッチ	7,600	浅井戸・塩素処理
M1	特環公共下水道	オキシデーションディッチ	2,230	浅井戸・急速濾過

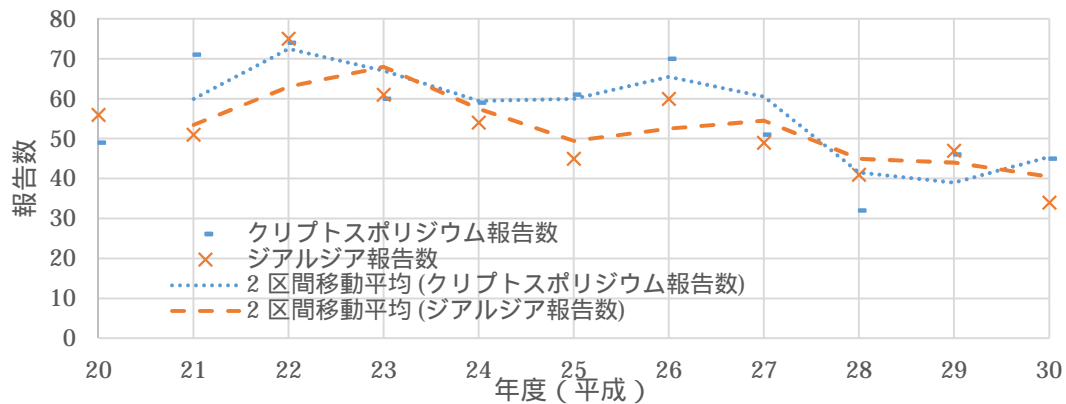


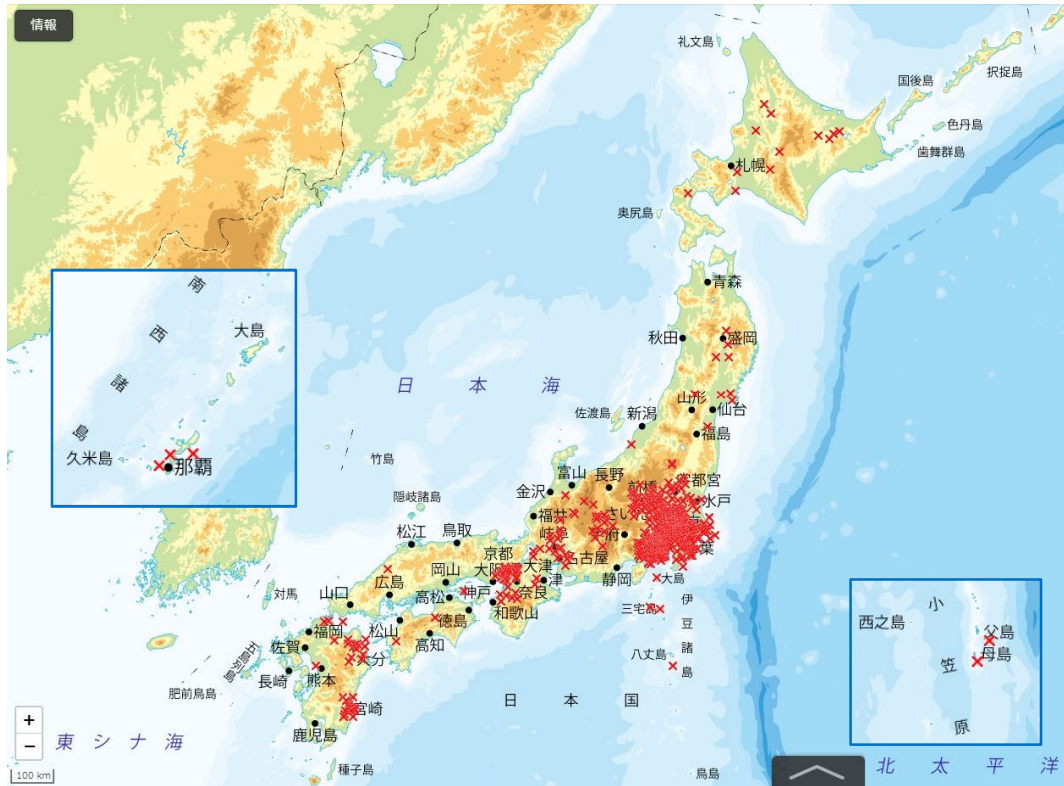
図1 水道原水におけるクリプトスポリジウムおよびジアルジアの検出報告数の推移

表3 検出報告された水道原水の水源種別

水源種別*1	検出報告数		
	クリプト	ジアルジア	いずれか*3
地表水	496	459	805
表流水	95	91	167
伏流水	11	6	17
地表水、伏流水*2	1	1	1
不圧地下水(浅井戸)	6	4	10
被圧地下水(深井戸)	4	4	7
その他	3	5	6
未記入	2	3	5
計	618	573	1018

*1 報告の記載通りに分類したが、地表水には表流水が多数含まれていると思われた。*2 報告の記載通りで、地表水と伏流水を混合していると思われた。*3 クリプトとジアルジアを同時に検出した報告が複数あり、クリプトとジアルジア検出数の合計にはなっていない。

A) クリプトスポリジウム検出地点(平成 20～30 年、618 地点)



B) ジアルジア検出地点(平成 20～30 年、573 地点)

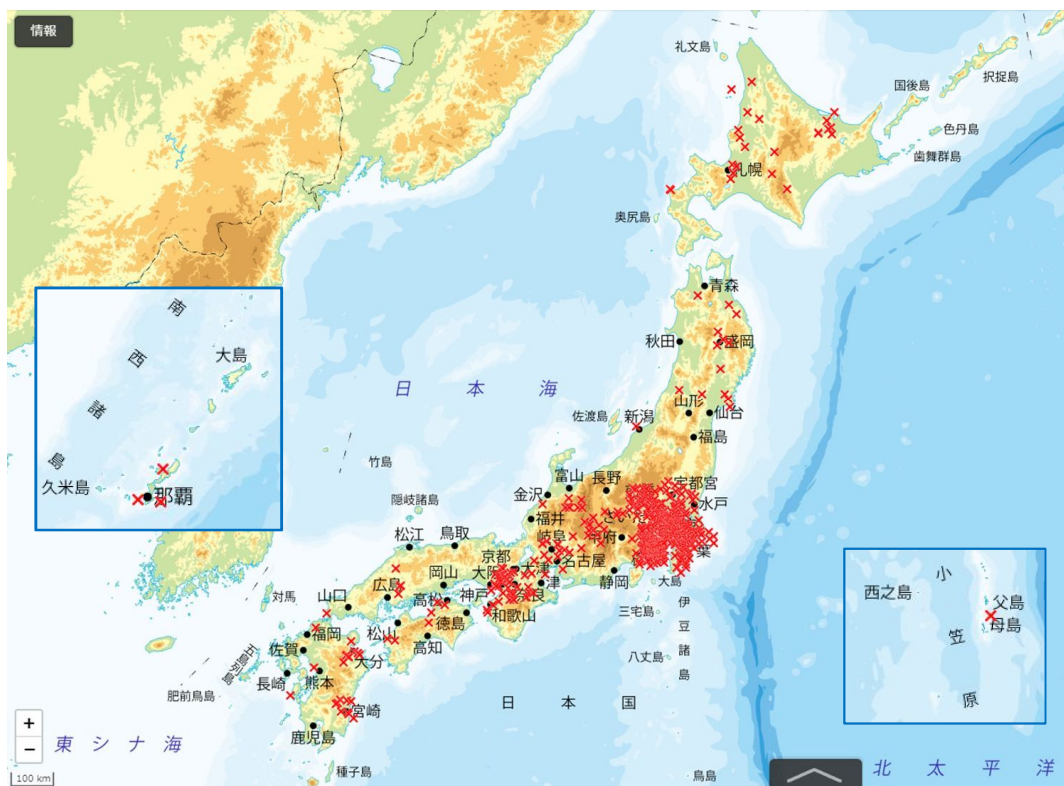


図 2 水道原水のクリプトスポリジウム、ジアルジア検査より報告地点

X印 1 つが検出報告 1 件に対応し、緯度経度に 50km 相当の誤差を加えて重ならないようにしている

表 4. 下水処理水からのクリプトスポリジウムとジアルジアの検出結果（2018 年度）

処理場名	クリプトスポリジウム(個/L、検鏡)											ジアルジア(個/L、検鏡)										
	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	陽性率	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	陽性率
A1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%	0	0	0.5	13	6	0	243	0	30	0	50%
A2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%	0	0	0	1.2	4.8	0	1.6	0	1.2	0	40%
B1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	10%
B2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%	40	0	0	0	0	0	16	0	3.2	0	30%
C1	-*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%	-	0	0	0	0	0	0	0	5.2	0	11%
C2	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%	-	0	0	0	0	0.8	0	0	0	0	11%
D1	-	0	0.4	0	0	0	0	0	0.4	0	22%	-	1.2	0	0	0	9.2	0	0	3.2	0	33%
D2	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%	-	0	0	0	0	0	0	0	39	0	11%

*:未実施

表 5. 下水処理水からのクリプトスポリジウムとジアルジアの検出結果（2019 年度）

処理場名	クリプトスポリジウム(個/L、検鏡)						ジアルジア(個/L、検鏡)					
	6月	7月	9月	10月	11月	陽性率	6月	7月	9月	10月	11月	陽性率
E1	4.8	0	0	0	0	20%	0	0	0	0	0	0%
E2	0	0	0	0	0	0%	0	0	0	0	0	0%
F1	0	0	0	0	0	0%	0	0	0	0	0	0%
G1	0	-*	0	-	-	0%	0	-	0	-	-	0%
H1	0	0	0	0	0	0%	0	0	0	0	0	0%
I1	0	0	0	0	0	0%	0	0	0	0	0.4	20%
I2	0	0	0	0	0	0%	0	0	0	0	55.2	20%
J1	0	-	-	0	-	0%	0	-	-	0	-	0%
J2	0	-	-	0	-	0%	0	-	-	0	-	0%
K1	0	0	0	0	0	0%	0	0	0	0	6.8	20%
K2	0	0	0	0	0	0%	0	0.8	0	0	0	20%
L1	0	0	0	0	0	0%	0	0	0	41.6	0	20%
L2	0	0	0	0	0	0%	0	0	0	4.8	0	20%
M1	0	0	0	0	0	0%	0	0	0	13.6	2.8	40%

*:未実施

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）
 化学物質等の検出状況を踏まえた水道水質管理のための総合研究
 令和元年度 分担研究報告書

化学物質・農薬に関する研究

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領域
	鎌田 素之	関東学院大学理工学部理工学科
	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水管理研究領域
研究協力者	相澤 貴子	（公財）水道技術研究センター
	関川 慎也	八戸圏域水道企業団水質管理課
	寺嶋 誠	仙台市水道局浄水部水質検査課
	浅見 真紀	茨城県企業局水質管理センター
	吉田 岳己	千葉県企業局水道部水質センター
	藤巻志津恵	神奈川県内広域水道企業団技術部水質管理センター
	高橋 英司	新潟市水道局技術部水質管理課
	山本 徹	奈良県水道局水質管理センター
	谷口 佳二	神戸市水道局事業部水質試験所
	友永裕一郎	広島市水道局技術部水質管理課
	佐藤 卓郎	福岡県南広域水道企業団浄水場水質センター
	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
	成田健太郎	株式会社 NJS 東部支社東京総合事務所水道部

研究要旨：

平成 30 農薬年度（平成 29 年 10 月～平成 30 年 9 月）の農薬製剤出荷量は約 22.3 万 t で、前年度と比べて約 0.5 t 減少した。農薬の用途別農薬製剤出荷量は、殺虫剤が 73,174 t、殺菌剤が 39,287 t、殺虫殺菌剤が 16,648 t、除草剤が 81,691 t で、全体では前年度と比べて 2% の減少であった。登録農薬原体数は平成 29 年 9 月時点 591 種類、登録農薬製剤数は平成 30 年 9 月時点、殺虫剤が 1,069、殺菌剤が 888、殺虫殺菌剤が 475、除草剤が 1,526 で、合計で 4,282 であった。個別の農薬原体について見ると、平成 30 農薬年度出荷量が 100 t 以上であった農薬原体は 55 種であり、石灰窒素や消石灰等を除いた、水道水源で農薬として監視の必要性のある合成化学物質は 44 種であった。

令和元年度において、分科会に参画している全国 10 水道事業者（研究班）による農薬類の測定結果、および神奈川県衛生研究所が全国の 10 浄水場から提供を受けて分析を行った農薬類の測定結果（追加調査）を取りまとめた。研究班と追加調査の浄水場の原水、浄水での検出指標値の推移を比べると、原水では両調査の値に大きな違いは見られなかったが、浄水では研究班の調査の方が低い傾向を示した。

研究班による調査において、原水では 94 種、浄水では 23 種の農薬が検出された。用途別に見ると、原水、浄水ともに除草剤が最も多く、約半分を占めていた。水質基準体系での農薬の分類で見ると、対象農薬リスト掲載農薬の場合、原水では 55 種、浄水では 18 種が検出され、それ以外のカテゴリーの場合、原水ではその他農薬が 6 種、未分類農薬が 5 種、浄水ではその他農薬が 4 種、未分類農薬が 9 種、検出された。値の最大値

は、原水が 1.297、浄水が 0.178 で、前年度までの調査と同程度の値であった。個別の農薬について見ると、最大検出濃度の場合、原水、浄水では、それぞれ 9、4 種の農薬が 1 µg/L を超過した。検出率の場合、原水、浄水では、それぞれ 16、4 種の農薬で 10% 以上であった。個別農薬評価値の場合、原水では、昨年度までの調査結果と同様に、テフリルトリオンがかなり高い値 (1.90) を示した。浄水では、個別農薬評価値の最大値はこれまでの調査と比べて、特に高い値ではなかった。

直接注入 - LC-MS/MS 法で、定量下限値 0.03 µg/L における妥当性を満たした農薬類 180 種類のうち、神奈川県内の浄水場の水道水源の河川水からは 35 種類、浄水からは 11 種類の農薬類が検出された。全国の 10 浄水場の実態調査では、原水からは 40 種類、浄水からは 25 種類の農薬類が検出された。原水、水道水のいずれも目標値を超える農薬類の検出は見られなかった。全体的な検出傾向は平成 30 年度と同様であったが、令和元年度は降雨のない平常時、水田への農薬適用時期を狙った採取が増えたため、昨年度に比べて一部の水田使用農薬で濃度が高い傾向にあった。山形県最上川を原水とする浄水場の 1 つでは、原水からテフリルトリオンが目標値の 99% に相当する値 (1.97 µg/L) で検出され、秋田県雄物川を原水とする浄水場の 1 つでは、対象農薬リスト掲載農薬類外ではあるが、動向の注目されているクロラントラニリプロールが 0.235 µg/L で検出された。

これまでに国内で登録があった 1,196 農薬のうち 1,006 農薬について、スルホン体やスルフィド体に変換される可能性のある物質を調査したところ、エチプロールが挙げられた。エチプロールを塩素処理したところ、分解物が検出され、その推定組成式は $C_{11}H_5N_4O_3F_3SCl_2$ で、エチプロールスルホンであると推察された。反応時間を変化させて塩素処理を行ったところ、エチプロールは塩素処理で速やかに分解されてエチプロールスルホンに変化すること、エチプロールスルホンは主な塩素処理分解物で、塩素の存在下でも比較的安定であり、24 時間後でもその大半が存在していることが確認された。

S9 を用いて試験管レベルでの代謝を行った後に超遠心分離処理を施し、その試料をコリンエステラーゼ活性阻害試験に供することにより、代謝を考慮した際のコリンエステラーゼ活性阻害性を評価することができる試験系を構築した。構築された試験系を用いて、ダイアジノンとそのオキソン体の毒性を評価したところ、代謝を考慮した場合は、これらの 2 つの物質の毒性が同程度であることが分かった。すなわち、現行の水道における水質管理目標設定項目での有機リン系農薬についての「原体とオキソン体を合算する」という取り扱いは、ダイアジノンについて妥当であると評価された。

活性炭による有機フッ素化合物除去について、文献調査を行った。粒状活性炭、粉末活性炭のいずれも、ペルフルオロオクタンスルホン酸、ペルフルオロオクタン酸、ペルフルオロヘキサンスルホン酸の順に除去率は高い傾向にあった。粒状活性炭の場合、初期では期待できるが、時間経過とともに除去率が低下すること、特に炭素数の小さい有機フッ素化合物において、顕著であることが示された。粉末活性炭の場合、除去率は粉末活性炭種によって異なることが示された。微粉炭は、粉末活性炭に比べて、短い接触時間で有機フッ素化合物の除去が向上することが示された。

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した。

近年の使用量の増加している農薬について、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を行った。

また、有機りん系農薬のコリンエステラーゼ (ChE) 活性阻害試験について、肝臓での代謝を考慮した ChE 活性阻害試験の構築を試みた。

農薬以外の化学物質では、有機フッ素化合物(PFASs)を対象に、実浄水場での適用が可能な活性炭処理による除去性の情報収集・整理を行った。

B. 研究方法

1) 農薬の出荷量に関する調査

農薬要覧 2019¹⁾に記載のある農薬製剤別出荷量情報と(独法)農林水産消費安全技術センター(FAMIC)が提供している農薬登録情報²⁾の農薬製剤別農薬原体含有率情報から、各都道府県における農薬原体出荷量の算出を行った。また、これまで研究で得られていた過去の農薬原体出荷量情報と比較し、農薬のトレンドについて調査した。

2) 全国水道事業体の農薬類実態調査結果のまとめ

分科会に参画している全国 10 水道事業体(八戸圏域水道企業団、仙台市水道局、茨城県企業局、千葉県企業局、神奈川県内広域水道企業団、新潟市水道局、奈良県水道局、神戸市水道局、広島市水道局、福岡県南広域水道企業団)(以下、研究班)による農薬類の測定結果、および神奈川県衛生研究所が全国の 10 浄水場(以下、追加調査)から提供を受けて分析を行った農薬類の測定結果(合わせて、以下、全国調査)を取りまとめた。

3) 各水道事業体における農薬類実態調査

研究班の 10 水道事業体において、浄水場やその水源の農薬類の実態調査を行った。

4) 全国浄水場および神奈川県内の水道水源河川の実態調査

平成 31 年 4 月下旬～令和 2 年 3 月下旬に、神奈川県内の相模川中流～下流域の水道水源となる河川水 10 地点、およびそれらを原水とする水道水 1 地点について、農薬類の実態調査を行った。また、追加調査の浄水場について(図 1)、令和元年 5 月下旬～7 月上旬にかけて降雨時等に計 3 回、水道原水および浄水の実態調査を行った。追加調査の全国の 10 浄水場は、これまでに農薬類の実態調査の実績が少ない地域を中心に選定された。試料は国立保健医療科学院で過を行い、神奈川県衛生研究所において、直接注入-LC-MS/MSにより農薬類の一斉分析を行った。測定対象に

は対象農薬リスト掲載農薬(以下、対象農薬)要検討農薬、その他の農薬、除外農薬に、イプフェンカルバゾン、クロラントラニプロール、フルボキサム、スルホキサフロル、テフリルトリオン代謝物 B 等、動向が注目される農薬を加えた 209 種(異性体を含めると 214 化合物)を選定した。ただし、評価対象としたのは、そのうち妥当性を満たした 180 種とした。定量下限値は一律 0.03 µg/L であった。



図 1 既存の農薬データの少ない浄水場の実態調査採水地点

5) 農薬の分解物と未知の農薬分解物の探索
これまでに国内で登録があった 1,196 農薬のうち 1,006 農薬について、構造式と SMILES の情報を入手した。構成元素等の情報からスルホン体、スルフィド体を生成する可能性のある農薬を探索した。探索した農薬を対象に、分解物について文献調査を行った。続いて、水環境中でスルホン体、スルフィド体が生成するかどうか、塩素処理実験を行った。塩素処理後の試料を固相抽出により濃縮した後、高分解能質量分析計 LC-Q Exactive Focus (Thermo Fisher) を用い、分解物の探索を行った。

6) 代謝を考慮した ChE 活性阻害試験の構築とそれを用いた有機りん系農薬の塩素処理に伴い生成される毒性を誘発する物質の推定

ChE 活性阻害試験への代謝活性化の組み込み

薬物代謝酵素群(S9)は酵素であるため熱による失活を期待し、S9mix を加熱処理し、加熱処理後の S9mix と農薬の反応性を検討し

た。まず、サーマルサイ클ラーを用い、S9mix を 99℃ で 5～30 分間加熱処理した。その後、ダイアジノン水溶液に加えて 37℃ にて 20 分間インキュベートし、インキュベーション後のダイアジノンを定量した。

膜処理により、シトクロム P450 と農薬類の分離を検討した。まず、調整した S9mix を分画分子量 3,000～100,000 の膜（再生セルロース製）でろ過し、ろ液をそれぞれ採取した。このろ液をダイアジノン水溶液に添加して 37℃ にて 20 分間インキュベートし、ダイアジノンを定量した。

超遠心により、S9 と農薬の分離を検討した。まず、調整した S9mix を 192,000×g にて 1 時間遠心分離し、得られた上清をダイアジノン水溶液に加え、37℃ にて 20 分間インキュベートした。その後、ダイアジノンを定量した。次に、超遠心が試料中の農薬濃度に影響を与えないことを確認するため、ダイアジノン水溶液を同条件にて超遠心分離し、分離前後の試料中のダイアジノンを定量した。さらに、超遠心により S9mix が分離可能であることを、ChE 様活性の観点から示すため、超遠心処理後の S9mix とアセチルコリンを混合し、37℃ にて 20 分間インキュベートした後に、遊離したコリンを定量した。

代謝を考慮した ChE 活性阻害試験によるダイアジノンとオキソンの毒性評価

50～1,200 nM で段階的に希釈をしたダイアジノンとオキソンの水溶液を作製した。この水溶液 800 μL を、S9mix 溶液 2,000 μL と混合し、37℃ にて 20 分間プレインキュベートした。この試料 900 μL を 4℃ にて 192,000×g で 1 時間遠心分離し、S9mix を分離除去した。この上清 285 μL を 96 穴マイクロプレートのウェルに添加し、ChE（ヒト由来）を 7.5 μL（最終濃度 1,200 units/L）に加え、37℃ にて 30 分間プレインキュベートした。さらに、アセチルコリン溶液 7.5 μL（最終濃度 4,000 μM）を加え、37℃ にて 2 時間インキュベートした。その後、アセトニトリルで 10 倍希釈し、ChE の酵素反応を停止させ、試料中に遊離したコリンを LC-MS により定量した。

7) 活性炭による PFASs の除去性の調査

PFASs のうち、ペルフルオロオクタンスル

ホン酸（PFOS）、ペルフルオロオクタン酸（PFOA）、ペルフルオロヘキサンスルホン酸（PFHxS）を対象に、粒状活性炭（GAC）、粉末活性炭（PAC）による除去性の文献調査を行った。

C. 研究結果およびD. 考察

1) 農薬類の出荷量に関する調査

図 2 に、平成元年以降の用途別農薬製剤出荷量と登録農薬原体数の推移を示す。平成 30 農薬年度（平成 29 年 10 月～平成 30 年 9 月）の農薬製剤出荷量は約 22.3 万 t で、前年度と比べて約 0.5 t 減少した。¹⁾ 農薬の用途別農薬製剤出荷量は、殺虫剤が 73,174 t、殺菌剤が 39,287 t、殺虫殺菌剤が 16,648 t、除草剤が 81,691 t で、全体では前年度と比べて 2% の減少であった。

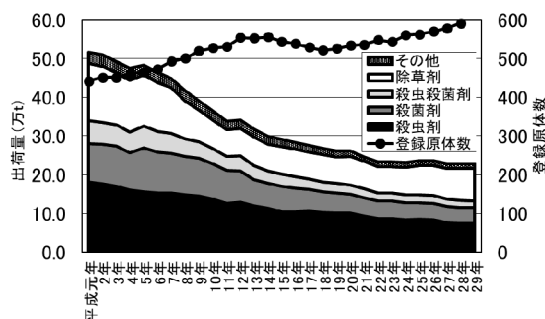


図 2 農薬製剤出荷量と登録原体数の推移

登録農薬原体数は平成 29 年 9 月時点 591 種類で、登録農薬原体数は平成 16 農薬年度以降増加を続けている。図 3 に平成元年以降の用途別登録農薬製剤数の推移を示す。登録農薬製剤数は平成 30 年 9 月時点、殺虫剤が 1,069、殺菌剤が 888、殺虫殺菌剤が 475、除草剤が 1,526 で、合計で 4,282 であった。

個別の農薬原体について見ると、平成 30 農薬年度出荷量が 100 t 以上であった農薬原体は 55 種であり、石灰窒素や消石灰等を除いた、水道水源で農薬として監視の必要性のある合成化学物質は 44 種であった。このうち、出荷量が 1,000 t 以上と特に多かった農薬原体は、D-D、クロルピクリン、グリホサートカリウム塩、グリホサートイソプロピルアミン塩、ダゾメット、マンゼブの 6 種であった。平成

30 農薬年度の出荷量が 10t 以上で、前年度比で 50% 以上出荷量が増加した農薬は 7 種が該当し、特にクロルメコートとテフリトリオンは、出荷量が 50t と全国的に見ても高い出荷量を示していた。

以上より、近年、農薬の出荷量は大きく変化していないが、農薬原体数は引き続き増加傾向にあると言える。したがって、出荷量が増加し監視の必要性が高まる農薬や失効により監視に必要性が低くなる農薬を精査して、効率的なモニタリングを行う必要がある。

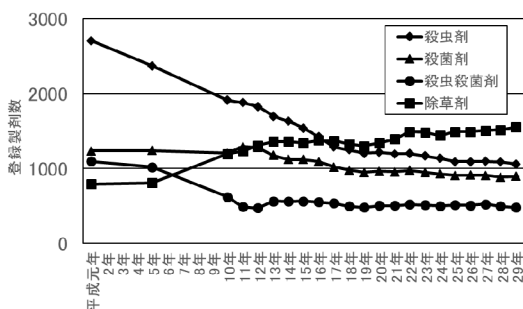


図 3 用途別登録農薬製剤数の推移

2) 全国水道事業体の農薬類実態調査結果のまとめ

表 1 に、令和元年度の研究班による農薬類の実態調査結果の概要を示す。原水では 94 種、浄水では 23 種の農薬が検出された。用途別に見ると、原水、浄水ともに除草剤が最も多く、約半分を占めていた。水質基準体系での農薬の分類で見ると、対象農薬の場合、原水では 55 種、浄水では 18 種が検出され、それ以外のカテゴリーの場合、原水ではその他農薬が 6 種、未分類農薬が 5 種、浄水ではその他農薬が 4 種、未分類農薬が 9 種、検出された。

研究班と追加調査の浄水場の原水、浄水での値の推移を見ると、値の最大値は、原水が 1.297、浄水が 0.178 で、前年度までの調査と同程度の値であった。原水では研究班による調査と追加調査の値に大きな違いは見られなかったが(研究班による調査: 1.23、追加調査: 1.297)、浄水では研究班の調査の方が低い傾向を示した(研究班による調査: 0.08、追加調査: 0.178)。

個別の農薬に関する研究班による調査結果について見ると、最大検出濃度の場合、原水では、9 種の農薬の最大検出濃度が 1 μg/L を

超過し、未分類のメタゾスルロンと要検討農薬のペントキサゾンが含まれていた。浄水では、対象農薬である 4 種の農薬の最大検出濃度が 1 μg/L を超過していた。

表 1 令和元年度の研究班による農薬類実態調査結果の概要

	原水	浄水	
測定農薬	205	134	
検出農薬	94	23	
用途	除草剤	41	8
	殺虫剤	15	5
	殺菌剤	16	7
	分解物	4	2
分類	対象	55	18
	要検討	4	1
	その他	6	4
	除外	6	1
	未分類	5	9
検出濃度	ベンタゾン 7.30	ピロキロン 3.00	
個別農薬評価値	テフリトリオン 0.95	ピロキロン 0.06	
検出率	ベンタゾン 43%	テフリトリオン代謝物 62%	
検出指標値	神戸市 1.23	新潟市 0.08	

検出率の場合、原水では、16 種の農薬の検出率が 10% 以上であったが、その多くが対象農薬やその分解物で、それ以外ではイプフェンカルバゾン、ベンスルフロメチル、ジノテフランが挙げられた。浄水では、4 種の農薬の検出率が 10% を超過した。

個別農薬評価値の場合、原水では、昨年度までの調査結果と同様に、テフリトリオンがかなり高い値(1.90)を示した。それ以外にも、上位 20 位までには対象農薬が多くランクインしたが、要検討農薬のイプフェンカルバゾン、未分類のメタゾスルフロロン、フィプロニルスルホンも該当した。浄水では、農薬評価値の最大値は、これまでの調査と比べて、特に高い値ではなかったが、要検討農薬であるイプフェンカルバゾン、フィプロニル、フェンチオンの分解物が上位に挙げられた。

以上より、本年度の実態調査で高い検出濃度、個別農薬評価値、検出率を示した農薬はこれまでの調査と大きな違いは見られなかった。しかし、イプフェンカルバゾンやメタゾスルフロロンのように、新たに調査対象となった農薬が浄水からも一定の濃度、頻度で検出され、加えて、分解物についても調査の実施により検出されることが示された。

3) 各水道事業体における農薬類実態調査

八戸圏域広域水道企業団では、白山浄水場

の原水での 値の最高値は、馬淵川系が 0.062、新井田川系が 0.041 であった。このときテフリルトリオン、ピラクロニル、プロモブチドやベンタゾンによる寄与が大きかった。浄水では、最高値は 0.004 と十分に低い値で、目標値の 1/100 を上回ることにはなかった。

仙台市水道局では、調査とした 89 農薬中 11 種が検出された。検出濃度が最も高かった農薬は原水、浄水ともにピロキロンで、それぞれ 3.61、3.04 $\mu\text{g/L}$ であった。実態調査期間中の 値の推移を見ると、原水では 5 月の福岡浄水場原水で最も高く 0.287 であり、主にテフリルトリオンの寄与によるものであった。浄水では 7 月の福岡浄水場浄水で最も高く 0.062 で、主にピロキシロンの寄与によるものであった。茂庭浄水場浄水の 値は調査期間を通じ、管理目標である 0.05 を常に下回る結果となった。

茨城県企業局では、河川系 4 浄水場、湖沼系 6 浄水場を対象に、107 種の農薬とオキソロン体について測定を行った。原水の場合、全調査地点で農薬の検出があり、1 地点あたりの検出項目数は河川系で最大 21 項目、湖沼系で最大 7 項目となった。イソプロチオラン、シメトリン、テフリルトリオン、プレチラクロール、プロモブチド、ベンタゾンの検出率が比較的高い傾向が見られた。個別指標値は、酒沼川取水場における 5 月 20 日の試験でのテフリルトリオンが最も高かった (0.95)。浄水では、河川系の 3 浄水場でプロモブチドが検出され、その最大濃度は利根川浄水場での 0.46 $\mu\text{g/L}$ であった。 値は、調査期間を通して全地点で 0.01 未満であった。

千葉県企業局では、122 種の農薬類について調査した。江戸川の矢切取水場 (ちば野菊の里浄水場、栗山浄水場原水) では、テフリルトリオンとピラクロニルの 2 種が検出され、個別農薬評価値の最大値はテフリルトリオンの 0.10 であった。印旛沼の印旛取水場 (柏井浄水場東側施設原水) からも、テフリルトリオンとピラクロニルの 2 種類が検出され、個別農薬評価値の最大値はテフリルトリオンの 0.20 であった。利根川の木下取水場 (柏井浄水場西側施設、北総浄水場原水) からは、テフリルトリオン、ピラクロニル、プロモブチ

ドの 3 種が検出され、個別農薬評価値の最大値はテフリルトリオンの 0.10 であった。高滝ダム湖の高滝取水場 (福増浄水場原水) からは、ピラクロニルとモリネートの 2 種類が検出され、個別農薬評価値の最大値はモリネートの 0.02 であった。各浄水場浄水における農薬類検出状況については、いずれも 値は 0.01 未満であった。

神奈川県内広域水道企業団では、142 農薬を測定したところ、原水で検出されたのは 13 種で、個別農薬指標値の最大値が高かったものはテフリルトリオン (0.135)、キノクラミン (0.060) であった。浄水で検出されたのは 2 種 (ダラポン、ベンタゾン) であった。 値について見ると、酒匂川系原水での最大値は 0.156、相模川系原水での最大値は 0.166 であった。一方、浄水は両水系ともに 値の最大値は 0.004 で、いずれもダラポンの検出が主な要因であった。

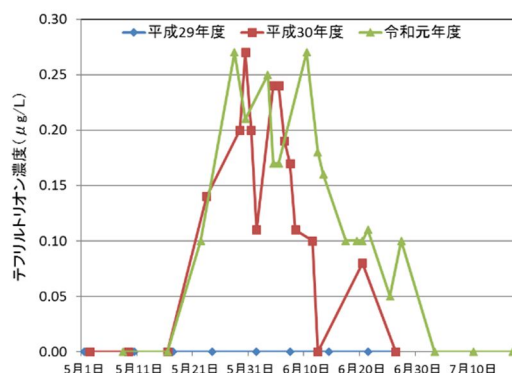


図4 テフリルトリオンの検出濃度 (酒匂川系原水)

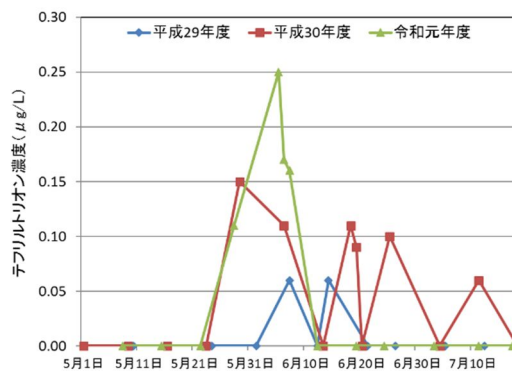


図5 テフリルトリオンの検出濃度 (相模川系原水)

原水での値上昇の要因となる農薬のうち、図4、5にそれぞれ、酒匂川系原水(飯泉)における平成29年度~令和元年度のテフリルトリオンの検出濃度を示す。酒匂川系原水では、平成29年度は不検出であったが、平成30年度と令和元年度はいずれも最大0.27 µg/L(個別農薬評価値:0.135)検出された。相模川系原水では、近年検出濃度が上昇傾向であり、令和元年度は同水系において過去最大の0.25 µg/L(個別農薬評価値:0.125)検出されたが、検出期間は前年度に比べて短かった。なお、テフリルトリオンは塩素によって分解されるため、浄水からは検出されなかった。

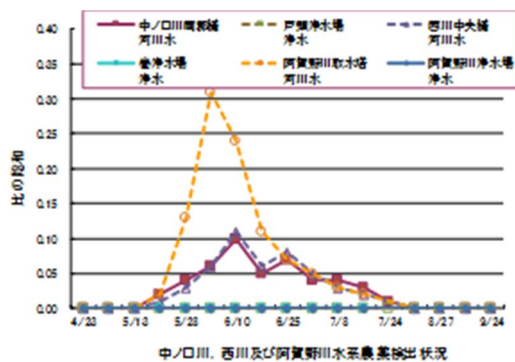


図6 テフリルトリオンの検出推移(中之口川水系、西川水系、阿賀野川水系)

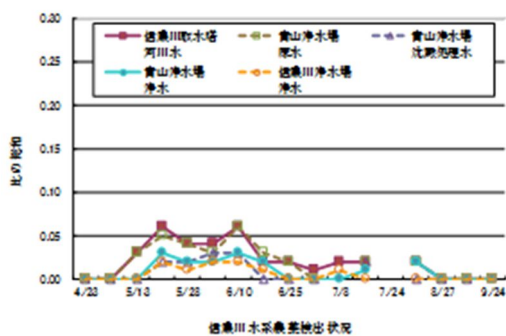


図7 イプフェンカルバゾンの検出状況(信濃川水系)

新潟市水道局では、5浄水場と水源河川を対象に、28種の農薬類について調査を行った。水源河川水や原水の場合、信濃川水系、中之口川水系、西川水系、阿賀野川水系でそれぞれ9、4、3、5種の農薬が検出された。浄水では、信濃川浄水場、青山浄水場、戸頭浄水場、巻浄水場、阿賀野川浄水場でそれぞれ3、4、

1、1、2種の農薬類が検出され、個別農薬評価値が最も高かった農薬類は青山浄水場と巻浄水場でのイプフェンカルバゾン(0.030)であった。

図6に、中之口川水系、西川水系、阿賀野川水系におけるテフリルトリオンの個別農薬評価値の推移を示す。テフリルトリオンは5月上旬から検出され、6月上旬に検出ピークが認められた。信濃川水系および阿賀野川水系ともに、テフリルトリオンは検出農薬の中でも近年は高い濃度で検出されていた。特に阿賀野川での濃度が高く、個別農薬評価値では最大0.31であった。塩素で分解するため浄水では検出されなかった。

図7に、信濃川水系におけるイプフェンカルバゾンの個別農薬評価値の推移を示す。水源河川水の場合、信濃川水系では最大0.06、他水系では最大0.04で、前年度と同程度の値で推移した。浄水の場合、信濃川水系では、最大0.03、他水系では最大0.03であった。沈殿処理水等の工程水でも浄水と同程度の検出がみられた。

奈良県水道局では、132種の農薬を測定した。桜井浄水場原水では23種の農薬が検出され、個別農薬評価値の最大値は、ジメタトリン、エンドスルファンが最も高かった(0.02)。

値の最高値は6月24日、7月22日、7月29日の0.03で、直近の5ヶ年では最も低い値であった。浄水では6種(対象農薬:5、その他:1)の農薬が検出され、昨年度の17種から大きく減少した。ベンタゾンが94%の頻度で検出されたが、その他は30%以下の頻度であった。検出濃度は総じて低く、更に原水での農薬濃度上昇期に活性炭処理を行えたため個別評価値は検出農薬全てにおいて0.01未満で、値も期間を通じて0.01未満を維持することができた。

神戸市水道局では、水源10地点、千刈浄水場の原水、浄水を対象に、114種の農薬類を測定した。調査結果から、検出回数ではフィプロニルが、個別農薬評価値ではテフリルトリオンが最も高かった。テフリルトリオンが最も高かったのは、水源での1.9 µg/L(個別農薬評価値:0.95)であった。イプフェンカルバゾンもテフリルトリオンと同時期に高頻

度で検出され、6月の水源で、最高値となる1.0 µg/L(個別農薬評価値:0.50)で検出された。フィプロニルは5月に水源において、最高値となる0.094 µg/L(個別農薬評価値:0.19)で検出された。今年度は、浄水からは農薬は検出されなかった。平成29年度~令和元年度における農薬類の検出動向について解析したところ、検出された農薬の種類は、平成28年度の12種と比較すると、平成29年度以降は増加傾向にあった(令和元年度:18種)。この3年間では、テフリルトリオンが最も多く41回検出されており、イプフェンカルバゾンは33回検出された。この2種類の農薬は、個別農薬評価値も高く、特にテフリルトリオンは、2.6と目標値を超えて検出された。なお、両物質はこの3年間で千叡貯水池取水塔前と原水で検出されており、両河川の影響を受けていると推定された。

広島県水道局では、108種の農薬類について測定した。高陽あるいは緑井浄水場の原水、浄水から、それぞれ8種、6種の農薬が検出された。検出濃度が最大となったのはベンタゾン、プロモブチドで、0.1 µg/L程度であった。個別農薬評価値が0.01以上となったのは、原水におけるテフリルトリオンのみで最大0.065であった。値について見ると、原水での最大値は、緑井浄水場(5月30日)での0.066であった。しかし、浄水では最大0.002であった。原水での値への寄与が最も高かったのはテフリルトリオンで、次いでカルボフラン、ベンタゾンであった。

福岡県南広域水道企業団では、104種の農薬について測定した。荒木浄水場の原水から56種の農薬が検出され、値の最高値は7月9日の試験の0.29(前年度:0.17)で、テフリルトリオンの影響によるものであった。また、平均では0.035(前年度:0.02)であった。浄水で濃度が高かった農薬類はテフリルトリオン代謝物Bとプロモブチドで、最高値はそれぞれ0.137、0.09 µg/Lであった。これらは検出率も高かった(テフリルトリオン代謝物B:62%)。値の最高値は9月24日の0.0043(前年度:0.0016)で、MCPA、トリクロピルの影響によるものであった。また、平均は0.0005(前年度:0.0001)であった。

4) 全国浄水場および神奈川県内の水道水源河川の実態調査

神奈川県内の浄水場の水道水源の河川水からは35種類、浄水からは11種類の農薬類が検出された。河川水からは対象農薬の2,4-D、キノクラミン、シメトリン、ダイムロン、テフリルトリオン、プロモブチド、ベノミル、ベンタゾン等、要検討農薬のプロマシル、イプフェンカルバゾン、その他農薬類のピリミノバックメチル、フラメトピル、除外農薬のフルトラニル等が比較的高い濃度、検出率で検出された。水道水においても対象農薬のフェノブカルブ、プレチラクロール、プロモブチド等が検出された。

全国の10浄水場の実態調査では(図1)、原水からは40種類、浄水からは25種類の農薬類が検出された。原水、水道水のいずれも目標値を超える農薬類の検出は見られなかった。全体的な検出傾向は平成30年度と同様であったが、昨年度に比べて一部の水田使用農薬で濃度が高い傾向にあった。これは、平成30年度では、記録的な降雨で河川水位が上昇した時期に試料を採取したのが多かったのに対し、令和元年度は降雨のない平常時、水田への農薬適用時期を狙った採取が増えたことによると考えられた。また、同一河川の試料は、検出傾向も類似していた。浄水場(山形県最上川1)では、原水からテフリルトリオンが目標値の99%に相当する値(1.97 µg/L)で検出された。浄水場(秋田県雄物川1)では、対象農薬外ではあるが、動向の注目されているクロラントラニロプロールが0.235 µg/Lで検出された。浄水場(富山県常願寺川)では、原水、浄水のいずれも試料中の農薬類濃度は定量下限値未満であった。

5) 農薬の分解物と未知の農薬分解物の探索

調査対象の農薬のうち、分子内にSを含む農薬として342種が、加えてOを含む農薬として296種が該当した。更に分子内にS(=O)の構造を有する農薬は37種に絞られた。これらに農薬について構造式を確認し、酸化されることでスルホン体、還元されることでスルフィド体に変化する可能の有無について確認したところ、フィプロニル以外に該当する農薬はエチプロールであった(図8)。文献調査

の結果、水環境中で生成する可能性のあるエチプロールの分解物として、スルホン、スルフィド、デスルフィニル、(スルホン)アミドが推察された。

エチプロールの塩素処理後(10分)の試料について、LC-Q Exactive Focus で分析した。その結果、エチプロールは検出されず、 m/z が 401.0029 を示す分解物が確認された。この物質の推定組成式は $C_{11}H_5N_4O_3F_3SCl_2$ で、エチプロールスルホンであると推察された。反応時間を変化させてエチプロールスルホンの挙動を調査したところ、エチプロールとの面積比から、エチプロールは塩素処理により速やかに分解されてエチプロールスルホンに変化することが示され、エチプロールスルホンが主たる分解物であることがわかった。また、生成したエチプロールスルホンは塩素の存在下でも比較的安定であり、24時間後でもその大半が存在していることが確認された。

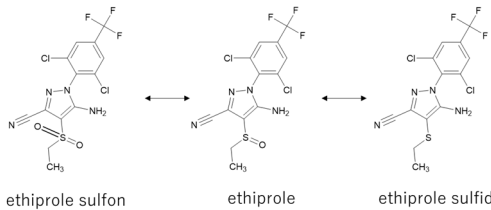


図8 エチプロールと予想される分解物の構造式

6) 代謝を考慮した ChE 活性阻害試験の構築とそれを用いた有機りん系農薬の塩素処理に伴い生成される毒性を誘発する物質の推定

ChE 活性阻害試験への代謝活性化の組み込み

S9mix とダイアジノン水溶液を混合してインキュベートすると、ダイアジノンは代謝され、インキュベーション後の試料にはダイアジノンは検出されなかった。また、99℃で加熱すると、0.5分でダイアジノン濃度が1/3程度まで低下し、その後も緩やかに減少することが分かった。以上より、加熱処理により、S9mix を失活させることはできるが、毒性を評価する対象となる農薬類も減少してしまうため、加熱処理を S9mix の失活処理として、代謝を考慮した ChE 活性阻害試験に組み込むことは難しいと判断された。

分画分子量 3,000 (3k) ~ 100,000 (100k) の膜を用いて S9mix をろ過し、ろ液とダイアジノン水溶液を混合してインキュベートしたところ、膜処理により、試料から S9mix を分離除去することができることが分かった。次に、ダイアジノン水溶液をこれらの膜でろ過し、ろ液中のダイアジノン濃度を測定したところ、いずれの膜を用いた場合でも、ダイアジノン濃度が減少することが分かった。以上より、膜処理により、試料から S9mix を分離除去することはできるが、毒性を評価する対象となる農薬類も除去されてしまうため、膜処理を S9mix の除去処理として、代謝を考慮した ChE 活性阻害試験に組み込むことは難しいと判断された。

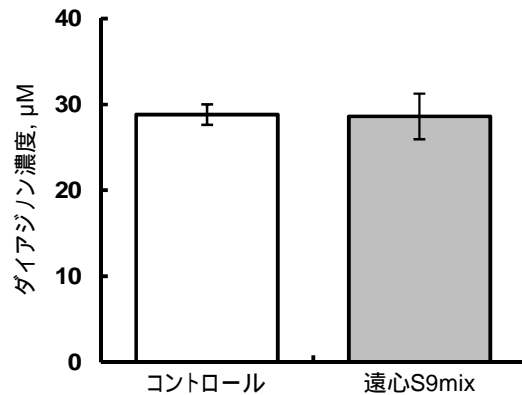


図9 ダイアジノンの代謝からみた超遠心による S9 mixの分離

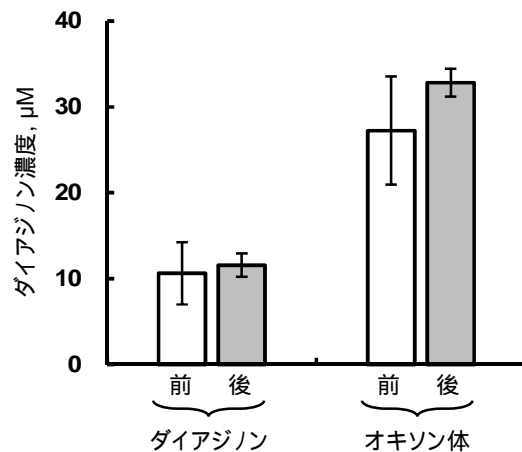


図10 超遠心前後でのダイアジノンとオキシソクソン体の濃度変化

S9mix を超遠心分離し、上清をダイアジノン水溶液に加えたところ、ダイアジノン濃度は減少しなかった(図9)。ダイアジノンとオキシソクソン体の水溶液を遠心分離したところ、超

遠心分離前後でいずれの物質も濃度が変わらなかった(図10)。すなわち、超遠心分離は、試料中のダイアジノンやオキソン体に影響を与えないことが示された。

アセチルコリンは水中で自然に加水分解し、コリンと酢酸となる。その結果、遊離されたコリンが水中にて検出された(図11、ACh)。ChEはこの反応を触媒するが、S9mixも同様にこの反応を触媒することが分かった(ACh + S9mix)。S9mixを超遠心分離すると、この反応が大きく抑制されたが(ACh + 遠心S9mix)、このときに遊離されたコリン濃度は、アセチルコリンから自然に遊離されたコリン濃度より、いくぶん高かった(ACh + 遠心S9mix > ACh)。一方、超遠心分離処理を施したS9mix中にもコリンが存在することが分かった(遠心S9mix)。ここで、アセチルコリンから自然に遊離されたコリン濃度(ACh)と、遠心分離処理を施したS9mix中に存在するコリン濃度(遠心S9mix)を加えると、遠心分離処理を施したS9mixとアセチルコリンを混合した際のコリン濃度(ACh + 遠心S9mix)に等しかった。このことは、ACh + 遠心S9mixで観察されたコリンの増加分は、遠心S9mixがもつChE様活性によるものではなく、もともと遠心S9mixに含まれていたコリンであることを意味する。すなわち、超遠心分離により、S9mixが有するChE様活性を、試料から分離除去可能であることが分かった。

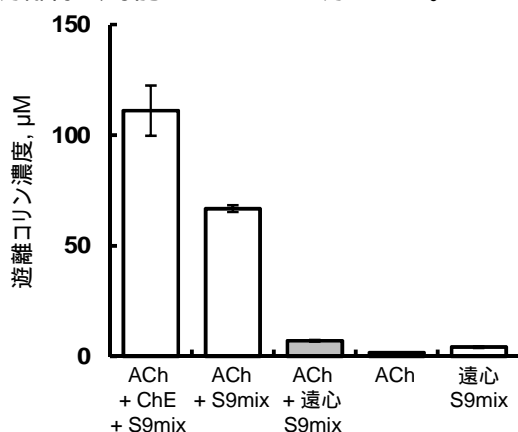


図11 ChE様活性からみた超遠心によるS9mixの分離 (ACh: アセチルコリン)

代謝を考慮した ChE 活性阻害試験によるダイアジノンとオキソン体の毒性評価
代謝を行わなかった場合、ダイアジノンは

毒性を誘発しなかったが(図12)、代謝を行うことにより、毒性が誘発されるようになった。このように、代謝により毒性が変化することから、有機リン系農薬の *in vitro* の ChE 活性阻害性評価では、代謝を考慮しない系に加え、代謝を考慮した系を行う必要があると提言できた。一方、オキソン体は、代謝の有無に関わらず毒性を誘発することが分かった。また、代謝により、毒性は低くなった。

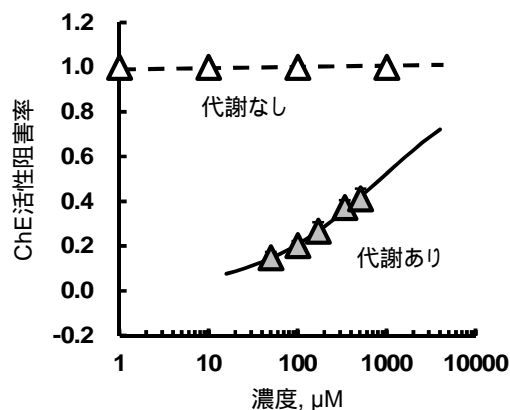


図12 代謝がダイアジノンのChE活性阻害性に与える影響

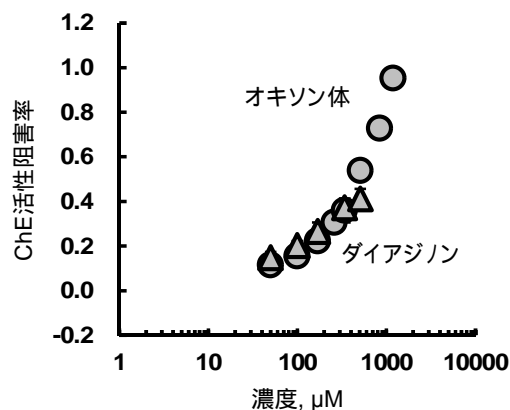


図13 代謝を考慮した際のダイアジノンとオキソン体のChE活性阻害性の比較

図13に、ダイアジノンとオキソン体の、代謝を考慮した際のChE活性阻害性を同一の図中に示す。ダイアジノン(△)とオキソン体(○)の毒性はほぼ同程度であることが分かった。すなわち、代謝を考慮した場合、現行の水道における水質管理目標設定項目での有機リン系についての「それぞれのオキソン体の濃度も測定し、それぞれの原体の濃度と、そのオキソン体それぞれの濃度を原体に換算した濃度を合計して算出すること」なる取り

扱いは、ダイアジノンについて妥当であると評価された。

7) 活性炭による PFASs の除去性の調査

GAC 処理による PFASs の除去性の評価は、実験室実験に加えて、実浄水場、パイロットプラントの結果が報告されている³⁻⁷⁾。文献によって処理性は大きく異なるが、新規の GAC では、PFOS、PFOA、PFHxS のいずれも高い除去率が得られていた。一方、経過年数が大きい場合、除去率が低く、流入濃度よりも流出濃度の方が高い場合も認められた。また、同一の処理条件では、実浄水場の調査によっては異なる場合もあったが、概ね PFOS、PFHxS、PFOA の順に除去性は高い傾向にあった。

地下水中の 9 種の PFASs について、GAC 処理を行ったところ、破過曲線と $\text{Log } D_{\text{OW}}$ の関係から⁷⁾、疎水性相互作用が重要であることが確認された。各 PFASs の $\text{Log } D_{\text{OW}}$ と BV_{50} (流入濃度の 50% 値が破過するベッドボリューム) の関係を見たところ、カルボン酸とスルホン酸によらず、線形増加の関係が認められ、PFASs の固定吸着相への見かけの吸着能は、PFASs のオクタノールへの分配親和性に比例することが示された⁷⁾。また、4 種の GAC での PFASs の除去性を比較から、PFASs は水中では陰イオンとして存在しているため、GAC の正味表面荷電が除去性に影響していると考えられた。

地下水を原水とする浄水場での GAC 処理による PFASs の除去率の経日変化を見ると、処理開始時は、PFOS、PFOA のいずれも除去されたが、約 30,000 BV_s で PFOA の破過が現れ、その後、約 55,000 BV_s で PFOS の破過が認められた。同様の傾向は、別の浄水場に設置した GAC カラム装置による、23 種の PFASs の処理実験でも認められた⁵⁾。

PAC 処理による PFASs の除去性について調査したところ、調査した範囲では、PAC 処理の場合、実浄水場やパイロットプラントでの報告はなく、実験室実験での結果であった^{3,8,9)}。文献数は、GAC 処理に比べて少なかった。

5 種の PAC (注入率: 15 mg/L) を用いて、貯水池中 (TOC : 4.5 mg/L) の PFASs の除去

性を比較したところ、PAC 種によって除去性は異なること、同一の PAC では、PFOS、PFHxS、PFOA の順に除去率は高い傾向にあった⁸⁾。これは、GAC の場合と同様の傾向であった。また、60 分後の除去率は、PFOS は約 10~約 45%、PFOA は約 3~約 23%、PFHxS は約 5~約 25% の範囲であった (除去率は図からの読み取り)。除去率が低い場合において、60 分後より、120 分後の方が除去率が低い結果も認められたが、GAC の場合と同様に、活性炭からの脱着が推察された。微粉炭の場合 (注入率: 15 mg/L)、接触時間 15 分において、PFOS、PFOA、PFHxS の除去率は、それぞれ約 65~約 90%、約 9~約 55%、約 18~約 55% であった。同じ種類の PAC において、微粉炭にすることで、短い接触時間で、除去率が向上することが示された。

E . 結論

1) 平成 30 農薬年度の農薬製剤出荷量は約 22.3 万 t で、前年度と比べて約 0.5 t 減少した。登録農薬原体数は平成 29 年 9 月時点 591 種類で、登録農薬原体数は平成 16 農薬年度以降増加を続けている。登録農薬製剤数は平成 30 年 9 月時点、殺虫剤が 1,069、殺菌剤が 888、殺虫殺菌剤が 475、除草剤が 1,526 で、合計で 4,282 であった。

2) 令和元年度の研究班による調査と追加調査での農薬類の測定結果を比べると、原水、浄水での検出指標値の推移を比べると、原水では両調査の値に大きな違いは見られなかったが、浄水では研究班の調査の方が低い傾向を示した。

3) 令和元年度の研究班による農薬類の実態調査の結果、原水では 94 種、浄水では 23 種の農薬が検出された。用途別に見ると、原水、浄水ともに除草剤が最も多く、約半分を占めていた。水質基準体系での農薬の分類で見ると、対象農薬の場合、原水では 55 種、浄水では 18 種が検出され、それ以外のカテゴリーの場合、原水ではその他農薬が 6 種、未分類農薬が 5 種、浄水ではその他農薬が 4 種、未分類農薬が 9 種、検出された。値の最大値は、原水が 1.297、浄水が 0.178 で、前年度までの調査と同程度の値であった。個別の農薬につ

いて見ると、最大検出濃度の場合、原水、浄水では、それぞれ9、4種の農薬が1 µg/Lを超過した。検出率の場合、原水、浄水では、それぞれ16、4種の農薬で10%以上であった。個別農薬評価値の場合、原水では、昨年度までの調査結果と同様に、テフリルトリオンがかなり高い値(1.90)を示した。浄水では、個別農薬評価値の最大値はこれまでの調査と比べて、特に高い値ではなかった。

4) 神奈川県内の浄水場の水道水源の河川水からは35種類、浄水からは11種類の農薬類が検出された。全国の10浄水場の実態調査では、原水からは40種類、浄水からは25種類の農薬類が検出された。山形県最上川を原水とする浄水場の1つでは、原水からテフリルトリオンが目標値の99%に相当する値(1.97 µg/L)で検出され、秋田県雄物川を原水とする浄水場の1つでは、対象農薬外ではあるが、動向の注目されているクロラントラニプロールが0.235 µg/Lで検出された。

5) エチプロールを塩素処理したところ、エチプロールは検出されず、分解物が検出され、LC-Q Exactive Focusによる解析結果、この物質の推定組成式は $C_{11}H_5N_4O_3F_3SCl_2$ で、エチプロールスルホンであると推察された。反応時間を変化させて検討したところ、エチプロールの主な塩素処理分解物はエチプロールスルホンで、エチプロールスルホンは塩素の存在下でも比較的安定であり、24時間後でもその大半が存在していることが確認された。

6) 代謝活性化を行った後に超遠心分離処理を施し、その試料をChE活性阻害試験に供することにより、代謝を考慮したChE活性阻害性試験を構築することができた。この試験を用いてダイアジノンとそのオキソン体の毒性を評価したところ、この2つの物質は同程度の毒性を有することが分かった。代謝を考慮した場合、現行の水道における水質管理目標設定項目での有機りん系についての「それぞれのオキソン体の濃度も測定し、それぞれの原体の濃度と、そのオキソン体それぞれの濃度を原体に換算した濃度を合計して算出すること」なる取り扱いは、ダイアジノンについて妥当であると評価された。

7) 活性炭によるPFASs除去について、文献

調査を行った。GAC、PACのいずれも、PFOS、PFHxS、PFOAの順に除去率は高い傾向にあった。GACの場合、初期では期待できるが、時間経過とともに除去率が低下すること、特に炭素数の小さいPFASsにおいて、顕著であることが示された。PACの場合、除去率はPAC種によって異なることが示された。微粉炭は、PACに比べて、短い接触時間でPFASsの除去が向上することが示された。

F. 参考文献

- 1) (社)日本植物防疫協会. 農薬要覧 2019 年 - 平成 30 農薬年度 - . (社)日本植物防疫協会, 東京, 2019.
- 2) (独法) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC). 農薬登録情報. <http://www.acis.famic.go.jp/ddata/index.htm> (2020年4月20日時点)
- 3) 三矢律子, 染谷暁子, 細田憲男, 松崎智洋. PFOS 及び PFOA の実態調査結果と浄水処理における除去性.
- 4) 稲田康志, 林広宣, 服部晋也, 森口泰男, 宮田雅典. 有機フッ素化合物の淀川水系における動向と浄水処理過程における挙動.
- 5) McCleaf, P., Englund, S., Östlund, A., Lindgren, K., Wiberg, K., Ahrens, L. Removal efficiency of multiple poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) in drinking water using granular activated carbon (GAC) and anion exchange (AE) column tests. *Water Res.*, 2017, 120, 77-87.
- 6) Appleman, T.D., Higgins, C.P., Quiñones, O., Vanderford, B.J., Kolstad, C., Zeigler-Holady, J.C., Dickenson, E.R.V. Treatment of poly- and perfluoroalkyl substances in U.S. full-scale water treatment systems. *Water Res.*, 51, 2014, 246-255.
- 7) Park, M., Wu, S., Lopez, I.J., Chang, J.Y., Karanfil, T., Snyder, S.A. Adsorption of perfluoroalkyl substances (PFAS) in groundwater by granular activated carbons: Roles of hydrophobicity of PFAS and carbon characteristics. *Water Res.*, 2020, 170, 115364. doi: 10.1016/j.watres.2019.115364.
- 8) Dudley, L.A.M.B. Removal of Perfluorinated

Compounds by Powdered Activated Carbon, Superfine Powdered Activated Carbon, and Anion Exchange Resins. Master Thesis, North Carolina State University, 2012.

- 9) Sun, M., Arevalo, E., Strynar, M., Lindstrom, A., Richardson, M., Kearns, B. Legacy and emerging perfluoroalkyl substances are important drinking water contaminants in the Cape Fear River watershed of North Carolina. Environ. Sci. Technol. Letters. DOI: 10.1021/acs.estlett.6b00398.

G . 研究発表

1 . 論文発表

なし

2 . 学会発表

- 1) 佐藤学, 仲野富美, 上村仁, 前田暢子, 浅見真理. 全国の浄水場における農薬類の実態調査 第 28 回環境化学討論会プログラム集. 2019, P-079 .
- 2) 森智裕, 谷口佳二, 小田琢也. フィプロニル分解物の実態調査と活性炭処理における除去効果. 令和元年度全国会議 (水道研究発表会) 講演集. 2019, 821 ~ 822 .
- 3) 知見圭悟. 相模川・酒匂川の水道原水にお

ける農薬検出状況と対応. 令和元年度日本水道協会関東地方支部水質研究発表会講演集. 2019 .

- 4) 佐藤学, 仲野富美, 上村仁. 神奈川県相模川流域における農薬類の年間を通じた実態調査 第 56 回全国衛生化学技術協議会年会講演集. 2019, 206 ~ 207 .
- 5) Yoshihiko Matsui. Pesticides and Volatile Compounds in Drinking Water Quality Standard: Chemical Mixtures and Indirect Exposure Assessment, Keynote Speaker, 11th Micropol & Ecohazard Conference 2019, October 20-23, 2019, Global Convention Plaza, Seoul National University, Seoul, Korea.
- 6) 佐藤学, 上村仁, 仲野富美, 前田暢子, 吉田伸江, 浅見真理. 全国の浄水場における浄水及び原水を対象とした農薬類の実態調査. 第 54 回水環境学会年会講演集, 2020 .
- 7) 吉川祐司, 大森圭, 松下拓, 松井佳彦, 白崎伸隆. 塩素処理に伴う有機リン系殺虫剤の毒性変動 ~ 代謝を考慮した ChE 活性阻害試験法の構築と適用 ~. 第 54 回日本水環境学会年会講演集, 2020 .

H . 知的所有権の取得状況

なし

令和元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
 化学物質等の検出状況を踏まえた水道水質管理のための総合研究
 消毒副生成物に関する研究

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	伊藤禎彦	京都大学大学院工学研究科
	越後信哉	京都大学大学院工学研究科
	小坂浩司	国立保健医療科学院生活環境研究部
研究協力者	小牧裕佳子	静岡県立大学
	大瀬俊之	東京都水道局
	柴 雅彦	茨城県企業局
	豊田大晃	北千葉広域水道企業団
	柿沼良介	川崎市上下水道局
	船岡英彰	京都市上下水道局
	北本靖子	大阪市水道局
	孝石 健	大阪広域水道企業団
	片木孝徳	阪神水道企業団
	中谷 悠	奈良県水道局
	愛甲俊郎	沖縄県企業局
	鈴木知美	国立保健医療科学院生活環境研究部

研究要旨

ハロアセトアミドは浄水処理最終工程水中で各定量下限値付近であったがほとんどのケースで時間の経過とともに増加し、特にプロモクロアセトアミドとジプロモアセトアミドが顕著であった。さらに、臭化物イオンが高い条件ではジプロモアセトアミドが高濃度で生成することが示唆された。また、ハロアセトアミドは塩素処理により生成し、活性炭処理で大幅に減少した。さらに、夏期に多く生成する傾向、総トリハロメタンとの相関も確認された。塩素酸の水質基準超過事例について調査した。原因は、貯蔵槽への継ぎ足し方式の補充による、次亜の劣化であった。浄水や給水栓における塩素酸の検出状況等を確認した結果、WHO の新しい毒性評価に基づき試算される仮想指標値 0.2 mg/L を夏季に頻繁に超えている地点が数箇所あり、温調設備のない次亜塩留槽やアンモニア態窒素濃度等が高く次亜塩注入量が多い原水がその原因と推察された。パラベン類及びその塩素化物の分析方法を確立した。淀川水系周辺における実態調査により、3,5-ジメチルピラゾール(DMP)及びDMP 塩素化物が検出された。DMP の処理法として、塩素添加前のオゾン処理と GAC 処理の有効性を示した。1,3,5-トリヒドロキシベンゼン、アセチルアセトン及びアセトンジカルボン酸について、溶存オゾンが検出される条件であれば、オゾン処理及び GAC 処理において対応が可能であることを示した。EEM による各水源から石川浄水場の THMFP の予測が可能である可能性を示した。ポニー湖フルボ酸(PLFA)とスワニー川フルボ酸(SRFA)のいずれも、UV254 が高い画分にジクロロベンゾキノン(DCBA)前駆物質を多く含むこと、一方、UV254 が低い PLFA の方が DCBQ 前駆物質を多く含むことが示された。また、PLFA の前駆物質には芳香族アミン類が寄与していることが明らかとなった。マンガニオンはクエン酸およびクエン酸と類似の化学構造を持つアコニット酸のハロ酢酸生成能を増加させることを示した。また、クロロ酢酸類の中で最も毒性が強いとされる MCAA が、マンガニオンによりクエン酸から多く生成した。さらに、クエン酸については水道水質基準値以下のマンガニオン濃度であってもハロ酢酸の生成に大きく寄与することが示唆された。

A. 研究目的

水質基準の改正に際して重要と考えられる事項として、ハロアセトアミド類(HAcAms)、塩素酸、塩素化パラベン、臭気物質、ハロベンゾキノン類(HBQs)、ハロ酢酸、トリハロメタン等を対象に、生成実態、分析技術、低減策について調査を行った。

以下に研究課題ごとの具体的な研究の目的・概要を示す。

1. ハロアセトアミド類に関する調査
 - 1.1 ハロアセトアミドの実態調査

未規制消毒副生成物であるハロアセトアミドについて、浄水処理最終工程水の実態調査を行

った。さらに、配水池や給水末端を想定した模擬実態調査を行った。併せて送配水過程でハロアセトアミド濃度の増加に影響を与える因子について調査を行った。

1.2 ハロアセトアミドの長期トレンド

消毒副生成物であるハロアセトアミド(クロロアセトアミド、ブromoアセトアミド、ジクロロアセトアミド、ブromokロロアセトアミド、トリクロロアセトアミド、ジブromoアセトアミド)の6種類について、浄水処理工程の実態、および浄水、送水過程での検出状況を調査した。

2. 塩素酸に関する調査

2.1 塩素酸の実態調査

給水人口約400人の小規模水道において、塩素酸が水質基準を超過した。そこで、原因を調査するとともに対策を講じた。

2.2 北千葉広域水道企業団等における塩素酸の検出状況等について

2016年にWHOは塩素酸の1日許容摂取量(TDI)を $30 \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{day})$ から約 $11 \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{day})$ に変更した。これを適用した場合、現行の水質基準値 0.6 mg/L に対し、指標値は 0.2 mg/L になると試算される。そこで、塩素酸が水質基準となった平成20年度以降の企業団及び企業団構成団体のうち千葉県を除く7市における塩素酸の検出状況及び次亜塩の管理状況等を確認した。

3. 塩素化パラベン類に関する調査

パラベン類は塩素と反応し、塩素化物を生じるとされており、発生した塩素化パラベン類はパラベン類と比較し、急性毒性が高まるという報告もある。その一方で、塩素化パラベン類における生体毒性の知見や、浄水処理や環境中での実態調査事例は少ない。そこで、本調査においてはLC/MSによるパラベン類の測定方法の検討及び長沢浄水場及び多摩川における実態調査を実施した。

4. 浄水処理対応困難物質等に関する調査

4.1 3,5-ジメチルピラゾールに関する調査

過去に、淀川水系において3,5-ジメチルピラゾール(以下、DMP)流出に起因する臭気異常が発生している。DMPの処理性の現状の浄水フローにおける知見に乏しく、浄水への影響は未知である。そこで、本研究においては、DMP及びDMP塩素化物の分析法を検討した。さらに、水源におけるDMPの存在実態の調査及び大阪市の浄水処理フローにおける処理性の調査を行なった。

4.2 浄水処理対応困難物質に関する調査(高濃度負荷時のオゾン+GACでの処理性)

浄水処理対応困難物質について、オゾン処理

及び粒状活性炭処理(以下、GAC処理)による処理性についての調査を行なった。

5. 消毒副生成物のモニタリングと制御

室生ダム(奈良県)では、消毒副生成物が例年6月から10月にかけて大きく増減する。消毒副生成物濃度が目標値以下であった今年度の管理状況について整理を行った。

トリハロメタンの制御や低減化のために、消毒副生成物の生成と前駆物質である溶存有機物の特性を比較検討することが重要である。本調査では、沖縄県企業局石川浄水場各処理工程水の三次元励起蛍光スペクトル(EEM)測定結果を用いてPARAFAC解析を行い、蛍光性溶存有機物(以下「CDOM」)成分構成の把握、各処理工程における除去率の確認を行った。さらに、トリハロメタン生成能(THMFP)との相関性を確認し、EEMの各生成能代替指標としての可能性について検討してきた。今年度は、各水源より石川浄水場のTHMFPの予測の可能性について検討を行った。

6. ハロベンゾキノン

ハロベンゾキノン類(HBQs)は、新規の消毒副生成物で、既知の消毒副生成物よりも強い毒性を有すると推定されている。HBQsのうち、2,6-ジクロロ-1,4-ベンゾキノン(DCBQ)は日本の水道水中にも広く存在することが報告されている(中井ら,2017)。本研究では、DCBQ前駆物質の一種に、芳香族アミン類があることから(菱田ら,2016)、窒素含有量の異なる2種類のNOMを用いて有機態窒素に着目し、DCBQの前駆物質として特性解析を行った。

7. マンガンイオンが消毒複製生物に与える影響に関する調査

ハロ酢酸(HAAs)の生成量は、溶存有機物の濃度や種類、pH等様々な要因によって変化することが知られているが、共存物質の間接的な影響については、十分な検討がなされていない。

様々な共存物質のうち、金属イオンは錯体形成などにより消毒副生成物の生成に寄与すると考えられるが、海外に比べて濃度が高いとされるマンガンの影響についての検討例は非常に少ない。そこで本研究では、共存物質の一種であるマンガンイオンに着目し、塩素処理過程におけるHAA生成能(FP)への影響を評価した。

B. 研究方法

1. ハロアセトアミド類に関する調査

1.1 ハロアセトアミドの実態調査

調査項目はハロアセトアミド(HAcAms)(クロロアセトアミド(CAcAm)、ブromoアセトアミド(BAcAm)、ジクロロアセトアミド(DCAcAm)、

ブロモクロロアセトアミド(BCAcAm)、ジブロモアセトアミド(DBAcAm)、トリクロロアセトアミド(TCAcAm))とした。また、調査時期は令和2年1月～2月、対象検体は最終工程水(霞ヶ浦浄水場浄水、実証実験プラント高速砂ろ過水(T0と表記))、配水池や給水末端を想定した検体(上記最終工程水を20℃で24時間または72時間静置した検体(それぞれ模擬的に配水池、給水末端を想定し、T24、T72と表記))とした。

なお、24時間経過時点で0.3 mg/L程度の追加塩素を行い、72時間経過時に0.1 mg/L以上の残留塩素が検出されるようにした。))

HAcAmsの分析は固相抽出-GCMS法で行った。固相カラムはAC-2(活性炭系)を用いた。残留塩素を除去後、pH5に調製した試料500 mLに内部標準物質として1,2-ジブロモプロパンを添加し、固相カラムに通水した。通水終了後、固相カラムを窒素ガスで乾燥し、通水と逆方向に酢酸エチル7 mLで溶出(固相カラムに残った水相とともに)、塩化ナトリウムで塩析後、その5 mLを脱水カラムに通液し、窒素ガス吹きつけにより0.1 mLまで濃縮し試料とした。

1.2 ハロアセトアミドの長期トレンド

浄水処理工程の実態調査および浄水について、水温、塩素注入率、総トリハロメタン、電気伝導率および全有機炭素との関係を調査した。

また、送水過程における流下時間等の影響による濃度変化を調査した。同時にハロアセトアミドとの関係を調査するため総トリハロメタン、電気伝導率および全有機炭素も測定した。

2. 塩素酸に関する調査

2.1 塩素酸の実態調査

貯蔵槽に保管されていた次亜塩素酸ナトリウムの塩素酸濃度を測定した。次亜塩素酸ナトリウムを入れ替えたのち、給水区域内の5地点で、塩素酸濃度の推移を調査した。また、基準超過から3年後、再度、実態調査を行った。

2.2 北千葉広域水道企業団等における塩素酸の検出状況等について

塩素酸が水質基準となった平成20年度以降の企業団及び企業団構成団体のうち千葉県を除く7市における塩素酸の検出状況及び次亜塩の管理状況等を確認した。

3. 塩素化パラベン類に関する調査

3.1 測定方法の検討

測定対象をパラベン類の中で使用頻度の高い構造異性体を含めた6種としてLC/MSを用いた分析を行った。

これらのパラベン類の標準品を次亜塩素酸ナトリウムと反応させ、塩素化パラベン類が生成

されることを確認した。続いて、パラベン類と塩素の反応時間を調べた。パラベン類6物質と次亜塩素酸ナトリウムを反応させ、経過時間ごとにパラベン類及びその塩素化物をSIM測定し、面積値の変化を確認した。また、パラベン類6物質の塩素化物について、MRM分析条件の検討を行った。

試料の前処理として、Oasis HLBを用いた固相抽出を行い、1000倍濃縮を行なった。また、精度確認の為に精製水、配水、原水にパラベン類と塩素化パラベン類を添加し、回収試験を行った。

3.2 長沢浄水場及び多摩川における実態調査

8月から1月にかけて計6回、長沢浄水場(川崎市)の原水及び配水のパラベン類の実態調査を行った。また、下水処理水による影響を調査する為に多摩川においても同期間で計5回の調査を実施した。

また、この調査において検出されたパラベン類及びその塩素化物の排出源調査のため、多摩川及び相模湖上流域における調査を行なった。

4. 浄水処理対応困難物質等に関する調査

4.1 3,5-ジメチルピラゾールに関する調査

分析には、LC-MS/MSを用いた。また、実験に用いた試料は事前にカートリッジフィルターを用いて濁質を取り除いた。

4.1.1 DMP及びDMP塩素化物の分析方法

直接注入LC-MS/MS法を用いてDMP及びDMP塩素化物を添加した試料のインフュージョン分析を行い、MS条件及びSRM条件の検討を行った。

また、臭気試験として、水道水に段階的にDMPを添加した試料における異臭の有無の確認を、10人のパネラーで行った。

4.1.2 淀川水系におけるDMPの実態調査

淀川水系9地点に加え、淀川水系に排水を放出する下水処理場及び工場の9地点におけるDMPの実態調査を行った。

4.1.3 浄水フローにおける処理性実験

大阪市の浄水フローである、急速砂ろ過、オゾン処理及び粒状活性炭(以下、GAC)処理による処理性を調査した。

実施設と同様の浄水フローを有する最適先端処理技術実験施設(以下、実験施設)において、DMPが100 µg/Lとなるように添加し、それぞれの処理による処理性を評価した。

また、3つの処理それぞれについて独立した処理性の調査も行った。DMP濃度が100 µg/Lとなるように調整した試料をそれぞれの処理を行い、処理性と処理条件との関係を調査した。

4.2 浄水処理対応困難物質に関する調査(高濃度負荷時のオゾン+GACでの処理性)

1,3,5-トリヒドロキシベンゼン、アセチルアセトン及びアセトンジカルボン酸の3つの対象物質を村野浄水場ろ過水に添加した試料において、連続式のオゾン・GAC処理を行い、その処理性を調査した。

5. 消毒副生成物のモニタリングと制御

5.1 ハロ酢酸の制御に関する調査

クロロホルム、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸の3項目については、奈良県桜井浄水場水、A市受水地及びA市給水末端での濃度の計測を行った。また、粉末活性炭素注入率の推移についても併せて観察した。ラフィド藻の発生状況については、水源定期検査を行った。

5.2 消毒副生成物のモニタリングと制御

各処理工程水においてEEM測定を行い、PARAFAC解析によってCDOM成分構成の把握および各処理工程における除去率の確認を行った。また、各水源においてEEM測定を行い、PARAFAC解析を行った。また、その成分をそれぞれのTHMFPと重回帰分析を行い石川浄水場(沖縄県企業局)のTHMFPを予測した。

6. ハロベンゾキノン

対象試料として国際腐植物質学会より購入したスワニー川フルボ酸(SRFA)とポニー湖フルボ酸(PLFA)を用いた。

HPLCを用いてNOM試料(130~140 mg C/L)を分画し、同時に紫外外部吸光度(UV₂₅₄)を測定した。その後、各画分についてDCBQの生成能試験を行い、DCBQ前駆物質を多く含む画分を特定した。

塩素処理後のNOM試料(20 mg C/L)について、芳香族アミン類からDCBQが生成される際に中間体として生成される3,5-ジクロロキノン-4-クロロイミド(3,5-DCQC)とその類縁物であるp-キノン-4-クロロイミド(QC)の測定を行った。

NOM試料中のアミン由来の窒素含有量を明らかにすることを目的に、NOM試料を陽イオン交換カートリッジ(Supelclean LC-SCX; Sigma-Aldrich)に通水し、通水前後の全窒素濃度を測定した。また、LC-Orbitrap/MS(Q Exactive; Thermo Fisher Scientific)を用いて、NOM試料中に含まれる芳香族アミン類等の組成解析を行った。

7. マンガンイオンが消毒副生成物に与える影響に関する調査

まず、比較的構造が単純な化学物質5種類(クエン酸、アニリン、フェノール、アスパラギン酸、安息香酸)をモデル物質として選定し、マンガンイオン(Mn²⁺)の有無によるHAAFPの変化を調

べた。また、塩素処理過程におけるマンガンの形態を調べるために、塩素処理後のサンプルを濾過したのちに全マンガン濃度を測定した。HAAFP試験の条件は、サンプル量は10 mL、有機物濃度は3 mgC/L、塩素添加量はその10倍である30 mg/L(フェノールのみ50 mg/L)、マンガン添加量は0, 100 µg/L、反応時間は24時間、pHは7(5 mMリン酸緩衝液)、温度は20 °Cとした。反応後は、塩化アンモニウムを添加(50 mg/L)して遊離塩素を除去した。HAA濃度の測定はLC-MS/MS(4000 QTARF; AB Sciex)で行った。マンガン濃度の測定はICP-MSで行った。

次に、クエン酸に着目し、マンガン濃度を0, 1, 3, 10, 30, 100, 300, 1000, 3000, 10000 µg/LとしてHAAFP試験を行った。また、クエン酸と類似の構造を持つジカルボン酸、トリカルボン酸を11種選定し、HAAFP試験を行った。

最後に、実際の環境水についてマンガンの影響を調べた。琵琶湖、桂川、淀川で採水した環境水にマンガン濃度が100, 1000 µg/Lになるように添加し、HAAFP試験を行った。

C. 調査結果およびD. 考察

1. ハロアセトアミドに関する調査

1.1 ハロアセトアミドの実態調査

霞ヶ浦浄水場と実証実験プラントのいずれにおいても、最終工程水(T0)中の各HAcAms濃度は定量下限値付近であり、6項目合計の最大値は1.6 µg/Lであった。

ほとんどのケースにおいて、T0から時間の経過とともにHAcAms濃度の増加が確認され、特にBCAcAmとDBAcAmで顕著であった。

配水池、給水末端でのHAcAms濃度を推定するためにT24、T72のHAcAms濃度を測定した。今回の調査方法では濃度を過大に評価している可能性があるものの、6項目合計の最大値は、T24、T72でそれぞれ2.7 µg/L、3.0 µg/Lであった。処理方法の違いによる大きな差は認められなかった。

T0における臭化物イオン濃度の違いはT24において生成するHAcAms濃度に影響し、臭化物イオンが高い条件ではDBAcAmが高濃度で生成することが示唆された。

1.2 ハロアセトアミドの実態調査

浄水処理工程において総ハロアセトアミド濃度は、殺藻用塩素により沈殿水で生成し、オゾン処理では増減しないが、活性炭処理で大幅に低減した。ろ過水は中間塩素処理により生成し、浄水は後塩素処理によりさらに生成した。各工程においてジハロアセトアミド最も多く生成した。浄水は水温および塩素注入率の高い夏期に比較的ハロアセトアミドが多く生成する傾向が見られ、また総トリハロメタンとの相関がある傾向

も確認された。

送水過程においても水温や塩素注入率が高く、流下時間が長いと総ハロアセトアミド濃度は増加する傾向であったがどれが最も寄与するかの判断は不可能であった。また、総トリハロメタンとの相関があると推測された。

2. 塩素酸に関する調査

2.1 塩素酸の実態調査

水質基準超過時の給水栓における塩素酸濃度は0.73 mg/Lであった。その時、貯蔵槽に保管されていた次亜塩素酸ナトリウム(以下、次亜)の塩素酸濃度は、13,600 mg/kgまで上昇していた。原因は、継ぎ足し方式の補充による、次亜の劣化であった。次亜の入替え後、数日で水質基準超過は解消された。

委託先業者に、適切な入替について指導するとともに、次亜貯蔵槽室に空調設備を設置した。しかし、3年後の実態調査では、給水栓の塩素酸濃度は0.39 mg/Lまで上昇していた。そこで、再度、委託先業者への指導を行った。

2.2 北千葉広域水道企業団等における塩素酸の検出状況等について

2.2.1 企業団における塩素酸の検出状況

次亜塩は、3地点(前・中・後)で注入しており、また、最も遠方の企業団構成団体受水地点の手前の中継ポンプ場1箇所では生成次亜塩による追塩も行っている。また平常時、北千葉浄水場内では総計2.5 mg/L程度の次亜塩を注入している。

次亜塩の納入状況については、塩素酸が基準化された当初の平成20年度および21年度は塩素酸の規格値に近いものが納入されていたが、近年では規格値の1/10程度のものが納入されている。

さらに、次亜塩は空調設備により20℃以下に管理された貯留室内の貯留槽で保管されている。なお、次亜塩生成装置及び貯留槽は、空調設備のない中継ポンプ場建屋内に設置されている。貯留槽は、2槽あるが配管でつながっており、実質的には1槽で、次亜塩が設定した水位まで低下するごとに生成・補充され、その周期は、処理水量や水温・水質によって異なるが、2日間程度である。概ね毎年8月に測定している生成次亜塩貯留槽内の約1%次亜塩中の塩素酸濃度のこれまでの最大値は4,100 mg/kgで、平均値は1,300 mg/kgであった。塩素酸濃度1,300 mg/kgの1%次亜塩を1 mg/L(平常時の最大注入率)を追加注入した場合、送水には約0.12 mg/Lの塩素酸が付加されると推定された。

また、定量下限値以上の検出頻度は、水質基準化された平成20、21年度が顕著に高く、最大値も平成21年度に出現している。この原因として

平成20、21年度は、受け入れ時の塩素酸濃度が企業団の規格値に近いものが納入されていたが、平成22年度以降、規格値より一桁低い濃度のものが納入されるようになったことが挙げられる。浄水における最大値は0.13 mg/Lにとどまっている。定量下限値以上の検出時の平均値は、平成20、21年度が若干高いが、その他の年度と大きな差は認められなかった。さらに、月別検出頻度は、9月が突出して高く、その他の月では大きな差はなかった。9月に検出頻度が高い原因としては、測定は月の初めに行っているが、9月の試料が最も気温の高い8月の間に受け入れ・貯蔵していた次亜塩を使用しているものであることが考えられた。

受水槽に生成次亜塩追加後の塩素酸濃度の最大値は平成21年9月の0.20 mg/Lで、最大の増加幅は0.12 mg/L以上0.18 mg/L未満で、定量下限値以上の検出時の平均値は0.10 mg/Lであった。気温が高くなる6月及び9月は、ほぼすべてのデータで濃度の増加が認められた。

2.2.2 企業団構成団体給水栓における塩素酸の検出状況

次亜塩の納入については、構成団体の多くがJWWAの特級以上の品質としており、1級以上としている団体は2団体であった。

また、26箇所のうち23箇所は、空調設備や冷却設備等により20~25℃以下に管理されている。屋外に設置され、かつ空調・冷却設備のない貯留槽が1箇所あった。空調設備を有する屋内に設置している貯留槽の次亜塩を使用している水源でも、塩素酸対策が進んだ平成23年度以降も塩素酸濃度が0.2 mg/Lを複数回超えている給水栓が2箇所あった。原因はどちらも不明であるが、水源Fは、アンモニア態窒素濃度等が高く、塩素要求量が8 mg/L程度で同様の設置状況の貯留槽がある他の2箇所の水源より2倍程度高く、塩素注入量が多いことが要因となっていると推察された。

企業団浄水と同様に定量下限値以上の検出頻度は、水質基準化された平成20年度から平成22年度までが顕著に高かった。理由としては、先に述べたように、平成22年度以降、購入時の次亜塩中の塩素酸濃度が低いものが納入されるようになったことや、構成団体における塩素酸対策が進んだことが考えられる。一方で、新たなTDIから試算される指標値0.2mg/Lを超える検出例がほぼ毎年見られ、検出地点は概ね決まった構成団体の水源の給水栓で検出されている。また、定量下限値以上の検出頻度は、6月から11月の間が高く、特に8月及び9月が高い。0.2mg/Lを超える検出例も8月及び9月に集中しており、次亜塩の貯蔵温度上昇が影響していることがうかがえた。

3. 塩素化パラベン類に関する調査

3.1 測定方法の検討

p-ヒドロキシ安息香酸メチル(以下、PHBA-M)は、速やかに塩素と反応し、1塩素化物を経て2塩素化物となった。その後、塩素過剰状態において2塩素化物は分解され、1塩素化物も面積値が低下することが分かった。また、これらの傾向は他の5種のパラベン類においても同様であった。

パラベン類6種の塩素化物についてのMRM分析条件を検討した結果、1塩素化物については5~80µg/L、2塩素化物においては5~40µg/Lのそれぞれの範囲について良好な結果を得ることに成功した。また、検量線の定量下限値についても決定を行い、CV及び誤差率が20%以下となることを確認した。

前処理の検討結果としては、一部の物質について回収率が100%以上と高くなったが、本研究の目的である対象物質の概算濃度測定には差し支えがないと判断し、この前処理方法を採用した。

3.2 長沢浄水場原配水及び多摩川における実態調査

長沢浄水場においては、12月の原水においてPHBM-Aが一度検出されたことを除いて、原水・配水共に不検出であった。その一方、多摩川においてはパラベン類及びその塩素化物が複数検出され、その濃度は10月、11月において高くなった。このことから、季節によってパラベン類濃度が変動していることが考えられ、この要因は降雨の影響であることが考えられる。また、パラベン類の検出された試料に塩素を添加することで、塩素化物が生成されることも確認された。

多摩川上流域における排出源調査の結果、下流においてパラベン類が検出された。また、下水処理場付近においては6地点中2つの地点で多摩川と同じパラベン類が検出された。このことから、下水処理水としてパラベン類の一部が塩素化・放流された可能性が示唆された。また、多摩川下流や下水処理場においても未検出の地点もあったことから、時間帯によってパラベン類濃度が変化している可能性も示唆された。

相模湖上流域における排出源調査の結果、2箇所におけるPHBM-Aの低濃度検出はあったものの、多摩川と比較すると下水処理施設の影響が小さく、パラベン類の汚染も少ないと考えられる。

4. 浄水処理対応困難物質に関する調査

4.1 3,5-ジメチルピラゾールに関する調査

4.1.1 DMP及びDMP塩素化物の分析方法

MS条件及びSRM条件の検討として、2つの条件を検討した。1つ目の条件として、分離モード

は親水性相互作用クロマトグラフィー、イオン化法はエレクトロスプレーイオン化法を組み合わせた。この条件ではDMPを迅速に分析可能だが、DMP塩素化物の分析は不可であった。その為、2つ目の条件として、逆相分配クロマトグラフィー、大気圧化学イオン化法を組み合わせた条件での検討を行った。この条件では、1つ目の条件と比較し、分析時間は長くなり、イオン化法はAPCIとなるが、DMP及びDMP塩素化物の同時測定が可能であった。1つ目の条件における分析法において、検出下限値は0.04~0.05 µg/L、定量下限値は0.2 µg/Lとなった。

また、臭気試験においては、パネラーの半数以上が塩素と異なる臭気を検知したDMP添加濃度は0.05~0.1 µg/Lであった。これは定量下限値を下回るが、検出可能濃度であることがわかった。

4.1.2 淀川水系におけるDMPの実態調査

工場排水の2地点で定量下限値を上回る濃度のDMPが検出された。また下水処理場放流水では全地点でDMPのピークが確認された。またその内2地点においてはDMP塩素化物のピークも確認された。河川水において、DMPは検出されなかった。

4.1.3 浄水フローにおける処理性実験

実験施設のそれぞれの処理における除去率は、中オゾン処理で99%以上、急速砂ろ過処理では71%であり、後オゾン処理で定量下限値以下まで除去された。このことから、本市での浄水処理フローによってDMPは効率的に処理できると考えられる。

カラムを用いた急速砂ろ過処理の処理性の調査では、DMPが処理されなかった。砂層に生息する生物に処理が依存している可能性が示唆された。

オゾン処理の処理性の評価では、CT値の上昇とともにDMP除去率も上昇し、CT1.3で除去率はほぼ100%となった。また、CT2.5ではDMP塩素化物のピークも検出されなかったことから、オゾン処理によってDMPは塩素処理を行っても異臭を発生しない物質に変化した可能性が示唆された。

GAC処理においては、経年炭、新炭ともにDMP除去率が99%以上であった。このことからDMPは物理吸着作用によって除去されると推測される。また、空間速度によって除去率に差異は生じなかった。

4.2 浄水処理対応困難物質に関する調査(高濃度負荷時のオゾン+GACでの処理性)

1,3,5-トリヒドロキシベンゼン及びアセチルアセトンの残存率は、オゾン処理単独で0%となった。また、アセトンジカルボン酸の残存率は、オ

ゾン処理において約 50%であったが、後段の GAC 処理を行うことで 0%となった。

このことから、溶存オゾンが検出される条件であれば、オゾン処理及び GAC 処理において対応可能であることが分かった。

5. 消毒副生成物のモニタリングと制御

5.1 ハロ酢酸の制御に関する調査

クロロホルムについては、浄水場での濃度と比較し、A 市受水地では約 2 倍弱、A 市供給末端では約 3 倍強に増加した。しかし、最大値であっても目標値以下の濃度となっており、管理に成功した。

ジクロロ酢酸については、給水末端における遊離残塩の低濃度期間が見られた。この期間におけるジクロロ酢酸濃度の低下は遊離残塩濃度の低下に伴い発生したと考えられる。また、この期間を除いて、ジクロロ酢酸濃度とクロロホルム濃度に高い相関が見られた。トリクロロ酢酸についても、クロロホルム濃度との相関が確認できた。

ラフィド藻については、水源定期検査において大幅な増殖は確認されなかった。水源での増殖が最大となった日時の、桜井浄水場におけるトリクロロ酢酸とジクロロ酢酸の生成能比は 2.95 へと上昇した。この生成能比が 3 を超過した場合は新たにトリクロロ酢酸の管理目標値を定める必要があるが、今年度は基準値を下回った為、新たな管理目標値を設定せずに通常時と同様の消毒副生成物の一括管理を続行した。

5.2 消毒副生成物のモニタリングと制御

5.2.1 石川浄水場における CDOM の挙動

各処理工程水において EEM 測定を行い、PARAFAC 解析を行った。その結果、CDOM を既報では 5 成分に分離していたところ、今回は 4 成分となった。文献(眞家, 2009)及び日本腐植物質学会所有の段戸フルボ酸・フミン酸、猪ノ頭フルボ酸・フミン酸、琵琶湖フルボ酸の 5 種類の測定結果との比較から、石川浄水場処理水中に含まれる各成分は、成分 1, 2 がフルボ酸、成分 3, 4 がフミン酸、成分 5 がタンパク質様成分と推定されており、今回は成分 1, 2, 4, 5 が確認された。なお、成分 3 については、分離されなかった。

5.2.2 石川浄水場における CDOM 成分の除去率

石川浄水場の 2 系(久志処理水、金武、漢那、山城)では全プロセスにより CDOM 成分の約 82 ~ 89% が低減されている。沈澱処理においてフミン酸様の成分 4 が低減している。これは、フミン酸様物質が高分子量であり沈澱処理により低減しやすいためであると考えられる(丹保, 2017)。なお、既報と異なり、フルボ酸用の成分 1, 2 も低減できているが、理由は不明である。中間ポン

プにおいても各成分が減少しているが、これは中間ポンプにおいて腐植様物質の少ない 1 系処理水(久志処理水)と合流するため減少している。活性炭処理水においてはフミン酸様の成分 4 が増加している。活性炭処理水においては色度の増加も確認されている。高速ろ過及び浄水においても各成分が減少している。これは、高速ろ過の前に凝集剤を注入していることと、塩素処理によって CDOM 成分が塩素化されたためと考えられる。

5.2.3 トリハロメタン生成能との比較

既報での THMFP と CDOM 各成分との相関が最も高かったのは、成分 1 であった。THMFP と成分 1 の相関は決定係数 (R^2) が 0.87 ($n=525$) であった。この結果より、蛍光強度から THMFP の予測が可能だと推測されたことから、現在、蛍光強度から THMFP を予測するための解析を進めている。

5.2.4 各水源の蛍光成分と石川浄水場のトリハロメタン生成能の比較

久志浄水場原水・処理水について、EEM 測定を行い、PARAFAC 解析をおこなった。その結果、石川浄水場と同じ 4 成分に分離できた。その成分を久志浄水場の THMFP と重回帰分析を行い久志浄水場における THMFP を予測した。予測の結果、相関係数は 0.81 ($n=66$) であった。また、漢那ダムと金武ダムについても同様に処理した結果、石川浄水場と同じ 4 成分に分離でき、その成分をそれぞれの THMFP と重回帰分析を行い予測した。予測の結果、相関係数は漢那ダムで 0.68 ($n=17$)、金武ダムで 0.86 ($n=27$) であった。それぞれ予測した THMFP と水量比を用いて、石川原水の THMFP を予測(1 系: $n=20$ 、2 系: $n=10$)した。その結果、水源から石川浄水場の THMFP を予測することは可能であると推測されるが、相関係数がやや低い。これは、一部のデータにおいて測定回数が少ないことに起因していると考ええる。今後は、データ数を増やして、相関係数が改善するか確認する必要がある。また、蛍光強度で予測できるかについても確認していく。

6. ハロベンゾキノン

PLFA, SRFA のいずれも保持時間 8 ~ 12 分の画分中の DCBQ 生成能と UV254 が高かった(図 1)。種類の異なる NOM について紫外外部吸光度と DCBQ 生成能との関連性は認められなかったが、同一の NOM については、関連性が認められることが示された。UV254 の強度は SRFA の方が高かったが DCBQ 生成能は窒素含有量の高い PLFA の方が高かった。これは、過去の報告と同様の傾向であった。

塩素処理後の NOM について、PLFA について

は、3,5-DCQC と QC がともに検出された。このとき、QCの方が濃度が高かった。同様に、SRFAについて検討したところ、3,5-DCQC と QC のいずれも検出されなかった。これらの結果から、SRFAでは、フェノール性水酸基を持つ部位から DCBQ は生成されるが、PLFAでは、フェノール性水酸基を持つ部位だけでなく、芳香族アミノ基を持つ部位からも DCBQ が生成されていることが示された。

芳香族アミン類が DCBQ 生成に寄与していることが示された PLFA について、陽イオン交換カートリッジに通水を行った。その結果、通水前後で、有機態窒素は 60% 程度減少した。このことから、PLFA には、アミン類が含まれていることが示された。

LC-Orbitrap を用いて、陽イオン交換カートリッジ通水後に減少したピークの組成について解析を行った。図 2 に、van Krevelen diagram を示す。DCBQ 前駆物質濃度が高かった画分の保持時間のみを解析対象とした。陽イオン交換カートリッジ通水後に減少 (50% 以上) したピーク数のうち、含窒素芳香族のピークは 385 であった [芳香族化合物の判定は、aromatic index (AI_{mod}) (Baalousha ら, 2018) を使用] これらピークの分子量は 116 ~ 541 (平均: 311) であった。炭素数の範囲は 6 ~ 38 で、C₇ が最も多く、C₆、C₈、C₉ も比較的多かった。同一組成のピークも認められたが、保持時間が異なるため、異性体と考えられた。組成について見ると、CHNO の組成が約 55% と最も割合が高く、CHNOP の組成も約 27% と高かった (図 3)。

これらピークは含窒素芳香族という点であるため、DCBQ 前駆物質候補としてみる場合には、塩素との反応性の点からの評価も必要となる。今後は、塩素処理前後の NOM 試料についても、LC-Orbitrap/MS による解析を行う予定である。

7. マンガンイオンが消毒副生物に与える影響に関する調査

図 4 に示すようにクエン酸の HAAFP がマンガンイオンの添加により大きく増加していることがわかった。クエン酸以外の 4 物質については、HAAFP の変化は確認できなかった。塩素処理中のマンガンイオンの形態は、クエン酸においては溶存態 (つまりイオンもしくは錯イオンとして存在)、他の 4 物質においては、二酸化マンガンの濃度が高いことが分かった。以上の結果から、クエン酸とマンガンは錯体を形成し、その錯体生成がクエン酸の HAAFP を増加させると考えられた。

マンガンイオンがクエン酸の HAAFP と塩素消費量に与える影響を、マンガンイオン濃度別に調べたところ、MCAAFP, DCAAFP, TCAAFP 共に、1 µg/L のマンガン濃度であっても増加が確認

された (図 5)。マンガンの水質基準値である 50 µg/L 以下であっても、クエン酸の HAAFP に大きな影響を与えており、消毒副生成物という観点からもマンガンの制御が必要となる可能性がある。

クエン酸類似物質に着目した結果、*cis*-アコニット酸、*trans*-アコニット酸の DCAAFP に有意な増加が見られた。

環境水において、マンガンイオンによる HAA の影響はなかった。しかしクエン酸などの物質は植物や生物の体内に多く含まれる物質であり、秋から冬にかけて採取された原水中に含まれる濃度は非常に少ないように思われる。夏場の原水や藻類などが大量に発生した際に採取した原水の調査を引き続き行う必要がある。

E. 結論

- 最終工程水中の各ハロアセトアミド濃度は定量下限値付近であったがほとんどのケースで時間の経過とともに増加し、特に BC_{Ac}Am と DB_{Ac}Am が顕著であった。また、処理方法の違いによる H_{Ac}Ams 濃度の差はほとんど見られなかった。さらに、臭化物イオンが高い条件では DB_{Ac}Am が高濃度で生成することが示唆された。
- ハロアセトアミドは塩素処理により生成し、活性炭処理で大幅に減少した。また、夏期に多く生成する傾向、送水過程においては流下時間が長いと多く生成する傾向が見られ、総トリハロメタンとの相関も確認された。
- 塩素酸の水質基準超過事例について調査した。原因は、貯蔵槽への継ぎ足し方式の補充による、次亜の劣化であった。
- 浄水や給水栓における塩素酸の検出状況等を確認した結果、WHO の新しい毒性評価に基づき試算される仮想指標値 0.2 mg/L を夏季に頻繁に超えている地点が数箇所あり、温調設備のない次亜塩留槽やアンモニア態窒素濃度等が高く次亜塩注入量が多い原水がその原因と推察された。
- パラベン類及びその塩素化物の分析方法を確立し、長沢浄水場及び多摩川流域において実態調査を行った結果、長沢浄水場における塩素化パラベン類は未検出であった。また、多摩川における実態調査から、パラベン類と下水処理水との関係が示唆された。
- 淀川水系周辺における実態調査により、DMP 及び DMP 塩素化物が検出された。DMP の処理法として、塩素添加前のオゾン処理と GAC 処理の有効性を示した。
- 1,3,5-トリヒドロキシベンゼン、アセチルアセトン及びアセトンジカルボン酸について、溶存オゾンが検出される条件であれば、オゾン処理及び GAC 処理において対応が可能

である。

- EEM による各水源から石川浄水場の THMF 予測が可能である可能性を示した。
- PLFAとSRFAのいずれも、UV254が高い画分にDCBQ前駆物質を多く含むこと、一方、UV₂₅₄が低いPLFAの方がDCBQ前駆物質を多く含むことが示された。また、PLFAの前駆物質には芳香族アミン類が寄与していることが明らかとなった。
- マンガンイオンはクエン酸およびクエン酸と類似の化学構造を持つアコニット酸の HAAFP を増加させることが示された。また、クロロ酢酸類の中で最も毒性が強いとされる MCAA が、マンガンイオンによりクエン酸から多く生成した。さらに、水道水質基準値以下のマンガン濃度であっても HAAs の生成に大きく寄与することが示唆された。なお、環境水の HAAs にマンガンイオンの影響を確認することはできなかった。しかし、藻類の増殖などといった微生物の発生が見られる夏場に影響を与えることも考えられ、引き続きマンガンの HAAFP へ与える影響を調査する必要がある。

F. 参考文献

- 丹保憲仁. 水処理工学の基礎[56]. 水道公論, 2017, 53(11), 69-79.
- 中井喬彦, 小坂浩司, 浅見真理, 秋葉道宏. LC-MS/MS 法による水道水中の 2,6-ジクロロ-p-ベンゾキノン (DCBQ) の測定法検討と実態調査. 水環境学会誌, 2015, 38, 67-73.
- 菱田祐太, 森智裕, 河内智彦, 小坂浩司, 浅見真理, 秋葉道宏. 粉末活性炭処理による八口ベンゾキノン類生成能の低減効果. 平成 28 年度全国会議 (水道研究発表会) 講演集, 2016, 710-711.
- 眞家永光. 近年の腐植物質分析法の展開 1. 三次元蛍光分析, 日本土壌肥科学雑誌, 2009, 80(4), 419-426.
- Baalousha, M., Afshinnia, K., Guo, L. Natural organic matter composition determines the molecular nature of silver nanomaterial-NOM corona. Environ. Sci.: Nano, 2018, 5, 868-881.

Patriarca C., Bergquist J., Sjöberg P.J.R., Tranvik L., Hawkes J.A. Online HPLC-ESI-HRMS Method for the Analysis and Comparison of Different Dissolved Organic Matter Samples. Environ. Sci. Technol. 2018, 52, 2091-2099.

G. 健康危機情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 鈴木知美, 仲門拓磨, 倉田拓郎, 向井恵, 小坂浩司, 秋葉道宏. 塩素処理による NOM からの 2,6-ジクロロ-p-ベンゾキノン (DCBQ) の生成特性と前駆物質の特性解析. 第 54 回日本水環境学会年会講演集. 2020, 50.
- 2) 鈴木知美, 越後信哉, 小坂浩司, 秋葉道宏. LC-MS/MS によるシアヌル酸の高感度分析, 令和元年度全国会議 (水道研究発表会) 講演集. 2019, 776-777.
- 3) Nakai T., Kosaka K., Asami M., Akiba M. Removal of halobenzoquinone precursors during ozone/biological activated carbon process. IWA Specialist Conference on Natural Organic Matter in Water 2019. 2019, C-4-4.
- 4) Tada Y., Okuta E., Cordero J.A., Kosaka K., Echigo S., He K., Funaoka H., Kurata A., Itoh S. Characterization of trichloroacetic acid precursors originated from raphidophytes using HPLC fractionation. IWA Specialist Conference on Natural Organic Matter in Water 2019. 2019, D-6-3.
- 5) 多田悠人, J.A. Cordero, 越後信哉, 伊藤禎彦. 塩素処理における共存マンガンイオンの八口酢酸生成能への影響. 第 54 回日本水環境学会年会講演集. 2020, 52.

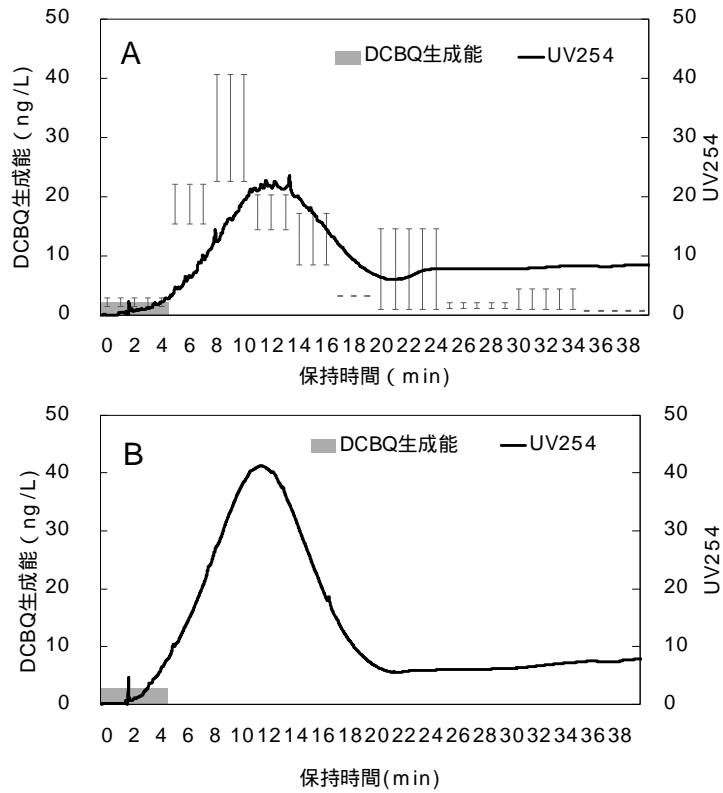


図1 NOM試料のUV₂₅₄クロマトグラムと各画分の塩素処理後のDCBQ生成能(A:PLFA、B:SRFA)

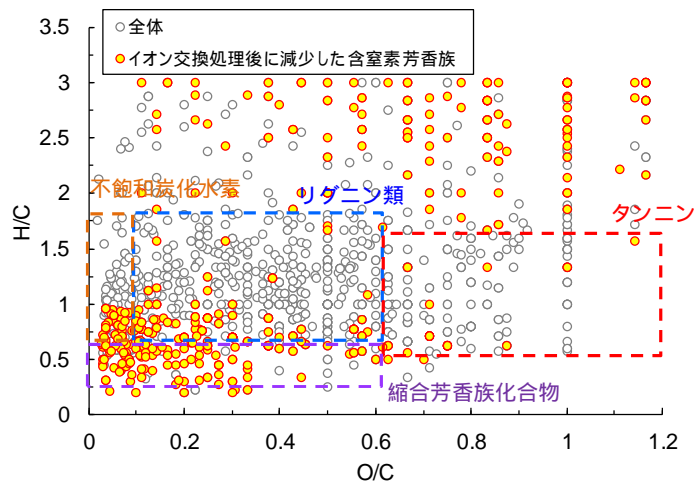


図2 陽イオン交換カートリッジ通水前後のPLFAのvan Krevelen diagram[リグニン(O/C = 0.1 ~ 0.6、H/C = 0.6 ~ 1.7、Almod < 0.67)、タンニン(O/C = 0.6 ~ 1.2、H/C = 0.5 ~ 1.5、Almod < 0.67)、不飽和炭化水素(O/C = 0 ~ 0.1、H/C = 0.7 ~ 1.5)、縮合芳香族化合物(Patriarca ら, 2019)]

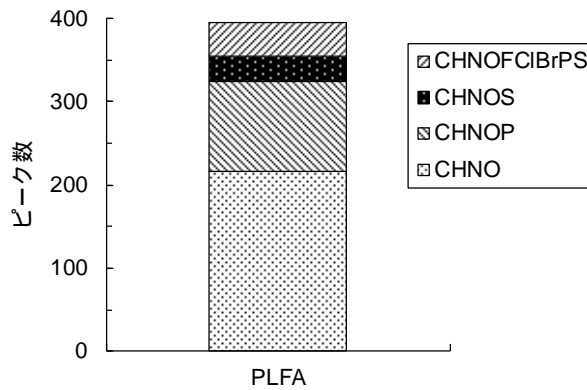


図 3 PLFA 試料を陽イオン交換カートリッジ通水後に減少したピークのうち、含窒素芳香族の推定組成式の分布

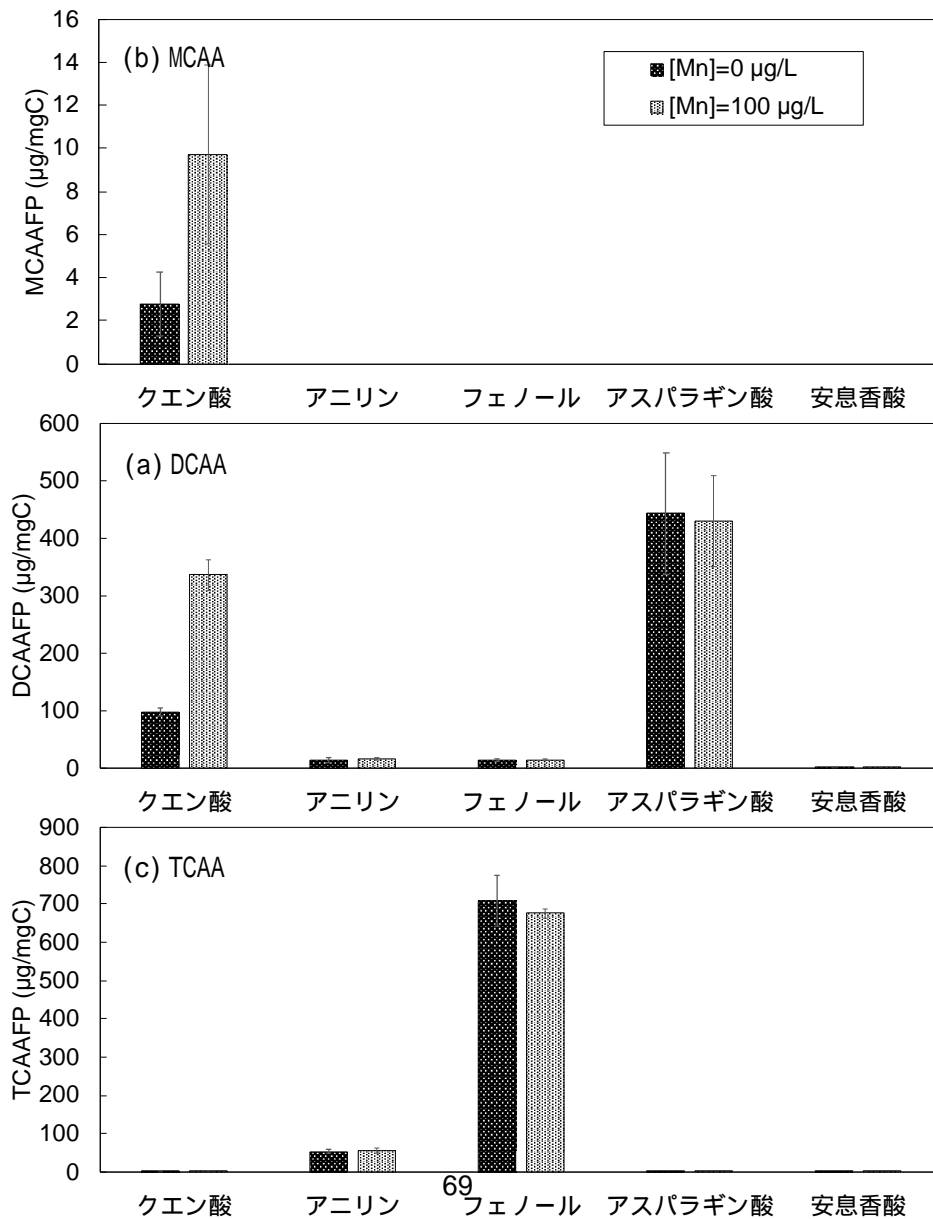


図4 共存マンガンイオンによる各物質の HAAFP の変化

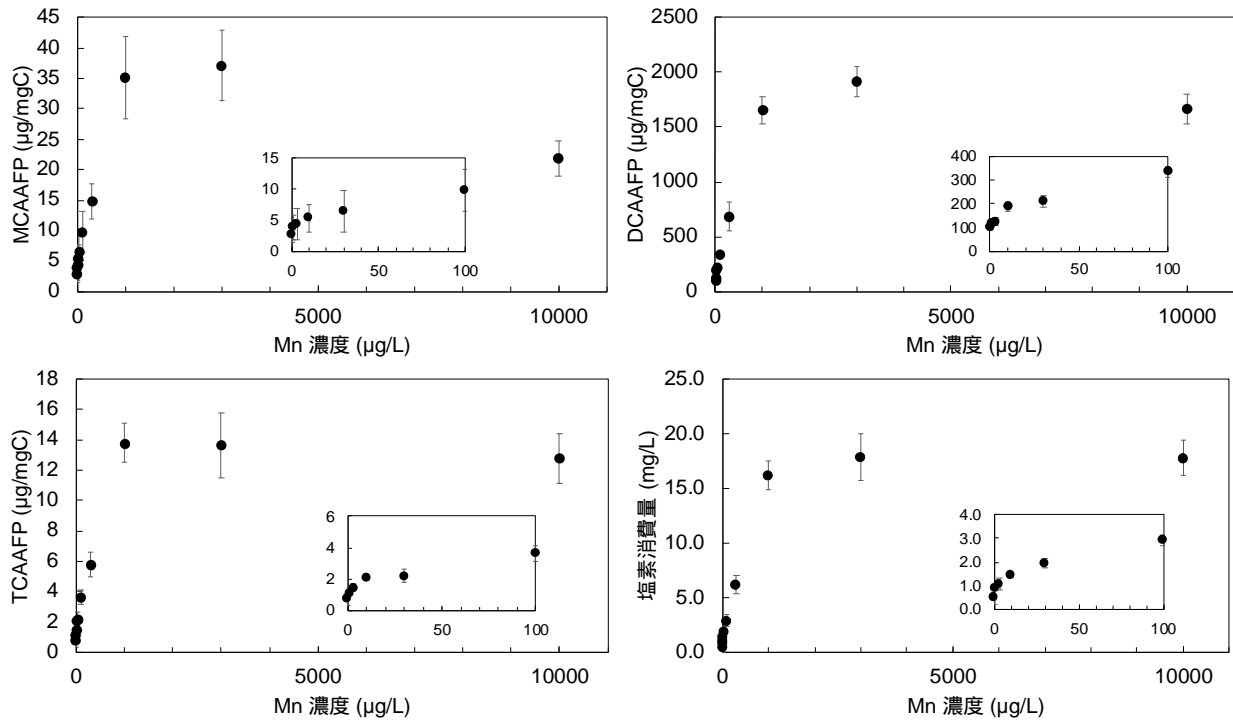


図5 マンガンイオン濃度を変化させたときにおけるクエン酸の HAAFP と塩素消費量

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）
「化学物質等の検出状況を踏まえた水道水質管理のための総合研究」
令和元年度研究報告書

臭気物質に関する研究
～臭気分科会～

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	松下 拓	北海道大学大学院工学研究院
	越後信哉	京都大学大学院工学研究科
	小坂浩司	国立保健医療科学院生活環境研究部
研究協力者	大瀬俊之	東京都水道局水質センター
	清宮佳幸	千葉県企業局水道部
	庭山秀一	新潟市水道局技術部

研究要旨

カルキ臭代替指標としての全揮発性窒素（TPN）の妥当性評価を目的として、事業体間でのトリクロラミン（ NCl_3 ）の回収率の比較を行う予定である。本年度はその準備として、pH や NCl_3 濃度が NCl_3 の回収率に与える影響を調べた結果、中性域では回収率が NCl_3 濃度に依存せず、ほぼ一定であることが示された。

GC/olfactometry（GC/O）による分析の前処理に用いる、固相マイクロ抽出法（SPME）での回収率を調べたところ、22～86%であり、当初危惧していた数%程度の物質はなかった。従って、SPME 法で回収された臭気物質のうち臭気の強度が大きいものが、対象とした塩素処理水の主要な臭気であるとするこれまでの考え方は、概ね間違っていないと判断された。そこで、SPME 法を前処理とした GC/O により、全国 10ヶ所の浄水場原水の塩素処理水が有するカルキ臭を分析したところ、合計で 28 の異なる臭気が感知された。いずれの試料も全体臭気としては「カルキ臭」と感知されたものの、その臭気は、複数の臭気成分から構成されていると考えられた。

カルキ臭に関する対応集に記載予定である、30 種の含窒素化合物を対象としたカルキ臭の生成特性を検討した。含窒素化合物を構造により分類し、塩素処理後の臭気強度（カルキ臭生成能）（TON）、TPN、 NCl_3 生成能を測定して評価した。その結果、30 種の対象物質のカルキ臭生成能は 20～400 TON で物質によって異なった。 NCl_3 生成能とカルキ臭生成能の関係を見たところ、対象物質の多くは、 NCl_3 が主なカルキ臭原因物質であるが、8 物質については、 NCl_3 以外の物質が主なカルキ臭原因物質であると考えられた。TPN とカルキ臭生成能の関係から、多くの物質の場合、TPN に寄与する主な物質は NCl_3 であるが、一部の物質については、臭気強度の強い含窒素化合物、臭気強度の低い含窒素化合物が TPN に寄与していることが示された。

原水中に含まれるアミン類の GC/MS 法による測定法を確立するため、メチルアミン、エチルアミン、イソプロピルアミン、*t*-ブチルアミンの 4 種類のアミン類を対象に誘導体化 GC/MS による分析を試みたところ、各物質とも検出可能であることを確認できた。

A. 研究目的

臭気物質に関する研究班（臭気分科会）では、3年間の研究期間にて、塩素処理に由来する臭気を評価し、代替指標を提案するとともに、臭気に寄与する物質の推定を試み、さらには低減策を含めた水道事業者向けのカルキ臭に関する対応集を作成・公表することを目的とする。以下に、研究課題ごとの本年度の研究目的と概要を示す。

1. カルキ臭代替指標としての全揮発性窒素（TPN）分析法の妥当性評価

1.1 全揮発性窒素化合物（TPN）計の妥当性評価について（新潟市水道局）

新潟市の水道水を試料として全揮発性窒素化合物（以下 TPN：Total Purgeable Nitrogen）と臭気強度（残留塩素含む TON）の関係について調査を進めている。本年度は、カルキ臭代替指標としての全揮発性窒素（TPN）の妥当性評価を目的として、事業者間でのトリクロラミン（ NCl_3 ）の回収率の比較を行うための準備として、TPN 計についての測定条件を一部見直した上で、 NCl_3 標準液を用いて妥当性評価を実施した。

2. GC/olfactometry による塩素処理由来の臭気原因物質の推定

2.1 各臭気成分の回収率推定法の確立（北海道大学）

浄水カルキ臭は消費者の水道水離れの大きな要因のひとつと考えられるが、その全貌がよく分かっていないのが現状である。これには、水道水が混合物であることが大きく関わっている。ある物質が発する臭気の程度は、その物質の標準品を用いた官能試験により調べることができる。これに対し、水道水のような混合物の場合、官能試験によりその試料が発する臭気をひとまとめとして定量することは可能であ

るが、含まれる個々の物質の臭気の程度や、臭気全体への寄与率などを調べることはできない。

昨年度までの検討で、ヒト嗅覚をガスクロマトグラフの検出器とすることで（GC/olfactometry, 以降 GC/O）、標準物質がなくても、混合物に含まれる個々の物質の官能試験と物質同定を一斉かつ網羅的に行うことのできる官能試験法を構築してきたが（Matsushita et al., 2017）GC/O の前処理として用いる固相マイクロ抽出法（SPME）における各臭気成分の回収率が全て同じであるとの仮定のもとで解析を行ってきた。従って、GC/O にて「臭気が強い」と判断された物質が、本当に強い臭気を有しているのか、他の臭気成分と比べて回収率が高いだけなのであるのかが区別できていなかった。よって、GC/O で同程度の臭気が感知されたとしても、回収率が 100% の物質と 3% の物質では、試料水のカルキ臭への寄与は、後者が前者の 30 倍以上であると考えられるが、昨年度までは寄与は「同程度」であると判断していた。

そこで本年度は、GC/O での臭気の強さから、試料水のカルキ臭への寄与を正しく評価できるように、まずは SPME における各臭気成分の回収率を評価することを試みた。その上で、GC/O による、塩素処理試料の解析を試みた。

2.2 異臭事故での原因物質の特定に向けた分析条件の調査（東京都水道局）

東京都水道局では、異臭事故時の迅速な対応に向けて、水質事故原因のおそれがある物質のデータベース整備など事故原因物質の特定に向けた検討を行ってきた。これまでに、金町浄水場原水を試料水として、臭い嗅ぎ機能付き GC/MS による検討を行ったが、各物質の濃度が低く、臭気原因物

質の特定には至らなかった。そこで、臭気原因物質を特定できるように、様々な物質が高濃度で含有すると考えられる、汚染度が高い中小河川の水を用い、まずは分析条件を検討した。その上で、同じ河川水を塩素処理することで発生する生成物の分析を行い、異臭事故時の原因物質の特定に向けた分析条件を調査した。

3. 水道事業体に向けたカルキ臭に関する対応集の作成

3.1 含窒素化合物の塩素処理によるカルキ臭生成特性（京都大学、保健医療科学院）

日本では安全で良質な水道水が安定的に供給されているが、市民の水道水に対する満足度は必ずしも高いものとはいえず、満足感に寄与する主な要因のうち、異臭味やおいしさについてはカルキ臭を監視・制御することが重要であるとの報告がある。アンモニア、一部の含窒素有機化合物は、カルキ臭原因物質の前駆体として知られている。これらの物質が塩素と反応して生成する物質のうち、 NCl_3 は、水道水中の存在実態とカルキ臭への寄与について評価が行われ、カルキ臭に寄与していることが示されたが、その他の原因物質のカルキ臭生成特性についての調査例は少ない。ところで、川口（2015）は、カルキ臭原因物質が還元されやすく、特に含窒素化合物で構成されるという特性を元に、サンプルより気相に揮発するカルキ臭原因物質を TPN として測定し、カルキ臭を客観的かつ定量的に評価できる可能性があることを報告したが、種々の窒素化合物に対する TPN の有効性については明らかとなっていない。

本研究では、多種の窒素化合物を対象に、カルキ臭生成特性について、臭気強度（TON）、TPN、 NCl_3 の視点から評価した。

3.2 原水中に含まれるアミン類の GC/MS

法による測定（千葉県企業局）

アミン類水溶液は塩素と反応し有機クロラミンを生成して、それが異臭味の原因となる可能性がある。日本の場合、水道水には残留塩素が存在することが求められており、原水にアミン類が含まれる場合、浄水処理でアミン類を除去しないと浄水の異臭味の原因となる恐れがある。このため、原水中のアミン類の実態を明らかにすることが、異臭味対策の基礎的な情報として重要であると考えられる。

表流水中のアミン類調査については、海外での報告がいくつかあり Zhang et al. (2012)が中国で調査した結果では、ジメチルアミンが最大 25 $\mu\text{g/L}$ 検出され、さらに他のアミン類も検出されている。今年度は低分子量のアミン類の誘導体化 GC/MS による分析を検討した。

B. 研究方法

1. カルキ臭代替指標としての全揮発性窒素（TPN）分析法の妥当性評価

1.1 全揮発性窒素化合物（TPN）計の妥当性評価について

表 1 に示した測定条件にて TPN を測定した。評価に用いた酸性の NCl_3 標準液は、40 mg Cl_2/L 程度の原液を希釈し作成した。原液は、測定波長 336 nm で吸光度を測定しモル吸光係数を $\epsilon = 190 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ とし、濃度の算出を行った。また、中性の NCl_3 標準液は、直接 0.05 ~ 0.4 mg Cl_2/L の標準液を作成し、DPD 法を用いて濃度を算出した。

2. GC/olfactometry による塩素処理由来の臭気原因物質の推定

2.1 各臭気成分の回収率推定法の確立

2.1.1 適切な希釈倍率の設定

本研究では、いくつかの標準物質を用いて、それぞれの物質の SPME での回収率を求めることとした。その際、対象物質を

GC/MS に直接導入した際の面積値と、直接導入した際と同量の対象物質を容器気相部に気化させたものを SPME 回収して GC/MS に導入した際の実面積値を比較することにより、その対象物質の回収率を算定しようとした(詳細は後述)。ここで、気相部への対象物質添加の際に、有機溶媒に溶解したものをを用いると、対象物質と有機溶媒の間での SPME への競合吸着が生じる可能性が考えられたため、有機溶媒ではなく水に溶解した対象物質を添加することとした(塩素処理水の SPME 抽出と同条件と考えられる)。その場合、水に溶解した対象物質を GC/MS に直接導入した場合の実面積値と比較することになるが、GC/MS 導入試料に水が含まれていると、GC/MS での対象物質の実面積値が影響を受ける(小さくなる)ことが想定された。そこで、水に溶解した対象物質を、水の影響が無視しうる程度まで有機溶媒で希釈した後に、GC/MS に導入することとした。そのため、まず最初に、各対象物質について、以下の手法により水の影響を無視しうる希釈倍率を設定した。

対象物質の 10 μM になる量を Milli-Q 水に添加し、マグネティックスターラーにてひと晩攪拌した。未溶解分を孔径 0.2 μm の PTFE 膜にてろ過することにより取り除き、対象物質の水溶液を作製した。この水溶液を、水と完全に混合する有機溶媒であるアセトニトリルで段階希釈し、無希釈試料とともに、GC/MS 分析に供した。

2.1.2 回収率の決定

本研究では、*sec*-ブチルベンゼン(sBB)、フェニルアセトニトリル(PAN)、デュレン(DR)、イソブチルベンゼン(iBB)、トリプロモメタン(TBM)、*p*-シメン(pCM)、1,3,5-トリメチルベンゼン(TMB)、*p*-キシレン(pXL)、ベンゾニトリル(BN)、ベンズアルデヒド(BA)、ジプロモクロロメタ

ン(DBCM)の 11 種類の標準品を用いて SPME での回収率を調べた。

また、昨年度までの検討で用いていた SPME 青ファイバー(固相:ポリメチルシロキサン+ジビニルベンゼン)に加え、黒ファイバー(ポリメチルシロキサン+カルボクセン)、白ファイバー(ポリアクリレート)、紫ファイバー(ポリエチレングリコール)についても回収率を調べることにした。

前節で作製した対象物質の水溶液を、前節で決定した希釈倍率にて Milli-Q 水を用いて希釈し、その 0.5 μL を、あらかじめ 100 $^{\circ}\text{C}$ のドライオープンにて予熱しておいた 20 mL のガラスバイアルにセプタム越しに注入した(対象物質も水も揮発することを期待)。しばらく室温にて静置して常温に戻した後、セプタム越しに SPME ファイバーを挿入し、気相中の対象物質を吸着回収した。

一方、水溶液を、前節の検討にて決定した希釈倍率にてアセトニトリルにて希釈し、その 0.5 μL を GC/MS に注入した(リキッドインジェクション)。

このようにして得られた、SPME を用いた際の実面積値を、リキッドインジェクションでの実面積値で除することにより、対象物質の SPME での回収率を算定した。

2.1.3 GC/O による塩素処理由来の臭気の探索

全国 10 ヶ所の浄水場(A~J)の原水を、それぞれロータリーエバポレータで 50 倍濃縮した。濃縮後の原水 5 mL をガラスバイアルに入れ、次亜塩素酸ナトリウムを用いて(2 分間の塩素処理後に 50 mg-Cl₂/L 程度の遊離塩素が残留するように)塩素処理した。塩素処理後の試料を 2 L のセパラブル容器に入れ、シェイカーにて 10 分間振盪した。振盪後、容器の上下方向の中央に位置するスリットに隔離板を挿入し、上半分

(気相)に設置されたセプタム越しにSPME ファイバーを挿入し、臭気成分を吸着させた。1時間の吸着処理後、SPME ファイバーをGC/Oに供した。

2.2 異臭事故での原因物質の特定に向けた分析条件の調査

汚染度が高い中小河川として、表2の4種類の試料を用いた。塩素処理は、各試料に対し、24時間後に遊離残留塩素が1 mg-Cl₂/Lとなるように次亜塩素酸ナトリウムを添加後、24時間インキュベートすることで行った。中小河川水4種類、それらを塩素処理した4種類の合計8種類の試料について、臭い嗅ぎ機能付きGC/MSで分析を行い、保持時間4分から20分の間に得られるピークごとの臭気を、被験者4人で記録した。

3. 水道事業体に向けたカルキ臭に関する対応集の作成

3.1 含窒素化合物の塩素処理によるカルキ臭生成特性

3.1.1 試薬と溶液

本研究で用いた試薬は特級以上のものとした。対象物質として用いた窒素化合物は、和光純薬、東京化成から購入した。水溶液の調製、希釈、実験器具の洗浄等にはMilli-Q Academic A10 (Millipore)で製造した超純水を、官能試験における加温洗浄にはElix 純水製造システム (Millipore)で製造した純水を用いた。試薬は特に断りのない限り、特級以上のものを使用した。

3.1.2 塩素処理実験

窒素化合物のうち、塩素との反応性が高いと考えられる部位を持つ物質について、さらに構造(一～三級アミン、無機物質、アミノ酸、アミノ糖)から分類し、30物質を対象物質に選定した(図1)。

対象物質濃度は5 μMとし、塩素処理実験を行った。実験条件は、反応時間が24 h、24 h後の遊離残留塩素が1.0±0.2 mg Cl₂/L、pHが7(5 mMリン酸緩衝液)、水温が20とした。反応後、臭気強度、TPN、NCl₃濃度を測定した。塩素処理後の臭気強度をカルキ臭生成能とした。

3.1.3 分析方法

TPNはTNM-1(島津製作所)を接続した全有機炭素分計TOC-VCSN(島津製作所)を用いて測定した(川口, 2015)。臭気強度(TON)は三点比較法(柳橋ら, 2009)による官能試験で評価した。臭化物イオンの共存影響の評価では、臭化物イオンの有無でいずれが不快な臭気かについても評価した。NCl₃濃度はHS-GC-MS法(Kosaka et al., 2010)により、残留塩素はDPD/FAS滴定法により測定した。

3.2 原水中に含まれるアミン類のGC/MS法による測定

試料水中に含まれるアミン類はZhang et al. (2012)の方法を参考に、アミン類をベンゼンスルホニルクロリドにより誘導体化して、GC/MSにより分析した。

操作手順は試料水40 mLに10 M水酸化ナトリウム水溶液1.6 mL、ベンゼンスルホニルクロリド0.4 mLを添加し30分間攪拌しアミン類を誘導体化した。誘導体化後に10 M水酸化ナトリウム水溶液2 mL添加し80℃のウォーターバスに30分静置し過剰のベンゼンスルホニルクロリドを分解した後、18.5%塩酸でpHを5.5に調整した。誘導体化したアミン類は10 mLのジクロロメタンで抽出して、抽出後のジクロロメタンを3 mLの0.05 M炭酸ナトリウム溶液で洗浄した後0.1 mLに濃縮して測定試料とした。GC/MSによる分析条件は表3のとおりである。

C. 研究結果と考察

1. カルキ臭代替指標としての全揮発性窒素 (TPN) 分析法の妥当性評価

NCl_3 を用いた TPN 回収率の事業者間比較を行うための準備として、 NCl_3 を用いて、pH や NCl_3 濃度が TPN 回収率に与える影響を調べた。その結果、中性域では NCl_3 濃度に依存せず、回収率が一定であることが分かった。一方では、TPN 標準測定法の手順書に記載する内容についての検討を開始した。詳細を以下に示す。

1.1 全揮発性窒素化合物 (TPN) 計の妥当性評価について

酸性および中性における、各 NCl_3 の濃度ごとの TPN としての回収率を、それぞれ図 2 と図 3 に示す。酸性条件下における NCl_3 の TPN としての回収率は 3 回平均で 58 ~ 81% であり、中性条件下においては 26 ~ 34% であった。いずれも測定日に行った空試験の値を差し引いて評価した。

このように、代表的なカルキ臭原因物質である NCl_3 を測定対象物質として TPN 計の応答性を評価し、 NCl_3 濃度によらず、ほぼ一定の回収率が得られることを確認した。特に、実試料と同じ中性条件下における NCl_3 の TPN としての回収率は一定であり、これらの濃度域で安定した結果を得られる可能性が示唆された。今後は、異なる水源の水道水を対象として TPN 計による測定を実施し、臭気強度 (TON) と TPN の関係性について確認する予定である。

2. GC/olfactometry による塩素処理由来の臭気原因物質の推定

臭気物質の回収率を推定する方法を確立し、複数の標準物質の回収率を推定した。また、実河川水 (水道原水) を用い塩素処

理由来の臭気を調べ、カルキ臭は複数の臭気の複合であることが示した。詳細を以下に示す。

2.1 各臭気成分の回収率推定法の確立

2.1.1 適切な希釈倍率の設定

図 4 に、*p*-キシレンの結果を例として示す。1 ~ 10 倍希釈と比べ、50 倍希釈より希釈倍率を大きくした場合、GC/MS クロマトグラム上での面積値が大きく増加した。また、50 倍希釈以上では、面積値に希釈倍率を乗じた値 (縦軸) がほぼ一定となった。すなわち、50 倍以上の希釈では、GC/MS クロマトグラム上の面積値が、希釈倍率と反比例して減少した。このことは、50 倍希釈以上ではサンプルに含まれる水の影響が無視しうることを意味する。よって、本研究では、(安全を考え) 面積値×希釈倍率が一定となる希釈倍率より 1 段階上の希釈倍率で、次節の回収率を求めることとした。

2.1.2 回収率の決定

図 5 に、4 種の SPME ファイバーに対する、各対象物質の回収率を示す。まず、試料に含まれる水の影響を希釈により無視しうるまで低減し、その希釈率で SPME 回収時と直接導入時の面積を比べることで、各対象物質の回収率を求める手法が確立できたと判断した。

PAN を除いた全ての物質について、これまでの検討で用いてきた青ファイバーでの回収率は、他の 3 種のファイバーでの回収率より大きいことが分かった。すなわち、市販されている SPME ファイバーの中から青ファイバーを選択して実験を行ってきたことは概ね妥当であると判断された。

また、青ファイバーでの回収率は 22 ~ 86% であり、当初危惧していた数%の物質はなかった。従って、青ファイバーを用いて回収された臭気物質のうち臭気の強度

が大きいものが、回収対象とした塩素処理水の主要な臭気であるとするこれまでの考え方は、概ね間違っていないと判断された。

2.1.3 GC/O による塩素処理由来の臭気の探索

本年度は、A~Jの10ヶ所の浄水場原水を塩素処理した試料について、ひとりの被験者に対してGC/O解析を行った。表4に示すように、10ヶ所の浄水場原水の塩素処理水から、合計で28の異なる臭気が感知された。

また、それぞれの試料からは、5~10の臭気が感知された。すなわち、いずれの試料も全体臭気としては「カルキ臭」と感知されたものの、その臭気は、複数の臭気成分から構成されていると考えられた。

さらには、#7や#9の臭気のように、過半数の試料から感知された臭気成分もあったため、さまざまな浄水に共通して含まれるカルキ臭構成成分があるのではないかと想像し得た。今後、被験者を増やして結果の信頼性を向上させるとともに、多くの試料に共通して感知され、かつ、臭気の強さが大きい臭気成分についての同定が必要であると提言された。

2.2 異臭事故での原因物質の特定に向けた分析条件の調査

分析の結果、多くのピークとそれらに伴う臭気情報が得られた。現在は、同時に行ったSPME-GC/MSでの分析結果と合わせ、分析装置由来の臭気成分を除去するなど、臭気原因物質の特定に向けた検討を行っているところである。

3. 水道事業体に向けたカルキ臭に関する対応集の作成

対応集の目次案の作成を行った。また、

カルキ臭対応集にも記載予定である、カルキ臭前駆物質となりうる物質（特に、アンモニア以外）を評価するため、30種の含窒素化合物の生成能試験（臭気強度、揮発性窒素、 NCl_3 濃度）を行い、臭気強度が強い物質を明らかにした。さらには、原水中に含まれるアミン類（カルキ臭前駆物質と考えられる）の調査に向けて、これらの物質のGC/MSによる定量法の構築を試みた。詳細を以下に示す。

3.1 含窒素化合物の塩素処理によるカルキ臭生成特性

3.1.1 カルキ臭生成能

図6に、各対象物質のカルキ臭生成能を示す。カルキ臭生成能の範囲は20~400TONであり、物質によって大きく異なった。アンモニアは主なカルキ臭前駆物質として知られているが、その臭気強度は170TONであった。アンモニアより臭気強度が高い物質として、8物質（メチルアミン、エチルアミン、シクロヘキシルアミン、グアニジン、ピペラジン、3,5-ジメチルピラゾール、*N*-メチルピペリジン、*N,N*-ジメチルアニン）が認められた。これらは第一~三級アミンであった。すなわち、グループによらず高い臭気を持つ物質があることが示された。

化学構造的に近い基本的な第一級、第二級、第三級アミンであるメチルアミン、エチルアミン、ジメチルアミン、ジエチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミンについてカルキ臭生成能を比較した（図7）。第一級アミンであるメチルアミン、エチルアミンはカルキ臭生成能（TON）が最も高く、第二級アミンであるジメチルアミン、ジエチルアミン及び第三級アミンであるトリメチルアミン、トリエチルアミンは臭気強度（TON）が100未満と比較的低かった。 NCl_3 生成能は $30\mu\text{g Cl}_2/\text{L}$ 程度でほぼ

変わらなかった。TPN は、15 ~ 25 $\mu\text{g N/L}$ と違いが認められたが、カルキ臭生成能との相関は無かった。以上の結果から、構造が比較的簡単かつ分子量が小さい第一級アルキルアミンの方が、第二級と第三級アミンよりも塩素との置換反応が容易に進み、カルキ臭に大きく寄与すると推測された。

3.1.2 カルキ臭生成能、 NCl_3 生成能、TPN 生成能の関係

図 8 に対象物質の NCl_3 生成能とカルキ臭生成能の関係を示す。図中、アンモニアと原点を結ぶ直線を赤線で引いた。これは、アンモニアに由来する主なカルキ臭原因物質が NCl_3 で、このとき水道水を用いた実態調査で、TPN は臭気強度 (TON) の指標として有効であったためである。

図より、直線付近と直線の大きく上にある 2 つのグループに分かれていることがわかる。直線付近にある物質は、 NCl_3 が主なカルキ臭原因物質であり、また、直線より上部にある物質については、 NCl_3 生成能が低くても臭気強度が高いことから、 NCl_3 以外の物質が主なカルキ臭原因物であると考えられた。直線の上部にプロットされる物質のうち、特に臭気強度 (TON) が高かった物質はメチルアミン、エチルアミン、シクロヘキシルアミン、グアニジン、ピペラジン、3,5-ジメチルピラゾール、*N*-メチルピペリジン、*N,N*-ジメチルアニリンの計 8 物質であった。また、直線より大きく下にはプロット点が存在していなかった。この結果より NCl_3 生成能が高いがカルキ臭生成能が低い物質が存在する可能性が低いと考えられた。

図 9 に対象物質の TPN とカルキ臭生成能の関係を示す。図 8 と同様に、アンモニアと原点を結ぶ直線を赤線で引いた。図より、対象物質は、直線付近、直線より上部、直線より下部に分類されることがわかる。

図 8 の結果も考慮すると、直線付近の物質の場合、TPN の多くは NCl_3 によるものと考えられた。直線の上部、および下部の物質については、TPN の値はそれぞれ NCl_3 以外の臭気を持つ揮発性窒素化合物による寄与、および臭気強度が低い揮発性窒素化合物による寄与が考えられた。TPN を臭気強度 (TON) の監視指標として用いる場合、直線の上部にある物質が突発的に原水に混入した場合には、 NCl_3 から想定される TPN の増加以上に臭気強度 (TON) が増加するため、注意を要すると推察された。

3.2 原水中に含まれるアミン類の GC/MS 法による測定

今年度は分析対象アミン類 10 種 (メチルアミン、エチルアミン、プロピルアミン、イソプロピルアミン、*n*-ブチルアミン、*sec*-ブチルアミン、*t*-ブチルアミン、ジメチルアミン、ジエチルアミン、ピペラジン) のうち、メチルアミン、エチルアミン、イソプロピルアミン、*t*-ブチルアミンの 4 種混合標準液 (0.01 mg/L) について、ベンゼンスルホニルクロリドにより誘導体化して GC/MS で分析した。スキャンでスペクトルを取ったところ、図 10 に示すように 4 種類のアミン類を検出したことが確認できた。

D. 結論

1. 事業体間での NCl_3 の回収率の比較を行うための準備として、代表的なカルキ臭原因物質である NCl_3 を測定対象物質として、pH や NCl_3 濃度が TPN の回収率に与える影響を調べ、中性域では NCl_3 濃度に依存せず、回収率が一定であることを示した。今後は、異なる水源の水道水を対象として TPN 計による測定を実施し、臭気強度 (TON) と TPN の関係性について確認する予

- 定である。
2. SPME 抽出とリキッドインジェクションでの GC/MS クロマトグラム上の面積値の比較により、SPME での回収率を調べる手法を構築した。構築された手法により、11 種類の物質の標準品を用いて回収率を調べたところ、昨年度までの検討で用いてきた SPME ファイバー（青ファイバー）での回収率は 22 ~ 86% で、当初危惧していた数%の物質はなかった。従って、青ファイバーを用いて回収された臭気物質のうち臭気の強度が大きいものが、対象とした塩素処理水の主要な臭気であるとするこれまでの考え方は、概ね間違っていないと判断された。GC/O により、全国 10 ヶ所の浄水場原水の塩素処理水が有するカルキ臭を分析したところ、合計で 28 の異なる臭気が感知された。いずれの試料も全体臭気としては「カルキ臭」と感知されたものの、その臭気は、複数の臭気成分から構成されていると考えられた。
 3. 30 種の対象物質のカルキ臭生成能は 20 ~ 400 TON で物質によって異なった。対象とした窒素化合物全体のカルキ臭生成特性は、分類したグループ以外に支配する因子があると考えられたが、アルキルアミンについては、第一級アミンが第二、三級アミンより臭気強度（TON）が高いことがわかった。NCl₃ 生成能とカルキ臭生成能の関係を見たところ、対象物質の多くは、NCl₃ が主なカルキ臭原因物質であるが、8 物質については、NCl₃ 以外の物質が主なカルキ臭原因物質であると考えられた。TPN とカルキ臭生成能の関係から、多くの物質の場合、TPN に寄与する主な物質は NCl₃ であるが、一部の物質については、臭気強度の強い含窒素

化合物、臭気強度の低い含窒素化合物が TPN に寄与していることが示された。

4. 原水中に含まれるアミン類の GC/MS 法による測定法を確立するため、メチルアミン、エチルアミン、イソプロピルアミン、*t*-ブチルアミンの 4 種類のアミン類を対象に誘導体化 GC/MS による分析を試みたところ、各物質とも検出可能であることを確認できた。

E. 参考文献

- Kosaka, K., Seki, K., Kimura, N., Kobayashi, Y. and Asami, M. (2010) Determination of trichloramine in drinking water using headspace gas chromatography/mass spectrometry, *Water Science & Technology: Water Supply*, **10**, 23–29.
- Matsushita, T., Sakuma, M., Tazawa, S., Hatase, T., Shirasaki, N. and Matsui, Y. (2017) Use of gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry and a conventional flask test to identify off-flavor compounds generated from phenylalanine during chlorination of drinking water, *Water Research*, **125**, 332–340.
- Zhang, H., Ren, S., Yu, J. and Yang, M. (2012) Occurrence of selected aliphatic amines in source water of major cities in China, *Journal of Environmental Science*, **24**(11), 1885–1890.
- 川口佳彦 (2015) 水道水中の極低濃度遊離塩素測定法とカルキ臭に由来する臭気強度推定法の開発, 京都大学博士論文.
- 清宮佳幸, 安田英幸, 篠原成子, 植田雄大, 小坂浩司, 浅見真理 (2017) 浄水における結合塩素生成の原因物質と挙動について, *水道協会雑誌*, **99**(8), 2–12.
- 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 (2009) 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, 78(1), 2-12.

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 施昊, 松本創, 川口佳彦, 小坂浩司, 越後信哉, 伊藤禎彦 (2019) 窒素化合物のカルキ臭生成特性および臭化物イオンの共存影響の調査, 令和元年度全国会議(水道研究発表会)講演集, 842-843.
- 2) 小坂浩司, 施昊, 松本創, 川口佳彦, 越後信哉, 伊藤禎彦 (2019) 窒素化合

物由来のカルキ臭原因物質の生成特性, 環境衛生工学研究, 33(3), 97-99.

- 3) 林寛之, 池永健太郎, 松下拓, 松井佳彦, 白崎伸隆 (2020) GC-O を用いたカルキ臭原因物質の分離・回収と Orbitrap 質量分析計を用いた構造推定, 第 54 回日本水環境学会年会, 年会優秀発表特別賞(クリタ特別賞).

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案特許
なし
3. その他
なし

表 1. TPN の測定条件

試料量 (mL)	N ₂ ガス流量 (mL/min)	パージ時間 (min)	還元剤濃度 (M)	第1フィルターの孔径	第2フィルターの孔径	回収液量 (mL)
250	200	15	0.01	P250 (160-250μm)	P40 (16-40μm)	20

※ 0.0001 M → 0.01 M へ変更

表 2. 本研究で用いた中小河川水

	試料 A	試料 B	試料 C	試料 D
臭気	潤滑油のような臭い	潤滑油のような臭い	下水臭・カビ臭	下水臭・カビ臭
濁度	11	7.7	3.6	4.1
pH 値	7.3	7.4	7.5	7.5
アルカリ度	150	152	91.0	109
電気伝導率	1110	843	390	686
塩化物イオン	236	150	29.0	120
アンモニア態窒素	2.0	1.7	0.79	1.5

表 3. GC/MS の分析条件

分析機器	GCMS-QP2010 (島津)
注入口温度	290 °C
注入法	スプリットレス
カラム	DB-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)
キャリアガス流量	1.5 mL/min
昇温条件	120 °C (3 min) – 220 °C (5 °C/min) – 290 □ (10 °C/min) – 290 °C (5 min)
イオン源温度	230 °C

表 4. A ~ J 浄水場原水を塩素処理した試料の GC/O 分析結果
(1: 弱い臭い, 2: 中程度の臭い, 3: 強い臭い)

	RT, min	印象	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	計	数
#1	0.7	生臭い	2						1				3	2
#2	0.9	土							1		2		3	2
#3	1.5	芳香									1		1	1
#4	2	生臭い	1			3							4	2
#5	2.3	インク	1		2			1				1	5	4
#6	2.4	芳香	2	3							3		8	3
#7	3	ゴム				2	6	6	6	3		3	26	6
#8	3.1	微弱	1	1	1								3	3
#9	3.8	鉄				6	6	3	6	2		6	29	6
#10	4.2	カビ	2										2	1
#11	4.6	カビ		3	2	2					2	1	10	5
#12	4.7	焦げ					3	1		2	2		8	4
#13	5.2	甘い	3		2			2			3	1	11	5
#14	5.5	微弱				1							1	1
#15	5.9	生臭い	1										1	1
#16	6.1	プラスチック					1						1	1
#17	6.3	焦げ	3			1		2					6	3
#18	6.9	土・カビ					2						2	1
#19	7.4	塩素		2									2	1
#20	7.6	芳香・甘い			2		6		3	3			14	4
#21	8.6	甘い				3	3			1			7	3
#22	9.1	焦げ	2									1	3	2
#23	9.5	下水					1						1	1
#24	9.6	アルコール							3				3	1
#25	10.2	甘い						3				2	5	2
#26	10.3	カビ		1									1	1
#27	10.5	焦げ								3			3	1
#28	11.6	甘い				2							2	1
計			18	10	9	20	28	18	20	14	13	15		
数			10	5	5	8	8	7	6	6	6	7		

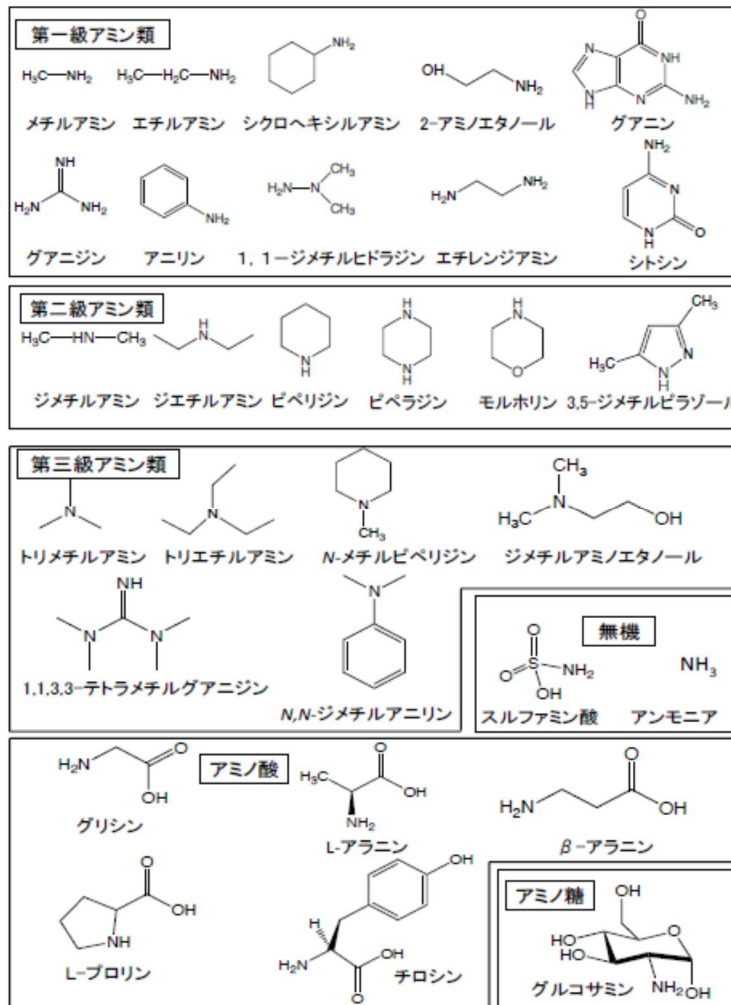


図 1. 本研究の対象物質の構造式

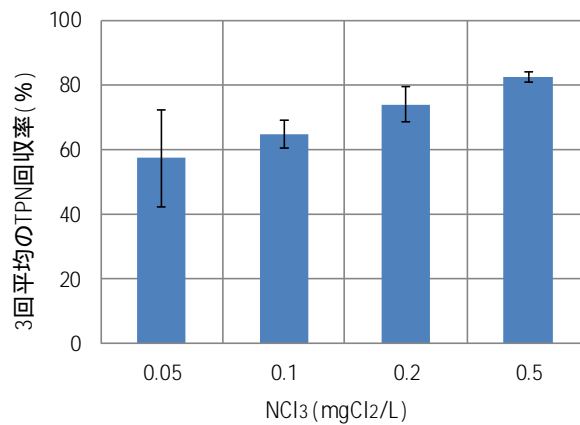


図 2. 酸性条件下における NCl₃ の TPN としての回収率

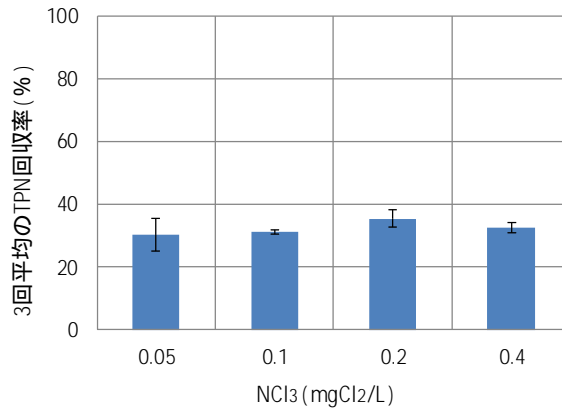


図3. 中性条件下における NCl₃ の TPN としての回収率

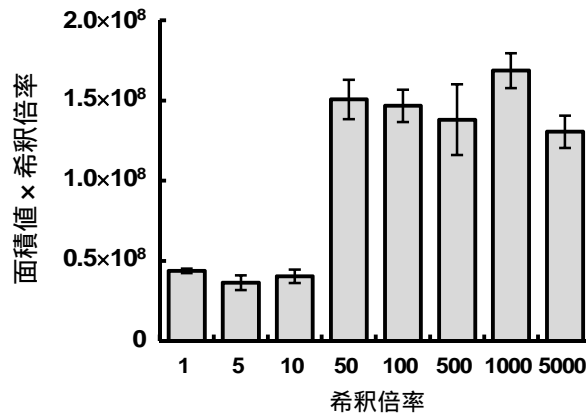


図4. サンプル中に含まれる水が GC/MS 測定での面積値に与える影響 (対象物質: p-キシレン)(水試料をアセトニトリルで希釈)

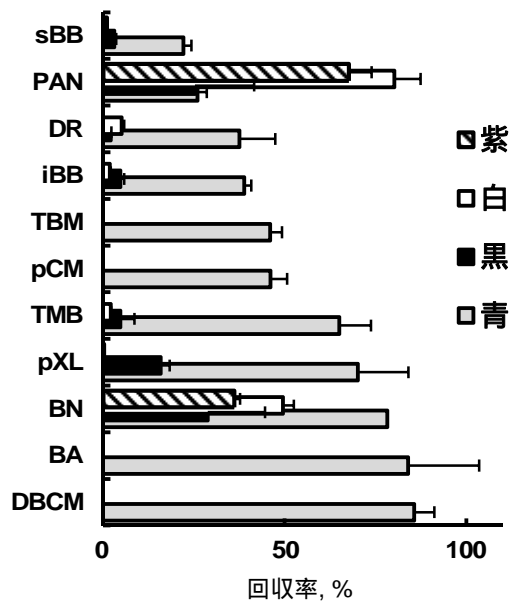


図5. 4種のSPMEファイバー(青, 黒, 白, 紫)による各対象物質の回収率

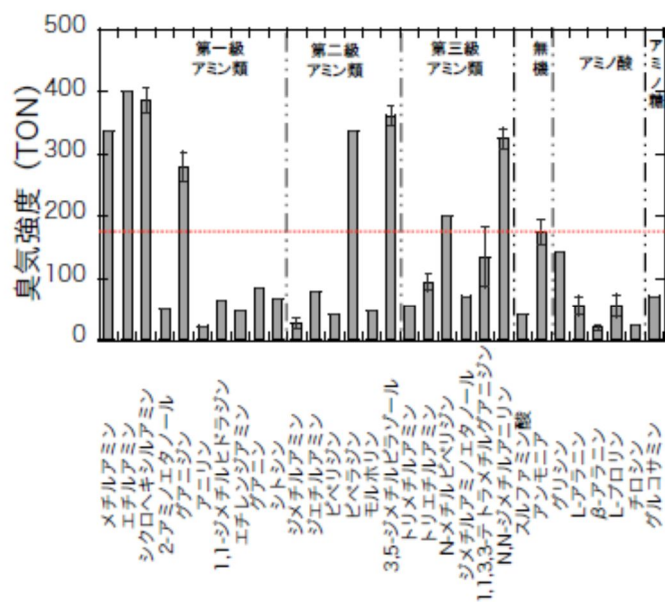


図 6. 対象物質のカルキ臭生成能 (赤線：アンモニアのカルキ臭生成能)

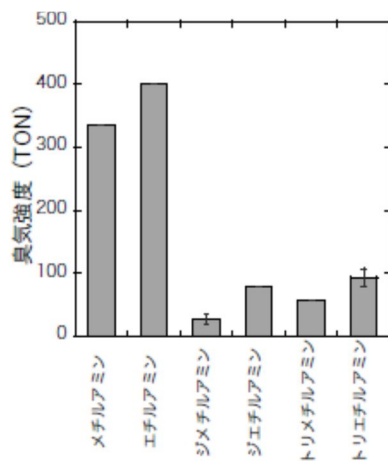


図 7. 第一級、第二級、第三級アルキルアミンのカルキ臭生成能の比較

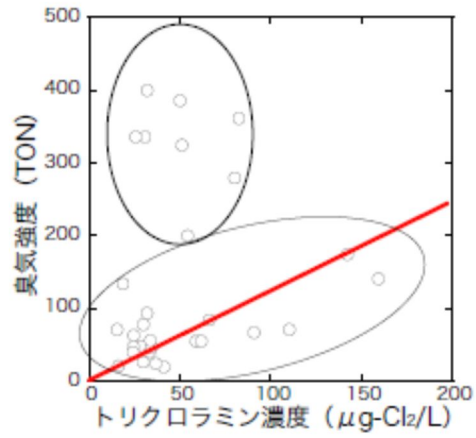


図 8. 対象物質の NCl_3 生成能とカルキ臭生成能の関係
(赤線：アンモニアにおける関係式)

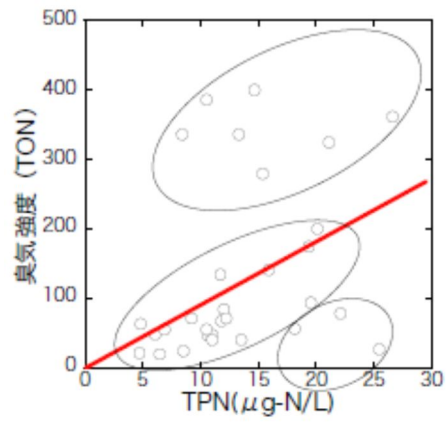


図 9. 対象物質の TPN とカルキ臭生成能の関係
(赤線：アンモニアにおける関係式)

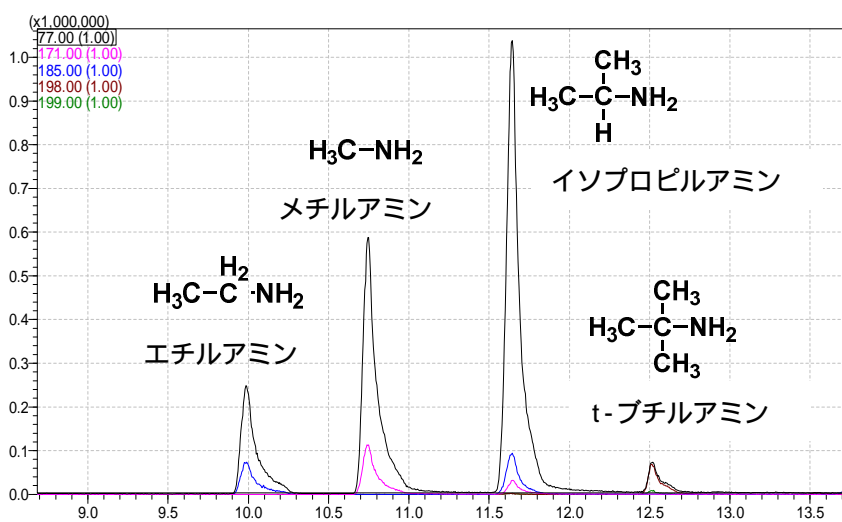


図 10. アミン類 4 種のクロマトグラム

令和元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

化学物質等の検出状況を踏まえた水道水質管理のための総合研究
リスク評価に関する研究

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	広瀬 明彦	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部長
研究分担者	松本 真理子	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第3室 主任研究員
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 主任研究員
研究協力者	西村 哲治	帝京平成大学・薬学部・薬学科 教授
研究協力者	小林 憲弘	国立医薬品食品衛生研究所・生活衛生化学部・第3室長
研究協力者	井上 薫	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第1室長
研究協力者	山田 隆志	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第4室長
研究協力者	小野 敦	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・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・安全性予測評価部・協力研究員
研究協力者	江馬 眞	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・協力研究員
研究協力者	山口 治子	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・協力研究員
研究協力者	重田 善之	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第3室 研究員
研究協力者	磯 貴子	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第1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・安全性予測評価部・第4室 研究員

研究要旨

経口経路以外の間接曝露を考慮したベンゼンの水道水質基準のリスク評価を行った。ベンゼンは経口、吸入、経皮のいずれの経路で曝露しても全身に行き渡り、造血系に作用することが知られているが、ベンゼンの揮発経由の吸入曝露や経皮曝露を想定すると、保守的な評価では水質基準値は現行の値の半分程度が妥当であると示唆された。一方、水道水質汚染が生じた際に参考とすべき水道水中濃度[参照値(mg/L)]の算出として、水道水質基準として管理されている無機化学物質6項目について評価を行った。短期間曝露を対象としたsaRfDを用いて亜急性参照値を算出した結果、3項目（カドミウム、セレン、水銀）については生涯曝露を対象とした基準値に対し3~10倍以上高い値として設定できた。しかしながら、ヒ素、鉛及び六価クロムについては、亜急性参照値は基準値と同値とすることが妥当であった。これらの項目については、一時的な水質汚染時の迅速な対応に有用であると考えられた。また、国内外で関心の高い有害物質として、パーフルオロオクタン酸（PFOA）及びパーフルオロオクタンスルホン酸（PFOS）の毒性情報の整理を行った結果、今年度収集した4機関の評価状況では、PFOA及びPFOSのキーエンドポイントは動物試験の発生毒性とする一定の傾向がみられる一方、人疫学による肝臓影響をキーエンドポイントとして評価している評価機関があった。今年度収集した情報は次年度以降の評価値導出のために有用な情報となると考えられた。

A. 研究目的

水源から浄水・給配水に至るまでに多種多様に存在する微量化学物質等の水質リスクを明らか

にし、適切に管理するための評価手法を検討することを目的とし、今年度は以下の3項目について研究を行った。

- 揮発性を考慮したベンゼンの水道水質基準値の妥当性の評価
- 水道汚染物質の亜急性評価値に関する研究
- 関心の高い物質の毒性情報整理

それぞれの項目に対する背景と研究目的の詳細は以下の通りである。

1. 揮発性を考慮したベンゼンの水道水質基準値の妥当性の評価

化学物質の水道水質基準値の多くは、水道水からの直接飲水による経口暴露を想定し、飲水量を2 L/dayのデフォルト値としている。しかし、揮発性をもつ物質においては、入浴時に大量に高温の水を使用することによる揮発を経由した吸入や、同じく入浴時に皮膚と水の接触による経皮経由の間接暴露が発生することがある^{1, 2)}。多くの場合、間接暴露量や飲水量の個人差は考慮されていない。一方で、水道水中に含まれる揮発性物質のリスクを正確に評価するためには、間接暴露を含めた暴露量の分布を評価する必要がある。Niizuma *et al.*, 2013はクロロホルムについて、Akiyama *et al.*, 2018はテトラクロロエチレンとトリクロロエチレンについて、Nishikawa *et al.*, 2019はホルムアルデヒドについて3経路暴露の有効作用量を基準としたリスク評価を行っている。しかし、物質によって毒性のエンドポイントや揮発性、作用機序などが異なるため、他の揮発性物質の間接暴露の影響や個人差は明らかになっていない。本報告書では、ベンゼンについて検討を行った。ベンゼンは経口、吸入、経皮のどの経路で暴露しても全身に行き渡ること⁴⁾、骨髄の造血系に作用し白血病を引き起こすことが分かっている^{5, 6)}。このような物質のリスク評価については、水道水を由来とする吸入、経皮経路の暴露量も合算することが妥当と考えられる。本研究では、暴露量を飲水当量によって表し、その

確率分布を算出することで水道水由来のベンゼンのリスクを明らかにし、現行の水道水質基準値の妥当性を評価することを目的とした。

2. 汚染物質の亜急性評価値に関する研究

日本国内の水道の水質管理区分は、水道水質基準(51項目)、水質管理目標設定項目(26項目)、要検討項目(47項目)に分類され、水道汚染物質に関する基準値や目標値が設定されている。それらの値は、生涯曝露を想定して設定されているものであることから、一時的な基準値・目標値超過がヒトの健康にどのような影響を及ぼすか、事故時の汚染物質濃度や推測される曝露期間などを考慮して毒性情報を評価していく必要がある。そこで、我々は、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)及びHuman Health Benchmarks for Pesticides (HHBP)の設定方法や根拠について調査を行ってきた。昨年度までには、日本の水質基準項目から19項目及び水質管理目標設定項目から9項目、要検討項目から15項目について、亜急性評価値[Subacute Reference Dose; saRfD (mg/kg/day)]を算出した。また、saRfDを用いて、短期的な水道水質汚染が生じた際に参考とすべき水道水中濃度[参照値 (mg/L)]の算出も行ってきた。今年度は、水道水質基準項目のうち、無機化学物質の6項目についてsaRfDの算出及び参照値の算出を試みる。

3. 関心の高い物質の毒性情報整理

国内外の一部の水源において高濃度で検出されかつ毒性が高いことで、パーフルオロオクタン酸(PFOA)及びパーフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)の国内での関心が高まっている。このような国内の状況を鑑み、今年度はPFOA及びPFOS

の毒性情報の整理を行うこととした。

B. 研究方法

1. 揮発性を考慮したベンゼンの水道水質基準値の妥当性の評価

水道水由来のベンゼンの総暴露量を飲水当量で表し、その分布を作成した。飲水当量は以下の手法で算出される。

1) 経路別暴露量

水道水由来の経路別潜在暴露量は、

$$D_{\text{oral}} = C_w \times I_w \quad (1)$$

$$D_{\text{inhalation}} = C_a \times Q_{\text{alv}} \times t_{\text{exp}} \quad (2)$$

$$D_{\text{dermal}} = \frac{C_w \times A_{\text{sk}} \times K_p \times t_{\text{exp}}}{1000} \quad (3)$$

で表せる (D_{oral} : 潜在経口暴露量 [$\mu\text{g}/\text{day}$]、 $D_{\text{inhalation}}$: 潜在吸入暴露量 [$\mu\text{g}/\text{day}$]、 D_{dermal} : 潜在経皮暴露量 [$\mu\text{g}/\text{day}$]、 C_w : 水中濃度 [$\mu\text{g}/\text{L}$]、 I_w : 飲水量 [L/day]、 C_a : 空气中濃度 [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]、 t_{exp} : 入浴時間 [hr]、 A_{sk} : 皮膚表面積 [cm^2]、 K_p : 皮膚浸透係数 [cm/hr])。このうち、 C_a は水中からのベンゼンの揮発によって生じる空气中濃度であるため、水中濃度の関数として、分配係数を用いて

$$C_a = C_w \times K'_d \quad (4)$$

で表した。ここで、分配係数は通常、気液平衡時の気液濃度比で定義されるが、ここでは入浴時の浴室などの非常時の比として K'_d [$(\mu\text{g}/\text{m}^3)/(\mu\text{g}/\text{L})$] を定義し、実験的にその値を推定することとした。

2) 体内有効作用量

ベンゼンの毒性について文献調査を行った結果、体内に取り込んだベンゼンのうち、毒性に寄与するのは肝臓での代謝を経てヒドロキノンとして骨髄に到達した分だと考えられた⁷⁾。ベンゼン暴露時の、暴露量に対する骨髄内のヒドロキノン濃

度の面積値を作用率として定義した。このとき、作用率は各経路によって異なる。作用率を用いると、総作用量 ED_{total} [$\mu\text{g}/\text{day}$] は、

$$ED_{\text{total}} = D_{\text{oral}} \times R_{\text{oral}} + D_{\text{inhalation}} \times R_{\text{inhalation}} + D_{\text{dermal}} \times R_{\text{dermal}} \quad (5)$$

で表せた。ここで、(R_{oral} : 経口作用率 [hr/L]、 $R_{\text{inhalation}}$: 吸入作用率 [hr/L]、 R_{dermal} : 経皮作用率 [hr/L])。

3) 飲水当量

総作用量が、すべて経口暴露のみによって生じたと見なした時の仮想的な飲水量を飲水当量とすると、総作用量は飲水当量 I_w^{equ} [$\text{L-equ}/\text{day}$] を用いて、

$$ED_{\text{total}} = C_w \times I_w^{\text{equ}} \times R_{\text{oral}} \quad (6)$$

で表される。

ここで、式 1-6 を連立させ、辺々から C_w を消去し、

$$I_w^{\text{equ}} = I_w + K'_d \times Q_{\text{alv}} \times t_{\text{exp}} \times \frac{R_{\text{inhalation}}}{R_{\text{oral}}} + \frac{A_{\text{sk}} \times K_p \times t_{\text{exp}}}{1000} \times \frac{R_{\text{dermal}}}{R_{\text{oral}}} \quad (7)$$

を得た。本研究では、式 7 の中の非常分配係数 K'_d と作用率 R を以下の手順で算出した。

1-1. 気液相濃度比 K'_d

実家庭における K'_d の分布が報告されているクロロホルム⁸⁾の揮発性とベンゼンの揮発性を実験的に比較することにより、実家庭のベンゼンの非常分配係数の値を推定した。実験は以下のとおり行った。密閉された 10 L の袋の内部にベンゼン (10 ~ 60 $\mu\text{g}/\text{L}$) とクロロホルム (10 ~ 80 $\mu\text{g}/\text{L}$) の混合水溶液を注入し、浴室環境を再現するために 40 °C の温浴槽にて加温を行った。また一部のサンプルには、シャワーの使用を再現するための振とうを行った。その後、水中濃度は公定法⁹⁾に従い P&T-GC/MS 法によって測定した。空气中濃度は公定法¹⁰⁾に従い、活性炭が充填された捕集管を用いた固体吸着-溶媒抽出-GC/MS 法によって測定した。全てのサンプルで、総気液接触

時間は 23 ~ 43 分であった。この時、各サンプルにおいて、ベンゼンとクロロホルムは全く同じ物理的条件下で気液接触していたため、 K'_{d} 値を直接比較することができた。

1-2. 作用率 R

暴露したベンゼンの量に対する暴露時の骨髄内ヒドロキノン量の割合を算出するために、経口、吸入、経皮暴露を入力値として使用し、肝臓等での代謝と骨髄での作用を組み込んだ生理学的薬物動態モデルを新たに作成した。ベンゼンの暴露条件は、水中濃度 $1 \sim 50 \mu\text{g/L}$ 、空气中濃度 $5 \sim 200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、暴露時間 $0.1 \sim 1.0 \text{ hr}$ 、外気中バックグラウンド空气中濃度 $0 \sim 3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ についてそれぞれ組み合わせ、様々な条件下の作用率を調べた。

1-3. モンテカルロシミュレーション

式 7 のパラメータの分布を、2-1、2-2 およびアンケート結果¹¹⁾や体重との相関と体重分布¹²⁾によって得た。これらの分布を基に、モンテカルロシミュレーションを行い飲水当量の分布を計算した。

2. 水道汚染物質の亜急性評価値に関する研究

日本の水道水質基準項目の 6 項目について、食品安全委員会の評価書を参考にして、亜急性評価値 (Subacute RfD: saRfD) を求めた。なお、食品安全委員会の評価書がない項目については、国内外の評価書を参考にした。

saRfD は、ヒトがおよそ 1 か月間曝露した場合を想定し、ガイドライン試験相当の亜急性毒性試験から無毒性量 (NOAEL) を求め、不確実係数 (UF) を適用して saRfD を求めた。UF は、種差 10、個人差 10 の他、NOAEL が求められない場合や重篤性のある毒性影響などは適宜追加の UF を適用した。次に 6 項目に関する saRfD を用いて、短期的な水道水質汚染が生じた際に参考とすべき参

照値 (mg/L) の算出を試みた。なお、参照値は、HA や HHBP の考え方に習い、割当率を 100% とし、それぞれの項目について成人と小児を対象とした 2 つの値を算出した。成人の体重は 50 kg、飲水量は 2 L/day とし、小児の体重は 10 kg、飲水量は 1 L/day とした。

3. 関心の高い物質の毒性情報整理

今年度は関心の高い物質として PFOA 及び PFOS を選定し、国際的な評価 (米国環境保護庁: US-EPA、有害物質疾病登録局: ATSDR、オーストラリア・ニュージーランド食品安全局: FSANZ、欧州食品安全機関: EFSA) について情報を収集し毒性評価の整理を行った。

C. 研究結果及び考察

1. 揮発性を考慮したベンゼンの水道水質基準値の妥当性の評価

1-1. 非定常分配係数 K'_{d} 値の測定結果

ベンゼンとクロロホルムの K'_{d} の実験結果を図 1 にプロットした。2 物質の K'_{d} はそれぞれ実験条件によって変化したが、ベンゼンの K'_{d} はクロロホルムの K'_{d} の 0.92 倍であることが分かった。ベンゼンとクロロホルムの物性値を比較すると (表 1)、非定常時の揮発性に関与する水中・気中拡散係数や、非定常時の液相から気相への移動割合を示す移行係数¹³⁾は同程度であり、非定常環境における揮発量に大差がなかったことが妥当であることが分かった。この結果より、実家庭でのクロロホルムの K'_{d} 分布を 0.92 倍することで、実家庭におけるベンゼンの K'_{d} 分布を推定

した(図2)。

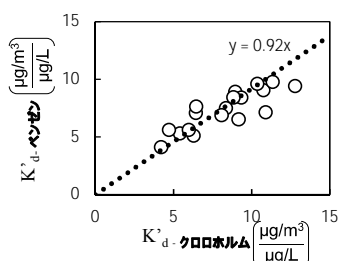


図1. ベンゼンとクロロホルムの K_d 比較

表1. ベンゼンとクロロホルムの物性値比較

	Unit	ベンゼン	クロロホルム
ヘンリー定数	L·Pa/mol	5.62×10^5	3.65×10^5
水中拡散係数	m^2/s	1.02×10^{-9}	1.05×10^{-9}
気中拡散係数	m^2/s	8.71×10^{-6}	8.87×10^{-6}
移行係数	-	0.568	0.576

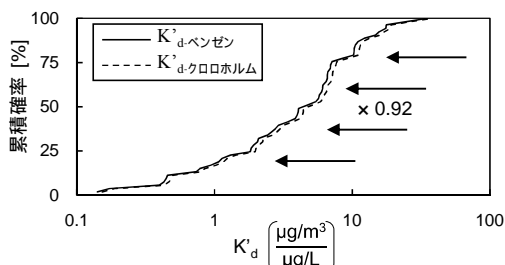


図2. クロロホルムの K_d 分布⁹⁾とベンゼンの K_d 分布

表2. 3経路の作用率算出結果

	R_{oral}	$R_{inhalation}$	R_{dermal}
作用率 [hr/L]	2.06×10^{-4}	1.13×10^{-4}	1.06×10^{-4}

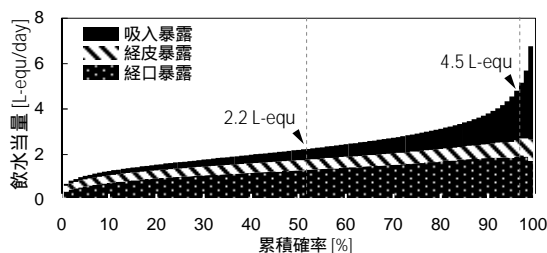


図3. 飲水当量分布計算結果

1-2. 作用率計算結果

経路ごとの作用率の算出結果を表2に示す。濃度や暴露時間などの条件は、作用率に影響を及ぼさなかった。同一潜在用量で比較すると、吸入暴露と経皮暴露はそれぞれ経口暴露の55%、50%程度しか骨髄内のヒドロキノン濃度を上昇させないことが分かった。

1-3. モンテカルロシミュレーション

飲水当量の分布は図3のようになった。分布の50、95%ile値はそれぞれ2.2、4.5 L-equ/dayであった。95%以上を極端なケースとし、95%ile値を最大可能暴露量とすれば、その値は、現行の水道水質基準を算出する際に用いられた2 L/dayの直接飲水量の2倍程度であった。また、飲水当量への暴露経路ごとの寄与を見ると、間接暴露分の寄与率は、50%ile値では40%程度であるのに対し95%ile値では60%に増加していることが分かった。これらのことから、高暴露側を想定し基準値を策定する際には、間接暴露の影響を考慮する必要があることが分かった。また、現行のベンゼンの水道水質基準値10 µg/Lは直接飲水量2 L/dayに基づいて算出しているため、揮発経由の吸入暴露や水との接触による経皮暴露が多い場合のリスクを過小評価していると考えられた。このような間接暴露が多い場合、飲水当量はおよそ4 L-equ/dayであることから、安全側を考えれば、水質基準値は現行の値の半分の5 µg/L程度が妥当であることが示唆された。

2. 水道汚染物質の亜急性評価値に関する研究

今年度算出した6項目のsaRfDと、それらの値をTDI (Tolerable Daily Intake: 耐容一日摂取量)等と比較した結果を表3に、亜急性参照値を表4に示した。各項目のsaRfD設定根拠及び亜急性参照値導出方法を以下に示す。

カドミウム及びその化合物

カドミウムの長期曝露による健康影響として近位尿管機能障害の因果関係が報告されている。我が国の食品安全委員会によると、疫学調査結果から、7 µg/kg/week程度のカドミウム曝露を受けた住民に非汚染地域の住民と比較して過剰な近位尿管機能障害が認められなかった知

見が得られている。この $7 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{week}$ を耐容週間摂取量 (PTWI) としたとき、体重 50kg の人が 1 日当たり 2L の飲料水を飲むと仮定して、割当率を 10% で算出した結果、日本の水道水の基準値は $0.003 \text{ mg}/\text{L}$ と設定された。本基準値は人の疫学データを用いた値であり、かつ耐容週間摂取量であるため亜急性参照値を求める候補としても最も適している毒性試験情報であると考えられた。従って、PTWI を 1 日当たり摂取量に換算した $1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ を saRfD とし、割当率を 100% 、成人及び小児の体重と飲水量を適用し参照値の算出を行った。大人の亜急性参照値は $0.03 \text{ mg}/\text{L}$ 、小児の亜急性参照値は $0.01 \text{ mg}/\text{L}$ となり基準値 ($0.003 \text{ mg}/\text{L}$) の約 3 倍の値と算出された。

水銀及びその化合物

水銀の水道水質基準値は平成 4 年に検出限界値である $0.0005 \text{ mg}/\text{L}$ と定められており、その後の見直しの際にも我が国における基準の継続性を考慮して $0.0005 \text{ mg}/\text{L}$ が維持されている。

一方我が国の食品安全委員会の水銀の評価では、NTP (1993) で行われた F344 ラットの 2 年間慢性毒性試験 (発がん性試験) における雄での前胃扁平上皮乳頭腫及び甲状腺癌から発がん性に対する NOAEL を $1.9 \text{ mg}/\text{kg}/\text{day}$ とし、UF (不確実係数): $1,000$ を適用し TDI を $1.9 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ と算定している。更に、非発がん影響としては NTP (1993) で行われた F344 ラットの亜急性毒性試験 (6 か月間強制経口投与試験) における腎重量の増加の LOAEL: $0.23 \text{ mg}/\text{kg}/\text{day}$ を POD (Point of Departure) とし TDI を $0.7 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ (UF = 300 : LOAEL と期間で 3) としている。一方、JECFA は本試験の腎重量の増加に対し BMD 方を適用し BMDL10 を 0.11 mg (塩化水銀) / kg/day としている。この値を水銀に換算すると $0.06 \text{ mg}/\text{kg}/\text{day}$ となる。JECFA はこの値を POD と

し UF100 を適用し PTWI を $4 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ としている。本評価では JECFA が推定した BMDL10 が亜急性影響を評価するために最も適切な POD であると判断した。従って $0.06 \text{ mg}/\text{kg}/\text{day}$ に UF100 を適用した結果、 saRfD は $0.6 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ と算出された。割当率を 100% 、成人及び小児の体重と飲水量を適用し参照値の算出を行った結果、大人の亜急性参照値は $0.02 \text{ mg}/\text{L}$ 、小児の亜急性参照値は $0.01 \text{ mg}/\text{L}$ となり基準値 ($0.0005 \text{ mg}/\text{L}$) の約 12 倍の値と算出された。

セレン及びその化合物

セレンの水道水質基準は、一日平均 $4 \mu\text{g}/\text{kg}$ のセレンを摂取した 142 名のグループにおいて、セレンの毒性による臨床的または生化学的な徴候が認められなかったとの NOAEL データを TDI とし、体重 50 kg 、節水量 2L 、割当率 10% を適用して $0.01 \text{ mg}/\text{L}$ と定められている。なお、食品安全委員会によると本評価に UF の適用はないが、セレンはヒトにとっての必須元素であり、NOAEL の約 3 倍の摂取量 (最大摂取量) でも影響がみられないためとされている。本評価では、不確実性の少ない人の疫学情報である NOAEL: $4 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ を saRfD とし割当率を 100% 、成人及び小児の体重と飲水量を適用し参照値の算出を行った。大人の亜急性参照値は $0.01 \text{ mg}/\text{L}$ 、小児の亜急性参照値は $0.04 \text{ mg}/\text{L}$ となり基準値 ($0.01 \text{ mg}/\text{L}$) の約 4 倍の値と算出された。

鉛及びその化合物

鉛の水道水質基準値は、平成 4 年の評価では「日本人の血液中の鉛濃度・暴露量は、世界的に見ても低いレベルにあることを考慮して、 $0.05\text{mg}/\text{L}$ 以下。なお、鉛毒性の蓄積性を考慮して長期目標値を $0.01\text{mg}/\text{L}$ と設定し、おおむね 10 年間に鉛管の布設替えを行い、鉛濃度の段階的な低

減化を図ることとする。」とした。平成 15 年の評価では、ヒト血中鉛レベルから定めた 1986 年の JECFA の暫定的な TDI = 3.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ (PTWI = 25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{week}$) を用いて、日本国内の水道水質基準値を $3.5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day} \times 50\text{kg} \times 10\% \div 2\text{L} = 0.01\text{mg}/\text{L}$ (数値を丸めて) とした。しかし、2010 年の JECFA の評価では、従来 PTWI である 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/週 の鉛摂取量は、小児では IQ で 3 ポイントの低下、成人では収縮期血圧の 3 mmHg の上昇をもたらす可能性があるとして推定しており、その結果、用量反応解析で鉛による有害反応の閾値が得られなかったため、PTWI を設定することは適切でないと結論している。一方、食品安全委員会では、2010 年まで審議された「鉛ワーキンググループ」において、一次報告を取り纏めているが、有害影響を及ぼさない血中鉛濃度として、一般成人「10 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 以下」、ハイリスクグループ(胎児、小児、妊婦など)「4 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 以下」を設定したが、血中鉛濃度と鉛摂取量との関係を示すデータが不足していたため、耐容摂取量を算出することができなかつたとされている。2019 年に再びワーキンググループが設置されているが、現時点では審議中である。仮に 1986 年の JECFA の暫定的な TDI を用い割当率 100% で亜急性参照値を算出すると水道水質基準値の 3 倍程度の値として算出できるが、現状における国際的な健康影響評価値の評価が流動的で、基準値そのものの値も変動する可能性があることより現時点で亜急性参照値を定めることは適切でないと考えられる。従って、亜急性参照値は基準値と同値 (0.01 mg/L) とすることが妥当であると考えられた。

ヒ素及びその化合物

ヒ素の水道水質基準値は平成 4 年に検出限界値である 0.001 mg/L と定められており、その後の見直しの際にも「発がん性に基づくヒ素の TDI

または実質安全量 (VSD) はもとより、それに基づいた飲料水中のヒ素濃度の確実性の高い健康指針値を導き出すことは現時点ではできない。」として、「ヒ素発がん性に関するリスクアセスメント関連のかなりの不確実さと飲料水からのヒ素除去の実際的な困難さからみて、従来からの基準値が維持されている。

我が国の食品安全委員会の評価によると無機ヒ素曝露による非発がん影響として、ヒ素で汚染された飲料水を長期間摂取した地域における疫学調査では、皮膚病変、発達神経影響及び生殖・発生影響が、飲料水中無機ヒ素濃度依存的に認められている。また、人で発がん影響(肺癌、膀胱癌等)も認められている。しかし、発がん曝露量における閾値の有無について判断できる状況にないと結論している。さらに、有害性の定量的評価において、ヒ素で汚染された飲料水を長期間摂取した疫学調査により飲料水中濃度に食事から摂取する量を加味して算定した無機ヒ素の NOAEL (又は LOAEL) 又は BMDL の値は、皮膚病変で LOAEL 4.3~5.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日及び BMDL05 4.0~4.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、神経系 (IQ 低下) への影響で NOAEL 3.0~4.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、生殖・発生への影響で NOAEL 8.8~11.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、肺癌で NOAEL 4.1~4.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日並びに膀胱癌で NOAEL 5.0~12.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日及び BMDL01 9.7~13.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であった。そして「日本人で、通常の生活を送っている場合の推定無機ヒ素摂取量は、数種の陰膳調査による平均値で 0.130~0.674 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であり、食品安全委員会(2013)の行った調査では平均値 0.315 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日」とし、「本評価で算定した NOAEL 又は BMDL の値と、推定無機ヒ素摂取量にはそれぞれに不確実性があると考えられるが、両者はかけ離れたものではない。そのため、日本人における一部の高曝露者では今回算定した

NOAEL 又は BMDL を超える無機ヒ素を摂取している可能性がある。」と評価している。つまり、食品安全委員会では許容摂取量もユニットリスクも設定されていないことや、曝露と POD とのマージンがほとんどない状況では、健康影響に基づいた基準値の設定はもとより、亜急性参照値を定めることも現時点では適切ではないと考えられる。従って、亜急性参照値は基準値と同値 (0.001 mg/L) とすることが妥当であると考えられた。

六価クロム化合物

我が国の食品安全委員会の評価では、2年間飲水投与試験においてみられた雄マウスの十二指腸びまん性上皮過形成に基づき算出した BMDL10 値 0.11 mg/kg/day を POD とし、UF100 を適用して、六価クロムの TDI を 1.1 µg/kg/day としている。水道水質基準は本 TDI に対し、1日2L摂取、体重 50 kg、寄与率 60%として 0.02 mg/L と定められている。一方亜急性毒性試験は以下の5試験の報告があった。

Wistar ラット(雄、各群5匹)にクロム酸ナトリウム(VI)を0、0.07又は0.7 g/L(0、4.8又は48 mg Cr(VI)/kg/day)で28日間飲水投与した試験において、0.7g/Lで尿量減少、運動能の低下が認められた。本試験の NOAEL は 4.8 mg/kg/day と判断された。

Wistar ラット(雄、各群15匹)に重クロム酸カリウム(VI)を0又は500 ppm(0又は73 mg Cr(VI)/kg/day)で30日間飲水投与した結果、500 ppm 投与群で血清プロラクチン減少が認められた。本試験の LOAEL は 73 mg/kg/day と判断された。

SD ラットの雄、各群24匹及び雌、各群48匹に重クロム酸カリウム(VI)を0、15、50、100又は400 ppm(雄100 ppm=2.1、400 ppm=8.4 mg Cr(VI)/kg/day、雌100 ppm=2.5、400 ppm=9.8 mg

Cr(VI)/kg/day)を9週間混餌投与した試験で、400 ppm群で MCV 及び MCH の減少が認められたことから NOAEL は 2.1 mg/kg/day と判断された。

Wistar ラット(雄、投与群19匹、対照群9匹)にクロムを0又は20 ppm(0又は3.7 mg Cr(VI)/kg/day)の用量で10週間飲水投与した試験において、20 ppm群で ALT 増加及び血清グルコース増加が認められたことから、LOAEL は 3.7 mg/kg/day と判断された。

F344/N ラット(雌雄、各群10匹)に重クロム酸ナトリウム二水和物(VI)を0、62.5、125、250、500又は1,000 mg/L(雄0、1.7、3.1、5.9、11.1又は20.9 mg Cr(VI)/ kg/day、雌0、1.7、3.5、6.3、11.5又は21.3 mgCr(VI)/kg/day)で14週間飲水投与した試験において、62.5 mg/L以上で、雄ヘマトクリット、ヘモグロビン及び MCV の減少、血小板増加、雌 MCH 減少が最低用量で認められた。本試験の LOAEL は 1.7 mg/kg/day となった。

上記5試験の中で最も低い用量で毒性が認められた試験は F344/N ラットの14週間飲水投与試験であった。本試験の LOAEL 1.7 mg/kg/day を POD として UF1000(LOAEL 使用で追加の UF10)を適用し、saRfD は 0.0017 mg/kg/day と算出された。この値は TDI の約 1.5 倍に相当する。saRfD に対し割当率を 100%、成人及び小児の体重と飲水量を適用し参照値の算出を行った結果、大人の亜急性参照値は 0.04 mg/L、小児の亜急性参照値は 0.02 mg/L となり基準値(0.02 mg/L)と同値と算出された。六価クロム化合物基準値導出に用いられた割当率が 60%と高かったため、TDI の 1.5 倍の saRfD が得られたにも関わらず、最終的な亜急性参照値は基準値と同値として算出された。

水道水は都市機能や公衆衛生の維持に不可欠

であり、給水停止については、自然災害等で汚染物質濃度が一時的に基準値を超えた場合でも、その濃度や推測される曝露期間等を考慮して慎重に対応する必要がある。本研究では、このような一時的な水質汚染の際に参考すべき値として成人及び小児を対象とした参照値を設定した。今年度は、日本の水質基準項目のうち無機化学物質の6項目について亜急性参照値の算出を試みた。カドミウム及びその化合物、セレン及びその化合物の2項目については、基準値の約3 - 4倍の亜急性参照値が得られた。更に、基準値が検出限界値に設定されている水銀については、ラット6か月間強制経口投与試験で認められた腎重量増加をもとに亜急性参照値を算出した結果、基準値の12倍となった。これらの項目については、一時的に飲料水中濃度が基準値を超えた場合でも、本研究で提案する参照値を超えない濃度であれば健康影響の懸念は低いと考えられるため、給水停止の措置は必要ないと判断することが可能となる。一方、ヒ素及びその化合物、鉛及びその化合物、六価クロム化合物については、基準値と亜急性参照値が同値となった。これらの項目については、迅速な対応が必要であると考えられる。

3. 関心の高い物質の毒性情報整理

国内で関心の高い物質であるPFOA及びPFOSに関する国外の評価機関(米国環境保護庁:US-EPA、有害物質疾病登録局:ATSDR、オーストラリア・ニュージーランド食品安全局:FSANZ、欧州食品安全機関:EFSA)における評価手法について調査した。表5及び表6にPFOA及びPFOSの各評価機関の評価値導出方法についての概要を示した。

US-EPAの評価

PFOA キースタディ

CD-1 マウスに、PFOA アンモニウム塩(直鎖:98.9%、

分岐異性体:1.1%)を0、1、3、5、10、20、40 mg/kg/dayの用量でGD1-GD17まで強制経口投与しGD18で剖検又はGD1-GD19まで強制経口投与し出産させた結果、1 mg/kg/day以上の群の母動物で肝臓の肥大がみられた。40 mg/kg/day群の全母体で胚吸収、20 mg/kg/day群で母体の体重増加が有意に低下し、胎児の生存率も優位に低下した。また、5、10、20 mg/kg/day群の出生児生存率の有意な低下が認められた。児の体重は3 mg/kg/day以上で有意に低値であった。最低用量の1 mg/kg/dayの群に児の骨化数減少(雌雄)と性成熟促進(雄)が認められた。(Lau et al, 2006)。

EPAは本試験の児の骨化遅延(雌雄)と性成熟促進(雄)が認められた1 mg/kg/dayをLOAELと判断した。PFOAの推定AUC及び投与期間(17日)から計算した結果、LOAEL:1 mg/kg/dayの平均血清濃度は38.0 mg/Lと推定された。ヒト等価用量(HED)は本血清濃度(38.0 mg/L)にCL:0.00014 L/kg bw/dayを乗じ、0.0053 mg/kg/dayと算出された。RfDはHEDをUF300(個人差:10、種差:3、LOAEL使用:10)で除し0.00002 mg/kg/day (20 ng/kg/day)と算出された。

PFOS キースタディ

Cr1:CD(SD)ラットに、PFOS カリウム塩(純度86.9%、C4-7のPFAS:8.4%)を0、0.1、0.4、1.6、3.2 mg/kg/dayで強制経口投与した2世代試験で、1.6 mg/kg/day以上で児の死亡が認められ、F2の成績は0-0.4 mg/kg/day群からしか得られなかった。親動物の一般毒性のNOAELはF0で0.1 mg/kg/day、F1で0.4 mg/kg/dayであり、生殖能に対するNOAELは一般毒性のNOAELよりも高い値であった。一方、F1の1.6 mg/kg/day群に児の成長遅延(耳介開展、開眼、立ち直り反応)

が認められ、開眼の遅れは0.4 mg/kg/day 群でも有意に認められた。F2 の授乳期には 0.4 mg/kg/day 群で児に有意な体重減少が認められた(Luebker et al., 2005a)。なお、PFOS の生殖発生毒性に対する用量反応を確認するために本試験の後に0、0.4、0.8、1.0、1.2、1.6、2.0 mg/kg/day の用量で生殖発生毒性試験が実施されたが、児の体重は全投与群で有意に低く児の体重減少について用量依存性・再現性が確認されている(Luebker et al., 2005b)。

EPA は Luebker ら (2005a) の 2 世代試験をキースタディとし、F2 児の体重減少が 0.4 mg/kg/day で認められたことから NOAEL を 0.1 mg/kg/day として評価した。PFOS の推定 AUC 及び投与期間(84 日)から計算した結果、NOAEL : 0.1 mg/kg/day の平均血清濃度は 6.26 mg/L と推定された。ヒト等価用量 (HED) は本血清濃度 (6.26 mg/L) に CL:0.000081 L/kg bw/day を乗じ、0.00051 mg/kg/day と算出された。RfD は HED を UF30(個人差:10、種差:3)で除し 0.00002 mg/kg/day (20 ng/kg/day) と算出された。

PFOA 及び PFOS の生涯 HA の値は RfD:0.00002 mg/kg/day を授乳期女性の体重あたり摂水量 (90th パーセンタイル推定値)である 0.054L/kg で除し 20%の割り当て率を用い 0.000074 mg/L (0.07 µg/L) と算出された。PFOA と PFOS の毒性は類似しており、RfD はいずれも発生毒性のエンドポイントをキーとしており、更に数値も同じであった。複合曝露に対する懸念から保守的に考え、HA : 0.07 µg/L を PFOA と PFOS の和に対する値とした。

ATSDR(Draft)の評価
PFOA のキースタディ

妊娠 C57BL/6/Bk1 マウスの妊娠初日から妊娠期間中に渡って PFOA カリウム塩(96%)を 0 又は 0.3 mg/kg/day で混餌投与し、児が 5 - 8 週齢時の発達神経毒性影響を調べた結果、0.3 mg/kg/day 投与群の雄の運動量が有意に増加した (Onishchenko et al., 2011)。また、同様の試験方法で投与した妊娠マウスの児(雌)について 13 又は 17 月齢で骨を調べた結果、大腿骨及び脛骨の形態学的な変化が認められ、骨のミネラル密度は低下していた (Koskela et al., 2016)。

ATSDR は上記 2 試験の投与量 0.3 mg/kg/day を LOAEL として評価した。マウスの PFOA 平均血清濃度は推定 AUC と投与期間(21 日)を用いて 8.29 µg/mL と推定された。HED は 1 - コンパートメントモデルを用い、0.000821 mg/kg/day と算出された。この値を POD とし UF30(個人差:10、種差:3、LOAEL 使用:10)を適用し 3×10^{-6} mg/kg/day (3 ng/kg/day) を暫定 MRL とした。

PFOS のキースタディ

ラット 2 世代試験(Luebker et al., 2005a)

EPA のキースタディ参照

ATSDR は Luebker ら (2005a) のラットの 2 世代試験で 0.4 mg/kg/day で認められた児の開眼の遅れ及び体重減少を根拠とし NOAEL を 0.1 mg/kg/day として評価した。ラットの PFOS 平均血清濃度は推定 AUC と投与期間(84 日)を用いて 7.43 µg/mL と推定された。HED は 1 - コンパートメントモデルを用い、0.000515 mg/kg/day と算出された。この値を POD とし UF30(個人差:10、種差:3)及び MF10(免疫に対する影響)を適用し 2×10^{-6} mg/kg/day (2 ng/kg/day) を暫定 MRL とした。

FSANZ の評価

PFOA のキースタディ

マウス発生毒性試験 (Lau et al, 2006) EPA のキースタディ参照

FSANZ は Lau ら (2006) の発生毒性試験で児の体重低値が 3 mg/kg/day 以上で認められたことから NOAEL を 1 mg/kg/day と判断した。なお、EPA が有害所見とした児の骨化遅延(雌雄)と性成熟促進(雄)については、それぞれ用量反応関係に一貫性がない、むしろ用量に対し負の相関がみられるとし毒性所見としなかった。PFOA の推定 AUC 及び投与期間 (17 日) から計算した結果、NOAEL : 1 mg/kg/day の平均血清濃度は 35.1 mg/L と推定された。US-EPA と同じ手法により HED を算出し 0.0049 mg/kg/day を POD とした。TDI は POD に UF30(個人差 : 10、種差 : 3)を適用し、0.00016 mg/kg/day (160 ng/kg/day)と算出された。水道の基準値は体重 70 kg、節水量 2L/day、割当率 10%を用いて 560 ng/L とされた。

PFOS のキースタディ

ラット 2 世代試験(Luebker et al., 2005a) EPA のキースタディ参照

FSANZ は Luebker ら (2005a) のラットの 2 世代試験で 0.4 mg/kg/day で母体及び児の体重増加減少がみとめられたことを根拠とし、本試験の NOAEL を 0.1 mg/kg/day と判断して評価した。PFOS の推定 AUC 及び投与期間 (84 日) から計算した結果、NOAEL : 0.1 mg/kg/day の平均血清濃度は 7.14 mg/L と推定された。US-EPA と同じ CL:0.000081 L/kg bw/day を用いて HED(0.0006 mg/kg/day)を算出し POD とした。TDI は POD に UF30(個人差 : 10、種差 : 3)を適用し、0.00002

mg/kg/day (20 ng/kg/day)と算出された。水道の基準値は体重 70 kg、節水量 2L/day、割当率 10%を用いて 70 ng/L とされた。

EFSA の評価

PFOA のキースタディ

PFOA 及び PFOS の肝脂質代謝に関する影響を調べるため、ウエストバージニアの化学工場からの汚染した水道水を摂取していた 18 歳以上の男女 46294 人を横断研究調査した。2005-2006 年調査での平均血清濃度は PFOA:80 ng/mL、PFOS:22 ng/mL であった。総コレステロール値は PFOA 及び PFOS の血清濃度に比例して増加し、傾向分析で有意であった (Steenland et al., 2009)。同様にデンマークで行われた横断研究でも 50 - 65 歳の男女 753 人の血清 PFOA 及び PFOS 濃度と総コレステロールのレベルに有意な正の相関が認められた (Eriksen et al., 2013)。

EFSA は Steenland et al (2009) 及び Eriksen et al (2013) の疫学研究から、血清コレステロール値増加に対する BMD 解析を行った。動物実験結果の BMD 解析に通常用いられる PROAST や BMD5 としたソフトでの解析ができなかったため、TableCurve2D というカーブフィッティングのソフトを用い、反応 5 %増加に対する血清濃度の BMDL を推定した結果、2 試験の BMDL5 はそれぞれ 9.4 ng/mL 及び 9.2 ng/mL と算出された。ヒトの PBPK モデルを用いて本血中濃度(9.2-9.4 ng/mL)からの PFOA の慢性推定摂取量を算出した結果 0.8 ng/kg/day となった。ヒトの大規模疫学調査の結果であることから、UF の適用は行わず、PFOA の体内での長い半減期を考慮し 0.8 ng/kg/day から 6 ng/kg/week の TWI を設定した。

PFOS のキースタディ

PFOA 及び PFOS 等の有機フッ素化合物とコレステロールや体重の関係等を、米国で横断研究調査し、20-80 歳の男女 860 名について解析した結果、総コレステロールの増加と PFOS の血中濃度との関係に正の相関が認められ、傾向分析で有意 ($P=0.01$) であった。PFOA とは正の相関は認められたものの傾向分析は有意ではなかった ($P=0.07$) (Nelson et al., 2010)。本試験及び PFOA のキースタディ (Steenland et al., 2009; Eriksen et al., 2013) の 3 試験がキースタディ。

EFSA は PFOA と同じ手法で BMDL 解析を行い、3 試験の BMDL5 を 26 ng/mL (Steenland et al., 2009)、22 ng/mL (Eriksen et al., 2013) 及び 21 ng/mL (Nelson et al., 2010) と推定した。これらの値から PBPK モデルを用いて PFOS の慢性推定摂取量を算出した結果、それぞれ 2.1、1.8 及び 1.7 ng/kg/day となった。EFSA は 1.8 ng/kg/day が適切な参照値であるとし、TWI を 13 ng/kg/week と設定した。

上述の通り今年度は PFOA 及び PFOS の国際評価として US-EPA、FSANZ、ATSDR、EFSA の 4 機関の評価状況について調査した。PFOA については動物試験の発生毒性影響をキースタディとした評価と人疫学調査による総コレステロール値増加に対する影響をキースタディとした評価があった。US-EPA と FSANZ は同じ発生毒性試験 (Lau et al., 2006) をキースタディとしたが、US-EPA は最低用量 (1 mg/kg/day) で認められた骨化遅延や思春期早発影響を毒性影響と判断 (LOAEL) したのに対し、FSANZ は用量相関がないことから毒性影響として採用せず NOAEL を (1 mg/kg/day) としたことから、LOAEL 使用の UF10 の適用の有無により両者の評価値は約 10 倍の差があった。

一方、ATSDR は US-EPA 及び FSANZ とは異なる発生毒性試験 (2 試験: Onishchenko et al., 2011; Koskela et al., 2016) をキースタディとした。これらの試験は対照群に対し 1 投与群 (0.3 mg/kg/day) しか設定されていないため用量反応評価のためには、情報が限定的である。投与群で児の発達神経毒性、又は骨形態学的変化とミネラル密度低下が認められたため LOAEL 使用の UF10 も適用され、評価値相当の値は US-EPA よりさらに桁低い値となった。上記 3 機関が動物の発生毒性影響をキースタディとしたのに対し、EFSA はヒトの疫学研究による総コレステロール値の増加をエンドポイントとして BMDL5 の PFOA 血中濃度を元に評価値の導出を起こった。

PFOS の評価についても PFOA と同様に動物試験の生殖発生毒性影響をキースタディとした評価と人疫学調査によるコレステロール値増加に対する影響をキースタディとした評価があった。US-EPA、FSANZ、ATSDR は同じ 2 世代試験 (Luebker et al., 2005) をキースタディとした。いずれの評価機関も NOAEL を最低用量の 0.1 mg/kg/day としているが、US-EPA 及び FSANZ が UF:30 (種差 3・個体差 10) を適用しているのに対し、ATSDR が免疫の影響に対する懸念から追加の係数として 10 を適用したことから、ATSDR 評価値相当は US-EPA 及び FSANZ の 10 分の 1 となっている。一方、EFSA は PFOS と同様にヒトの疫学研究による総コレステロール値の増加をエンドポイントとして BMDL5 の PFOA 血中濃度を基に評価値の導出を起こった。

最後に、今年度収集した 4 機関の評価状況から、PFOA 及び PFOS のキーエンドポイントは動物試験の発生毒性とする一定の傾向がみられる一方、人疫学による肝臓影響について懸念を抱いている

評価機関がある事も分かった。また、不確実性を保守的に評価することによって、同じ試験結果をキーとしていながら、評価値に幅がある事が示された。今年度収集した情報は次年度以降の評価値導出のために有用な情報となると考えられた。

D. 引用文献

- (1) Niizuma, *et al.*, 2013. *Regulatory, Pharmacology and Toxicology (RPT)*, 67, 98-107
- (2) Akiyama *et al.*, 2018. *RTP*, 95, 161-174
- (3) Nishikawa *et al.*, 2019. *RTP*, 106, 43-49
- (4) USEPA, 2002. Toxicological review of benzene
- (5) Rinsky, 1989. *Environ. Health perspectives*, 82, 189-192
- (6) WHO, 2003. Benzene in drinking water
- (7) McHale *et al.*, 2012. *Carcinogenesis*, 33(2), 240-252
- (8) 伊藤ら, 2010. 飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究
- (9) 厚生労働省, 2003. 水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法
- (10) 環境省, 2018. 大気汚染物質測定方法マニュアル
- (11) Ohno *et al.*, 2018. *J. Water and Health*, 16(4), 562-573
- (12) 総務省, 2018. 日本の統計
- (13) McKone, 1987. *Environ. Sci. Technol.* 21, 1194-1201

- ・ 食品安全委員会 : リスク評価書 (<https://www.fsc.go.jp/hyouka/>)
- ・ 米国 EPA : Drinking Water Health Advisories for PFOA and PFOS (<https://www.epa.gov/ground-water-and->

[drinking-water/drinking-water-health-advisories-pfoa-and-pfos](https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/drinking-water-health-advisories-pfoa-and-pfos))

- ・ ATSDR : Toxicological Profile for Perfluoroalkyls Draft for Public Comment June 2018 (<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp200.pdf>)

- ・ FSANZ : Hazard assessment report - Perfluorooctane Sulfonate (PFOS), Perfluorooctanoic Acid (PFOA), Perfluorohexane Sulfonate (PFHxS) ([https://www1.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/2200FE086D480353CA2580C900817CDC/\\$File/6.sd1-Hazard-assessment-report.pdf](https://www1.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/2200FE086D480353CA2580C900817CDC/$File/6.sd1-Hazard-assessment-report.pdf))

- ・ EFSA : Risk to human health related to the presence of perfluorooctane sulfonic acid and perfluorooctanoic acid in food (<https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5194>)

F. 結論

間接曝露を考慮した化学物質の水質基準の評価として今年度はベンゼンのリスク評価を行った。ベンゼンの揮発経由の吸入曝露や経皮曝露を想定すると、水質基準値は現行の値の半分程度が妥当であると示唆された。

亜急性評価値に関する研究では、水道水質基準項目のうち無機化合物 6 項目短期間曝露を対象とした saRfD を用いて亜急性参照値を算出した結果、3 項目(カドミウム、セレン、水銀)については生涯曝露を対象とした基準値に対し 3~10 倍以上高い値として設定できた。一方、ヒ素、

鉛及び六価クロムについては、亜急性参照値は基準値と同値とし、最終的に6項目について、短期的な水道水質汚染が生じた際に参考とすべき参照値 (mg/L)を提案することができた。これらの値は汚染物質濃度が一時的に基準値を超えた際の、緊急的な判断材料として非常に有用であると考えられる。

一方、国内外で関心の高い有害物質として、PFOA及びPFOSのついて最近の国際評価について情報を収集した。今年度収集した情報は次年度以降の評価値導出のために有用な情報となると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Nishikawa, S., Matsui, Y., Matsushita, T. and Shirasaki, N., Assessment of indirect inhalation exposure to formaldehyde evaporated from water, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 106, 43-49, 2019.

2. 学会発表

松本 真理子、川村 智子、井上 薫、山田 隆志、広瀬 明彦：水道水中の汚染化学物質に対する亜急性参照値の導出、日本毒性学会(2019年6月、大阪)

Mariko Matsumoto, Toshime Igarashi, Kaoru Inoue, Takashi Yamada, Akihiko Hirose: Hazard assessment of hydrazine, a possible migration contaminant from drinking water apparatus, EUROTOX 2019 (2019年9月、ヘルシンキ)

Matsui, Y., Akiyama, M., Niizuma, S., Narita, K., Nishikawa, S., Matsushita, T. and Shirasaki, N., Pesticides and volatile compounds in drinking water quality standard: chemical mixtures and indirect exposure assessment. Keynote Lecture. 11th Micropol & Ecohazard Conference 2019, Seoul, Korea, 20-23 October 2019.

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3 Subacute Reference Dose(SaRfD)設定値及び TDI との比較* : saRfD を TDI 又は VSD で割った値

項目名	設定根拠	POD (mg/kg/day)	UF	TDI/VSD (mg/kg/day)	亜急性候補試験 候補	POD (mg/kg/day)	UF	saRfD (mg/kg/day)	比率
カドミウム	疫学 近位尿管機能障害	NOAEL 0.001	1	0.001	同左	NOAEL 0.001	1	0.001	1
水銀	我が国における基準の継続性(検出限界)	-	-	-	ラット 6 か月間強制経口投与 腎重量増加	BMDL10 0.06	100	0.0006	-
セレン	疫学 臨床症状・生化学指標(爪の疾患等)	NOAEL 0.004	1	0.004	同左	NOAEL 0.004	1	0.004	1
鉛	乳幼児蓄積性を考慮した評価(暫定評価)	-	-	0.0035	設定できない	-	-	-	-
ヒ素	発がん性に関するリスクアセスメントの不確かさと飲料水からのヒ素除去の実際的な困難さより基準の維持(検出限界)	-	-	-	設定できない	-	-	-	-
六価クロム	マウス 2 年間飲水投与試験十二指腸びまん性上皮過形成	BMDL10 0.11	100	0.0011	ラット 14 週間飲水投与 貧血を示唆する血液生化学的变化	LOAEL 1.7	1000	0.0017	1.5

表4 成人及び小児の亜急性参照値及び目標値との比較

項目名	saRfD (µg/kg/day)	基準値 (mg/L)	成人(mg/L)	比率	小児 (mg/L)	比率
カドミウム	1	0.003	0.03	10	0.01	3
水銀	0.6	0.0005	0.02	40	0.006	12
セレン	4	0.01	0.1	10	0.04	4
鉛	設定できない	0.01	0.01	1	0.01	1
ヒ素	設定できない	0.001	0.001	1	0.001	1
六価クロム	1.7	0.02*	0.04	2	0.02	1

注意点：この表に示した亜急性参照値は、研究班による研究成果に基づくものであり公的な指針値等に相当するものではない。この参照値は現時点で使用可能な毒性学的知見を用いて算定した値であり、今後、リスク評価に関する新たな知見により変更する可能性がある。また、実際の運用等に当たっては、化学物質の物理化学的性状が利水に及ぼす影響や他法令による指針値との整合性を考慮して参照することが必要である。

*基準値導出に用いられた割合率：60%

表 5 PFOA の国際評価概要

国・機関	キースタディ	毒性所見	POD (投与量及び/又は血中濃度)			ヒト等価 用量	不確実係 数	評価値相当
U.S. EPA	マウス 発生毒性 Lau et al. (2006)	前後肢基節骨 の骨化減少及 び雄児の思春 期促進	LOAEL	1 mg/kg/day	38.0 mg/L	5.3 µg/kg/day	300 種差：3 個体差： 10 LOAEL：10	20 ng/kg/day
FSANZ	マウス 発生毒性 Lau et al. (2006)	児の体重低値	NOAEL	1 mg/kg/day	35.1 mg/L	4.9 µg/kg/day	30 種差：3 個体差： 10	160 ng/kg/day
ATSDR (Draft)	マウス 発生毒性 Onishchenko et al. (2011); Koskela et al. (2016)	児の発達神経 毒性、骨形態 学的変化とミ ネラル密度低 下	LOAEL	0.3 mg/kg/day	8.29 µg/mL	0.821 µg/kg/day	300 種差：3 個体差： 10 LOAEL：10	3 ng/kg/day
EFSA	ヒト 疫学的研究 Steenland et al., (2009); Eriksen et al., (2013)	血清総コレス テロールの増 加	BMDL5	-	9.2-9.4 ng/mL	0.8 ng/kg/day	不要	6 ng/kg/week (0.8 ng/kg/day)

表 6 PFOS の国際評価概要

国・機関	キースタディ	毒性所見	POD (投与量及び/又は血中濃度)			ヒト等価 用量	不確実係 数	評価値相当
U.S. EPA	ラット 2世代試験 Luebker et al (2005)	児体重減少	NOAEL	0.1 mg/kg/day	6.26 mg/L	0.51 µg/kg/day	30 種差：3 個体差： 10	20 ng/kg/day
FSANZ	ラット 2世代試験 Luebker et al (2005)	親及び児の体 重減少	NOAEL	0.1 mg/kg/day	7.14 mg/L	0.6 µg/kg/day	30 種差：3 個体差： 10	20 ng/kg/day
ATSDR (Draft)	ラット 2世代試験 Luebker et al (2005)	児の開眼遅延 及び体重減少	NOAEL	0.1 mg/kg/day	7.43 µg/mL	0.515 µg/kg/day	300 種差：3 個体差： 10 免疫影 響：10	2 ng/kg/day
EFSA	ヒト 疫学的研究 Steenland et al., (2009); Nelson et al., (2010); Eriksen et al., (2013)	血清総コレス テロール値の 増加	BMDL ₅	-	21-25 ng/mL	1.8 ng/kg/day	不要	13 ng/kg/week (1.8 ng/kg/day)

令和元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

化学物質等の検出状況を踏まえた水道水質管理のための総合研究

- 水質分析法に関する研究 -

研究分担者	小林憲弘 高木総吉	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 地独)大阪健康安全基盤研究所 衛生化学部
研究協力者	五十嵐良明 土屋裕子 吉田 仁 安達史恵 小池真生子 長谷川有紀 鈴木俊也 木下輝昭 小杉有希 飯田春香 山崎貴子 渡邊喜美代 坂田 脩 渡邊弘樹 橋本博之 豊崎 緑 上村 仁 仲野富美 大窪かおり 山田早紀 門上希和夫 寺中郁夫 代 龍之介 野村あづみ 古口健太郎 林 幸範 平林達也 粕谷智浩	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 地独)大阪健康安全基盤研究所 衛生化学部 地独)大阪健康安全基盤研究所 衛生化学部 地独)大阪健康安全基盤研究所 衛生化学部 地独)大阪健康安全基盤研究所 衛生化学部 東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部 東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部 東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部 東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部 東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部 東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部 東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部 埼玉県衛生研究所 埼玉県衛生研究所 千葉県衛生研究所 千葉県衛生研究所 神奈川県衛生研究所 理化学部 神奈川県衛生研究所 理化学部 佐賀県衛生薬業センター 佐賀県衛生薬業センター 北九州市立大学 環境技術研究所 埼玉県水質管理センター 埼玉県水質管理センター 川崎市上下水道局 川崎市上下水道局 横須賀市上下水道局 大阪市水道局 一財)千葉県薬剤師会検査センター 技術検査部

浴口典幸	一財)千葉県薬剤師会検査センター	技術検査部
中村弘揮	一財)岐阜県公衆衛生検査センター	検査分析部
岩間紀知	一財)岐阜県公衆衛生検査センター	検査分析部
古川浩司	一財)三重県環境保全事業団	調査部

研究要旨

水質分析法に関する研究として、水質分析をより簡便・迅速かつ高精度に分析できる新規分析法を開発するとともに、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を行うことができる分析手法について検討した。また、これらの分析法の妥当性評価を行うとともに、水道事業体、地方衛生・環境研究所および保健所に普及させることで、水質検査に関わる機関の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とした。

今年度は、構築したデータベースを実際の原水・浄水に適用させ、スクリーニング法の定性・定量精度の検証を行った。その結果、通知法と同等数の農薬を検出することができ、定量値の一致度も高いことがわかった。また、スクリーニング法で取得したデータを再解析することにより、データベースに登録されていない農薬類を同定・定量できることがわかった。このことより、スクリーニング法は検査法として簡便に農薬類を測定できるだけでなく、そのデータを追加解析することにより、未知の化学物質の存在状況を把握することにも利用できることが明らかとなった。

また、塩素酸、硝酸態窒素、亜硝酸態窒素(基準項目)、亜塩素酸(管理目標設定項目)、過塩素酸(要検討項目)のLC/MS(/MS)一斉分析条件を確立した。12機関によるバリデーション試験の結果、塩素酸、亜塩素酸、過塩素酸については、臭素酸と同時分析が可能であることが示された。以上のことから、本分析法を塩素酸については告示法に、亜塩素酸については通知法に追加できると考えられる。ただし、これらの陰イオンの基準値・目標値は大きく異なるため、一斉分析を行う際には、検量線の濃度範囲や注入量を、測定機器に合わせて最適化する必要がある。

A. 研究目的

世界で使用されている化学物質の数は70,000～100,000物質に登ると推定されているが、水道水および環境水中の濃度が測定されている物質は非常に限られている。日本では水質基準項目が51項目、環境基準項目と要監視項目がわずかに53項目のみであり(厚生労働省, 2015), これらの項目がモニタリングされているだけであり、環境や水道水の安全性評価、特に汚染事故や災害時の2次被害などの防止には不十分である。このような事態に対応するには、可能な限り多数の物質をできる限り早く分析することが求められる。しかし、従来の個別分析法でこれらに対応しようとするれば、多数の分析法を用いる必要があり、長時間、高コスト、大量の資源の使用と廃棄物の発生等の問題がある。この問題を解決する手段として、迅速かつ網羅的に濃度把握が可能な高効率なスクリーニング分析が、非常に有効な手法である。

この様な背景の元、我々はスクリーニング分析用にガスクロマトグラフ-質量分析計(GC-MS)向け自動同定定量データベースシステムを構築してきた。化学物質をGC-MSで分析した場合、各化合物に特有なマススペクトルが得られる。また、各化合物の保持時間情報と、面積比を用いて検量線を作成してデータベース化しておくことにより、実試料における未知ピークのマススペクトルと相対保持時間情報から化合物の同定、内部標準物質(IS)とのピーク強度比から定量することができる(門上, 2004; Kadokami, 2005)。したがって、従来のターゲット分析とは異なり、標準品の準備、標準液の調製・測定および検量線の作成を行わずに、データベースに登録されている化学物質を網羅的に同定・定量ができ、分析にかかる時間やコストを減少させることが可能である。

昨年度までに我々はマススペクトル、保持時間および検量線の情報をデータベース化し、

176種の農薬類を対象としたガスクロマトグラフ-質量分析計(GC-MS)を用いたターゲットスクリーニング分析法(スクリーニング法)の構築のため、複数の機関でその定性・定量精度を検証した。その結果、一部の農薬を除き、機関間および装置間での差は小さく、スクリーニング法としては十分使用可能であることを明らかにした(水質分析法分科会, 2017)。

今回、水質検査手法としての有用性を検証するために、大阪健康安全基盤研究所の装置のデータベースに登録された169種の農薬について実際の水道原水および浄水試料をスクリーニング法で分析し、その定性・定量精度を評価した。

2017年4月に、臭素酸の検査方法として、液体クロマトグラフ質量分析法(別表第18の2)が追加され、従来のイオンクロマトグラフ-ポストカラム吸光光度法(別表第18)よりも効率的かつ高感度に分析できるようになった。水道水には臭素酸以外にも基準項目や管理目標設定項目に該当する陰イオン類が含まれており、これらの陰イオン類と同時に測定できれば、さらに効率的に検査できることから、別表第18の2が他の陰イオン類に適用できるかどうかを検証するため、国立衛研において分析条件を確立した後、複数機関においてバリデーション試験を実施した。

B. 研究方法

1. 実試料を用いたGC-MSによる水道水中農薬スクリーニング分析法の評価

1.1. 対象物質

分析対象農薬169種のうち殺菌剤が40種、殺虫剤が55種、除草剤が55種および植物成長調整剤が1種であり、残りは代謝産物や構造異性体であった。対象とした農薬の概要を表1-1に示す。

1.2. 分析法

1.2.1. 試薬

農薬の標準品は富士フィルム和光純薬製の混合標準液である，66 種農薬混合標準液 水質-1,2，28 種農薬混合標準液 水質-3，63 種農薬混合標準液 水質-4，48 種農薬混合標準液 水質-5 および 29 種農薬混合標準液 水質-9 を使用した。アセトニトリル溶液である水質-3，水質-4 および水質-9 についてはアセトンに置換後，使用した。

イプフェンカルバゾンおよびオキサジアゾンの標準品は富士フィルム和光純薬の残留農薬試験用を使用した。標準品を 10mg 量り，アセトニトリルで 10 mL とし，1000 mg/L の溶液を調製した。これを標準原液として使用した。

3 種混合内部標準液(100 µg/mL ジクロロメタン溶液)は富士フィルム和光純薬の水質試験用を使用した。3 種混合内部標準原液 100 µL をメスフラスコに採り，10 mL に調製したものを 3 種混合内部標準液(濃度：1 mg/L)とし，この 3 種混合内部標準液は用時調製とした。

1.2.2. 試料

試料の採水時期は 5，6 および 9 月とし，水道原水として 19 検体，浄水として 23 検体を使用した。水道原水の種類は河川水，伏流水，地下水および湖沼水であり，浄水処理方法は急速砂ろ過処理，緩速砂ろ過処理，オゾン活性炭処理，膜処理および活性炭処理であった。

1.2.3. 前処理方法

試料の前処理方法は別添方法 5 の 2「固相抽出-ガスクロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法(通知法)に従った。試料量は 500 mL とし，浄水はアスコルビン酸ナトリウムで残留塩素を消去したもの，原水はガラスフィルターで浮遊物質をろ過したろ液を分析用試料とした。固相は HLB (Waters) とし，内部標準物質としてアントラセン-d₁₀，9-プロ

モアントラセンおよびクリセン-d₁₂ を使用した。GC-MS は JMS-Q1050(日本電子)を使用し，GC-MS の分析条件を表 1-2 に示した。

1.3. 通知法(SIM測定)との比較

スクリーニング法により定量された農薬について，改めて検量線作成用の標準液とともに SIM 測定を行い，通常の通知法通りに定量を行った。検量線の濃度範囲は 0.005 mg/L ~ 1.0 mg/L とした。

1.4. 他機関の検量線情報における定量精度の検証

3 機関 4 台の GC-MS で作成されたデータベース用の検量線情報と今回得られたスクリーニング法でのエリア面積比を用いて定量値を求めた。その定量と通知法通りに求めた定量値を比較し，他機関で作成された検量線情報を用いた場合の定量精度について検証を行った。

1.5. 未規制および新規農薬への応用

データベースに登録された相対保持時間，*m/z* が一致したものの，定量イオンと確認イオンの比がデータベースと一致しないピーク(未知ピーク)が確認される試料があった。この未知ピークについてマススペクトル情報から NIST のライブラリーを用いて化合物の推定を行った。推定した化合物の標準品を用いて，同じ条件でマススペクトルを取得し，未知ピークのマススペクトルと相対保持時間を比較することにより同定を行った。また，既存のデータベースと同様の手法で相対保持時間，モニターイオンの決定および検量線の作成を実施し，この未知ピークについて定量を行った。

また，イプフェンカルバゾンは 2019 年 4 月 1 日に要検討農薬に追加され，その目標値が 0.002 mg/L に設定された。そこで，イプフェンカルバゾンについても標準品を用いて相対

保持時間，モニターイオンの決定および検量線の作成を実施し，測定データを再解析することによりイブフェンカルバゾンの同定・定量を行った。

2. 陰イオン類のLC/MS/MS分析法の開発

2.1. 対象物質

本検討の対象として，塩素酸，硝酸態窒素，亜硝酸態窒素(以上，基準項目)，亜塩素酸(管理目標設定項目)，過塩素酸(要検討項目)を選択した。水質基準項目のフッ素および塩化物イオンは，質量数が低く質量分析計による検出が困難であるため，本検討の対象外とした。

2.2. 分析条件の検討

本検査法は，採水した水道水を前処理せずにLC/MS(MS)に導入して陰イオン類を測定する。水道水には塩化物や硫酸イオン等が検査対象物質と比べて高濃度に含まれている場合があるため，検査対象物質とこれらの陰イオン類が適切に分離できないと，イオン化阻害により精度よく測定できない可能性がある。そこで本検査法では，陰イオン交換モードと逆相モードの両方の特性を持つミックスモードカラムを用いて，各陰イオン類を分離する条件を検討した(表2-1，図2-1)。

2.3. バリデーション試験の実施

バリデーション参加機関は，国立衛研が作成したSOPに従い，各機関が採水した水道水をEDAあるいはチオ硫酸ナトリウムで脱塩素処理した後，塩素酸，硝酸態窒素，亜硝酸態窒素，亜塩素酸，過塩素酸，臭素酸をそれぞれ基準値・目標値および基準値・目標値の1/10となるように標準液を添加して，表1の測定条件を参考に設定した最適条件で測定した(硝酸のみ基準値(10mg/L)が他の陰イオンと比べて高いため，基準値の1/100と1/10で試験した)。試験は5併行で実施し，水道水

に含まれる他の陰イオン類(塩化物および硫酸イオン)とのピーク分離を確認するとともに，各物質，各添加濃度の真度および併行精度を評価した。

バリデーション試験には，衛生研究所3機関(国立医薬品食品衛生研究所，大阪健康安全基盤研究所，東京都健康安全研究センター)，水道事業体1機関(埼玉県水質管理センター)，登録検査機関3機関(三重県環境保全事業団，千葉県薬剤師会検査センター，岐阜県公衆衛生検査センター)，分析機器メーカー5機関(日本ウォーターズ，アジレント，島津製作所，サイエックス，ジーエルサイエンス)の12機関が参加し，そのうち3機関はSIMでも測定を行った。SIM測定ではSRM測定のプリカーサイオンをモニターイオンとした。

C. 結果と考察

1. 実試料を用いたGC-MSによる水道水中農薬スクリーニング分析法の評価

1.1. 検出農薬

スクリーニング法により35種の農薬が検出された(表1-3)。原水で最も検出率が高かったのはシメトリンとプロモプチドであり，検出率はどちらも47%であった。チフルザミド，プロマシルがこれらに続き，検出率はそれぞれ42%であった。一方，浄水においてもプロモプチドの検出率が最も高く，35%であった。チフルザミド，ブタクロールおよびプレチラクロールが続き，検出率はそれぞれ17%，13%および13%であった。検出濃度は非常に低く，目標値の1/100未満であった。

検出された農薬のうち11種類は通常の検査対象となっている対象農薬リストには掲載されていない農薬であった。このことから，実際の水道原水・浄水には検査でモニタリングされていない農薬が数種類存在していることが明らかとなった。また，本スクリーニング法により，このような農薬についても検出可能であり，水質管理の面からも非常に有用

な方法であると考えられた。

1.2. 通知法との比較

検出された 35 種と定量下限値未満であったものの、相対保持時間から予測された保持時間にピークが認められた 21 種の農薬を合わせた 56 種の農薬について標準液を調製して、通知法に記載されたモニターイオンを使用して、再測定を実施した。その結果、45 種の農薬が検出され、また検出された試料数もスクリーニング法の結果より多かった(表 1-4)。これはスクリーニング法がスキャン測定であるのに対し、通知法は SIM 測定であることから、S/N 比の向上により定量下限値が低くなったことが原因であった。

スクリーニング法と通知法の両方で検出された農薬について次の式から一致度を求め、定量値を比較した。

$$\text{一致度} = \frac{C_{\text{scr}}}{C_{\text{sim}}} \quad (1)$$

C_{scr} : スクリーニング法での定量値

C_{sim} : 通知法での定量値

その結果、通知法での定量値とスクリーニング法での定量値の一致度は 0.1 ~ 17 であった(表 1-5)。定量下限値に近い場合に定量値の差が大きくなる傾向があったが、チフルザミドのように検出濃度に関係なく差が大きい農薬もあった。

そこで、このような農薬については装置の洗浄、検出器の交換などのメンテナンスを実施後、検量線情報の更新を行った。その結果、通知法での定量値に対してスクリーニング法での一致度は 0.1 ~ 3.9 と高い定量値になっていたのが改善された。これは装置の感度が改善され、低濃度での定量精度が向上した結果と考えられた。このことから、定量精度が改善された(5Z)-オリサストロピン、カルボフラン、ピリミノバックメチル、フェンチオン

スルホキシドおよびメフェナセットなどは装置の状態を評価する物質として使える可能性が示唆された。

検量線情報を更新しても、チフルザミドのように通知法に比べ、低く定量される農薬も存在しており、引き続き原因の検討は必要なものの、本スクリーニング法は検査対象の農薬類の絞り込みや、検出濃度のオーダーを把握するには十分適用できる定性・定量精度を持つ方法であることがわかった。

1.3. 他機関との比較

4 台の検量線情報を用いて定量した結果、24 種の農薬が 3 台以上の装置において定量下限値以上で検出された。その定量値を通知法に従った SIM 測定により得られた定量値と比較し、一致度を求めた。その結果、一致度は 0.1 ~ 8.4 であった(図 1-1)。各装置での一致度を比較した結果、16 種の農薬において有意な差は認められなかった。したがって、別の装置や機関で作成された検量線情報を使用しても一定の定量精度が得られることがわかった。

一方、有意差が認められたイソプロチオラン(IPT)、カルバリル(NAC)、シメトリン、ピロキロン、フェンチオンスルホキシド、フラメトピル、プロピコナゾール、メフェナセット 8 種の農薬について、装置間で検量線を比較した。その結果、有意差が見られた装置の検量線の多くは、検量線の最小濃度が他の装置より高く、内部標準物質に対する測定対象農薬のエリア面積比が小さかった。このことから、検量線作成時の装置状態に問題があり、8 種の農薬に対する測定感度が悪かったと考えられた。したがって、スクリーニング法を行う場合は装置状態を確認することが非常に重要である。また、装置状態に影響を受けた 8 種の農薬は検量線情報の更新により定量値が改善された農薬と同様に、スクリーニング法を実施する前の装置の性能評価用標準

物質として使用できる可能性が示唆された。

1.4. 未規制および新規農薬への応用

未知ピークのマスペクトルについて NIST のライブラリー検索を実施した結果、ダイアゾール系除草剤であるオキサジアゾンがヒットした。そこでオキサジアゾンの標準品と比較した結果、標準品と未知ピークのマスペクトルパターンおよび相対保持時間が一致した(図 1-2)。次にオキサジアゾンについてデータベースを作成し、測定済みのデータをすべて再解析して同定・定量した。その結果、検出率は原水で 22%、浄水で 16%であった。また検出濃度は原水で 0.000026~0.00043 mg/L、浄水で 0.000022~0.00031 mg/L であった。オキサジアゾンの目標値は設定されていない。そこで、ADI (0.0036 mg/kg-Body Weight/day) を用いて、体重 50kg のヒトが水道水を 1日 2L 飲用し、水道水の寄与率を 10% として算出した。算出された仮の目標値は 0.009 mg/L であり、検出された濃度はこれより十分低いものであった。

イプフェンカルバゾンの標準品を GC-MS で測定した結果、 m/z 426 の分子イオンと m/z 198, 156, 229 などのフラグメントイオンが確認された。強度の強い 2 つのイオンをそれぞれ定量イオンと確認イオンとして検量線を作成し、相対保持時間の情報を併せてデータベースに登録した。登録した情報を用いてオキサジアゾンと同様に測定済みのデータを再解析した。その結果、原水では 13%、浄水では 5% の検出率であった。また検出濃度は最大で 0.00024 mg/L であり目標値を超える濃度は検出されなかった。

2. 陰イオン類の LC/MS/MS 分析法の開発

2.1. 各機関の LC/MS/MS 測定条件

バリデーション試験を実施した各機関の LC/MS/MS 測定条件を示す。分離カラムは Acclaim Trinity P1 (Thermo Fisher Scientific)

が 6 機関、RSpak JJ-50 2D (Shodex) と SYPRON AX-1 (ジーエルサイエンス) が 3 機関ずつであった。いずれの機関も、移動相の種類およびグラジエント条件はほぼ同じであった。機関 G および SYPRON AX-1 を用いた機関 F, I, J の 3 機関は、移動相に用いる酢酸アンモニウムの濃度を SOP (200 mM) よりも低く設定したが (40~100 mM)、測定時間に大きな違いはなかった。

2.2. LC/MS/MS(SRM)による試験結果

12 機関の LC/MS/MS(SRM)測定による試験結果(真度)を表 2-2(EDA 脱塩素処理水道水)および表 2-3(チオ硫酸ナトリウム脱塩素処理水道水)に示す。塩素酸、硝酸、臭素酸は水道水ブランク試料からもピークが検出されたため、ブランク試料のピーク面積が検量線の下限以上であれば濃度に換算した値を、下限よりも低ければピーク面積を差し引いて真度を算出した。なお、真度の目標(70~130%)を満たした項目に関しては、併行精度(10%)の目標を概ね満たしていたため、併行精度の結果は省略した。以下、各物質の試験結果について考察する。

- 塩素酸：いずれの脱塩素処理剤を用いた場合も、全機関が基準値(0.6 mg/L)および基準値の 1/10 (0.06 mg/L) の添加濃度において目標を満たした。ただし、検量線の直線性があまり良好ではなく、0.6 mg/L を超える濃度までの検量線作成が困難であったため、濃度範囲の上限としては 0.6 mg/L が妥当と考えられる。
- 亜塩素酸：EDA で脱塩素処理した場合は、機関 B を除く全機関が目標値(0.6 mg/L)および目標値の 1/10 (0.06 mg/L) の添加濃度において目標を満たした(機関 B は検量線の直線性が悪かった)。一方、チオ硫酸ナトリウムで脱塩素処理した場合は、ほとんどの機関で真度が低い結果となった。チオ硫酸ナトリウムとの反応により、亜塩素

酸が分解したものと考えられる。

- 過塩素酸：いずれの脱塩素処理剤を用いた場合も、機関 G, L を除く 10 機関が目標値(0.02 mg/L)および目標値の 1/10(0.002 mg/L)の添加濃度において目標を満たした(機関 G, L は検量線の直線性が悪かった)。
- 硝酸：基準値(10 mg/L)が高く、基準値の 1/100(0.1 mg/L)においても感度は良好であったが、検出器が振り切れたり、検量線の直線性が悪かった機関が多く、良好な結果が得られなかった。なお、脱塩素処理剤による違いはみられなかった。
- 亜硝酸：基準値(0.04 mg/L)が低く感度が悪いいため、多くの機関で基準値の 1/10(0.004 mg/L)まで測定できなかった。基準値では半数の6機関が目標を満たした。なお、脱塩素処理剤による違いはみられなかった。
- 臭素酸：いずれの脱塩素処理剤を用いた場合も、大部分の機関が基準値(0.01 mg/L)および基準値の 1/10(0.001 mg/L)の添加濃度において目標を満たした(機関 D は臭素酸の測定条件の最適化が十分にできていなかったものと思われる)。

2.3.LC/MS(SIM)による試験結果

3 機関の LC/MS(SIM)測定による試験結果(真度)を表 2-4(左:EDA 脱塩素処理水道水, 右:チオ硫酸ナトリウム脱塩素処理水道水)に示す。LC/MS/MS(SRM)測定と同様の傾向が得られた。

D. 結論

1. 実試料を用いた GC-MS による水道水中農薬スクリーニング分析法の評価

構築したデータベースを実際の原水・浄水に適用させ、スクリーニング法の定性・定量精度の検証を行った。その結果、通知法と同等数の農薬を検出することができ、定量値の

一致度も高いことがわかった。

また、スクリーニング法で取得したデータを再解析することにより、データベースに登録されていない農薬類を同定・定量できることがわかった。このことより、スクリーニング法は検査法として簡便に農薬類を測定できるだけでなく、そのデータを追加解析することにより、未知の化学物質の存在状況を把握することにも利用できることが明らかとなった。

2. 陰イオン類の LC/MS/MS 分析法の開発

塩素酸、硝酸態窒素、亜硝酸態窒素(基準項目)、亜塩素酸(管理目標設定項目)、過塩素酸(要検討項目)の LC/MS/MS 一斉分析条件を確立した。

また、12 機関によるバリデーション試験の結果、塩素酸、亜塩素酸、過塩素酸については、臭素酸と同時分析が可能であることが示された。以上のことから、本分析法を塩素酸については告示法に、亜塩素酸については通知法に追加できると考えられる。ただし、これらの陰イオンの基準値・目標値は大きく異なるため、一斉分析を行う際には、検量線の濃度範囲や注入量を、測定機器に合わせて最適化する必要がある。

硝酸態窒素は基準値が高く、亜硝酸態窒素は基準値が低いいため、どちらかに合わせた分析条件を設定した場合、もう一方を同時に測定することが困難であることが分かった。

脱塩素処理剤に関しては、亜塩素酸以外 EDA とチオ硫酸ナトリウムのどちらを用いても試験結果に大きな差はみられなかったが、亜塩素酸に関してはチオ硫酸ナトリウムを添加した水道水では真度が低下したことから、亜塩素酸の分析には脱塩素処理に EDA を使用する必要があることが分かった。

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 小林憲弘, 宮本紫織, 佐藤学, 木下輝昭, 高木総吉, 岩間紀知, 粕谷智浩, 古川浩司, 堀池秀樹, 齊藤香織, 京野完, 高原玲華, 五十嵐良明: 液体クロマトグラフィータンデム質量分析による水道水中の 140 農薬の一斉分析法の妥当性評価. 水環境学会誌, 42(6), 247-258 (2019).
- 2) 小林憲弘: 水道水中の農薬分析法に関する研究動向. 水環境学会誌, 42(A)(11), 386-389 (2019).

2. 学会発表

- 1) 土屋裕子, 小林憲弘, 高木総吉, 五十嵐良明: 水道水中農薬の GCMS ターゲットスクリーニング分析法に用いる検量線の定量精度に関する検討. 第 28 回環境化学討論会 (2019.6.12 埼玉県さいたま市).
- 2) 小林憲弘, 土屋裕子, 高木総吉, 宮脇崇, 門上希和夫, 五十嵐良明: GCMS ターゲットスクリーニング分析法を用いた水道水・水道原水中農薬の実態調査とその定量精度の検証. 第 28 回環境化学討論会 (2019.6.13 埼玉県さいたま市).
- 3) 高木総吉, 小池真生子, 長谷川有紀, 安達史恵, 吉田仁, 小林憲弘, 山口進康: 水道水質における農薬類検査法としての GC-MS ターゲットスクリーニング分析法の有用性評価. 第 28 回環境化学討論会 (2019.6.13 埼玉県さいたま市).
- 4) 小林憲弘, 土屋裕子, 高木総吉, 五十嵐良明: GCMS ターゲットスクリーニング分析法による水道水・水道原水中農薬の実態調査とその分析精度の評価. 第 22 回日本水環境学会シンポジウム (2019.9.6 北海道札幌市).
- 5) 高木総吉: 水道原水・浄水試料における GCMS ターゲットスクリーニング分析法の定量精度について. 環境科学会 2019 年会 (2019.9.14 愛知県名古屋市).
- 6) 土屋裕子, 小林憲弘, 五十嵐良明: 水道水中の塩素酸・亜塩素酸・過塩素酸・臭素酸の LC/MS/MS 一斉分析法の開発. 環境科学会 2019 年会 (2019.9.13 愛知県名古屋市).
- 7) Norihiro Kobayashi, Yuko Tsuchiya, Sokichi Takagi, Yoshiaki Ikarashi: Application and quantitative accuracy evaluation of GC/MS target screening analytical method for agricultural chemicals in raw and ground water. SETAC North America 40th Annual Meeting (2019.11.4 Toronto, ON, Canada).
- 8) 高木総吉, 小池真生子, 長谷川有紀, 安達史恵, 吉田仁, 小林憲弘, 山口進康: ターゲットスクリーニング分析法を活用した未知農薬類の探索について. 令和元年度全国会議 (水道研究発表会) (2019.11.8 北海道函館市).
- 9) 高木総吉, 小池真生子, 長谷川有紀, 安達史恵, 吉田仁, 小林憲弘, 山口進康: 水質監視手法としての GC/MS ターゲットスクリーニング分析法の応用について. 第 56 回全国衛生化学技術協議会年会 (2019.12.6 広島県広島市).
- 10) 小林憲弘, 土屋裕子, 五十嵐良明: 水道水中の陰イオン類の LC/MS/MS 一斉分析法の開発と妥当性評価. 第 56 回全国衛生化学技術協議会年会 (2019.12.6 広島県広島市).
- 11) 土屋裕子, 小林憲弘, 高木総吉, 五十嵐良明: 水道原水・水道水中の農薬類の GCMS ターゲットスクリーニング分析法による実態調査と定量精度の評価. 第 56 回全国衛生化学技術協議会年会 (2019.12.5 広島県広島市).

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) 門上希和夫, 棚田京子, 種田克行, 中川勝博, 2004 . 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, 581-588 .
- 2) Kadokami, K., Tanada, K., Taneda, K. and Nakagawa, K., 2005. Novel gas chromatography-mass spectrometry database for automatic identification and quantification of micropollutants. J. Chromatogr. A, 1089, 219-226.
- 3) 厚生労働省, 2015 . 水質基準項目と基準値 (51 項目).
<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/topics/bukyoku/kenkou/suido/kijun/kijunchi.html>
- 4) 水質分析法分科会, 2017 . 平成 29 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 水道水質の評価及び管理にかんする総合研究 - 水質分析法に関する研究

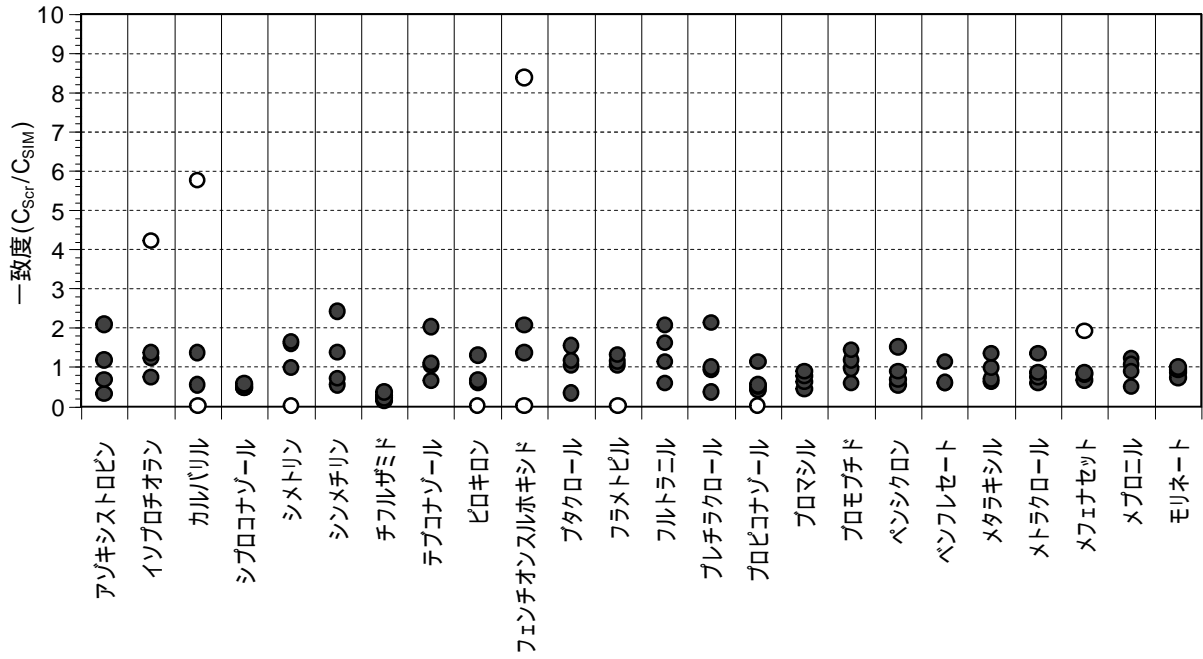


図1-1. 4台のGC-MSの検量線情報から算出された一致度（平均値）と通知法での一致度（平均値）との比較（○：有意差が認められた装置）

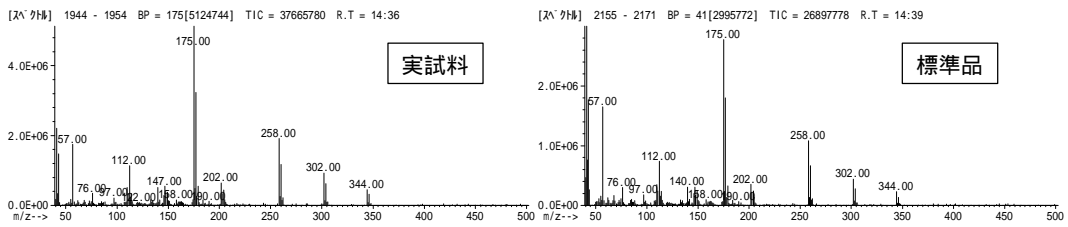


図1-2. 未知ピーク（左）とオキサジアゾン標準品（右）のマススペクトル

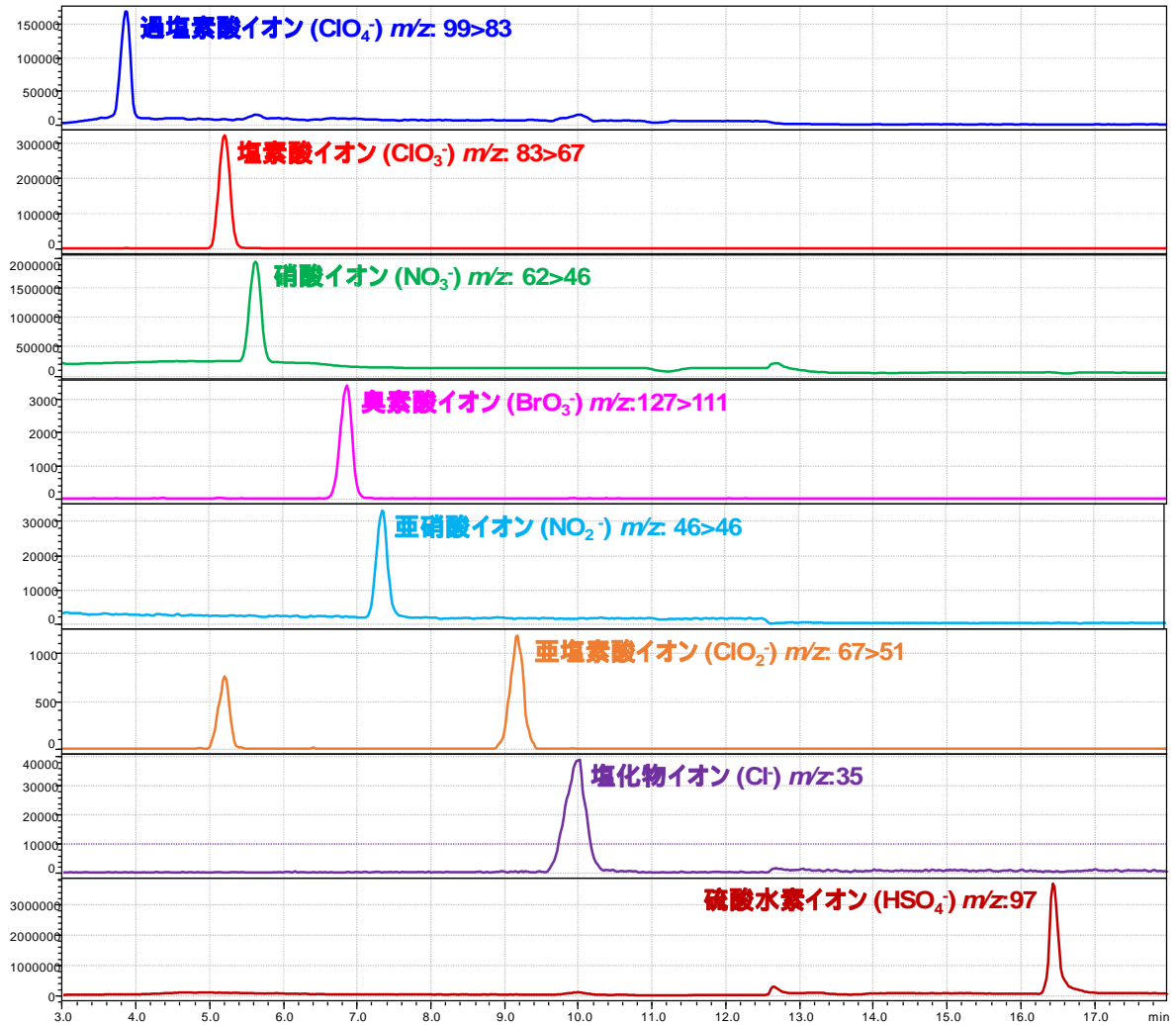


図2-1. 各陰イオンのLC/MS/MSクロマトグラム
 (国立衛研の水道水に塩素酸, 亜塩素酸, 過塩素酸, 硝酸, 亜硝酸, 臭素酸を添加)

表1-1. GC-MSスクリーニング分析対象農薬類の概要

種 類	農 薬 名		
殺菌剤	アゾキシストロピン	イソプロチオラン (IPT)	イプロジオン
	イプロジオン代謝産物	イプロベンホス (IBP)	エディフェンホス (EDDP)
	エトリジアゾール (エクロメゾール)	オリサストロピン	(5Z)-オリサストロピン
	キャプタン	クロロタロニル (TPN)	クロロネブ
	ジクロメジン	ジフェノコナゾール	シプロコナゾール
	シプロジニル	シメコナゾール	チフルザミド
	テトラコナゾール	テブコナゾール	トリシクラゾール
	トリフルミゾール	トルクロホスメチル	トルクロホスメチルオキシソ
	パクロボトラゾール	ヒドロキシイソキサゾール	ピロキロン
	フェノキサニル	(E)-フェリムゾン	(Z)-フェリムゾン
	フサライド	フラメトピル	フルアジナム
	フルスルファミド	フルトラニル	プロシミドン
	プロピコナゾール-1	プロベナゾール	ペンシクロン
	ボスカリド	メタラキシル	メトミノストロピン
	メブロニル		
殺虫剤	EPN	EPNオキシソ	アセタミプリド
	アセフェート	イソキサチオン	イソキサチオンオキシソ
	イソフェンホス	イソフェンホスオキシソ	イソプロカルブ (MIPC)
	エトフェンプロックス	カズサホス	カルバリル (NAC)
	カルボフラン	クロルピリホス	クロルピリホスオキシソ
	クロルピリホスメチル	シアノホス (CYAP)	ジクロフェンチオン (ECP)
	ジクロルボス (DDVP)	ジスルホトン (エチルチオメトン)	シフルトリン
	シベルメトリン	(E)-ジメチルピンホス	(Z)-ジメチルピンホス
	ジメトエート	シラフルオフエン	ダイアジノン
	ダイアジノンオキシソ	チアクロプリド	チアメトキサム
	チオシクラム	テトラクロルピンホス (CVMP)	トリクロルホン (DEP)
	トルフェンピラド	ピラクロホス	ピリダフェンチオン
	ピリプロキシフェン	ピリミホスメチル	ピレトリン
	フィプロニル	フェニトロチオン (MEP)	MEPオキシソ
	フェノブカルブ (BPMC)	フェンチオン (MPP)	MPPオキシソ

	MPPオキソンスルホキシド	MPPオキソンスルホン	MPPスルホキシド
	MPPスルホン	フェントエート (PAP)	フェンバレレート
	ブプロフェジン	プロチオホス	プロチオホスオキソン
	プロバホス	プロバルギット (BPPS)	プロボキスル (PHC)
	<i>cis</i> -ペルメトリン	<i>trans</i> -ペルメトリン	ベンダイオカルブ
	ホサロン	ホスチアゼート	マラオキソン
	マラチオン (マラソン)	メタアルデヒド	メタミドホス
	メチダチオン (DMTP)	モノクロトホス	
除草剤	MCPBエチル	アトラジン	アニコホス
	アメトリン	アラクロール	インダノファン
	エスプロカルブ	エトベンザニド	オキサジクロメホン
	カフェンストロール	キザロホップエチル	キノクラミン (ACN)
	クミルロン	クロメプロップ	クロルタルジメチル (TCTP)
	クロルニトロフェン (CNP)	CNP-アミノ体	シアナジン
	ジクロベニル (DBN)	ジチオピル	シハロホップチル
	シマジン (CAT)	ジメタメトリン	シメトリン
	ジメピベレート	シンメチリン	チオベンカルブ
	テニルクロール	テルブカルブ (MBPMC)	トリクロピル
	トリフルラリン	ナプロパミド	ピフェノックス
	ピペロホス	ピラゾキシフェン	ピリブチカルブ
	(<i>E</i>)-ピリミノバックメチル	(<i>Z</i>)-ピリミノバックメチル	ブタクロール
	ブタミホス	ブタミホスオキソン	プレチラクロール
	プロパニル (DCPA)	プロピザミド	プロマシル
	プロメトリン	プロモブチド	ベンタゾン
	ペンディメタリン	ペントキサゾン	ベンフルラリン (ベスロジン)
	ベンフレセート	メチルダイムロン	メトラクロール
	メトリブジン	メフェナセツト	モリネート
	植物成長調整剤	ウニコナゾールP	

表1-2. GC-MS測定条件

機 器	項 目	設 定
GC	カラム	DB-5MS (30 m × 0.25 mm i.d, 0.25 μm)
	カラム温度	50°C (1 min) - 20 °C/min - 200 °C (0 min) - 5 °C/min - 300 °C (1 min)
	カラム流量	40 cm/s (流量一定 or 流速一定) 内径0.25 mmのカラムの場合は1.2 mL/minに相当する
	注入口温度	250°C
	注入法	スプリットレス (パージオフ時間1 min)
	注入量	2 μL
MS	測定モード	Scanモード m/z 40 ~ 500の範囲でスキャンする
	インターフェイス温度	280°C
	イオン源温度	250°C

表 1-3. ターゲットスクリーニング法による原水および浄水中農薬類の検出状況

農薬名	原 水		農薬名	浄 水	
	検出数	検出率(%)		検出数	検出率(%)
シメトリン	9	47	プロモブチド	8	35
プロモブチド	9	47	チフルザミド	4	17
チフルザミド	8	42	ブタクロール	3	13
プロマシル	8	42	プレチラクロール	3	13
イソプロチオラン (IPT)	6	32	(Z)-ピリミノバックメチル	2	9
ブタクロール	6	32	メトラクロール	2	9
プレチラクロール	6	32	イソプロチオラン (IPT)	1	4
(Z)-ピリミノバックメチル	4	21	カルボフラン	1	4
ピロキロン	3	16	ベンフレセート	1	4
カルボフラン	2	11	メフェナセット	1	4
シアナジン	2	11			
ベンフレセート	2	11			
メトラクロール	2	11			
メフェナセット	2	11			
アゾキシストロビン	1	5			
イプロベンホス	1	5			
(5Z)-オリサストロビン	1	5			
カフェンストロール	1	5			
(E)-ピリミノバックメチル	1	5			
フィプロニル	1	5			
フェンチオンスルホキシド	1	5			
プロビザミド	1	5			
ベンシクロン	1	5			
モリネート	1	5			

表 1-4. 通知法による原水および浄水中農薬類の検出状況 (1/2)

農薬名	原 水		農薬名	浄 水	
	検出数	検出率(%)		検出数	検出率(%)
チフルザミド	11	58	プロモブチド	12	52
プロマシル	11	58	チフルザミド	4	17
プロモブチド	10	53	プレチラクロール	4	17
イソプロチオラン (IPT)	9	47	イソプロチオラン (IPT)	3	13
チアメトキサム	7	37	ブタクロール	3	13
プレチラクロール	7	37	シアナジン	2	9
シアナジン	6	32	チアメトキサム	2	9
シメトリン	6	32	フラメトピル	2	9
ピロキロン	6	32	メトラクロール	2	9
ブタクロール	6	32	アゾキシストロビン	1	4
メトラクロール	5	26	イソプロカルブ (MIPC)	1	4
オリサストロビン	4	21	カルボフラン	1	4
シプロコナゾール	4	21	シプロコナゾール	1	4
アゾキシストロビン	3	16	(E)-ピリミノバックメチル	1	4
インダノファン	3	16	(Z)-ピリミノバックメチル	1	4
(5Z)-オリサストロビン	3	16	ピロキロン	1	4
ジメタメトリン	3	16	フェノブカルブ (BPMC)	1	4
(E)-ピリミノバックメチル	3	16	フルトラニル	1	4
(Z)-ピリミノバックメチル	3	16	ベンシクロン	1	4
メフェナセット	3	16	ベンフレセート	1	4
カフェンストロール	2	11	メフェナセット	1	4
カルバリル (NAC)	2	11			
カルボフラン	2	11			
テブコナゾール	2	11			
フェニトロチオン (MEP)	2	11			
フェンチオンスルホキシド	2	11			
フラメトピル	2	11			
ベンシクロン	2	11			
ベンフレセート	2	11			
アトラジン	1	5			
イソプロカルブ (MIPC)	1	5			
イプロベンホス (IBP)	1	5			
ピリブチカルブ	1	5			
フィプロニル	1	5			

表 1-4. 通知法による原水および浄水中農薬類の検出状況 (1/2)

農薬名	原 水		農薬名	浄 水	
	検出数	検出率(%)		検出数	検出率(%)
フルトラニル	1	5			
プロピザミド	1	5			
マラソン (マラチオン)	1	5			
メタラキシル	1	5			
メトミノストロピン	1	5			
モリネート	1	5			

表 1-5. 検出濃度の一致度

農薬名	一致度		農薬名	一致度	
	最大	最小		最大	最小
アゾキシストロピン	2.5	0.6	フィプロニル	2.6	2.6
イソプロチオラン (IPT)	3.9	0.8	フェンチオンスルホキシド	7.5	7.5
イプロベンホス (IBP)	0.8	0.8	ブタクロール	1.6	0.5
(5Z)-オリサストロピン	17	17	フルトラニル	1.6	1.5
カフェンストール	3.9	3.9	プレチラクロール	1.8	0.6
カルボフラン	5.6	4.7	プロピコナゾール	0.5	0.5
シアナジン	5.2	4.0	プロピザミド	1.6	1.6
シプロコナゾール	0.6	0.5	プロマシル	8.6	1.5
シメトリン	4.2	1.9	プロモブチド	1.6	0.9
シンメチリン	0.8	0.8	ペンシクロン	1.5	1.0
チアメトキサム	3.7	3.7	ベンフレセート	1.7	1.0
チフルザミド	0.5	0.1	メタラキシル	1.2	0.9
テブコナゾール	1.0	0.8	メトラクロール	1.3	0.7
(E)-ピリミノバックメチル	0.3	0.3	メフェナセット	11.9	4.1
(Z)-ピリミノバックメチル	12.2	2.8	メプロニル	1.9	1.9
ピロキロン	1.9	1.0	モリネート	1.0	1.0

表 1-6. 検出濃度の一致度（検量線情報更新後）

農薬名	一致度		農薬名	一致度	
	最大	最小		最大	最小
アゾキシストロビン	2.9	1.1	フィプロニル	-	-
イソプロチオラン (IPT)	2.1	0.8	フェンチオンスルホキシド	2.1	2.1
イプロベンホス (IBP)	1.6	1.6	ブタクロール	2.0	0.9
(5Z)-オリサストロビン	1.6	1.6	フルトラニル	1.9	1.4
カフェンストロール	1.9	1.3	プレチラクロール	1.9	0.7
カルボフラン	1.5	1.2	プロピコナゾール	0.4	0.4
シアナジン	-	-	プロビザミド	1.2	1.2
シプロコナゾール	0.5	0.4	プロマシル	1.4	0.3
シメトリン	2.0	1.3	プロモブチド	1.6	0.7
シンメチリン	1.7	1.0	ベンシクロン	2.0	1.2
チアメトキサム	3.9	2.5	ベンフレセート	1.7	1.0
チフルザミド	0.5	0.1	メタラキシル	1.9	0.8
テブコナゾール	1.2	0.9	メトラクロール	1.7	1.1
(E)-ピリミノバックメチル	0.3	0.3	メフェナセット	2.8	1.5
(Z)-ピリミノバックメチル	0.5	0.3	メプロニル	1.3	1.2
ピロキロン	1.6	1.1	モリネート	1.0	1.0

表 2-1. 陰イオン類の LC/MS/MS 測定条件

機器	項目	設定値	
LC	分離カラム	Acclaim Trinity P1 (3.0 × 100 mm, 3 μm, サーマサイエンティフィック)	
	カラム温度	35°C	
	移動相流量	0.4 mL/min	
	移動相A	200 mM酢酸アンモニウム/0.5%酢酸溶液	
	移動相B	アセトニトリル	
	グラジエント条件	B: 95%(0 min) 90%(3 ~ 10 min) 5%(10.5 ~ 17.5 min) 95%(18 ~ 24 min) (18 min以降はカラム平衡化)	
	注入量	1 ~ 20 μL	
MS または MS/MS	イオン化法	ESI- (負イオン測定モード)	
	モニターイオン (<i>m/z</i>)	塩素酸	83>67, 83>51
		亜塩素酸	67>51, 67>35
		過塩素酸	99>83, 99>67
		硝酸	62>46, 62>16
		亜硝酸	46>46
		臭素酸	127>111, 127>95, 129>113, 129>97

表 2-2. SRM 測定による EDA 脱塩素処理水道水の添加回収試験結果（真度％）

項目	添加濃度 (mg/L)	機関A	機関B	機関C	機関D	機関E	機関F	機関G	機関H	機関I	機関J	機関K	機関L
塩素酸	0.06	78	108	123	82	93	93	93	111	98	80	101	102
	0.6	103	107	91	111	89	117	123	103	121	100	111	100
亜塩素酸	0.06	110	138	94	90	85	102	71	88	98	106	94	101
	0.6	108	46	102	87	85	101	78	88	104	100	87	97
過塩素酸	0.002	88	105	108	94	87	98	10	95	97	95	110	71
	0.02	99	105	94	110	74	96	152	105	111	116	104	97
硝酸	0.1	70	N.D.	99	N.D.	119	N.D.	74	293	108	88	N.D.	N.D.
	1	114	N.D.	82	N.D.	87	N.D.	98	202	111	119	N.D.	N.D.
亜硝酸	0.004	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	96	183	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	0.04	86	N.D.	N.D.	N.D.	81	99	100	94	126	N.D.	N.D.	N.D.
臭素酸	0.001	103	108	100	98	123	92	110	104	89	109	89	76
	0.01	107	87	111	110	114	95	129	97	100	104	104	90

表 2-3. SRM 測定によるチオ硫酸ナトリウム脱塩素処理水道水の添加回収試験結果（真度％）

項目	添加濃度 (mg/L)	機関A	機関B	機関C	機関D	機関E	機関F	機関G	機関H	機関I	機関J	機関K	機関L
塩素酸	0.06	77	107	83	119	89	93	84	109	107	80	87	87
	0.6	99	110	75	109	89	117	117	107	123	100	111	91
亜塩素酸	0.06	107	135	80	70	70	60	58	86	N.D.	87	55	62
	0.6	95	36	69	63	38	38	55	86	10	77	37	65
過塩素酸	0.002	83	110	92	77	112	114	21	91	97	102	105	56
	0.02	102	113	90	94	74	99	154	105	111	121	95	89
硝酸	0.1	56	N.D.	92	N.D.	107	N.D.	3	384	115	101	N.D.	N.D.
	1	109	N.D.	75	N.D.	92	N.D.	89	191	112	118	N.D.	N.D.
亜硝酸	0.004	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	97	55	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	0.04	95	N.D.	N.D.	N.D.	73	95	77	85	117	N.D.	N.D.	N.D.
臭素酸	0.001	98	93	107	N.D.	123	90	80	138	95	96	88	68
	0.01	104	83	105	11	113	94	124	103	105	88	104	82

表 2-4. SIM 測定による EDA（左）およびチオ硫酸ナトリウム（右）脱塩素処理水道水の添加回収試験結果（真度%）

項目	添加濃度 (mg/L)	機関A	機関F	機関J
塩素酸	0.06	80	94	84
	0.6	102	106	103
亜塩素酸	0.06	112	110	93
	0.6	109	96	99
過塩素酸	0.002	82	122	95
	0.02	97	101	114
硝酸	0.1	70	N.D.	88
	1	110	109	135
亜硝酸	0.004	N.D.	N.D.	N.D.
	0.04	109	105	N.D.
臭素酸	0.001	109	115	90
	0.01	106	97	106

項目	添加濃度 (mg/L)	機関A	機関F	機関J
塩素酸	0.06	80	95	83
	0.6	98	106	97
亜塩素酸	0.06	106	39	66
	0.6	97	28	74
過塩素酸	0.002	86	122	97
	0.02	105	101	115
硝酸	0.1	55	N.D.	40
	1	104	110	125
亜硝酸	0.004	N.D.	N.D.	N.D.
	0.04	115	91	N.D.
臭素酸	0.001	105	115	94
	0.01	108	86	94

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
なし							

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
Miura T, Gima A, Akiba M.	Detection of norovirus and rotavirus present in suspended and dissolved forms in drinking water sources.	Food and Environmental Virology	11(1)	9-19	2019
Tsuchioka H, Izumiyama S, Endo T, Wada T, Harada H, Hashimoto A.	Hydroxyapatite powder cake filtration reduces false positives associated with halophilic bacteria when evaluating Escherichia coli in seawater using Colilert-18	Journal of Microbiological Methods	159	69-74	2019
Nishikawa S, Matsui Y, Matsushita T and Shirasaki N.	Assessment of indirect inhalation exposure to formaldehyde evaporated from water	Regulatory Toxicology and Pharmacology	106	43-49	2019
小林憲弘, 宮本紫織, 佐藤学, 木下輝昭, 高木総吉, 岩間紀知, 粕谷智浩, 古川浩司, 堀池秀樹, 齊藤香織, 京野完, 高原玲華, 五十嵐良明	液体クロマトグラフィータンDEM質量分析による水道水中の140農薬の一斉分析法の妥当性評価	水環境学会誌	42(6)	247-258	2019
小林憲弘	水道水中の農薬分析法に関する研究動向	水環境学会誌	42(A)(11)	386-389	2019