

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2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3(2021)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2度 総括・分担研究報告書

研究代表者 松井 佳彦

令和3（2021）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 -----	29
秋葉道宏	
3. 微生物（寄生虫等）に関する研究 -----	37
泉山信司	
4. 化学物質・農薬に関する研究 -----	53
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 -----	67
伊藤偵彦，越後信哉，小坂浩司	
6. 臭気物質に関する研究 -----	79
松下拓，越後信哉，小坂浩司	
7. リスク評価に関する研究 -----	99
広瀬 明彦，松本真理子	
8. 水質分析法に関する研究 -----	117
小林 憲弘，高木 総吉	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	149

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

トウガラシ微斑ウイルス (PMMoV) は病原ウイルスよりも概ね高い濃度で原水に含まれ、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。一部の試料では、PMMoV よりもロタウイルス A (RVA) の濃度の方が高かったが、検出された RVA の多くは動物由来と考えられた。高い塩素処理耐性を有するコクサッキーウイルス B5 型の 9 log 不活化に必要な塩素処理の CT 値は 40 mg-Cl₂·min/L 程度であることがわかった。一方で、ウイルス種内の遊離塩素耐性のばらつきを考量した不活化率評価の必要性も示唆された。従属栄養細菌数増加の傾向は浄水処理水によって異なった。残留塩素 CT 値が小さい試料を中心にレジオネラ属菌が検出されたが、自由生活性アメーバ内の再増殖は明確に確認できなかった。人為汚染が考えにくい水道原水におけるジアルジアの顕微鏡検査結果から、遺伝子検査から浄水対策までの一連の流れをまとめた。

農薬の実態調査の傾向はこれまでと大きな違いは見られなかったが、イブフェンカルバゾン は浄水でも比較的高濃度、頻度で検出され、Σ 値への寄与も大きいことから分類の見直しが必要と考えられた。メチダチオンは塩素処理でオキソン体が生成され、毒性を誘発したことからオキソン体も測定対象とすることが提言された。23 浄水場での PFASs (有機フッ素化合物) の実態調査の結果、原水からは 18 種中 9 種、浄水からは 21 種中 9 種が検出された。パーフルオロオクタン酸 (PFOA) とパーフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) の合計は 50 ng/L を超えることはなかった。

消毒副生成物ハロアセトアミド (HAcAms) は水温が高く経過時間が長い場合送水過程で生成量が増す可能性がある。浄水中の HAcAms の THMs に対する濃度は最大でも 1 割程度と見積もられた。1,3,5-トリヒドロキシベンゼンは粉炭を注入することにより大幅に低減できること等、浄水処理対応困難物質の処理性について検討・整理した。オゾン処理により生成した Bromo-DMP (3,5-ジメチルピラゾール) は GAC 処理で除去される。パラベン類とその 1 塩素化物、2 塩素化物の定量方法を確立した。多摩川での実態調査で p-安息香酸 n-プロピル (PHMA-nP) は比較的高い値で検出された。有機物指標 3 項目とトリハロメタン生成能の相関関係はオゾン処理、BAC 処理と処理工程が進むにつれ弱くなる傾向にあった。THM 生成能を蛍光強度と電気伝導度を用いて予測するモデル式の作成手法を整理した。送配水中のジクロロ酢酸が減少する現象を確認した。いくつかの未規制副生成物については、現行の基準項目がマーカーとして使える可能性を示した。

簡便に数値化できる全揮発性窒素 (TPN) を臭気の指標として利用できる可能性が示唆された。原水の塩素処理水よりカルキ臭に大きく寄与している臭気物質候補を得た。珪藻類に由来する浄水の臭気異常の原因物質や発生機構をにおい嗅ぎ-GC/MS を用いて検討した。アンモニアでは二段階塩素処理によるカルキ臭の低減効果が認められたが、アミン類では効果が限定的であった。アミン類の GC/MS 法による測定方法を確立し、原水・浄水からそれらを検出した。

ジクロロメタンと四塩化炭素の間接暴露を推定し、現行の水道水質基準値濃度の水道水の利用でTDIの超過が生じる可能性は低いことが分かった。水道水中の目標値が設定されていない要検討項目に対する毒性情報を収集し6項目について水道水中目標値を試算した。1,3-ブタジエン、ヒドラジン、ブロモクロロ酢酸、ブロモジクロロ酢酸はそれぞれ0.025, 0.005, 0.01, 0.01 mg/Lとなった。また、国内外で関心の高い有害物質として、PFOA及びPFOSの目標値試算に向け、PBPKモデル適用方法に対する情報収集整理を行った。

水質分析法に関しては、これまでに検討した日本電子、島津製作所の2社に加え、アジレント・テクノロジー社のガスクロマトグラフ-質量分析計(GC-MS)を用いてデータベースを構築した。176種中170種でマススペクトルイオンが検出され、その内144種は既報2社と同じイオンであった。さらにスクリーニング分析法の異なる機関でバリデーション試験を実施し、機関による定性・定量結果の違いについて解析した。液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析計(LC-QTOFMS)を用いたスクリーニング分析法開発のため、データベースの構築を行い、実試料に適用し、対象農薬類リスト掲載農薬類以外の農薬類を検出した。

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	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

研究分担者	所属機関	職名
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	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、次の5つの研究タスクを実施した。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) の濃度変動調査。2) 環境水中のロタウイルス A (RVA) 遺伝子型解析のための nested PCR アッセイの開発。3) 実浄水場の UF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性評価。4) 塩素処理における病原ウイルスの不活化特性評価。5) ウイルス種内の遊離塩素耐性分布幅を考慮した不活化モデルの構築。

微生物(細菌・寄生虫等)：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、今年度は、水道システムの細菌汚染問題、特にレジオネラ汚染とその指標性の検討として取り上げられた従属栄養細菌の測定に関する調査を行うこととした。また、ジアルジアの顕微鏡検査結果を遺伝子検査結果で補い、浄水対策につながった例をまとめることとした。

化学物質・農薬：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、農薬類の検査体制について、水道統計を用いた解析、アンケート調査を行った。有機リン系農薬について、代謝を考慮した場合としない場合のコリンエステラーゼ (ChE) 活性阻害試験を行い、毒性に寄与する分解物の特定を試みた。農薬類以外の化学物質として、有機フッ素化合物 (PFASs) を対象に、浄水場での実態調査を行った。

消毒副生成物：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、ハロベンゾキノロン類 (HBQs)、ハロ酢酸、トリハロメタン等を対象に、生成実態・特性、分析技術、低減策について調査を行った。あわせて、現行の基準項目が未規制の消毒副生成物のマーカーとして利用できるか検討を行った。

臭気物質：水道水を試料として全揮発性窒素化合物 (以下 TPN : Total Purgeable Nitrogen) と残留塩素を含む臭気強度 (以下 TON) の関係、TPN と TON (三点比較) の関係について調査を実施した。昨年の成果を踏まえて、GC クロマトグラムの詳細解析によるカルキ臭に大きく寄与する臭気の同定を試みた。におい嗅ぎ-GC/MS を活用し、珪藻類増殖時の浄水異臭物質の特定を試みた。アンモニアを含む種々の

含窒素化合物を対象に、二段階塩素処理によるカルキ臭抑制効果と Br- の共存影響について、TON, TPN, NCl₃ の視点から評価した。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。

リスク評価管理：間接暴露を考慮したジクロロメタンと四塩化炭素の評価を行う。目標値が設定されていない要検討項目に対する毒性情報を収集し、評価値導出に十分な毒性情報が得られた 6 項目程度について水道水中目標値の算出を試みる。国内外で関心の高い物質として、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) をとりあげ、次年度に目標値の算出を試みるため、PBPK モデル適用方法に対する情報整理を行うこととした。

水質分析法：昨年度までに、2 社 (日本電子および島津製作所) の GC-MS を用いて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。今年度は上記の 2 社に匹敵するシェアを占めているアジレント・テクノロジー社の GC-MS を用いて、176 種の農薬のデータベースを構築した。さらに、異なる機関・検査員で、スクリーニング分析法のバリデーション試験を実施し、同一のデータベースを用いた場合の、機関による定性・定量結果の違いについて解析した。また、液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析計 (LC-QTOFMS) を用いたスクリーニング分析法を開発するため、データベースの構築を行い、データベースの実試料への適用を試みた。

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 もの水道事業者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 5 名)、微生物 (細菌

) 分科会 (研究分担者 1 名, 研究協力者 3 名), 微生物 (寄生虫等) 分科会 (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 3 名, 研究協力者 18 名), 消毒副生成物分科会 (研究分担者 3 名, 研究協力者 11 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 10 名), 水質分析分科会 (研究分担者 2 名, 研究協力者 29 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)

表流水中のウイルスの存在形態に関する情報も収集しながら, 平成 30 年度から継続して国内 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 (RVA) 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。3 年間に渡る実態調査の結果, ノロウイルス GII が陽性だったすべての試料では, PMMoV も陽性であり, かつ PMMoV 濃度が高かった (図 1 左)。PMMoV は, ほとんどの試料において RVA よりも濃度が高かったが, 一部の水源では, RVA の濃度の方がわずかに高かった (図 1 右)。そ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, 検出された RVA の多くは動物由来と考えられた。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。

RVA の遺伝子型特定領域 (VP7, VP6, VP4) を高感度に増幅する nested PCR アッセイを開発した。RVA 濃度が低い原水試料でも増幅が確認され, リアルタイム RT-PCR と同程度の感度だった。アンプリコンを次世代シーケンサーを用いて解析した結果, ワクチン株である RotaTeq に由来する配列も含め, ヒトおよび動物 (ウシ, ブタ) に由来する複数の遺伝子型が検出され, それらが経時的に変化することが示された。本手法を PMMoV よりも RVA の濃度が高かった水道原水試料に適用することで, 水源における RVA 汚染実態の理解が進み,

PMMoV の有用性がさらに示されることが期待される。

浄水場 C において, UF 膜ろ過処理による PMMoV の PCR 法にて評価した除去率は 1.7→2.6 log であり, 定量下限値以下であった試料を除いた除去率の平均値は 1.9 log であった。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であったことから, PMMoV が UF 膜ろ過処理により 2 log 程度除去される浄水場 C においては, 水系感染症ウイルスも同程度除去されるものと推察された。

ウイルス濃縮法を組み合わせた大容量の塩素処理実験を実施し, 高い塩素処理耐性を有するコクサッキーウイルス B5 型の 9 log 不活化に必要な塩素処理の CT 値は 40 mg-Cl₂-min/L 程度であることが明らかとなった (図 2)。本研究でこれまでに対象とした浄水場 A, B, C においては, 塩素消毒として配水池出口に至るまでに少なくとも 840-1,300 mg-Cl₂-min/L の CT 値が確保されていることから, 塩素処理により病原ウイルスの 9 log 不活化は達成されていると判断された。また, 浄水処理全体で 10 log の病原ウイルス低減が達成されているものと判断された。

塩素処理済み 2 次処理水が流量の多くを占める多摩川, 相模川にて F 特異 RNA フェージ GI 型株を単離し, 遊離塩素消毒試験を実施した。その結果, (i) 多摩川では, 野生株 18 株中の 13 株, 相模川では 17 株すべてで塩素耐性は, 実験室株 MS2 と比べて有意に高かった。GI 型野生株の 86% で, 実験室株のバクテリオフェージの MS2 や fr よりも塩素耐性が高かった。同種内の遊離塩素耐性のばらつきを考慮した不活化モデルを作成した。また, (ii) 実験室株 MS2 の 8 log 不活化が期待できる CT 値で, 多摩川, 相模川に存在する GI 型フェージを消毒した場合, 全体不活化率は, それぞれ 5.6 log, 5.3 log にとどまることが推測された。したがって, 実験室株 MS2 に基づく不活化効果の推定では, 実際の不活化率を 2.4-2.7 log 程度過大評価する可能性がある。一般に, ウイルスの消毒効果を議論する際に実験室株を用いた実験の知見が用いられることを考慮すると, 実際の環境サンプルの不活化率の推測の際には, 種内の遊離塩素耐性のばらつきに関する情報を算入すべきである。

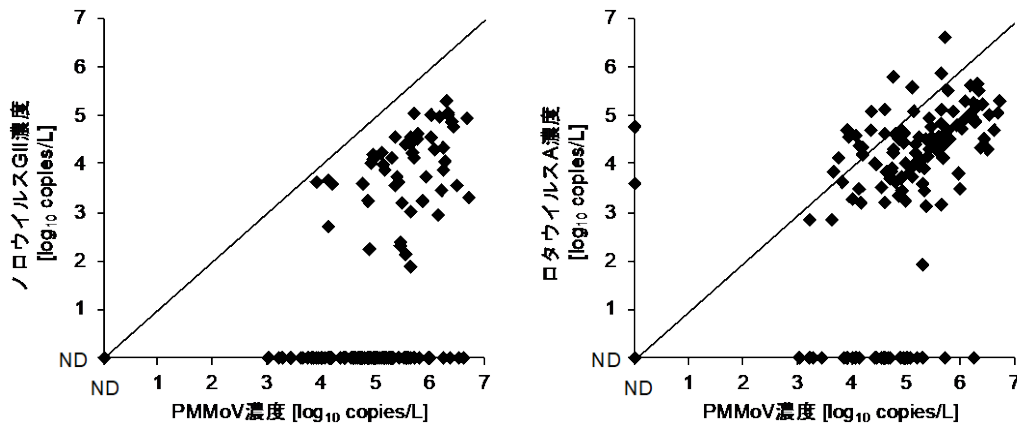


図1. 水道原水中の病原ウイルスと PMMoV 濃度の関係. 2018年1月から2021年1月に採水された合計147試料のデータをプロットした.

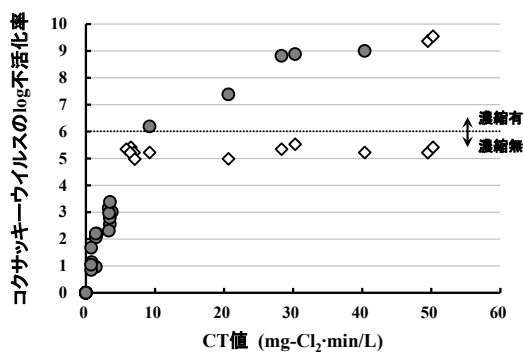


図4. 塩素処理におけるコクサッキーウイルスの不活化特性. 白抜きは定量下限値以下であったため、定量下限値をプロットした.

(1-2) 微生物 (細菌・寄生虫等)

オゾン処理, 活性炭処理, 急速ろ過処理を対象とし, 各処理水での従属栄養細菌数を測定した結果, 培養時間の延長 (1週間から2週間) に伴う従属栄養細菌数増加の傾向は処理水ごとに異なった. 特に, 非常に増殖が遅い細菌が2週間の培養によりコロニーとして出現することもあった. 従属栄養細菌の挙動を正確に把握するためには, 培養時間, そして培養温度も含め検討が必要であると考えられる.

残留塩素消失過程を模擬した微生物再増殖試験を実施した結果, 塩素処理なしの試料のみならず試験期間中の遊離塩素濃度変化から計算された Ct 値が小さかった試料の半数においてもレジオネラ属菌が高濃度で検出された. しかし, 自由生活性アメーバ (FLA) 内は一部の試料のみで検出され, FLA 内におけるレジオネ

ラ属菌の再増殖は再現できなかった可能性がある. FLA 存在下における HPC およびレジオネラ属菌の再増殖評価が必要である.

残留塩素による生物膜の不活化, 水流による生物膜の剥離, 剥離したレジオネラの不活化といった過程をラボスケール試験により把握し, 給水管内のレジオネラ存在量と残留塩素濃度から水道水中のレジオネラ濃度を推定可能な数理モデルを構築し, シャワー水中のレジオネラの濃度変化パターンを推移した.

ジアルジアの検知から浄水場対策の例は以下のようなものである. 上流に民家や家畜施設がなく人為汚染が考えにくい水道原水の定期検査で, 特異蛍光抗体で染色されるジアルジア大の粒子が観察された. 核の配置が従来の鑑別基準から外れていたため, ジアルジアとは判断されていなかった. 遺伝子検査で RT-PCR が陽性となり, げっ歯類の *Giardia microti* の塩基配列が得られた. 文献的には, そのような核の配置が報告されていたので, 矛盾はなかった. 取水地点より上流を調査し, 河川水と野生のネズミの糞便から同じ塩基配列が検出された. *G. muris* の塩基配列も検出され, 従来の鑑別基準にある核の配置をしたジアルジアが観察されることもあった. 過去の冷凍試料からクリプトスポリジウムの塩基配列も検出された. 耐塩素性病原微生物の排出源が想定外に明らかとなったことから, ろ過池の濁度の監視や洗浄の徹底と, 紫外線処理の導入を進めた. 遺伝子検査を併用して顕微鏡検査の結果を補い, 野生動物由来の糞便汚染とジアルジアの流行を検知し, 浄水場の対策に反映された.

(2) 化学物質・農薬

(2-1) 令和元農薬年度（平成 30 年 10 月～令和元年 9 月）の農薬製剤出荷量は約 22.2 万 t で昨年と比べ 0.6%減少した。農薬の用途別農薬製剤出荷量は殺虫剤が 71727t, 殺菌剤が 39741t, 殺虫殺菌剤が 16130t, 除草剤が 81570t であった。登録農薬原体数は令和元年 9 月現在 596 種類で、登録農薬原体数は平成 16 農薬年度以降、増加が続いている。登録農薬製剤数は令和元年 9 月現在、殺虫剤が 957, 殺菌剤が 794, 殺虫殺菌剤が 417, 除草剤が 1418 で、合計は 3859 (前年比 423 件減) と大きく減少していた。個別の農薬原体について見ると令和元農薬年度出荷量が 100 t 以上あった農薬原体は 60 原体であり、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 48 種であった。

(2-2) 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。研究班による農薬類の令和 2 年度実態調査において、原水では 115 種、浄水では 31 種の農薬が検出された（表 1）。用途別に見ると、原水、浄水ともに除草剤が最も多かった。対象農薬リスト掲載農薬は、原水では 64 種、浄水では 22 種が検出された。Σ 値の最大値は、原水が 3.16、浄水が 0.15 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、原水では 13 種の農薬が 1 μg/L を超過し、浄水ではプロモブチドが 2.0 μg/L と高い値を示した。検出率の場合、原水、浄水では、それぞれ 26、6 種の農薬で 10%を超えていた。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、テフリトリオンが高い値を示した。浄水では、10 農薬の最大個別農薬評価値が 0.01 以上であった。

本年度の実態調査の傾向は、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浄水でも比較的高い濃度、頻度で検出され、Σ 値への寄与も大きいことから分類の見直しが必要と考えられた。メタゾスルフロンのように一部の事業体で一定の濃度、頻度で検出されている農薬は、全国の実態を把握する必要があると考えられた。

表 1 令和 2 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	246	243	
検出農薬	115	31	
用途	除草剤	57	17
	殺虫剤	27	3
	殺菌剤	21	8
	分解物	10	2
	対象	64	22
分類	要検討	9	1
	その他	18	2
	除外	6	1
	未分類	8	2
検出濃度	プロモブチド 6.70	プロモブチド 2.00	
個別農薬評価値	テフリトリオン 2.25	クロルニトロフェン (CNP) 0.06	
検出率 (%)	メタゾスルフロン 69.2	テフリトリオン代謝物 61.5	
検出指標値	3.16	0.15	

(2-3) 水道事業の農薬類の測定実施の有無は、2009 年度と 2017 年度で大きくは変わらなかった。農薬類の検査体制は、測定回数が少ない方が委託の割合が高く、測定回数が多い場合に自己検査の割合が増える傾向にあった。測定農薬類数と 1 試料あたりの検査料金には、必ずしも関連は認められなかった。

(2-4) 昨年度構築した代謝を考慮した ChE 活性阻害試験（間接毒性）と、従来の代謝を考慮しない ChE 活性阻害試験（直接毒性）を組み合わせ、2つの有機リン系農薬（ダイアジノンとメチダチオン）の塩素処理に伴う毒性変動と、毒性に寄与する物質を調べた。ダイアジノンについては、代謝の有無に関わらず、塩素処理試料の ChE 活性阻害性は、原体とオキソン体のみで説明ができることが分かった。すなわち、現行の水質管理目標設定項目におけるダイアジノンの取り扱い（原体とオキソン体が対象）は妥当であり、その他の分解を測定項目に組み込む必要はないと提言された。一方で、メチダチオンは直接毒性を誘発しなかったが、間接毒性は誘発した。さらに、塩素処理でオキソン体が生成され、直接・間接毒性ともに誘発したことから、メチダチオンはオキソン体も測定対象とすることが提言された。塩素処理前後のメチダチオン水溶液が誘発する直接毒性も間接毒性も、試料中のメチダチオンとオキソン体のみ説明することができたことから、オキソン体以外の分解物は毒性にほとんど寄与しないことが分かった。

(2-5) 23 浄水場での PFASs (有機フッ素化合物：パーフルオロアルキル化合物およびポリフルオロアルキル化合物) の実態調査の結果、原水からは 18 種中 9 種が検出され、浄水からは 21 種中 9 種が検出された。ペルフルオロブタン酸

PFBA, ペルフルオロペンタン酸 PFPeA, ペルフルオロヘキサン酸 PFHxA, ペルフルオロオクタン酸 PFOA の 4 種は原水あるいは浄水での検出率が 50%以上であった。原水, 浄水ともに PFOA の濃度が最も高かった(それぞれ 39.6, 14.6 ng/L)。しかし, PFOA とペルフルオロオクタンスルホン酸 PFOS の合計は, 最大値は原水, 浄水でそれぞれ 41.5, 14.6 ng/L で, 目標値 (50 ng/L) を超える試料は無かった。

(3) 消毒副生成物

(3-1) ハロアセトアミド (HAcAms) の送水過程での増加要因を把握するため, 浄水後の追加塩素の注入率 0, 0.5, 1 mg/L で変化させ生成率を調べた。追加塩素により HAcAms がやや増加し, さらに経過時間が長いほどより増加した。また, 水温を 10, 20, 30 °C で調査した結果, 高水温ほど生成量が増加した。以上より実際の送水過程では, トリハロメタン等の消毒副生成物と同様に, 夏季の水温が高く, 経過時間が長い地点で生成が増すと考えられた。また, 浄水処理における HAcAms 対策としては, 適切に粒状活性炭の再生を行うなどトリハロメタン類 (THMs) と同様に高水温期には処理過程で十分に有機物を除去することが重要であると考えられた。なお, 浄水中の HAcAms 濃度は最大でも THMs 濃度の 1 割程度であると見積もられた。

(3-2) p-芳香族アミン類からの DCBQ (2-クロロ-1,4-ベンゾキノン), QC (p-キノン-4-クロロキノンイミド) の生成率を検討した。QC は, 16 種の全てのアミン類から生成した (0.2~90%)。DCBQ は 12 種から生成し, アニリン (AN) と -CH₂OH, -COOH, -C(O)-NR を持つアミン類の生成率が高く, -OH, -O-CH₃, -NH-C(O)-CH₃ を持つアミン類からは生成せず, 総じて生成率も低めであった (0.02~8.1%)。QC は p-芳香族アミン類由来の主な消毒副生成物であると考えられた。

(3-3) 浄水処理対応困難物質である 1,3,5-トリヒドロキシベンゼン (1,3,5-THB) は, 凝集沈澱処理において PAC の増量や pH の制御を行ってもクロロホルム生成能, トリクロロ酢酸生成能を低減することは困難であったが, 粉炭を注入することにより大幅に低減できた。ただし, 弱塩素を注入した場合, 粉炭による処理性が低下することがわかった。ADC (アセトンジカルボン酸) は凝集沈澱処理において PAC 注入率を増やし, pH を低く制御することでクロロホルム生成能, ジクロロ酢酸生成能は低減できた。

粉炭および弱塩素の注入による処理性は高くなかった。アセチルアセトン (AA) は弱塩素注入の有無に関わらず, 粉炭により低減可能であった。

(3-4) 平成 27 年度から令和元年度までの浄水場浄水及び給水の塩素酸の検出状況を評価した。大規模浄水場系では最大でも 0.13 mg/L 以下であった。しかし, 小規模浄水系では, 0.20 mg/L を超えた箇所が 1, 2 箇所あり, 最大値は 0.40 mg/L を超えることもあった。小規模浄水所においては, 次亜塩素酸ナトリウムの貯留期間の管理や, 貯留槽設置室の温度管理等をより適切に行う必要があるものと考えられた。

(3-5) 3,5-ジメチルピラゾール (DMP) 由来の生成物 Chloro-DMP 及び Bromo-DMP の臭気閾値は, それぞれ 40, 10 µg/L であった。Bromo-DMP 塩素反応物はパネラー半数以上が 0.03 µg/L で臭気を検知した。これらすべては薬品様臭であった。DMP のオゾン処理により生成した Bromo-DMP は, 砂ろ過処理では除去されず, 後オゾン処理では低減可能であるが, DMP の流入濃度及び臭化物イオン濃度によっては一部残存する可能性があること, ただし Bromo-DMP は GAC 処理は新炭及び経年炭ともに高い処理性を有していることが分かった。

(3-6) 珪藻の一種であるオーラコセイラの塩素処理により, 薬品臭を有する副生成物が生成することを確認した。

(3-7) パラベン類とその 1 塩素化物, 2 塩素化物の定量方法を確立し, 多摩川での実態調査を実施した。パラベン的一种である p-安息香酸 n-プロピル (PHMA-nP) は比較的高い値で検出され, 消毒副生成物として塩素化パラベン類生成の可能性が示唆された。

(3-8) トリハロメタンやハロ酢酸について, 有機物指標 3 項目とトリハロメタン生成能の相関関係はオゾン処理, BAC 処理と処理工程が進むにつれ弱くなる傾向にあった。THM 生成能予測について, 蛍光強度と電気伝導度に基づいたモデル式を作成する手法を整理した。送配水中のジクロロ酢酸が減少する現象を確認した。

(3-9) マンガンイオンが消毒副生成物に与える影響を調査した。マンガンイオンはクエン酸と塩素の反応を促進させるだけでなく, 反応に直接的に関与し, 反応機構そのものを大きく変えるものであることが示された。

(3-10) 消毒副生成物基準項目を用いた未規制項目の予測可能性についてまとめた (表 1)。解析にあたってはシステムティックレビュー

の方法を用いて過去 20 年間の文献から 40 報を抽出した。ハロアルデヒド、ハロベンゾキノンについては情報が限られているが、他の物質についてはトリハロメタン等の現行の基準項目が大まかな目安、つまり少なくとも図 1 の Type2 の関係にあり、マーカーとして利用可能であると考えられた。

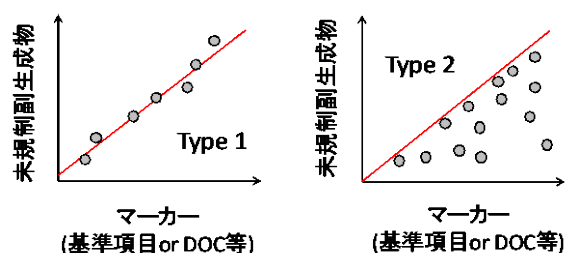


図1 未規制副生成物の管理に利用可能な関係性の区分

表 1 トリハロメタンやハロ酢酸による未規制副生成物の予測可能性に関するまとめ

副生成物		代表文献
ハロアセトニトリル	Type 2 (10-20%)	Bond et al., 2011
ハロアセトアミド	おそらく Type 1 (10%)	Krasner et al., 2006
ハロニトロメタン	おそらく Type 1 (数 %)	Glosan et al., 2009
抱水クロラール	おそらく Type 1 (10%)	Kawamoto and Makihata, 2004
ハロアルデヒド	情報は限定的	
ハロケトン	Type 2 (10%)	Krasner et al., 2006
ハロベンゾキノン	情報は限定的	

(4) 臭気物質

(4-1) 新潟市の水道水を試料として全揮発性窒素 (TPN) と臭気強度 (TON) の相関を調べたところ、簡便に数値化できる TPN を臭気の指標として利用できる可能性が示唆された。しかし、測定に時間を要することや、TPN 値が低くブランクとの差があまりないなどの問題もあることも分かった。今後、TON と TPN の関係性について引き続き調査していく中で、ページ時間や試料量を再検討する予定である。

(4-2) 6 名のパネラーにより、全国 8 ヶ所の浄水場原水の塩素処理水が有するカルキ臭を GC/Olfactometry (GC/O) を用いて分析したところ、ほとんどの塩素処理水で感知され、かつ全体での感知頻度が 25% を越える臭気が 2 つあり、これらの臭気がカルキ臭に大きく寄与していると考えられた。GC/MS 解析と標準品を用いた GC/O により、一方の臭気の原因物質の推定を行ったところ、この臭気はデカナル由来ではないと判断された。

(4-3) 珪藻類に由来する浄水の臭気異常の原因物質や発生機構を解明するため、臭気物質の特定を試みた。珪藻類 (キクロテラ) を培養し、次亜塩素酸ナトリウムを接触させた検水をおい嗅ぎ-GC/MS で測定したところ、不快な臭気の強い時間帯が存在し、トリオキサンやベン

ズアルデヒドが確認された。

(4-4) アンモニアと 3 種のアミン類 (シクロヘキシルアミン, アラニン, プロリン) を対象に、二段階塩素処理によるカルキ臭 (TON で評価) の低減効果について検討した。アンモニアを対象とした場合、二段階塩素処理により、 NCl_3 , TON の低減効果は認められた。一方、3 種のアミン類 (シクロヘキシルアミン, アラニン, プロリン) については、二段階塩素処理による NCl_3 , TON の低減効果は認められなかった。Br が共存する場合、アンモニア、3 種のアミン類のいずれも NCl_3 の生成は低下した。Br 濃度が $100 \mu\text{g/L}$ の場合、TON は Br が共存しない場合とほとんど変わらなかったことから、カルキ臭を有する臭素化物が生成したと推察された。アンモニアについて、共存する Br 濃度が $200 \mu\text{g/L}$ とさらに増加すると、TON は低下した。アンモニアを対象とした場合、Br 濃度が $100, 200 \mu\text{g/L}$ のいずれでも、Br 共存下における二段階塩素処理による TON, NCl_3 の低減効果は示された。

(4-5) 原水・浄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、分析対象アミン類 10 種について誘導体化 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。しかし、今回の分

析条件では、エチルアミンとジメチルアミン、*t*-ブチルアミンとジエチルアミンについてピークが重なるため分別定量ができなかった。またこの分析条件で原水・浄水のアミン類を分析したところ、浄水からメチルアミン、ジメチルアミン・エチルアミンが、原水からジメチルアミン・エチルアミンが検出された。

(5) リスク評価管理

(5-1) 入浴時などの間接暴露を考慮したジクロロメタンと四塩化炭素の水道水質基準値の評価をおこなった。同一潜在用量で比較すると、ジクロロメタンの吸入暴露と経皮暴露は経口暴露に対して共に 46%程度が、四塩化炭素では吸入暴露と経皮暴露のそれぞれが経口暴露に対して 55, 56%程度が肝臓に作用することが推定された。次いで、1-2. ジクロロメタンおよび四塩化炭素が基準値濃度、(それぞれ 0.002, 0.02 mg/L)である水道水を使用した場合の有効作用量の分布を推定した。ジクロロメタンについては TDI 6 µg/(kg day)の超過が生じる可能性は低く、基準値は十分に安全側にたった値であった。四塩化炭素についても TDI 0.71 µg/(kg day)超過の暴露シナリオは 7%と低かったが、今後、揮発性について精緻なデータを用いた暴露評価が期待される。

(5-2) 水道水中の目標値が設定されていない要検討項目に対する毒性情報を収集した結果、6

項目 (1,3-ブタジエン、アクリル酸、ヒドラジン、酢酸ビニル、ブロモクロロ酢酸、及びブロモジクロロ酢酸)について信頼性の高い毒性情報が得られた。これら 6 項目について水道水中目標値の試算を行うことが出来た。特に、1,3-ブタジエン、ヒドラジン、ブロモクロロ酢酸及びブロモジクロロ酢酸は、閾値のない発がん性物質と考えられ、水道水中目標値の試算結果が 0.025 mg/L, 0.005 mg/L, 0.01 mg/L 及び 0.01 mg/L と低い値となった。これらの項目については、浄水における存在について確認が必要であると考えられた。今回試算した水道水中目標値は、今後の水道水質基準等の逐次検討に貢献できるものと考えられた。

(5-3) 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) の目標値試算に向け、PBPK モデル適用方法に対する情報収集整理を行った。アメリカ合衆国環境保護庁 (US-EPA) の水道水評価値導出に用いた PBPK モデルの適用手法について情報整理を行った結果、評価値導出に対しては、動物実験の血中濃度の実測値とモデル推定値による乖離やヒト半減期の選択方針による不確実性があることが示唆された。ヒトの動態に関する情報は日々更新されており、今後は最新情報に注視して評価値の試算を検討する必要があると考えられた。

表3 評価値導出に係るキースタディ・エンドポイント及び水道水目標値試算結果

項目名	キースタディ・エンドポイント	POD		UF	評価値 (mg/kg/day)		目標値 (mg/L)
1,3-ブタジエン	ヒト疫学 白血病の過剰死亡	-		-	VSD 10 ⁻⁵	0.001	0.025
アクリル酸	ラット2世代飲水投与試験 F1及びF2の仔世代での体重 増加の抑制	NOAEL	53	100	TDI	0.53	1.3
ヒドラジン	ラット2年間飲水投与試験 肝細胞腺腫又は癌	BMDL ₁₀	2.13	-	VSD 10 ⁻⁵	2.13×10 ⁻⁴	0.005
酢酸ビニル	マウス104週間飲水投与試験 口腔扁平上皮癌	BMDL ₁₀	230	1,000	TDI	0.23	0.6
				-	VSD 10 ⁻⁵	0.023	0.6
ブロモクロロ酢酸	マウス2年間飲水投与試験 肝細胞癌種	BMDL ₁₀	3.27	-	VSD 10 ⁻⁵	3.27×10 ⁻⁴	0.01
ブロモジクロロ酢酸	ラット2年間飲水投与試験 悪性中皮腫	BMDL ₁₀	2.83	-	VSD 10 ⁻⁵	2.83×10 ⁻⁴	0.01

(6) 水質分析法

(6-1) GC-MS 水道水中農薬スクリーニング分析データベースの構築: 昨年までにデータベースを構築し検討を行ってきた日本電子、島津製作所の2社に加え、アジレント・テクノロジー社のガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-MS) を用いてデータベースを構築した。GC-MS データベースについて、176 種農薬類を対象とした GC-MS (アジレント・テクノロジー社製 8890/5977) を用いたスクリーニング分析の検討を行った。その結果、176 種中 170 種でマススペクトルイオンが検出され、既報の他メーカー (2 社) による各成分の定量イオンと比較を行ったところ、170 種中 144 種で同じイオンであった。今後は得られた情報のデータベースを用いて実試料へのスクリーニング分析法の適用を進める。

(6-2) GC-MS スクリーニング分析法のバリデーション試験: スクリーニング分析法を水質検査に実運用するためには、異なる機関・検査員で同じ評価ができるかどうか確認する必要がある。すなわち、定性の判断基準 (I/Q 比あるいはマススペクトルの一致度の基準)、定量の判断基準 (ピーク強度、S/N 比、定量下限) を統一する必要がある。そこで、スクリーニング分析法のバリデーション試験を実施し、同一のデータベースを用いた場合の、機関による定性・定量結果の違いについて解析した。機関による差 (傾向) がみられたが、大部分の機関の検出農薬は一致した。試料毎の検出農薬数の傾向 (中央値) は、機関 A (国立衛研) と一致した。今回のバリデーション試験で得られた知見を基に、今後はデータベースおよび保持時間予測手法の改良を行い、定性・定量精度の向上を図る。

(6-3) LC-QTOFMS による農薬類スクリーニング分析法のデータベース構築と実試料への適用: 液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析計 (LC-QTOFMS) を用いたスクリーニング分析法開発のため、データベースの構築を行った。水道水質検査対象の農薬類を中心に 222 種の農薬類について LC-QTOFMS を用いたスクリーニング分析法用のデータベースを構築することができた。次いで、構築したデータベースを実際の原水、浄水および水道水源河川水に適用させた。その結果、一度の分析で対象農薬リスト掲載農薬類だけでなく、それ以外の農薬類も多く検出することができた。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、後からデータベースに追加し

た農薬類も同定・定量できることがわかった。このことより、GC-MS を用いたスクリーニング分析法と同様に、LC-QTOFMS を用い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。

D. 結論

(1-1) 微生物 (ウイルス)

平成 30 年度から継続して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 (RVA) 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。3 年間に渡る実態調査の結果、PMMoV は病原ウイルスよりも概ね高い濃度で原水に含まれ、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。PMMoV はノロウイルス 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 も陽性だった。また、PMMoV は、ほとんどの試料において RVA よりも濃度が高かったが、一部の試料では RVA の濃度の方が高かった。そ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、検出された RVA の多くは動物由来と考えられた。RVA の遺伝子型を詳細に解析しヒト健康リスクを適切に評価することを目的として、RVA の遺伝子型特定領域を高感度に増幅し、次世代シーケンサーを用いて解析する手法を新たに開発した。開発した手法を都市・畜舎排水が含まれる原水試料に適用したところ、ヒトだけでなくウシやブタに由来する複数の遺伝子型が検出され、それらが経時的に変化することが示された。

UF 膜ろ過処理を実施している国内の浄水場における PMMoV の処理性を評価した。その結果、浄水場 C の UF 膜ろ過処理による PMMoV の除去率は 1.7→2.6 log であり、除去率の平均値は 1.9 log だった。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であったことから、実浄水場において PMMoV が 2 log 程度除去される場合には、水系感染症ウイルスも同程度除去されるものと推察された。

ウイルス濃縮法を組み合わせた大容量の塩素処理実験を実施し、高い塩素処理耐性を有するコクサッキーウイルス B5 型の 9 log 不活化に必要な塩素処理の CT 値は 40 mg-Cl₂-min/L 程

度であることを明らかにした。これまでに調査対象とした浄水場 A, B, C においては、配水池出口に至るまでに少なくとも 840-1,300 mg-Cl₂·min/L の CT 値が確保されていることから、塩素処理により病原ウイルスの 9 log 不活化は達成されていると判断された。

多摩川、相模川の F 特異 RNA 大腸菌ファージ GI 型の塩素耐性を評価し、同種内の遊離塩素耐性のばらつきを考慮した不活化モデルを作成した。GI 型野生株の 86% で、実験室株 MS2, fr よりも塩素耐性が高かった。また、MS2 の 8 log 不活化が期待できる CT 値では、GI 型野生株の全体不活化率が 5.3-5.6 log と算定された。環境水中のウイルスの消毒効果を推測する際は、種内の遊離塩素耐性のばらつきを算入した不活化モデルを採用すべきである。

(1-2) 微生物（細菌・寄生虫等）

従属栄養細菌数増加の傾向はオゾン処理、活性炭処理、急速ろ過処理間で異なる。残留塩素 Ct 値が小さい試料を中心にレジオネラ属菌が検出されたが、FLA 内の再増殖は明確に確認できなかった。給水管内のレジオネラ存在量と残留塩素濃度から水道水中のレジオネラ濃度を推定可能な数理モデルを構築した。人為汚染が考えにくい水道原水におけるジアルジアの顕微鏡検査結果から、遺伝子検査、浄水対策の一連の流れをまとめた。

(2) 化学物質・農薬

(2-1) 登録農薬原体数は令和元年 9 月現在 596 種類で、登録農薬原体数は平成 16 農薬年度以降、増加が続いている。登録農薬製剤数の合計は 3859（前年比 423 件減）と大きく減少していた。個別の農薬原体について見ると令和元農薬年度出荷量が 100t 以上あった農薬原体は 60 原体であった。

(2-2) 研究班による農薬類の実態調査において、原水では 115 種、浄水では 31 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かった。個別の農薬について見ると、最大検出濃度の場合、原水では 13 種の農薬が 1 µg/L を超過し、浄水ではブロモブチドが 2 µg/L と高い値を示した。検出率の場合、原水、浄水では、それぞれ 26, 6 種の農薬で 10% を超えていた。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、テフリトリオンが高い値を示した。

(2-3) 水道事業体の農薬類の測定実施の有無は、2009 年度と 2017 年度で大きくは変わらなかった。測定農薬類数と 1 試料あたりの検査料金には、必ずしも関連は認められなかった。

(2-4) メチダチオンは塩素処理でオキソン体が生成され、毒性を誘発したことからオキソン体も測定対象とすることが提言された。塩素処理前後のメチダチオン水溶液が誘発する毒性は、メチダチオンとオキソン体でのみ説明することができたことから、オキソン体以外の分解物は毒性にほとんど寄与しないことが分かった。

(2-5) 23 浄水場での PFASs (有機フッ素化合物: パーフルオロアルキル化合物およびポリフルオロアルキル化合物) の実態調査の結果、原水からは 18 種中 9 種が検出され、浄水からは 21 種中 9 種が検出された。原水、浄水ともに PFOA の濃度が最も高かった。PFOA と PFOS の合計は 50 ng/L を超えることはなかった。

(3) 消毒副生成物

(3-1) HAcAms は送水過程の追加塩素で増加し、さらに経過時間が長いほど、高水温ほど生成量が増加した。

(3-2) 浄水中の HAcAms の THMs に対する濃度は最大でも 1 割程度と見積もられた。1,3,5-THB は粉炭を注入することにより大幅に低減できた。ただし、弱塩素を注入した場合は処理性が低下する。凝集剤注入率を増加し、低 pH 制御することで、ADC からのクロロホルムとジクロロ酢酸生成能を低減できた。AA は弱塩素注入の有無に関わらず、粉炭により低減可能であった。

(3-3) 大規模浄水場に比べて小規模浄水所の方が塩素酸濃度が高い事例が見られた。Bromo-DMP は GAC で処理可能であり、後オゾン処理でも低減可能である。

(3-4) 珪藻の一種であるオーラコセイラは塩素処理により薬品臭を有する副生成物が生成する。

(3-5) パラベン類とその 1 塩素化物、2 塩素化物の定量方法を確立し、多摩川の実態調査で PHMA-nP は検出した。

(3-6) 有機物指標 3 項目と THM 生成能の相関関係は、オゾン処理、BAC 処理と処理工程が進むにつれ弱くなった。蛍光強度などによる THM 生成能予測モデル作成手法を整理した。送配水中のジクロロ酢酸が減少する現象を確認した。

(3-7) マンガンイオンはクエン酸と塩素の反応機構を大きく変える作用があることが示唆された。

(3-8) いくつかの未規制副生成物については、現行の基準項目がマーカーとして使える可能性がある。

(4) 臭気物質

(4-1) 全揮発性窒素 (TPN) を臭気の指標として利用するためには、測定時間と低 TPN 値の課題をさらに検討する必要があることが分かった。

(4-2) 全国 8 ヶ所の浄水場原水の塩素処理水の GC/Olfactometry (GC/O) 分析と GC/MS 解析より、臭気の原因物質としてデカナール由来の物質が推定された。

(4-3) 珪藻類に由来する浄水の臭気異常の原因物質として、珪藻類 (キクロテラ) の培養液よりトリオキサンやベンズアルデヒドが確認された。二段階塩素処理によるカルキ臭 (TON で評価) の低減効果について検討した。

(4-4) アンモニアを対象とした場合、二段階塩素処理により、 NCl_3 、TON の低減効果は認められた。一方、3 種のアミン類 (シクロヘキシルアミン、アラニン、プロリン) については、二段階塩素処理による NCl_3 、TON の低減効果は認められなかった。しかし、Br- が共存する場合、アンモニア、3 種のアミン類のいずれも NCl_3 の生成は低下した。

(4-5) 誘導体化 GC/MS によるアミン類 10 種が検出可能なことを確認し、浄水からメチルアミン、ジメチルアミン・エチルアミンが、原水からジメチルアミン・エチルアミンが検出された。

(5) リスク評価管理

(5-1) 入浴時などの間接暴露を考慮し、ジクロロメタンおよび四塩化炭素が基準値濃度である水道水を使用した場合の有効作用量の分布を推定した。ジクロロメタンについては TDI の超過が生じる可能性は低い。四塩化炭素についても TDI 超過の暴露シナリオは 7% と低かった。

(5-2) 水道水中の目標値が設定されていない要検討項目に対する毒性情報を収集した。1,3-ブタジエン、ヒドラジン、プロモクロロ酢酸及びプロモジクロロ酢酸は、閾値のない発がん性物質と考えられ、水道水中目標値の試算結果が 0.025 mg/L、0.005 mg/L、0.01 mg/L 及び 0.01 mg/L と低い値となった。

(5-3) 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) の目標値試算に向け、PBPK モデル適用方法に対する情報収集整理を行った。動物実験の血中濃度の実測値とモデル推定値による乖離やヒト半減期の選択方針による不確実性があることが示唆された。

(6) 水質分析法

(6-1) GC-MS 水道水中農薬スクリーニング分析データベースの構築: アジレント・テクノロジー

一社のガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-MS) を用いたスクリーニング分析の検討を行った。その結果、176 種中 170 種でマススペクトルイオンが検出され、既報の他メーカー (2 社) による各成分の定量イオンと比較を行ったところ、170 種中 144 種で同じイオンであった。

(6-2) GC-MS スクリーニング分析法のバリデーション試験: スクリーニング分析法のバリデーション試験を実施し、同一のデータベースを用いた場合の、機関による定性・定量結果の違いについて解析した。機関による差がみられたが、大部分の機関の検出農薬は一致した。

(6-3) LC-QTOFMS による農薬類スクリーニング分析法のデータベース構築と実試料への適用: 液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析計 (LC-QTOFMS) を用い、水道水質検査対象の農薬類を中心に 222 種の農薬類についてスクリーニング分析法用のデータベースを構築した。実際の原水、浄水および水道水源河川水から対象農薬リスト掲載農薬類だけでなく、それ以外の農薬類も多く検出された。また、取得したデータを再解析することにより、後からデータベースに追加した農薬類も同定・定量できることがわかった。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y. Koriki, S. Suitability of pepper mild mottle virus as a human enteric virus surrogate for assessing the efficacy of thermal or free-chlorine disinfection processes by using infectivity assays and enhanced viability PCR. *Water Research*, 186, 116409, 2020.

鳥居将太郎, 片山浩之. ウイルス種内の遊離塩素耐性分布幅が全体不活化率の推定に及ぼす影響. *土木学会論文集(G)*, 76, III_423-III_429, 2020.

Torii, S., Itamochi, M., Katayama, H. Inactivation kinetics of waterborne virus by ozone determined by a continuous quench flow system. *Water Research*, 186, 116291, 2020.

Canh, V. D., Furumai, H., Katayama, H. Effect of viral genome property on the efficiency of viability

(RT-)qPCR. 土木学会論文集 (G), 76, III_189-III_196, 2020.

Canh, V. D., Torii, S., Furumai, H., Katayama, H. Application of Capsid Integrity (RT-)qPCR to Assessing Occurrence of Intact Viruses in Surface Water and Tap Water in Japan. *Water Research*, 189, 116674, 2020.

大河内由美子, 泉山信司, 前川純子. 貯水槽水道で滞留した水道水からのレジオネラ属菌および関連微生物の検出状況, *日本防菌防黴学会誌*, 48(8), 377-382, 2020.

泉山信司. 最近の感染確率に基づく, 水道水からクリプトスポリジウムを除去・不活化する目標の再計算, *水道協会雑誌*, 89(8), 2-7, 2020.

橋本温, 中本佳奈, 鈴木裕之, 土岡宏彰, 泉山信司. ハイドロキシアパタイト粉体ろ過法の効率と大腸菌試験への適用性, *環境技術*, 49(2), 31-37, 2020.

Kamata, M., Matsui, Y., Asami, M. National trends in pesticides in drinking water and water sources in Japan. *Science of the Total Environment*, 744, 140930, 2020.

Matsushita, T., Fujita, Y., Omori, K., Huang, Y., Matsui, Y., Shirasaki, N. Effect of chlorination on anti-acetylcholinesterase activity of organophosphorus insecticide solutions and contributions of the parent insecticides and their oxons to the activity. *Chemosphere*, 261, 127743, 2020.

Tada, Y., Cordero, J. A., Echigo, S., Itoh, S. Effect of coexisting manganese ion on the formation of haloacetic acids during chlorination. *Chemosphere*, 263, 127862, 2021.

小林憲弘. 2020年4月の水道水質基準と検査方法の改正について. *環境と測定技術*, 47(9), 17-24, 2020.

小林憲弘, 土屋裕子, 五十嵐良明. 塩素処理による水道水中プロチオホスの分解とプロチオホスオキシソンの生成挙動. *水道協会雑誌*, 89(9), 2-11, 2020.

小林憲弘, 土屋裕子, 高木総吉, 五十嵐良明. 水道水中農薬のGC/MSスクリーニング分析法の開発と実試料への適用. *環境科学会誌*, 33(5), 136-157, 2020.

Abe, Y., Kobayashi, N., Yamaguchi, M., Mutsuga, M., Ozaki, A., Kishi, E., Sato, K. Determination of formaldehyde and acetaldehyde levels in poly (ethylene terephthalate) (PET) bottled mineral water using a simple and rapid analytical method. *Food Chemistry*, 344, 128708, 2021.

Asami, M., Furuhashi, Y., Nakamura, Y., Sasaki, Y., Adachi, Y., Maeda, N., Matsui, Y. A field survey on elution of lead and nickel from taps used in homes and analysis of product test results. *Science of the Total Environment*, 771, 144979, 2021.

Narita, K., Matsui, Y., Matsushita, T., Shirasaki, N. Selection of priority pesticides in Japanese drinking water quality regulation: validity, limitations, and evolution of a risk prediction method. *Science of the Total Environment*, 751, 141636, 2021.

森智裕, 谷口佳二, 小田琢也. フィプロニルとその分解物の水源実態調査及び浄水処理における反応性. *水道協会雑誌*. 90(3), 2-10, 2021.

木下輝昭. 水道法に基づく水質検査及びその精度管理への取り組み. *日本防菌防黴学会誌*, 49(4), 191-199, 2021.

Nakai T., Kosaka K., Asami M. Akiba M. Removal of halobenzoquinone precursors during advanced water purification process, Ozone: Science & Engineering. 受理.

2. 著書

なし

3. 解説・総説

なし

4. 学会発表

泉山信司, 井上亘, 橋本温. 国内の水道原水におけるクリプトスポリジウムの検出状況, *環境技術学会*, 京都市(オンライン開催), 2020/6.

松本真理子, 重田善之, 川村智子, 井上 薫, 山田隆志, 広瀬明彦. 短期的緊急時における人の健康を守るための水道水中汚染物質濃度の提案, *日本毒性学会(オンライン開催)*, 2020/6.

白崎伸隆, 松村拓哉, 白川大樹, 高力聡史, 松下拓, 松井佳彦. 膜ろ過浄水施設におけるウイルスの処理性評価: 陽電荷膜と限外ろ過膜を組み合わせたウイルス濃縮法の適用. 第 23 回日

本水環境学会シンポジウム(オンライン開催), 2020/9/9-10.

Shirakawa, D., Shirasaki, N., Matsumura, T., Koriki, S., Matsushita, T. Matsui, Y. Evaluation of virus reduction efficiency in coagulation-microfiltration by a full-scale study and lab-scale experiments. Water and Environment Technology Conference (Online), 2020/11/7-8.

白川大樹, 山下玲菜, 高力聡史, 松村拓哉, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦. 凝集沈澱-砂ろ過処理におけるウイルスの除去性-実浄水処理場における調査および室内添加実験の実施による評価-. 令和2年度水道研究発表会(誌上発表), 2020/11/18-20.

瀧野博之, 三浦尚之, 小田琢也, 佐野大輔, 秋葉道宏. 浄水試料からのウイルス RNA 回収率向上に向けた検討. 令和2年度水道研究発表会(誌上発表), 610-611, 2020/11/18-20.

Kobayashi, N., Tsuchiya, Y., Takagi, S., Ikarashi, Y. GC/MS target screening method for 176 agricultural chemicals in drinking water samples. SETAC North America 41st Annual Meeting (Online), 2020/11/15-20.

Takagi, S., Hasegawa, Y., Koike, M., Yoshida, J., Adachi, F., Kobayashi, N., Kadokami, K., Yamaguchi, N. Concentrations of agricultural chemicals in water sources by the target screening method using LC-QTOF-MS-SWATH. SETAC North America 41st Annual Meeting (Online), 2020/11/15-20.

高木総吉, 長谷川有紀, 小池真生子, 吉田仁, 安達史恵, 小林憲弘, 門上希和夫, 山口進康. 液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析計によるターゲットスクリーニング分析法を用いた水道水源中農薬類の存在実態の把握, 第68回質量分析総合討論会(紙上開催), 2020.

吉田仁, 高木総吉. 水道水質における有機フッ素化合物の一斉分析法の検討, 令和2年度全国会議(水道研究発表会)(紙上開催), 2020.

鳥居将太郎, 片山浩之. ウイルス種内の遊離塩素耐性分布幅が全体不活化率の推定に及ぼす影響. 第57回環境工学研究フォーラム(オンライン開催), 2020/12/9-11.

Canh, V. D., Furumai, H., Katayama, H. Effect of

viral genome property on the efficiency of viability (RT-)qPCR. 第57回環境工学研究フォーラム(オンライン開催), 2020/12/9-11.

Inoue, M., Izumiyama, S., Suzuki, T. Semi-permeability assay of Cryptosporidium oocyst wall using saturated sodium chloride solution. Joint online meeting of the Japan Society of Protistology and Korean Society of Protistologists. Kobe, Japan, 2020/11.

Matsumoto, M., Shigeta, Y., Murata, Y., Hirose, N., Iso, T., Hirose, A. Derivation of Subacute Guidance Values of Inorganic Metal Contaminants Controlled by the Drinking Water Quality Standards in Japan, SOT 2021(オンライン開催), 2021/3.

小林憲弘, 土屋裕子. 水道水中農薬の GC/MS スクリーニング分析法のバリデーション試験. 統計数理研究所共同研究「令和2年度 情報科学による環境化学分野の問題解決と新展開に関する研究集会」(オンライン開催), 2021/2/15.

松村拓哉, 白川大樹, 高力聡史, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦. 低圧膜ろ過処理におけるウイルスの除去性: 実浄水処理場における調査および室内添加実験の実施による評価. 第55回日本水環境学会年会(オンライン開催), 2021/3/10-12.

高橋大河, 松村拓哉, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦. ウイルスの水道水質基準制定に向けた塩素処理の有効性評価: ヒト腸管系ウイルスおよびヒトコロナウイルスの不活化特性の把握. 第55回日本水環境学会年会(オンライン開催), 2021/3/10-12.

三浦尚之, 門屋俊祐, 瀧野博之, 佐野大輔, 秋葉道宏. 次世代シーケンス解析による水道原水中ロタウイルスの遺伝的多様性評価. 第55回日本水環境学会年会(オンライン開催), 講演集, 250, 2021/3/10-12.

小坂浩司, 鈴木知美, 吉田伸江, 秋葉道宏. 芳香族アミン類の塩素処理による 2, 6-ジクロロ-1, 4-ベンゾキノンと p-キノンイミド類の生成特性, 第55回日本水環境学会年会(オンライン開催), 演集, 184, 2021/3/10-12.

池永健太郎, 松下拓, 松井佳彦, 白崎伸隆. GC-MS-O を用いた浄水カルキ臭原因物質の推定, 第55回日本水環境学会年会, 2021/3/10-12.

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>

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
門屋 俊祐	東北大学 大学院工学研究科
鳥居 将太郎	東京大学 大学院工学系研究科
瀧野 博之	国立保健医療科学院 生活環境研究部

<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>

鎌田 智子	神奈川県内広域水道企業団技術部
古川 紗耶香	青森市企業局水道部
藤瀬 大輝	川崎市上下水道局 水管理センター水道水質課
橋本 温	県立広島大学生命環境学部
黒木 俊郎	岡山理科大学獣医学科
井上 亘	神戸大学理学研究科生物学専攻

中嶋 直樹	神奈川県衛生研究所
-------	-----------

<化学物質・農薬分科会>

相澤 貴子	関東学院大学工学総合研究所
鎌田 素之	関東学院大学理工学部理工学科
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
神谷 航一	茨城県企業局水質管理センター
木下 英二	千葉県企業局水道部水質センター
今井 美江	東京都水道局水質センター
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
高林 泰斗	奈良県水道局水質管理センター
宮田 雅典	大阪市水道局工務部水質試験所
平林 達也	大阪市水道局工務部水質試験所
山口 敏彦	神戸市水道局事業部水質試験所
吉野 泰盛	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
小島 健司	沖縄県企業局水質管理事務所
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

<消毒副生成物分科会>

小牧 裕佳子	静岡県立大学
今井 美江	東京都水道局
柴 雅彦	茨城県企業局
渡邊 みどり	北千葉広域水道企業団
眞鍋 晋	川崎市上下水道局
船岡 英彰	京都市上下水道局

今中 壯一	大阪市水道局
竹田 泰治	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

<臭気分科会>

今井 美江	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

<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
磯 貴子	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
村田 康允	国立医薬品食品衛生研究所
広瀬 望	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
小田 智子	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
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
小嶋 隼	埼玉県水質管理センター
代 龍之介	埼玉県水質管理センター
野村 あづみ	川崎市上下水道局
古口 健太郎	川崎市上下水道局
林 幸範	横須賀市上下水道局
平林 達也	大阪市水道局
粕谷 智浩	(一財)千葉県薬剤師会検査センター
松澤 悠	(一財)千葉県薬剤師会検査センター
山口 和彦	(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

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」
令和2年度分担研究報告書

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	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
	門屋俊祐	東北大学 大学院工学研究科
	鳥居将太郎	東京大学 大学院工学系研究科
	瀧野博之	国立保健医療科学院 生活環境研究部

研究要旨

平成30年度から継続して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（RVA）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。3年間に渡る実態調査の結果、PMMoVは病原ウイルスよりも概ね高い濃度で原水に含まれ、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。PMMoVはノロウイルス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も陽性だった。また、PMMoVは、ほとんどの試料においてRVAよりも濃度が高かったが、一部の試料ではRVAの濃度の方が高かった。そ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、検出されたRVAの多くは動物由来と考えられた。RVAの遺伝子型を詳細に解析しヒト健康リスクを適切に評価することを目的として、RVAの遺伝子型特定領域を高感度に増幅し、次世代シーケンサーを用いて解析する手法を新たに開発した。開発した手法を都市・畜舎排水が含まれる原水試料に適用したところ、ヒトだけでなくウシやブタに由来する複数の遺伝子型が検出され、それらが経時的に変化することが示された。

UF膜ろ過処理を実施している国内の浄水場におけるPMMoVの処理性を評価した。その結果、浄水場CのUF膜ろ過処理によるPMMoVの除去率は1.7→2.6 logであり、除去率の平均値は1.9 logだった。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であったことから、実浄水場においてPMMoVが2 log程度除去される場合には、水系感染症ウイルスも同程度除去されるものと推察された。

ウイルス濃縮法を組み合わせた大容量の塩素処理実験を実施し、高い塩素処理耐性を有するコクサッキーウイルスB5型の9 log不活化に必要な塩素処理のCT値は40 mg-Cl₂-min/L程度であることを明らかにした。これまでに調査対象とした浄水場A, B, Cにおいては、配水池出口に至るまでに少なくとも840–1,300 mg-Cl₂-min/LのCT値が確保されていることから、塩素処理により病原ウイルスの9 log不活化は達成されていると判断された。

多摩川、相模川のF特異RNA大腸菌ファージGI型の塩素耐性を評価し、同種内の遊離塩素耐性のばらつきを考慮した不活化モデルを作成した。GI型野生株の86%で、実験室株MS2, frよりも塩素耐性が高かった。また、MS2の8 log不活化が期待できるCT値では、GI型野生株の全体不活化率が5.3–5.6 logと算定された。環境水中のウイルスの消毒効果を推測する際は、種内の遊離塩素耐性のばらつきを算入した不活化モデルを採用すべきである。

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、以下に示す5つの研究タスクを実施した。

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) の濃度変動調査

2) 環境水中のロタウイルス A (RVA) 遺伝子型解析のための nested PCR アッセイの開発

3) 実浄水場の UF 膜ろ過処理における PMMoV

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。微生物分科会では、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 の実態を明らかにすることを目的とし、平成 30 年度から継続して表流水を水源とする国内 21 箇所の浄水場において実態調査を行ってきた。今年度は、胃腸炎の非流行期 (2020 年 10 月) および流行期 (2021 年 1 月) に原水試料を収集し、感染性胃腸炎を引き起こすノロウイルス GII および RVA、そして PMMoV の濃度を調査した。

A2. RVA 遺伝子型解析のための nested PCR アッセイの開発

これまでの実態調査において、PMMoV よりも RVA 濃度が高い浄水場が数箇所確認された²⁾。RVA は遺伝的に多様であり、ウシやブタ等の動物に由来する株も含まれる。これまでに、臨床試料に含まれる RVA の遺伝子型を特定するために、VP7 (G 遺伝子型を決定)、VP6 (I 遺伝子型を決定)、および VP4 (P 遺伝子型を決定) の一部を増幅する PCR アッセイが開発されているが、検出感度の面から環境試料への適用は困難だった。環境試料からでも高感度に RVA 遺伝子型特定領域を増幅する nested PCR アッセイを新たに開発し、取得したアンプリコンを次世代シーケンサーを用いて解析することで、原水試料に含まれる RVA の遺伝子型分布を明らかにすることを目的とした。

A3. 実浄水場の UF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性評価

これまでに、PMMoV を効果的に濃縮・回収可

の除去性評価

4) 塩素処理における病原ウイルスの不活化特性評価

5) ウイルス種内の遊離塩素耐性分布幅を考慮した不活化モデルの構築

これら5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 の濃度変動調査

能なウイルス濃縮法を構築・適用することにより、実浄水場の凝集沈澱-砂ろ過処理、凝集-MF 膜ろ過処理における PMMoV の処理性を評価することに成功した³⁾。今年度は、UF 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。

A4. 塩素処理における病原ウイルスの不活化特性評価

日本の水道原水中の水系感染症ウイルス濃度 (10^5 個/L 程度)^{4,5)}と WHO が示す飲料水中のウイルス許容濃度 (10^{-5} 個/L) を考慮した場合、浄水処理により 10 log のウイルス低減が必要な場合がある。凝集沈澱-砂ろ過処理、凝集-MF 膜ろ過処理において期待されるウイルスの低減率は 1-2 log 程度であることから、ウイルス低減の大部分 (最大 9 log) を後段の塩素消毒に依存することになる。水系感染症ウイルスの中で高い塩素処理耐性を有することが知られているコクサッキーウイルス B5 型⁶⁾を対象とし、ウイルス濃縮法を組み合わせた大容量の塩素処理実験を実施することにより、コクサッキーウイルス B5 型の 9 log 不活化に必要な塩素処理条件 (CT 値; C: 遊離塩素濃度 × T: 接触時間) を明らかにすることを目的とした。

A5. ウイルス種内の遊離塩素耐性分布幅を考慮した不活化モデルの構築

環境水中のウイルスの不活化率を推測する場合、遊離塩素への感受性のばらつきを考慮することが重要と考えられるが、そのような不活化推測モデルは提案されていない。下水処理水の影響を受ける多摩川、相模川から 1 本鎖 RNA ウイルスの 1 種である F 特異 RNA フェージ GI 型を単離

し、実験室株と塩素耐性を比較した。また、GI 型内の遊離塩素耐性のばらつきの情報を1次不活化モデルに算入し、GI 型全体の不活化率が推測できるモデルを作成した。

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の濃度変動調査

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(5L)を収集した。試料の採水は、2020年10月および2021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。試料は、冷蔵状態で国立保健医療科学院に輸送し、採水から48時間以内に分析に供した。

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に関する知見も蓄積するために、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⁵⁾。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90 mmの親水性PTFE膜(JCWP09025, Merck)でろ過し、回収したろ液を孔径0.45 μm 、直径90 mmの親水性混合セルロースエステル膜(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⁵⁾。続いて、回収したろ液を陰電荷膜法により10 mLまで濃縮し、溶存態画分とした^{5,7)}。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。

マウスノロウイルス、ノロウイルスGII, RVA, およびPMMoV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 Diagnostics)を用いたリアルタイムRT-PCR法により定量した。

B2. RVA 遺伝子型解析のための nested PCR アッセ

イの開発

塩基配列データベース GenBank から RVA の遺伝子型特定領域である VP7, VP6, および VP4 の配列をそれぞれ 14~33 配列取得し、アライメントを行った後、保存領域を対象に Primer 3 を用いて増幅塩基長 209~272 bp の 8 つのプライマーセットを設計した。検討には、2019年4月から9月に掛けて毎月収集した水道原水試料(都市および畜舎の排水を含む河川水, RVA 濃度 $4.1\sim 5.5 \log_{10}$ copies/L)から濃縮・抽出した RNA 試料を用いた。次に、増幅が確認されたプライマーセットの外側に、nested PCR の 1st PCR 用のプライマーを設計し、水道原水試料(サンプルセット1:都市および畜舎の排水を含む河川水, N=12, サンプルセット2:PMMoVよりもRVA濃度が高かった河川、ダム、湖沼水, N=19)に適用しながら検出感度を評価した。Nested PCR の条件は、1st および 2nd PCR とともにアニーリング 55°C で 35 サイクルによる増幅を行うこととした。

サンプルセット1から取得した VP7, VP6, および VP4 のアンプリコン (N=43) について、アダプター配列を付加し、DNA ライブラリーを調整したのち、FASMAC 社に MiSeq 解析を委託した。得られた配列データは、CLC Genomics Workbench を用いて Similarity スコア 97% で OTU クラスタリングを行い、決定した OTU 配列について BlastN で検索し、遺伝子型・近縁配列を特定した。また、構築された OTU 配列について、参照配列とともに MEGA X を用いて系統解析を行った。

B3. 実浄水場の UF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性評価

これまでに構築したウイルス濃縮法を適用し、浄水場 C の原水あるいは浄水処理工程水 4-2,000 L における PMMoV の濃度を定量した。2020年7月、10月、2021年3月に浄水場 C 内において原水 4 L、凝集-繊維ろ過水 (UF 膜ろ過前水) 4 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 UF 膜ろ過水 1,000 L あるいは 2,000 L を、専用ハウジングに收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、膜に吸着したウイルスを脱着させるウイルス溶出液として 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) 350 mL を添加し、1分

間浸漬させた。その後、未使用のビーフエキス溶液 150 mL をポンプを用いて膜に通水することにより、ハウジング内のビーフエキス溶液と共に回収した。この溶出操作を未使用のビーフエキス溶液を用いて更に3回繰り返し、合計2 Lのビーフエキス溶液にウイルスを濃縮した(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、更にメンブレンフィルター(膜孔径: 0.45 μm)にてろ過した(二次濃縮[上澄み])。一方、凝集フロックについては、pH9の0.15 M リン酸バッファーを添加し、溶解した。これを遠心分離した後、上澄水20 mLのpHをHClにて7.0に調整し、更にメンブレンフィルター(膜孔径: 0.45 μm)にてろ過した(二次濃縮[フロック])。二次濃縮後の試料(二次濃縮[上澄み]及び二次濃縮[フロック])のPMMoV濃度を当該ウイルスに特異的なプライマー及びプローブを用いたリアルタイム定量PCR法で定量することにより、浄水場Cの原水、凝集-繊維ろ過水及びUF膜ろ過水のPMMoV濃度を算出した。また、PMMoV濃度から浄水場CにおけるPMMoVの除去率(Log除去率(Log[C_0/C]); C_0 : 原水の濃度, C : 処理後の濃度)を算出した。

B4. 塩素処理における病原ウイルスの不活化特性評価

病原ウイルスの中で塩素処理耐性が高いことが報告されているコクサッキーウイルス B5 型を用いた室内実験を実施した。4°Cに調整したpH7の0.01 M リン酸バッファーに、培養・精製したコクサッキーウイルスを 10^5 PFU/mL程度になるように添加したものを実験原水とし、角型タンクに70 L添加した。ここに、初期塩素濃度が0.9 mg- Cl_2/L 程度になるように次亜塩素酸ナトリウムを添加し、直ちに2台の攪拌機(攪拌翼)を用いてそれぞれ150 rpmにて攪拌した。塩素添加前の原水及び塩素添加後の塩素処理水を経時的に採水し、塩素処理水については、チオ硫酸ナトリウムにより残留塩素を中和した後、必要に応じてタンジェンタルフローUF膜(分画分子量: 1,000 kDa)

を用いて70 mLまで濃縮し、それぞれの試料の感染性を有するコクサッキーウイルス濃度をプラック形成法にて定量することにより、塩素処理におけるコクサッキーウイルスの不活化率(Log不活化率(Log[N_0/N]); N_0 : 原水の感染性を有するコクサッキーウイルス濃度, N : 処理後の感染性を有するコクサッキーウイルス濃度)を算出した。なお、濃縮を実施した場合には、不活化率の算出の際に濃縮による回収率(29%)を考慮した。

B5. ウイルス種内の遊離塩素耐性分布幅を考慮した不活化モデルの構築

(1) F フェージの単離

フィールド調査を多摩川、相模川にて実施し、*Salmonella enterica* serovar Typhimurium WG49 をホストとして用いたプラック法によりFフェージを検出した。滅菌済み爪楊枝を用いて現れたプラックを単離した。単離されたF特異フェージは750 μL の1 mM リン酸緩衝液に懸濁し、以降の操作まで4°Cで保存した。

(2) RT-qPCRによる単離株の遺伝型タイピング

プラック懸濁液2 μL を95°Cで5分間熱処理し、RNA抽出を実施した。次に、RNA抽出物にプライマー、プローブ⁸⁾、逆転写酵素、Mastermix (Quantitect Probe RT-PCR kit (Qiagen))を加えて、Singleplex One-Step RT-qPCRを実施した。

単離株のすべてに対しGIのプライマーセットを用いたRT-qPCRを実施した。RT-qPCRに供されたサンプルのThreshold cycle (Ct)値が20以下の場合、単離株のウイルス種がGIであったものとみなした。遺伝型タイピングはすべて1連で実施した。

(3) 野生株フェージの塩素消毒試験

遺伝型タイピングにより遺伝子型がGI型と判明した野生株(多摩川: 18株, 相模川: 17株)、およびGI型の実験室株であるMS2, frを対象に、遊離塩素消毒試験を実施した。なお、各株の消毒試験は2連で実施した。

(4) 反応速度定数の解析

遊離塩素消毒によるウイルスの不活化速度は以下に示すChick-Watsonモデルにフィッティン

グした。確率密度関数のパラメータ推定、確率密度の Kolmogorov-Smirnov 検定、赤池情報量基準 (AIC) の算出には R パッケージ “fitdistrplus” を使用した¹⁰⁾。なお本研究では、不活化速度定数 k が従う確率分布について対数正規分布、ガンマ分布の 2 種類を仮定した。

不活化速度定数 k が 0 より大きい値をとり、対数正規分布にしたがう場合、不活化速度定数の確率密度関数は $f(k)$ と表せる。また、全体不活化率 N/N_0 は以下となる。

$$\frac{N}{N_0} = \int_0^{\infty} \frac{N_z}{N_{z,0}} \cdot f(k) dk = \int_0^{\infty} e^{-CTk} \cdot f(k) dk$$

$N_z/N_{z,0}$: 株 z の生残率

CT: CT 値 (mg sec L⁻¹)

k_z : 株 z の不活化速度定数 (mg⁻¹ sec⁻¹ L)

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

ノロウイルス GII は、胃腸炎の非流行期 (2020 年 10 月) に 2 試料の溶存態画分からのみ検出され (検出率は 10%)、濃度は 3.2–4.1 log₁₀ copies/L だった。胃腸炎の流行期 (2021 年 1 月) には 24% の試料から検出され、濃度の幾何平均値は 3.8 log₁₀ copies/L だった。2021 年 1 月は、3 年間で最も検出率が低く (2019 年 1 月: 62%, 2020 年 1 月: 48%)、濃度の幾何平均値も最も低かった。この理由としては、新型コロナウイルス感染症対策の結果、水源流域におけるノロウイルスによる感染性胃腸炎の患者数も減少し、原水に含まれるノロウイルス濃度が低減したことが挙げられる。実際に、2020–2021 年冬季は、ノロウイルスやロタウイルスの検出報告数が全国的に過去最低のレベルとなっていた¹¹⁾。

RVA 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が (それぞれ、76, 67%)、流行期の検出率はノロウイルス GII と同様に 3 年間で最も低かった (2019 年 1 月: 76%, 2020 年 1 月: 81%)。しかしながら、濃度の幾何平均値はこれまでと同程度であり (4.4 log₁₀ copies/L),

非流行期においても比較的高かったことから (3.9 log₁₀ copies/L), 収集した原水試料には季節によらずウシやブタ等の動物由来の RVA 株も含まれていたことが考えられた。

PMMoV は、胃腸炎の非流行期・流行期に関わらず、全ての原水試料に高濃度 (4.8–5.5 log₁₀ copies/L) で含まれていた。これまでの調査における検出率および濃度の幾何平均値は、平成 30 年度は 86–100% および 4.8–5.4 log₁₀ copies/L, 令和元年度は 81–95% および 4.9–5.1 log₁₀ copies/L であり、3 年間における調査結果の再現性が高いことが確認された。また、PMMoV の濃度は、懸濁態よりも溶存態画分の方が 1 log₁₀ 程度高く、大部分が溶存態画分に含まれていたことも、これまでの調査結果と同様の傾向だった。

PMMoV とノロウイルス GII または RVA の濃度の関係を調べるために、2018 年 1 月以降に採水されたすべての試料 (N=147) について濃度をプロットした (図 1)。その結果、PMMoV は、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 RVA に対しては、大部分の試料で PMMoV の方が高い濃度で検出されたが、一部の試料では RVA の濃度が高かった。このような試料が採水された浄水場は、3 年間の調査で 7 箇所に限られており、特徴として水源上流域に都市が含まれていなかった。このことから、リアルタイム RT-PCR によってこれらの試料から検出された RVA 株の多くは動物由来と考えられた。PMMoV がヒト病原ウイルスよりも高濃度で原水に含まれるという指標ウイルスに求められる条件をさらに検証するために、環境試料を対象とした RVA 遺伝子型解析手法を新たに開発した。

C2. RVA 遺伝子型解析のための nested PCR アッセイの開発

(1) VP7, VP6, および VP4 遺伝子を対象としたプライマーの設計

2019 年 4 月から 9 月に掛けて毎月収集した水道原水試料から濃縮・抽出した RNA 試料を用いて、RVA の遺伝子型特定領域を対象に設計した 8 つのプライマーセットを試験した。その結果、ヒト RVA の VP7, ヒトおよび動物の VP6, ヒト RVA の VP4 の 4 つで増幅が確認された。この 4 つのプ

ライマーセットの外側に 1 st PCR 用のプライマーセットを設計し、nested PCR アッセイとした。すなわち、ヒトの VP7 について A および B、ヒトの VP6 について C、動物の VP6 について D、ヒトの VP4 について E および F の計 6 つの nested PCR アッセイを開発した。

(2) 検出感度の評価

開発した 6 つの nested PCR アッセイの検出感度をサンプルセット 1（都市および畜舎の排水を含む河川水）を用いて調べた結果、A を除いた B～F の 5 つのアッセイで増幅が認められた。RVA による胃腸炎の流行のピーク時を含み、濃度が最も高い 4～6 月の試料では、B～F のアッセイすべてで増幅が確認された。また、C、D、E のアッセイでは、全ての試料からアンプリコンを得ることに成功した。

次に B～F のアッセイの検出感度をサンプルセット 2（PMMoV よりも RVA 濃度が高かった試料：畜舎や集落の排水を含む河川、ダム、湖沼水）を用いて試験した結果、それぞれのアッセイで増幅が認められた。RVA 濃度が最も低い試料（2.9 \log_{10} copies/L）でも B～E の 4 つのアッセイで増幅が確認され、リアルタイム RT-PCR と同程度の検出感度だった。しかしながら、次に濃度が低い 2 試料（3.0 および 3.6 \log_{10} copies/L）では、全てのアッセイで増幅されなかった。当該試料では、プライマーとミスマッチがある RVA 株が含まれていた可能性が考えられた。

(3) 配列解析

サンプルセット 1 から取得した VP7、VP6、および VP4 のアンプリコンを次世代シーケンサーを用いて解析した結果、ヒトおよび動物に由来する複数の遺伝子型が検出された。図 2 には、一例として VP7 のアンプリコンについて構築された OTU 配列に基づく系統樹を示した。VP7 の塩基配列によって決定される G 遺伝子型としては、ヒトでは G8、G3、G2 の 3 つの遺伝子型が検出され、動物ではブタの G5 および G4、ウシの G6 および G10 が検出された。

表 1 には、VP4 のアンプリコン解析によって特定された P 遺伝子型の検出割合を 2019 年 4 月から 2020 年 3 月に採水された試料別に示した。ヒ

トの野生株としては、P[8]、P[6]、P[4]、P[9]の 4 つの遺伝子型が、ワクチン株としては、RotaTeq に由来する P[5]および P[8]の遺伝子型が検出された。ヒト RVA 株の配列に基づき設計したプライマーセットであるが、P[6]のブタ、P[5]のウシに近縁な配列も検出された。検出頻度が最も高かった遺伝子型は、国内においてヒトでの流行が認められている P[8]¹²⁾であり、12 月および 3 月を除いた 10 試料において 22～100%の配列割合で検出された。VP6 のアンプリコン解析では、ヒト、ブタ、ウシに加えて、ウマの I 遺伝子型も検出された。

以上のように、VP7、VP6、および VP4 を対象に新たに開発した nested PCR アッセイと次世代シーケンサー解析を組み合わせることによって、水道原水に含まれる RVA の実態が明らかになった。すなわち、都市および畜舎の排水が含まれる原水には、遺伝的に多様な RVA 株が含まれており、ヒトに由来する野生株およびワクチン株、動物ではブタ、ウシ、ウマに由来する株が検出され、それらが経時的に変化していた。本手法を用いて、PMMoV よりも RVA 濃度が高かった試料（サンプルセット 2）を解析することで、遺伝子型の検出割合に基づきヒト健康リスクを適切に評価すること、および PMMoV の指標ウイルスとしての有用性をさらに検証することが可能となる。次年度は、上記に取り組む予定である。

C3. 実浄水場の UF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性評価

浄水場 C 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）。原水における PMMoV 濃度は $10^{0.3-1.3}$ 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濃度で存在していることが明らかとなった。また、凝集-繊維ろ過水における PMMoV 濃度は $10^{-0.9-0.7}$ copies/mL となり、いずれの採水日においても原水と比べて濃度の低減が確認された。従って、凝集-繊維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、0.6-1.1 log（平均: 0.7 log）であった。UF 膜ろ過水（浄水）における PMMoV 濃度は $10^{<-3.5-1.3}$ copies/mL となり、凝集-繊維ろ過水（UF 膜ろ過前水）に比べて濃度の低減が確認された。従って、UF 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、1.7→2.6 log（定量下限値以下であった試料を除いた平均: 1.9 log）であり（凝集-繊維ろ過後と UF 後の差）、昨年度までに報告した凝集沈澱-砂ろ過処理及び凝集-MF 膜ろ過処理における PMMoV の除去率（平均: 1.6 log 及び 1.0 log）に比べて高い値であった。これまでに実施した UF 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であったことから¹³⁾、PMMoV が UF 膜ろ過処理により 2 log 程度除去される浄水場 C においては、水系感染症ウイルスも同程度除去されるものと推察された。

C4. 塩素処理における病原ウイルスの不活化特性評価

コクサッキーウイルス B5 型の 9 log 不活化に必要な塩素処理条件を明らかにするため、70 L の大容量での室内実験を実施した。塩素処理におけるコクサッキーウイルスの不活化率を図 4 に示す。濃縮法と組み合わせることにより、最大 9.5 log 以上のコクサッキーウイルスの不活化率が確認され、9 log 不活化に必要な CT 値は 40 mg-Cl₂-min/L 程度であることが明らかとなった。

これまでに PMMoV の除去性を評価した浄水場 A（凝集沈澱-砂ろ過処理によって 1.6 log の除去率）、B（凝集-MF 膜ろ過処理によって 1.0 log の除去率）、C（UF 膜処理によって 1.9 log の除去率）においては、配水池出口に至るまでに少なくともそれぞれ 920, 840, 1,300 mg-Cl₂-min/L の CT 値が確保されていることから、物理的処理の後段で実施されている塩素消毒によって病原ウイルスの 9 log 不活化は達成されていると判断された。また、上述したように、これらの浄水場においては、1 log 以上のウイルス除去が期待できることから、浄水処理全体で 10 log の病原ウイルス低減が達成されているものと判断された。

C5. ウイルス種内の遊離塩素耐性分布幅を考慮した不活化モデルの構築

(1) 遊離塩素消毒試験

実験室株 MS2, fr と多摩川、相模川で単離された GI タイプの野生株計 35 株の消毒試験を行い、算出した各株の 4 log の不活化に必要な CT 値を図 5 に示す。相模川の GI 株の不活化速度定数は、

多摩川の GI 株より有意に低かった（Wilcoxon 順位和検定: $P < 0.05$ ）。

対数正規分布とガンマ分布でいずれがより実験で得られた分布に近いかを AIC により判断した。多摩川では、対数正規分布、ガンマ分布を仮定した際の AIC はそれぞれ、-107.4, -106.9 であった。相模川ではそれぞれ、-113.8, -113.2 であった。したがって、いずれの河川においても対数正規分布の方がより適合することが示唆された。

不活化速度定数が対数正規分布にしたがう際のパラメータは、多摩川、相模川でそれぞれ(μ, σ)=(-2.18, 0.15), (-2.33, 0.07)と推定された。なお、Kolmogorov-Smirnov 検定における P 値が両者とも 0.05 以上であり、対数正規分布に従い得ることが示唆された。

(2) 耐性分布幅が種の全体不活化率の推定に及ぼす影響

4 log, 8 log 不活化に必要な CT 値は、それぞれ 90, 197（多摩川）、98, 201（相模川）mg sec L⁻¹と予測された。GI 種の実験室株である MS2 の不活化率に基づいた水質管理は、環境中の多様な GI 種の不活化を過大評価することが示唆された。また、その乖離は想定する不活化率が高いほど大きくなることが示唆された。実際の環境サンプルの不活化率の推測の際には、種内の遊離塩素耐性のばらつきに関する情報を算入すべきである。

E. 結論

ウイルスの表流水中存在形態に関する情報も収集しながら、平成 30 年度から継続して全国の水道水源における病原ウイルスおよび PMMoV の汚染実態を調査した。3 年間に渡る実態調査の結果、ノロウイルス GII が陽性だったすべての試料では、PMMoV も陽性であり、かつ PMMoV 濃度が高かった。PMMoV は、ほとんどの試料において RVA よりも濃度が高かったが、都市排水が含まれないと考えられる一部の水源では、RVA の濃度の方がわずかに高かった。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。

RVA の遺伝子型特定領域 (VP7, VP6, VP4) を高感度に増幅する nested PCR アッセイを開発し

た。RVA 濃度が低い原水試料でも増幅が確認され、リアルタイム RT-PCR と同程度の感度だった。アンプリコンを次世代シーケンサーを用いて解析した結果、ワクチン株である RotaTeq に由来する配列も含め、ヒトおよび動物に由来する複数の遺伝子型が検出された。本手法を PMMoV よりも RVA の濃度が高かった水道原水試料に適用することで、水源における RVA 汚染実態の理解が進み、PMMoV の有用性がさらに示されることが期待される。

浄水場 C において、PCR 法にて評価した UF 膜ろ過処理による PMMoV の除去率は 1.7→2.6 log であり、定量下限値以下であった試料を除いた除去率の平均値は 1.9 log であった。PMMoV が UF 膜ろ過処理により 2 log 程度除去される浄水場 C においては、水系感染症ウイルスも同程度除去されるものと推察された。

高い塩素処理耐性を有するコクサッキーウイルス B5 型の 9 log 不活化に必要な塩素処理の CT 値は 40 mg-Cl₂·min/L 程度であることが明らかとなった。本研究でこれまでに対象とした浄水場 A, B, C においては、塩素消毒として配水池出口に至るまでに少なくとも 840–1,300 mg-Cl₂·min/L の CT 値が確保されていることから、塩素処理により病原ウイルスの 9 log 不活化は達成されていると判断された。また、浄水処理全体で 10 log の病原ウイルス低減が達成されているものと判断された。

塩素処理済み 2 次処理水が流量の多くを占める多摩川、相模川にて F 特異 RNA フェージ GI 型株を単離し、遊離塩素消毒試験を実施した。その結果、(i) 多摩川では、野生株 18 株中の 13 株、相模川では 17 株すべてで塩素耐性は、実験室株 MS2 と比べて有意に高かった。また、(ii) 実験室株 MS2 の 8 log 不活化が期待できる CT 値で、多摩川、相模川に存在する GI 型フェージを消毒した場合、全体不活化率は、それぞれ 5.6 log, 5.3 log にとどまることが推測された。したがって、実験室株 MS2 に基づく不活化効果の推定では、実際の不活化率を 2.4–2.7 log 程度過大評価する可能性がある。一般に、ウイルスの消毒効果を議論する際に実験室株を用いた実験の知見が用いられることを考慮すると、実際の環境サンプルの不活化率の推測の際には、種内の遊離塩素耐性のばらつきに関する情報を算入すべきである。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

- 論文発表
 - Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y. and Koriki, S. Suitability of pepper mild mottle virus as a human enteric virus surrogate for assessing the efficacy of thermal or free-chlorine disinfection processes by using infectivity assays and enhanced viability PCR. *Water Research*, 186, 116409, 2020.
 - 鳥居将太郎、片山浩之。ウイルス種内の遊離塩素耐性分布幅が全体不活化率の推定に及ぼす影響。土木学会論文集 (G), 76, III_423–III_429, 2020.
 - Torii S, Itamochi M, Katayama H, Inactivation kinetics of waterborne virus by ozone determined by a continuous quench flow system. *Water Research*, 186, 116291, 2020.
 - Canh, V.D., Furumai, H., Katayama, H. Effect of viral genome property on the efficiency of viability (RT-)qPCR. 土木学会論文集 (G), 76, III_189–III_196, 2020.
 - Canh, V.D., Torii, S., Furumai, H., Katayama, H., 2020. Application of Capsid Integrity (RT-)qPCR to Assessing Occurrence of Intact Viruses in Surface Water and Tap Water in Japan. *Water Research*, 189, 116674, 2020.
- 学会発表
 - 白崎伸隆, 松村拓哉, 白川大樹, 高力聡史, 松下拓, 松井佳彦。膜ろ過浄水施設におけるウイルスの処理性評価：陽電荷膜と限外ろ過膜を組み合わせたウイルス濃縮法の適用。第 23 回日本水環境学会シンポジウム (オンライン開催), 2020/9/9–10.
 - Shirakawa, D., Shirasaki, N., Matsumura, T., Koriki, S., Matsushita, T. and Matsui, Y. Evaluation of virus reduction efficiency in coagulation-microfiltration by a full-scale study and lab-scale experiments. *Water and Environment Technology Conference Online*

2020, 7-8 November 2020.

- 3) 白川大樹, 山下玲菜, 高力聡史, 松村拓哉, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦. 凝集沈澱-砂ろ過処理におけるウイルスの除去性-実浄水処理場における調査および室内添加実験の実施による評価-. 令和2年度水道研究発表会 (開催中止による誌上発表), 2020/11/18-20.
- 4) 瀧野博之, 三浦尚之, 小田琢也, 佐野大輔, 秋葉道宏. 浄水試料からのウイルス RNA 回収率向上に向けた検討. 令和2年度水道研究発表会 (開催中止による誌上発表). 論文集, 610-611, 2020.
- 5) 鳥居将太郎, 片山浩之. ウイルス種内の遊離塩素耐性分布幅が全体不活化率の推定に及ぼす影響. 第57回環境工学研究フォーラム (オンライン開催), 2020/12/9-11.
- 6) Canh, V.D., Furumai, H., Katayama, H. Effect of viral genome property on the efficiency of viability (RT-)qPCR. 第57回環境工学研究フォーラム (オンライン開催), 2020/12/9-11.
- 7) 松村拓哉, 白川大樹, 高力聡史, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦. 低圧膜ろ過処理におけるウイルスの除去性: 実浄水処理場における調査および室内添加実験の実施による評価. 第55回日本水環境学会年会 (オンライン開催), 2021/3/10-12.
- 8) 高橋大河, 松村拓哉, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦. ウイルスの水道水質基準制定に向けた塩素処理の有効性評価: ヒト腸管系ウイルスおよびヒトコロナウイルスの不活化特性の把握. 第55回日本水環境学会年会 (オンライン開催), 2021/3/10-12.
- 9) 三浦尚之, 門屋俊祐, 瀧野博之, 佐野大輔, 秋葉道宏. 次世代シーケンス解析による水道原水中ロタウイルスの遺伝的多様性評価. 第55回日本水環境学会年会 (オンライン開催), 講演集, 250, 2021.

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) 秋葉道宏, 三浦尚之, 北澤弘美, 小田琢也, 佐野大輔. 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の汚染実態調査, 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) 「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, 33-44, 2020.
- 3) 松井佳彦, 白崎伸隆, 松下拓. 凝集-膜ろ過処理を実施している実浄水場におけるトウガラシ微斑ウイルスの処理性評価, 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, 45-53, 2020.
- 4) Haramoto, E., Kitajima, M., Kishida, N., Katayama, H., Asami, M. and Akiba, M. Occurrence of viruses and protozoa in drinking water sources of Japan and their relationship to indicator microorganisms. *Food and Environmental Virology* 4(3), 93-101, 2012.
- 5) Miura, T., Gima, A. and 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.
- 6) U.S. Environmental Protection Agency. Six-Year Review 3 Technical Support Document for Microbial Contaminant Regulations, EPA 810-R-16-0210, Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2016.
- 7) Katayama, H., Shimasaki, A., and 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), 1033-1039, 2002.

- 8) Wolf, S., Hewitt J. and Greening, G.E. Viral multiplex quantitative PCR assays for tracking sources of fecal contamination. *Appl. Environ. Microbiol.*, 76, 1388–1394, 2010.
- 9) Haramoto, E., Fujino, S. and Otagiri, M. Distinct behaviors of infectious F-specific RNA coliphage genogroups at a wastewater treatment plant. *Sci. Total Environ.*, 520, 32–38, 2015.
- 10) Delignette-Muller M.L. and Dutang, C. *fitdistrplus: An R Package for Fitting Distributions*, *J. Stat. Softw.*, 64, 1–34, 2015.
- 11) 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 2020/21 シーズン (2021年3月31日現在報告数, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-noro.html>)
- 12) 藤井克樹. ロタウイルスワクチン導入後の流行株の変化, *病原微生物検出情報*, 40(12), 204–205, 2019.
- 13) 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 Research*, 115, 29–39, 2017.

表 1. RVA VP4 のアンプリコン解析によって特定された P 遺伝子型の検出割合[%]

採水 年月	P[8] Human	P[5] RotaTeq	P[6] Porcine	P[8] RotaTeq	P[6] Human	P[4] Human	P[9] Human	P[5] Bovine	Undeter mined
2019/4	96.8	0	0	0	0	2.0	1.3	0	0
5	97.8	0	0	0	0	0	1.8	0	0.4
6	73.4	19.3	0.6	0	0	2.1	0	3.7	1.0
7	31.1	32.2	34.6	0	0	0	0	0	2.0
8	100	0	0	0	0	0	0	0	0
9	42.2	0	54.5	2.9	0	0	0	0	1.6
10	86.4	0	2.14	0	1.4	0	0	0	3.8
11	89.1	0	10.9	0	0	0	0	0	0
12	0	0	66.7	0	0	0	0	0	33.3
2020/1	22.2	64.4	12.1	0	0	0	0	0	1.3
2	53.2	0	45.2	0	0	0	0	0	1.6
3	0	84.9	8.4	0	0	0	0	0	6.7

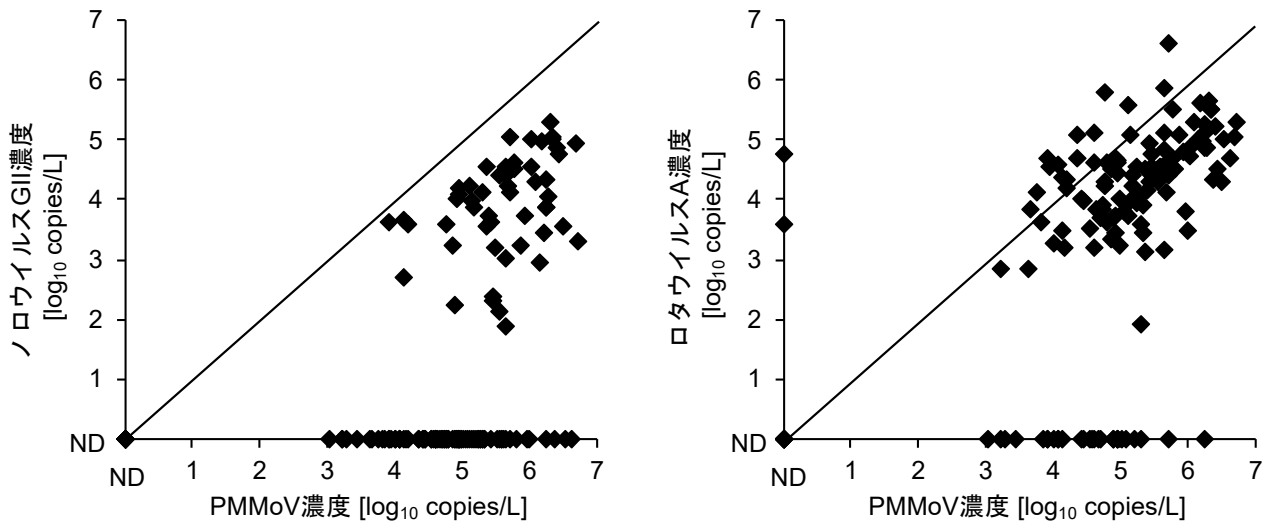


図 1. 水道原水中の病原ウイルスと PMMoV 濃度の関係。2018 年 1 月から 2021 年 1 月に採水された合計 147 試料のデータをプロットした。

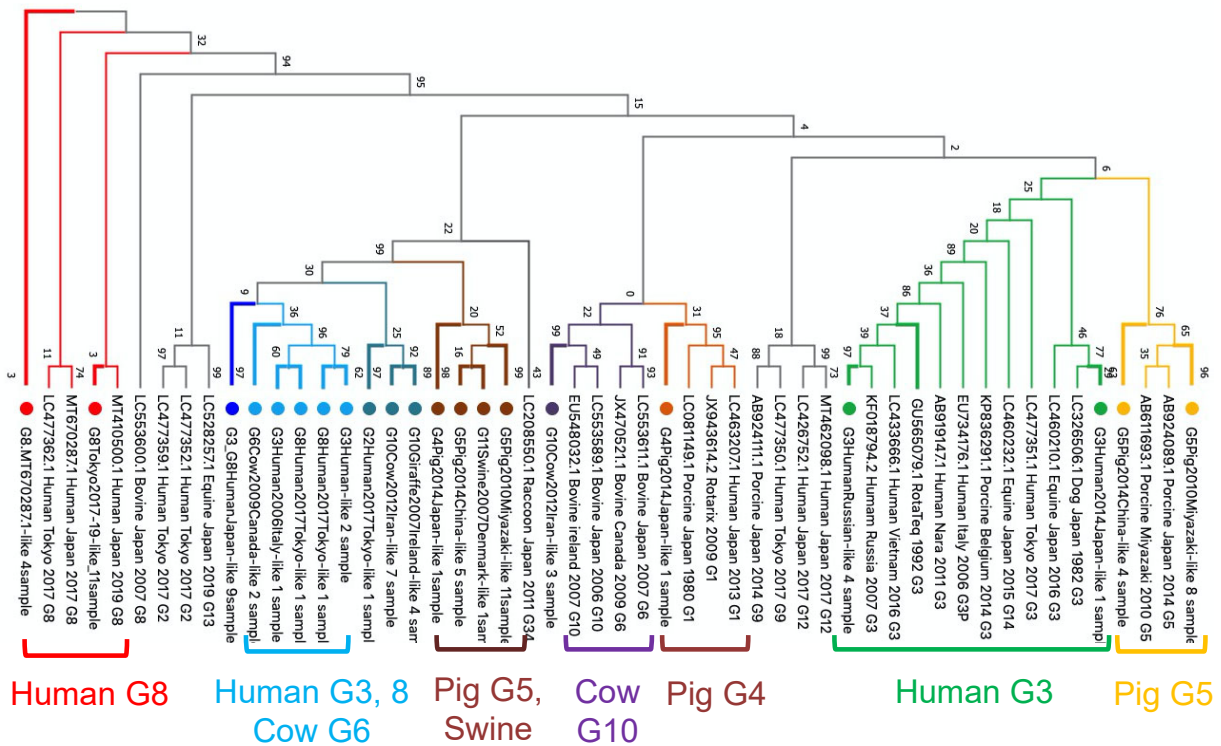


図 2. RVA VP7 のアンプリコンについて構築された OTU 配列に基づく系統樹。●: サンプルの OTU 配列を含む。"x" sample はその枝に x 個のサンプル OTU 配列が含まれることを意味する。

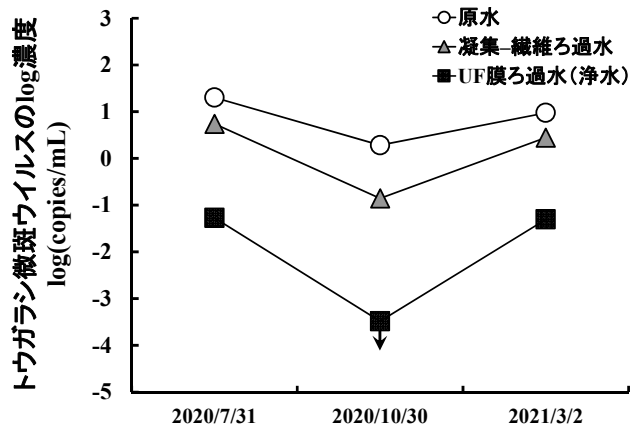


図3. 浄水場Cの各処理工程水におけるPMMoV濃度

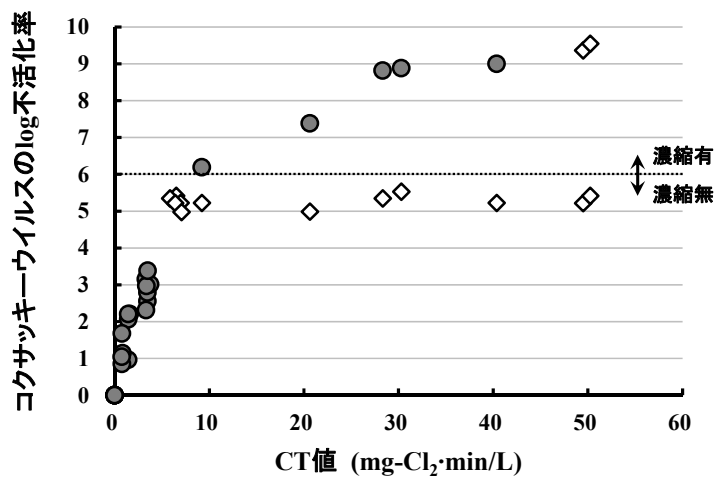


図4. 塩素処理におけるコクサッキーウイルスの不活化特性. 白抜きのは値は定量下限値以下であったため, 定量下限値をプロットした.

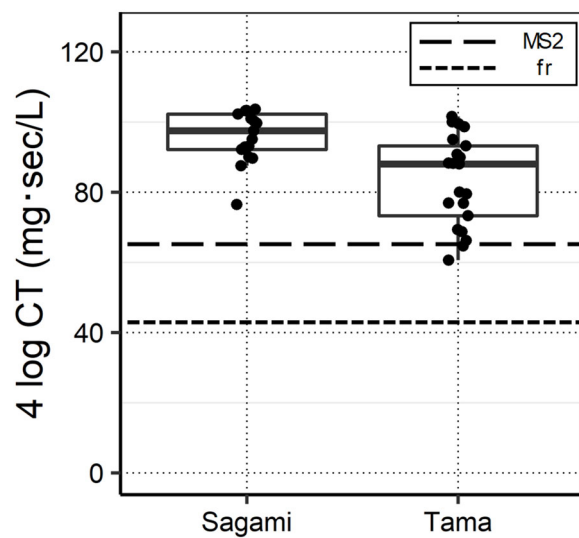


図5. 多摩川, 相模川で検出されたF特異RNA大腸菌ファージGI株の4 log CT値. 各河川の野生株は黒丸, 実験室株MS2を長破線, frを短破線で表示した.

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」
令和2年度分担研究報告書

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とその指標性の検討として取り上げられた従属栄養細菌の測定に関する調査を行った。まず、浄水処理プロセスで、オゾン処理、活性炭処理、急速ろ過処理を対象とし、各処理水での従属栄養細菌数を測定した結果、培養時間の延長に伴う従属栄養細菌数の増加傾向は処理水ごとに異なることが示された。続いて、残留塩素消失過程を模擬した微生物再増殖試験を実施した結果、試験期間中の遊離塩素濃度変化から計算された Ct 値が小さかった試料を中心に塩素処理後の試料からレジオネラ属菌が確認された。最後にラボスケール試験により、残留塩素による生物膜の不活化、水流による生物膜の剥離、剥離したレジオネラの不活化といった過程を把握し、給水管内のレジオネラ存在量と残留塩素濃度から水道水中のレジオネラ濃度を推定可能な数理モデルを構築した。

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。

具体的には水質管理目標設定項目である従属栄養細菌数(HPC)測定について、浄水処理プロセスでの培養時間の違いによるコロニー数の変化について調査した。

続いて、室内実験により浄水プロセス試料に対して異なる条件で塩素処理を行った後、残留塩素消失過程を模擬することで、レジオネラ属菌、HPC、自由生活性アメーバ(FLA)の再増殖を経時的に調べた。

最後に室内実験に基づき、給配水管内でのレジオネラの挙動を数理モデルで表現することを試みた。

B. 研究方法

オゾン-活性炭処理を導入している高度浄水処理施設での3つの処理水（オゾン処理水、活性炭処理水、急速ろ過処理水）を対象として、HPC測定における培養時間（1週間、2週間）による影響を評価した。

続いて、高度浄水処理施設において採水した活性炭処理水を被験水とし、室内実験による培養実験を行った。まず、遮光した滅菌ガラス瓶に被験水を分注し、GVPN 培地であらかじめ培養した *Legionella feeleii* 血清群 1（過去に水道水から単離した株）を初期濃度 8.5×10^3 CFU/L となるよう植菌し、20 °C または 30 °C で 24 時間静置した。24 時間経過後に、次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加して塩素処理を実施した。塩素処理後の各試料を 20 °C または 30 °C に静置し、2~3 日毎に採水して残留塩素濃度および微生物数の測定を行った。レジオネラ属菌は 100~250 mL の試料を孔径 0.20

μm の Isopore メンブレンフィルターを用いて捕集した後、上水試験方法に従い 10 分間の酸処理を行い、GVPN または GVPC 培地を用いて 37 °C で 7 日間培養した。従属栄養細菌数は R2A 平板培地を用いて 20 °C、7 日間の培養後にコロニーを計数して求めた。FLA 測定は 0, 8, 14 日目のみ実施した。500 mL の試料を孔径 3.0 μm のメンブレンフィルターを用いて 1 mL に濃縮し、熱不活化した大腸菌液を塗布した無栄養寒天培地を用いて 30 °C で培養し、位相差顕微鏡観察を実施するとともに、形成されたプラーク数を計数した。

最後に実験室内でレジオネラを含む生物膜を作り出し、残留塩素による生物膜の不活化、水流による生物膜の剥離、剥離したレジオネラの不活化といった過程を把握した。まず実験室でレジオネラを含む生物膜を形成させた。給配水管内の水理条件を再現可能なアニュラーリアクター (Model 1320LS, Biosurface Technologies) 3 台にエポキシ樹脂粉体塗膜製の試験片を 20 枚ずつ装着し、淀川流域の浄水場における原水 (淀川表流水) を流量 25~50 mL/min で循環通水した (回転数: 12 rpm)。原水は毎週新しいものに取り替え、通水期間は実験の目的に合わせて 12~80 日間とした。次に生物膜やその内部のレジオネラの遊離塩素による不活化効果の有無を把握するため、以下の通りに作製した生物膜に対する消毒実験を行った。まず生物膜形成後のアニュラーリアクターに対して、遊離残留塩素濃度が約 1.5 mg/L となるように調整した京都大学実験室の水道水を連続的に供給した (流量: 40 mL/min)。なお、内部シリンダの回転数は生物膜形成時と同様に 12 rpm とした。その後、時間的に試験片を取り出し、PBS 中でセルスクレーパーによる生物膜の剥離と超音波による分散処理を施した後、得られた試験水の従属栄養細菌を測定した。また、流入・流出水の遊離塩素濃度も定期的に測定した。次に生物膜を形成させた試験片を設置したアニュラーリアクターに対して実験室の水道水 (塩素中和済み) を流量 80~84 mL/min で連続的に流入させた。運転中、リアクター内部のシリンダ回転数を約 230 rpm と設定することで、内径 20 mm の給水管に水道水を約 0.5 m/s の流速で流した場合に生じるせん断力を再現した。試験片を時間的に取り出し、PBS 中で試験片の超音波処理を行って得られた試

験水を孔径 0.2 μm のポリカーボネート製メンブレンフィルターでろ過し、DNeasy® PowerWater Kit (QIAGEN) でろ紙上の DNA を抽出した。この抽出液に対して、全細菌 (16S rRNA 遺伝子) とレジオネラ属菌の遺伝子濃度を qPCR 法によって測定した。なお、本実験は生物膜形成期間の異なる 2 セットの試験片 (13 日間と 75 日間) を用いて 2 回行った。最後に、水流によって剥離されたレジオネラの不活化速度をより実際に近い形で把握するため、生物膜の剥離物に対して消毒実験を行った。具体的には、PBS で満たしたアニュラーリアクター内で生物膜形成させた試験片を高速回転 (230 rpm、4 時間×2 回) させて生物膜を剥離・懸濁させ、得られた懸濁液に対してバッチ式で塩素処理を行い、時間的に従属栄養細菌/レジオネラ属菌の培養と残留塩素濃度の測定を行った。

C. 結果及び D. 考察

1. 従属栄養細菌測定における培養時間の影響

表 1 にオゾン処理水、活性炭処理水、急速ろ過処理水での HPC 測定結果 (合計 3 回分) をまとめる。本調査で得られた結果より、オゾン処理、急速ろ過処理と活性炭処理水で従属栄養細菌測定に対する培養時間の影響が異なることが明らかとなった。活性炭処理水で検出された従属栄養細菌の特徴として、2 週間後に検出されたコロニーは非常に小さい形状であった。その点も踏まえると、今回の培養条件 (R2A 平板培地, 20°C) では非常に増殖が遅い細菌が、2 週間の培養によりコロニーとして出現したと考えられる。

保坂ら (2001) は、下水処理水、タンク水、給水栓水に対する従属栄養細菌試験における培地並びに培養条件の検討を行っており、R2A 寒天培地を用いた場合、試料水ごとに培養時間とコロニー数の増加割合が異なる傾向が確認されている¹⁾。本調査においても処理水ごとに傾向が異なることから、処理プロセス内での細菌の除去・不活化効果を含め、従属栄養細菌の挙動を正確に把握するためには、培養時間、そして培養温度も含め検討が必要であると考えられる。

2. 残留塩素消失過程を模擬した微生物再増殖試験

塩素処理条件ならびに24時間後の実測塩素濃度、試験期間中の遊離塩素濃度変化から計算されたCt値、ならびにレジオネラ検出結果を表2にまとめて示す。

塩素処理なしの試料では、すべての試料でレジオネラ属菌の増殖が確認され、植菌操作後6日目には増殖が定常期に達した。定常期における平均レジオネラ属菌数は20℃培養試料では 3.2×10^6 CFU/L(1回目)、 2.3×10^6 CFU/L(2回目)、30℃培養試料では 4.4×10^6 CFU/L(1回目)、 7.3×10^6 CFU/L(1回目)となり、30℃培養の方が増殖量が大きかった。

一方、塩素処理を行った試料では、表2に示すようにCt値が最小であった設定塩素濃度0.1 mg/L、30℃培養試料において6回のサンプリング中3回と、最も高頻度でレジオネラ属菌が検出された。この試料の残留塩素濃度、レジオネラ属菌数、従属栄養細菌数の経時変化を図1に示す。塩素処理後にいったん不検出となった後、再度検出されたレジオネラ属菌数は200~760 CFU/Lであり、植菌量よりも明らかに減少していた。

また、今回の実験では、レジオネラ属菌の宿主となるFLAは設定塩素濃度0.3 mg/L、30℃培養試料の8日目、塩素処理なしの20℃/30℃培養試料の14日目の500 mLサンプリング試料からのみ検出された。従属栄養細菌数は塩素処理により不活化されて0.5 CFU/mL以下に減少したが、遊離塩素濃度が0.1 mg/Lを下回ると急激に増殖し始め、最大濃度は 10^5 CFU/mLオーダーに到達した。

Kuiperらは、水道水試料を用いた回分試験により、塩化ポリビニルチューブ上の微生物再増殖は*L. pneumophila*を植種後、始めにATPおよびHPCの増加が起こり、その2~3日後に*L. pneumophila*が増殖したと報告している²⁾。そこで、塩素処理を行った試料を対象として、各微生物が増殖を始める時間差を考慮に入れて、各採水試料のレジオネラ属菌数とレジオネラ測定日より2~3日前時点における各試料のHPC濃度を比較した。結果を図2に示す。浴槽水のレジオネラ水質基準(10 CFU/100 mL)を参考として、レジオネラ属菌数が100 CFU/L以上で検出された試料に着目すると、2~3日前の時点でHPCが 1.9×10^3 CFU/mL

以上に再増殖していた。

3. 給配水管内におけるレジオネラ属菌に関する挙動モデルの構築

図3に消毒実験におけるリアクター流入/流出水中の残留塩素濃度と試験片上の従属栄養細菌数の変化を示す。リアクター内部の残留塩素濃度が約1.5 mg/Lに安定するのに5時間程度要したものの、試験期間を通じて試験片上の従属栄養細菌数は初期の $4.4 \log$ CFU/cm²から顕著な減少は見られなかった。生物膜は内部の細菌を消毒剤から保護することが知られており³⁾、本実験でもその様子が確認された。今回はレジオネラの培養は行っていないが、生物膜内部に存在するレジオネラは同様に塩素による不活化を免れると考えられる。したがって、モデル式の構築時には、給水管内面のレジオネラは残留塩素によって不活化しないものと想定した。

続いて、図4に剥離実験における全細菌(16Sr DNA)とレジオネラ属菌の定量結果を示す。初期の全細菌やレジオネラ遺伝子密度は $4.6 \sim 5.5 \log_{10}$ copies/cm²(1回目)、 $6.3 \sim 6.9 \log_{10}$ copies/cm²(2回目)であったが、いずれの回でも3時間程度で全細菌とレジオネラ密度は急激に減少し、その後減少速度は緩やかとなった。特に3時間経過後のレジオネラの減少幅は2回目の方が1回目よりも $1.9 \log_{10}$ 程度大きかった。これは実験に供した生物膜の形成期間が異なり(1回目:13日間、2回目75日間)、水流によるせん断力に対する生物膜の剥離特性が異なったためと考えられる。これら実験2回分の開始後0~3時間の結果に対する線形近似によって、以下の式(1)で表される1次の剥離速度定数 k_d を0.023, 0.047 min^{-1} と推定できた。

$$\ln \frac{C_b}{C_{b,0}} = -k_d \cdot t \quad (1)$$

C_b : 生物膜中のレジオネラ密度 (\log copies/cm²)、
 $C_{b,0}$: 生物膜中の初期レジオネラ密度 (\log copies/cm²)、 t : 経過時間(min)

図5に生物膜から剥離した従属栄養細菌を対象とした消毒実験2回分の結果を示す。20~30 mg・min/L程度のCT値で2~3 \log_{10} 程度の急激な不活

化が確認され、その後不活化のカーブは緩やかとなった。レジオネラは元の生物膜における存在量が小さかったため、消毒後の検体からは培養法で検出できなかった。そこで、剥離後のレジオネラの不活化速度は上述の従属栄養細菌の結果で代替することとした。レジオネラの不活化は式(2)

$$\ln \frac{C_v}{C_{v,0}} = -k_{Cl_2} \cdot C_{Cl_2} \cdot t \quad (2)$$

で表される Chick-Watson 式に従うと仮定した(図 5)。 C_v : 水中の生レジオネラ数(cells/L)、 $C_{v,0}$: 初期の生レジオネラ数(cells/L)、 k_{Cl_2} : 不活化速度定数(L · min⁻¹mg⁻¹)、 t : 経過時間(min)

最後に、上記の実験結果を踏まえて給配水管内でのレジオネラの挙動を定式化した。仮想的な給水管(内径 20 mm、長さ 1 m)における押し出し流れを想定し、まず管内の任意の場所において生物膜から剥離したレジオネラの濃度 C_T を以下の式(3)に従って表現した。なお、この濃度 C_T は生死を区別しない全レジオネラ濃度を意味する。

$$\frac{\partial C_T}{\partial t} = -u \cdot \frac{\partial C_T}{\partial x} + SA \cdot k_d \cdot C_{b,0} \cdot \exp(-k_d \cdot t) \cdot CF \quad (3)$$

C_T : 時刻 t 、位置 x におけるレジオネラ濃度(死菌含む)(cells/L)、 u :管内流速(m/s)、 SA : 給水管単位体積辺りの内面積(200 m²)、 $C_{b,0}$: 流速増加開始時の給水管内面のレジオネラ密度(cells/cm²)(生菌状態(感染能を有する)、0.1 cells/cm²と設定)、 CF : 単位換算用の定数(1/6)、 u : シャワー利用時の流量(0.5 m/sと設定)

上述のように、生物膜の塩素による不活化は確認されなかったため、モデル上でも剥離前の生物膜中レジオネラは不活化されないものとした。 k_d として 0.023, 0.047 min⁻¹の値を用いて計算したところ、図 6(a)のように剥離したレジオネラの管出口での濃度変化を推定できた。続いて、流速増加して時間 t 後に排出された水道水は時間 t だけ塩素消毒されたものと仮定し、剥離したレジオネラ濃度 C_T のうちの生菌状態のレジオネラ濃度 C_v を以下の式(4)に従って推定した。 k_{Cl_2} には消毒実験で得られた 0.21, 0.25 L · min⁻¹mg⁻¹を用い、残留塩素濃度 C_{Cl_2} は 0.5 mg/L(一定)とした。

$$C_v = C_w \cdot \exp(-k_{Cl_2} \cdot C_{Cl_2} \cdot t) \quad (4)$$

k_d 、 k_{Cl_2} の全てのパラメータセットを用いて蛇口での生菌状態のレジオネラ濃度変化を推定した結果、給水管内のレジオネラ存在量($C_{b,0}$)が 0.1 cells/cm²の場合、管出口におけるレジオネラ生菌数は最大で 0.01~0.03 cells/L 程度となり、その後水道水の使用に伴って下がっていった(図 6(b))。

E. 結論

本研究では、水道システムの細菌汚染問題、特にレジオネラ汚染とその指標性の検討として取り上げられた従属栄養細菌の測定に関する調査を行った。

- ・オゾン処理、活性炭処理、急速ろ過処理を対象とし、各処理水での従属栄養細菌数を測定した結果、培養時間の延長(1週間から2週間)に伴う従属栄養細菌数増加の傾向は処理水ごとに異なることが示された。

- ・残留塩素消失過程を模擬した微生物再増殖試験を実施した結果、試験期間中の遊離塩素濃度変化から計算された Ct 値が小さかった試料を中心に塩素処理後の試料からレジオネラ属菌が検出された。しかし、FLA 内でのレジオネラ属菌の再増殖は再現できなかった可能性があり、FLA 存在下における HPC およびレジオネラ属菌の再増殖評価が必要である。

- ・ラボスケール試験により残留塩素による生物膜の不活化、水流による生物膜の剥離、剥離したレジオネラの不活化といった過程を把握し、給水管内のレジオネラ存在量と残留塩素濃度から水道水中のレジオネラ濃度を推定可能な数理モデルを構築できた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 誌上発表

- 1) 大河内由美子, 泉山信司, 前川純子: 貯水槽水道で滞留した水道水からのレジオネラ属菌および関連微生物の検出状況, 日本防菌防黴学会誌, 48(8), pp. 377-382, 2020.

2. 学会発表

該当なし

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) 保坂三継, 眞木俊夫. 水の従属栄養細菌試験における培地並びに培養条件の検討. 東京衛研年報, 52, 245-249, 2001.

- 2) Kuiper, M. W., Wullings, B. A., Akkermans, A. D. L., Beumer, R. R., and van der Kooij, D. Intracellular proliferation of *Legionella pneumophila* in *Hartmannella vermiformis* in aquatic biofilms grown on plasticized polyvinyl chloride. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70(11), 6826-33, 2004.
- 3) Xue, Z., Sendamangalam, V. R., Gruden, C. L., and Seo, Y. Multiple roles of extracellular polymeric substances on resistance of biofilm and detached clusters. *Environ. Sci. Technol.*, 46(24), 13212-13219, 2012.

表 1 従属栄養細菌数測定に対する培養時間の影響

サンプル名	1回目			2回目			3回目		
	1week	2week	増加率	1week	2week	増加率	1week	2week	増加率
	CFU/mL	CFU/mL	(%)	CFU/mL	CFU/mL	(%)	CFU/mL	CFU/mL	(%)
オゾン処理水	6.7	7.7	15.0	0.7	0.7	0.0	0.7	1.0	50.0
活性炭処理水	37.7	436.3	1058.4	0.3	10.3	3000.0	10.3	88.3	754.8
急速ろ過処理水	3.0	12.0	300.0	0.9	1.0	10.8	0.3	0.3	6.3

表 2 塩素処理・培養条件とレジオネラ検出結果

被験水	20~24時間後の 設定塩素濃度 (mg/L)	培養温度 (°C)	24時間後の実測塩素濃度(mg/L)		算出されたCt値 (mg・min/L)	レジオネラの 検出回数	検出された レジオネラ属菌数 (CFU/L)
			全塩素	遊離塩素			
1回目採水試料 (2021年1月)	0	20	—	—	—	6/6	3.2×10 ⁶
		30	—	—	—	6/6	4.4×10 ⁶
	0.3	20	0.40	0.27	1548	1/6	80
		30	0.24	0.11	814	2/6	80~160
	0.8	20	0.87	0.74	7668	0/6	<40
		30	0.70	0.58	3334	2/6	40~80
2回目採水試料 (2021年3月)	0	20	—	—	—	6/6	2.3×10 ⁶
		30	—	—	—	6/6	7.3×10 ⁶
	0.1	20	0.14	0.06	284	2/6	40~120
		30	0.07	0.02	169	3/6	200~760
	0.2	20	0.25	0.12	562	1/6	40
		30	0.13	0.03	234	2/6	120

塩素処理試料のレジオネラ検出下限値：40 CFU/L

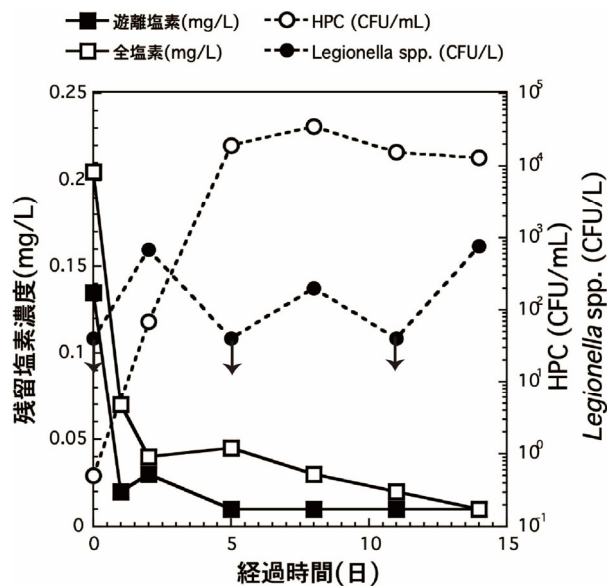


図1 残留塩素消失過程における従属栄養細菌数およびレジオネラ属菌数の経時変化 (設定塩素濃度 0.1 mg/L・培養温度 30 °C) 図中の↓は定量下限値 (40 CFU/L) 未満を表す。

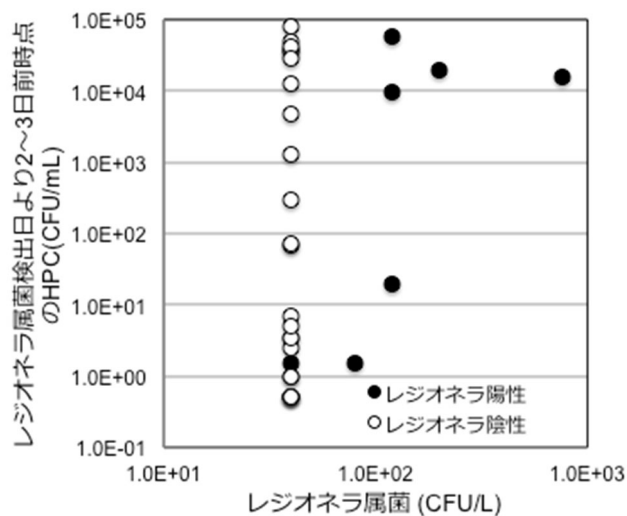


図2 各試料におけるレジオネラ属菌数とレジオネラ測定日より2～3日前の時点の従属栄養細菌数の関係

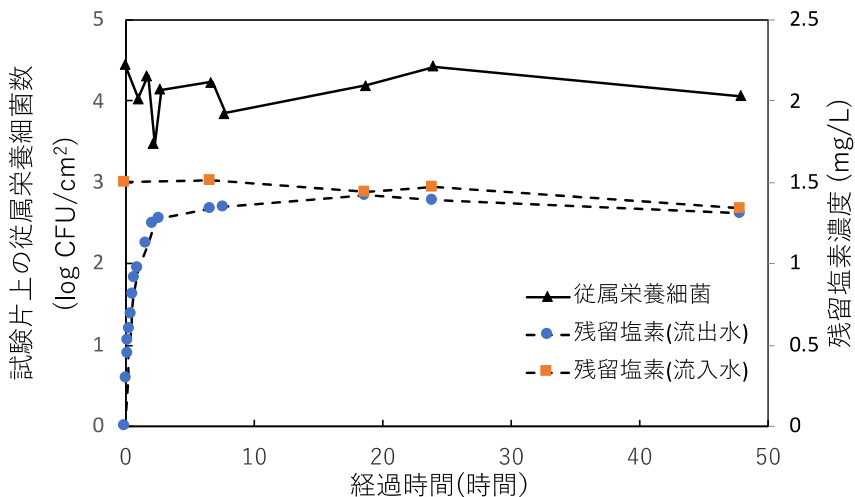


図3 生物膜の消毒実験結果

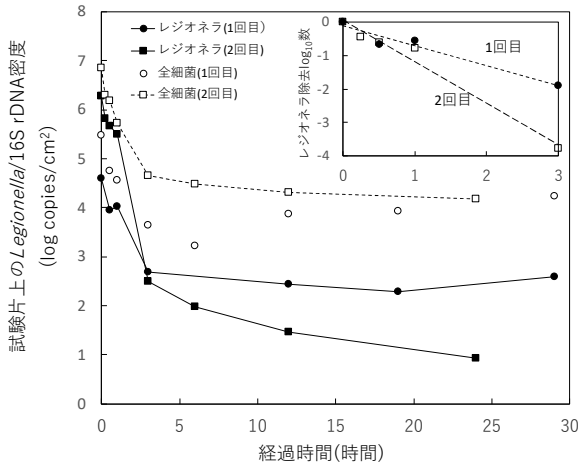


図 4 生物膜の剥離実験結果 (図中右上は運転初期のレジオネラ除去 \log_{10} 数)

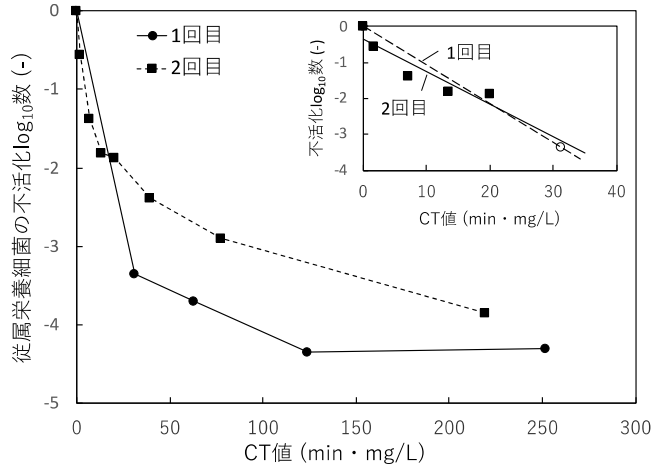


図 5 生物膜の剥離物に対する消毒実験結果 (図中右上は消毒初期における直線近似)

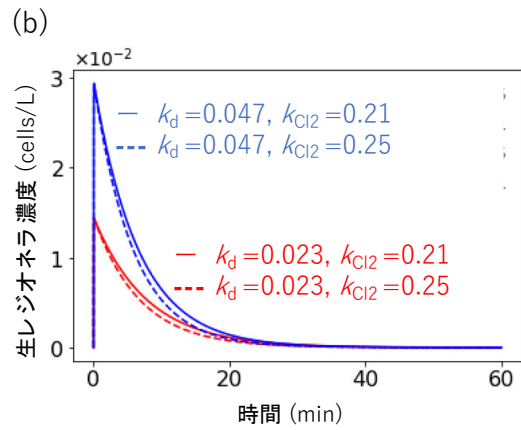
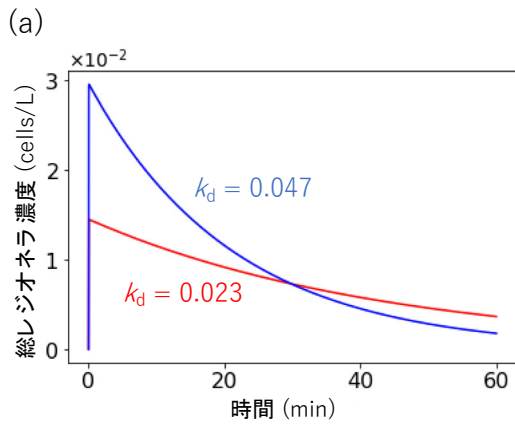


図 6 各速度定数によって推定されたシャワー水中のレジオネラ濃度変化 ((a) : 全レジオネラ濃度、(b) : 生菌状態のレジオネラ濃度)

令和2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

耐塩素性病原微生物の顕微鏡検査を遺伝子検査で補い、浄水場の対策に反映された例

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	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	藤瀬 大輝	(川崎市上下水道局 水管理センター水道水質課)
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	黒木 俊郎	(岡山理科大学獣医学科)
研究協力者	井上 亘	(神戸大学理学研究科生物学専攻)
研究協力者	中嶋 直樹	(神奈川県衛生研究所)

研究要旨

水道におけるクリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物の検査は、水道原水 10L 中のわずかに1つを顕微鏡で検出する、容易ではない検査が行われている。ある河川水原水では、上流に民家や畜産施設がほぼ無く、クリプトスポリジウムやジアルジアの検出がないとされてきたが、特異蛍光抗体で染色されるジアルジア大の粒子が観察されていた。その粒子は、従来の鑑別基準での核の配置とは異なっていたので、ジアルジアとは判断されていなかった。遺伝子検査を行うと RT-PCR が陽性となり、げっ歯類で報告のある *Giardia microti* の塩基配列が得られた。その塩基配列はヒトでの感染報告例が見当たらず、直ちに高いリスクが生じるとは言わずに済むようであった。取水地点より上流を調査すると、河川水と野生のネズミの糞便から同じ塩基配列が検出された。河川の過去の冷凍試料にさかのぼって検査すると、時々試料からクリプトスポリジウムの RT-PCR 陽性と塩基配列が得られた。耐塩素性病原微生物の排出源が想定外に明らかとなったことから、免疫不全等の健康弱者が感染し重篤化する可能性、ヒトで感染する種や株が野生動物の間で流行する可能性を考慮し、浄水処理の徹底、すなわちろ過池の濁度の監視や洗浄の徹底と、紫外線処理の導入といった対策が行われた。以上は遺伝子検査を併用して顕微鏡検査の結果を補い、野生動物由来の糞便汚染とジアルジアの流行を検知し、浄水場の対策に反映することで、水道水質の向上に資することのできた例であった

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、糞便中に排出されたオ

ーシストとシストの経口摂取により糞口感染する。

いずれも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)}。海外でもクリプトスポリジウムやジアルジアの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、未だ変わりが無い³⁻⁶⁾。大きな集団感染だけでなく、低濃度の汚染から散発的な感染が生じてしまうことも問題になる。10L中に最大で0.08個のクリプトスポリジウム濃度の水道水を給水人口6万人に対して供給し、218人の患者発生が英国で報告されている⁷⁾。

つまり、わずか1個であっても感染確率が高く、水道における耐塩素性病原微生物の対策としては、汚染の濃度が低ければ良いとか、少数の感染は無視して良いという話ではなく、可能な範囲で除去や不活化することが望ましいと言える⁸⁻¹¹⁾。クリプトスポリジウムやジアルジアの検出を糞便汚染の指標と捉えることも可能で、ヒト感染しづらい病原体であれば、浄水場の対策をしなくてよいということでもない。対策には国内でよく使われている急速ろ過以外に、緩速ろ過、膜処理、紫外線処理と、これらの組み合わせが用いられることがある¹²⁾。ろ過の性能が低下したり、ろ過池に濃縮された汚染が水道水に入らないような、ろ過池の管理も必要とする。病原体の検査はリアルタイムな結果を得ることができないので、濁度計でろ過池をリアルタイムに監視したり、丁寧なるろ過の開始と終了、洗浄の徹底といった対策が行われている。

水道のクリプトスポリジウム等検査法は、検出に顕微鏡検査を基本としているが、遺伝子検査も使用可能となっている¹²⁾。水道原水になる河川水から汚染が顕微鏡で検出された際に、上流の汚染源を遺伝子で追跡された事例が報告されている^{13,14)}。単に蛍光抗体で染色されたオーシストやシストが顕微鏡下に検出されただけでなく、その種類や遺伝子型、塩基配列と言った情報が増えるほど、検査の精度・確度の向上や、

排出源の情報が得られる。そしてその結果を根拠として、排出源の対策や指導に活用されているが、浄水場の対策に活用された例は国内に見当たらなかった。

ある河川水の検査において、ジアルジアの大きさだが、内部構造が *Giardia lamblia* とは異なって見える粒子が検出された。従来の顕微鏡検査の鑑別基準で判断すれば、ジアルジアではないことになってしまうが、遺伝子検査により確認を行い、ジアルジア属の遺伝子の配列が得られた。本研究では顕微鏡の結果を遺伝子の結果で補い、浄水場の対策に反映され、水質の向上に貢献できた例であったことから報告する。

ジアルジアはヒトに感染する種類として、*G. lamblia* assemblage A または B がもっぱらとされ、まれにイヌの C と D、偶蹄類の E が報告されたことがある¹⁵⁾。他に *G. agilis*、*G. ardeae*、*G. microti*、*G. muris*、*G. psittaci*、*G. varani* の種もあるが、ヒト感染は知られていない。クリプトスポリジウムはヒトに感染する種類として、*Cryptosporidium hominis* と *C. parvum* が多く、それ以外の種も検出される¹⁶⁾。当初、宿主域は狭いと考えられていたが、クリプトスポリジウムは150種以上の宿主から検出され、例えば *C. parvum* や *C. ubiquitum* はヒトを含め宿主域が広いことが明らかとなっている。げっ歯類を中心に感染する *C. muris* の場合、免疫不全者に感染が集積する恐れがあり、健康弱者への配慮は必要であろう¹⁷⁾。

B. 研究方法

B1 河川水からの原虫検出

着水井もしくはその上流域の河川より10Lを採水し、検査指針¹²⁾に準拠して(オー)シストを精製した。すなわち、PTFE フィルター法で濃縮し、免疫磁気ビーズ法(Dynabeads GC-Combo)でクリプトスポリジウムとジアルジアを精製した。同じサンプルから検鏡と遺伝子検査の両方を行う場合は、精製を終えた段階でサンプルを等分

した。検鏡法に蛍光抗体染色液(アーク・リソース製 ARK Fluor Ab C/G)を使用した。遺伝子検査法に、クリプトスポリジウムの SSU rDNA を標的とする RT-PCR(CY230、タカラバイオ)、ジアルジアの SSU rDNA を標的とする RT-PCR(CY231、タカラバイオ)、*G. muris* の SSU rDNA を標的とする RT-PCR(下記)、 β ジアルジン遺伝子を標的とするリアルタイム PCR とジアルジア属を広く検出できる SSU rDNA を標的としたコンベンショナル PCR を使用した^{18,19)}。

B2 *G. muris* を検出する RT-PCR 法の新規開発
ジアルジアの SSU rDNA を標的とする RT-PCR(CY231)は、ジアルジア属のうち *G. lamblia*、*G. microti*、*G. psittaci* が検出可能と予測され、*G. muris* は対象とされていなかった。ジアルジア属を広く検出できるコンベンショナル PCR を試して 245bp 程度の *G. muris* 配列(図 1 の A03、B10)を得たが、一部サンプルからは違う生物の遺伝子が多く増幅された¹⁹⁾。そこで新規に *G. muris* に特異的な RT-PCR 法を開発した。プライマー、プローブはソフトウェア「Edesign」の Web インターフェースを用いて設計し、既知の配列を参考に一部混合塩基にした²⁰⁾。増幅領域は図 1 に、反応条件とプライマー、プローブは表 1 に示した。

この RT-PCR 法に使用できる陽性コントロールとして、図 1 の A03(245bp)、B10(246bp)の配列をプラスミドベクター pEX-A2J2 に挿入した人工遺伝子 2 種を作製した(ユーロフィンジェノミクス、東京)。

B3 汚染源調査

日本においては *G. microti* の検出報告例が見あたらず、海外での既知の宿主(マスカラット、野ネズミ類)から、日本の宿主を予想した²¹⁻²⁴⁾。日本に生息する野ネズミ類のうち、その上流域に生息が予想される、近縁の野ネズミ類(アカネズ

ミ、ヒメネズミ、ハタネズミ、ヤチネズミ)4 種をターゲットとして、シャーマントラップによる捕獲を行った。

捕獲調査は 2018 年の 6 月(3 日間)、8 月(2 日間)、10 月(2 日間)の全 3 回行った。この捕獲調査は関係法規を順守し、関係省庁に所定の手続きをしてから行った。

捕獲地点は、浄水場の集水区となっている上流域(図 2)で、河川から *G. microti* が検出されたことのある 3 地点(地点 A、B、C)と、検出されたことのない 1 地点(D)を選択した。捕獲した野ネズミ類は、現場で写真撮影、体長・尾長・耳長などを測定、糞便の回収を行った後に、放逐した。ネズミの種類は、記録した形態と、一部は SSU rDNA の一部配列から判別した。

糞便サンプルから精製操作後に等分し、検鏡検査と遺伝子検査を行った。野ネズミ類の捕獲と検鏡検査の一部は、エヌエス環境株式会社に委託した。

捕獲第 1 日目もしくは 2 日目に各地点の河川の採水と検査を行った。

B4 紫外線処理の検討

施設能力 3 万 m³/日以上で紫外線処理または膜処理を実施している 14 の水道事業体に、導入経緯、導入費用、ランニングコスト等を回答してもらえる範囲で聞き取りを行った。聞き取り内容を参考にして、当浄水場への導入コストを試算した。

B5 洗砂機と濁度管理の対策

既存の洗砂機(5 槽式、洗砂量 4m³/h、使用水量 50m³/h)を用いて、使用水量の増量や、洗砂機を 2 機連結しての 2 回洗砂を行い、洗浄水の濁度を検討した。新規の洗砂機(2 タンク式、洗砂量 4m³/h、使用水量 40m³/h 以下)も導入した。

ろ過池の濁度管理は、コストや維持管理性を考えて、全 12 ろ過池に個別に濁度計を設置す

るのではなく、ろ過池のサンプリングを切り替えられる監視システムを北系、南系の系統別に導入した。切り替えは、遠方もしくは現場での手動、又はタイマーによる自動切り替えを可能とした。

C. 結果及び考察

C1 河川水からの原虫検出

河川水の水道原水からクリプトスポリジウム等の顕微鏡検査を行い、ジアルジアサイズのシスト壁らしきものは観察されるが、核の配置が従来とは異なり、ジアルジアとは言い難いシスト様粒子(図 3A)の存在する状況が続いた。

遺伝子検査を導入すると、検鏡検査では陰性でも、ジアルジアの RT-PCR が陽性となった。遺伝子の非特異的な増幅を疑い、塩基配列を確認すると、確かにジアルジア属の遺伝子であった。配列の一致率は、データベース上の近縁の配列(AF006676)を基準として、混合塩基を一致とみなせば、99.6% (=224/225bp)であった。系統樹解析の結果から *G. microti* (図 4)と推定された。

2017 年 4 月の検出から毎月 1 回以上着水井のジアルジアの検査を行っており、2019 年 7 月までに遺伝子検査を行った 28 ヶ月計 33 サンプルのうち、20 サンプルでジアルジア遺伝子の増幅が確認された。一部抜粋して 2018 年 8 月から 2019 年 7 月分の検査結果を表 2 に示した。他にも河川上流域の複数地点からも遺伝子増幅産物を得た。シーケンスに成功した着水井 14 サンプルと上流域 24 サンプルは、全て上記の *G. microti* と同じ配列であった。なお、*G. lamblia* 遺伝子は検出されなかった。

C2 *G. muris* を検出する RT-PCR 法の新規開発

検鏡検査を繰り返すうちに、核の DAPI 像や微分干渉像より、ジアルジアと断定、もしくは推定されるシストを確認した(図 3B)。使用中の RT-PCR は *G. muris* を検出しないとされていたことか

ら、*G. muris* の RT-PCR 法を開発し、*G. muris* も検出された。

試行した範囲で着水井 3 サンプル、浄水場上流域 2 サンプル、後述のネズミ調査地点の河川水 1 サンプル、捕獲されたネズミ 3 個体から、新規 RT-PCR が陽性となり、増幅産物の塩基配列も *G. muris* 配列が得られた(表 3)。合計 9 つの配列は 2 種類に分かれ、A03 系統は 4 サンプル、B10 系統は 5 サンプルあった(図 1)。環境中からは 2 種類の配列が取得されたが、ネズミの糞便からは片方の B10 系統の配列しか得られておらず、ネズミの捕獲検査数が不足したか、あるいはネズミ以外にも排出源の存在する可能性が懸念された。

以上のとおり、検鏡法の定期検査では原虫を確定できなかったところを、遺伝子検査で補うことができた。増幅産物の塩基配列を読み取ることによって結果を確認し、必要によりプライマー、プローブを変更することで特異性を修正した。

C3 汚染源調査

浄水場の集水区となっている上流域(図 2)の汚染実態を調査した。具体的には、前述の上流の河川水の検査と、宿主と予想されるげっ歯類の感染状況を 4 地点(A から D)で調査した。

野ネズミ類は 83 匹(再捕獲個体は含まない)捕獲され、うち 47 匹分の糞を精製して原虫検査を行った。検鏡検査でジアルジアと断定できるシスト(図 5 右)が見られた 3 検体と、同程度の大きさのシスト壁らしき蛍光のみが見られた 14 検体、計 17 検体を表 4 に示した。*G. microti* 遺伝子が検出されたのは 17 検体中、4 検体であった(表 4)。ネズミから検出した *G. microti* と捕獲地点周辺河川や着水井で検出した *G. microti* の塩基配列は、混合塩基を一致とみなせば、全期間、全地点でほぼ同じ(99~100%)であった。わずかに違いがありそうに見えても、シーケンスエラーと考えられた。

個体番号 034 はジアルジアシストが観察されたにも関わらずジアルジア RT-PCR (CY231) による検査結果が陰性であった(表 4)。その相違より CY231 が反応しない *G. muris* であることを疑い、 β ジアルジン領域を増幅するリアルタイム PCR を表 4 の 17 検体に試したところ、3 検体で確かな増幅があった。さらに、本研究で開発の *G. muris* を検出する RT-PCR を行い、増副産物の塩基配列を確認し、当該 3 検体は *G. muris* 陽性であることを確認した。

その他のシスト壁しか見えない試料については、治癒の途中で濃度が低く、溶解するなどして内容の栄養体が糞便中から失われたのかもしれない。仮に中身が空のシスト壁であってもジアルジアであるなら、検出率が 36% (=17/47) と高く、げっ歯類の間での大流行が懸念された。遺伝子の検出された陽性率では、*G. microti* が 9% (=4/47)、*G. muris* が 6% (=3/47) と、決して低くない数字であった。野ネズミとはいえ感染流行が大きくなれば、水道原水から見つかるほどに汚染が生じてしまうと考えられた。

ジアルジアが検出される野ネズミの種類は、以下の通りであった(表 5)。海外ではマスカラットの他、野ネズミ類では *Apodemus* 属(アカヒメネズミに近縁)・*Microtus* 属(ハタネズミに近縁)・*Myodes* 属(ヤチネズミに近縁)からの *G. microti* の検出報告があるが、国内では見当たらず、少なくともハタ/ヤチネズミが日本における *G. microti* の宿主の一部であると判明した¹⁹⁾。例数は少ないが、*G. microti* は高率に感染しており、ハタネズミが 100% (=陽性 2/2 個体)、ヤチネズミが 67% (=2/3) の検出率であった。アカネズミとヒメネズミには *G. microti* の検出がなかった。*G. muris* の検出はアカネズミに限られ(13% = 3/24)、同じげっ歯類でも棲み分けや流行状況の相違が想像された。

検出された位置関係は以下の通りであった(図 2)。地点 A と C は *G. microti* 陽性のハタ/ヤ

チネズミが捕獲され、着水井、周辺河川からもほぼ同じ配列の *G. microti* が検出された。すなわち地点 A と C のハタ/ヤチネズミが、浄水場の上流域を汚染させていると示唆された。下流の地点 B は河川からは *G. microti* が検出されたものの、ハタ/ヤチネズミが捕獲されなかったため、現場の流行状況が不明であった。*G. microti* が河川水から検出されたことのない地点 D は、ヤチネズミからも *G. microti* は検出されなかった。以上の通り、河川とネズミからの検出と、位置関係は、およそ対応していた。

ジアルジアの検鏡像について触れておくと、ネズミ由来の *G. microti* と *G. muris* のシストは、大きさと見た目に特に違いが無く、核の配置が若干異なる程度であった。着水井では、2017 年のジアルジア検出より以前から、検査担当者が四ツ目タイプと呼称するシスト様粒子(図 3A)を観察していた。このような核が互いに離れた生物は、4 つの核が片側に寄っている *G. lamblia* ではないと認識していた。一方、*G. microti* 陽性のネズミ糞便中に、四ツ目タイプが存在(図 5 左)した。文献的にはこれら四ツ目タイプとよく似たものの(表 6)が、*G. microti* の「mature cyst」・「binary cyst」として記載されており²¹⁻²⁴⁾、本研究の顕微鏡観察と遺伝子検査の結果に矛盾しないことを確認した。今後の検査では、形態に思い込みを持ち過ぎないことが必要と考えられた。

C4 紫外線処理の検討

水道原水に想定していなかった汚染源が明らかとなったことから、長期的な対策が検討された。協力を得た 14 の水道事業体に、外部への情報提供をしないという前提で聞き取りを行い、ここでは詳細を記載しない。

ろ過施設と紫外線処理を併用している事業体の導入経緯は、原水及び上流で原虫が確認されたため、ろ過施設等に不具合が生じたときの補完施設として設置したとの回答がほとんどであ

った。一方で膜処理施設を導入した事業者は、上流に汚染の恐れがある施設が存在しているため、恒久的な対応として安全性を考慮し、既存施設を補完するのではなく施設の老朽化にあわせ浄水処理方法を膜処理方法に変更したとの回答が多く見られた。

聞き取り結果から紫外線処理施設、膜処理施設のイニシャル、ランニングコストを試算した。イニシャルコストは、紫外線処理施設で膜処理施設の3から4分の1程度、ランニングコストは年間で2分の1程度となった(2017年時点)。導入費用、ランニングコスト共に紫外線処理施設が安価であった。

工事の規模についても考慮された。当該浄水場は基幹施設であるため、既存のろ過池を継続利用しながら膜処理施設を新たに建設するには十分な敷地が無く、ろ過池を撤去して膜処理施設にすることは困難と考えた。一方で既にある緩速ろ過池に紫外線を補完する工事は建設方法によりこの問題を解決できると考えられた。

また、膜処理による浄水の味の変化が懸念された。当該浄水場は緩速ろ過池と良質な原水を活用し、おいしい水道水を供給する施設の一つと称されてきた。これを踏まえて、水質に影響を及ぼすことがないことに加え、費用面・規模などを総合的に判断し、紫外線処理施設を現在ある緩速ろ過池に原虫対策のマルチバリアとして追加する方針が決定された。

紫外線導入の決定後は紫外線処理装置メーカーを、①設置スペース、②コスト、③メンテナンス性、が特に重視された。①設置スペースは現在浄水場内にある塩素混和池棟に余裕をもって収まるのが条件であった。②コストはイニシャルコスト(装置代、設置工事代等)だけでなく、15年分のランニングコスト(点検費、電気代)を足したトータルコストで比較された。そして③メンテナンス性(作業性、部品入手の容易性)も加味して検討し、当該浄水場の浄水処理環境に適し、かつコ

ストパフォーマンスのよい紫外線処理装置が仕様とされた。

C5 洗砂機と濁度管理の対策

結果には詳細を書かないが、過去にさかのぼって冷凍試料から RT-PCR を行った結果、クリプトスポリジウムの遺伝子配列も検出された。浄水場の取水上流には下水の放流や畜産はほぼなかったが、森林地帯の野生動物に由来する汚染を無視できないと判明したことから、短期的にも、対策を強化したい状況であった。

既存の洗砂機について、使用水量の増量、あるいは2機連結による2回洗砂を行うと、通常の洗砂法よりは効果があった。しかし、洗浄水を2度以下にすることはできなかった。そこで新機種を導入し、設置後のテストで洗浄水2度以下の基準を満たした。既存機は、水車状の回転板にて砂と洗浄水を同時に次槽へ送り、5槽繰り返す構造である。それに対し、新機種は1つ目のタンクで砂を洗浄し、2つ目のタンクへは独立して新しい洗浄水を注入できることから、より高い洗浄効果が得られると考えられた。

濁度管理は、監視システムの導入によりろ過池1池ごとの濁度監視とすることにより、ろ過水の濁度上昇への迅速な対応に加え、ろ過池の削り取り後の濁度管理の徹底と、1池毎の丁寧な対応が可能となった。以上の通り、当該浄水場では原虫リスクに着実な対応を行い、安全安心な浄水の供給が行われていた。

D. 結論

水道原水の定期検査で、特異蛍光抗体で染色されるジアルジア大の粒子が観察されたが、核の配置が従来の鑑別基準から外れていたため、ジアルジアとは判断されていなかった。遺伝子検査で RT-PCR が陽性となり、げっ歯類の *Giardia microti* の塩基配列が得られた。文献的には、そのような核の配置が報告されていたの

で、矛盾はなかった。取水地点より上流を調査し、河川水と野生のネズミの糞便から同じ塩基配列が検出された。*G. muris* の塩基配列も検出され、従来の鑑別基準にある核の配置をしたジアルジアが観察されることもあった。過去の冷凍試料からクリプトスポリジウムの塩基配列も検出された。耐塩素性病原微生物の排出源が想定外に明らかとなったことから、ろ過池の濁度の監視や洗浄の徹底と、紫外線処理の導入が進められた。遺伝子検査を併用して顕微鏡検査の結果を補い、野生動物由来の糞便汚染とジアルジアの流行を検知し、浄水場の対策に反映、水道水質の向上に資することのできた例であった。

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. Nygård K, Schimmer B, Søbstad Ø, Walde A, Tveit I, Langeland N, Hausken T, Aavitsland P. A large community outbreak of waterborne giardiasis-delayed detection in a non-endemic urban area. *BMC Public Health.* 2006 May 25;6:141.
5. Karanis P, Kourenti C, Smith H. Waterborne transmission of protozoan parasites: a worldwide review of outbreaks and lessons learnt. *J Water Health.* 2007 Mar;5(1):1-38.
6. Baldursson S, Karanis P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks - an update 2004-2010. *Water Res.* 2011 Dec 15;45(20):6603-14.
7. Mason BW, Chalmers RM, Carnicer-Pont D, Casemore DP. A *Cryptosporidium hominis* outbreak in North-West Wales associated with low oocyst counts in treated drinking water. *J Water Health.* 2010 Jun;8(2):299-310.
8. USEPA. Appendix N Infectivity Dose-Response Analysis, pp.N1-N18. In *Economic Analysis for the Long Term 2 Enhanced Surface Water Treatment Rule*. United States Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC. EPA-821-R-06-001 (2005)
9. World Health Organization; Water, Sanitation and Health Team. 5. Effect assessment: dose-response relation, pp.57-67. In *Risk assessment of Cryptosporidium in drinking water*. The World Health Organization, Geneva, Switzerland (2009) (<http://www.who.int/iris/handle/10665/70117>, 2021 年 3 月 24 日時点)
10. Messner MJ, Berger P. *Cryptosporidium* Infection Risk: Results of New Dose-Response Modeling. *Risk Anal.* Vol.36, No.10, pp.1969-1982 (2016)
11. Rose, J. B., Haas, C. N., & Regli, S. (1991). Risk assessment and control of water borne giardiasis. *American Journal of Public Health,* 81(6), 709-713.
12. 厚生労働省医薬・生活衛生局水道課長.

- 「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」の一部改正について、薬生水発 0529 第 1 号(令和元年 5 月 29 日)
13. 國枝 晴子, 下陸 舞, 久野 草太郎, 及川 智, 江原 和宏, 荒井 活人, 木村 慎一, 吉澤 健一, 荒川水系原虫類調査によるクリプトスポリジウム汚染源の特定及び汚染リスクの評価、水道協会雑誌, 2017, 86(11), 13-18.
 14. 泉山信司, 秋葉道宏, 松下拓, 片山浩之他、「水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究—微生物分科会—」、厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)(研究代表者、松井佳彦)より平成 27 年度分担研究報告書
 15. Feng Y, Xiao L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. Clin Microbiol Rev. 2011 Jan;24(1):110-40.
 16. Khan A, Shaik JS, Grigg ME. Genomics and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* species. Acta Trop. 2018 Aug;184:1-14.
 17. Furio MM, Wordell CJ. Treatment of infectious complications of acquired immunodeficiency syndrome. Clin Pharm. 1985 Sep-Oct;4(5):539-54.
 18. 武田万里子, 新谷保徳, 林広宣, 三輪雅幸、リアルタイム PCR 法を用いた *Giardia* の測定方法の確立と環境水への適用、第 54 回日本水道協会関西地方支部研究発表会、2010 年
 19. Helmy YA, Spierling NG, Schmidt S, Rosenfeld UM, Reil D, Imholt C, Jacob J, Ulrich RG, Aebischer T, Klotz C. Occurrence and distribution of *Giardia* species in wild rodents in Germany. Parasites Vectors. 2018 Mar 27;11(1):213.
 20. Kimura Y, Soma T, Kasahara N, Delobel D, Hanami T, Tanaka Y, de Hoon MJ, Hayashizaki Y, Usui K, Harbers M. Edesign: Primer and Enhanced Internal Probe Design Tool for Quantitative PCR Experiments and Genotyping Assays. PLoS One. 2016 Feb 10;11(2):e0146950.
 21. Feely DE. Morphology of the cyst of *Giardia microti* by light and electron microscopy. J Protozool. 1988 Feb;35(1):52-4.
 22. Boeck, WC. Mitosis in *Giardia microti*. University of California Publications in Zoology, 1917, 18: 1.
 23. Feely DE, Chase DG, Hardin EL, Erlandsen SL. Ultrastructural evidence for the presence of bacteria, viral-like particles, and mycoplasma-like organisms associated with *Giardia* spp. J Protozool. 1988 Feb; 35(1):151-8.
 24. van Keulen H, Feely DE, Macechko PT, Jarroll EL, Erlandsen SL. The sequence of *Giardia* small subunit rRNA shows that voles and muskrats are parasitized by a unique species *Giardia microti*. J Parasitol. 1998 Apr;84(2):294-300.
- F.研究発表
誌上発表
1. 泉山信司、最近の感染確率に基づく、水道水からクリプトスポリジウムを除去・不活化する目標の再計算、水道協会雑誌、89(8), 2-7, 2020
 2. 橋本温, 中本佳奈, 鈴木裕之, 土岡宏彰, 泉山信司, ハイドロキシアパタイト粉体ろ過法の効率と大腸菌試験への適用性, 環境技術, 2020, 49(2), 31-37
- 口頭発表
1. Motomu Inoue, Shinji Izumiyama, Toshinobu Suzaki. Semi-permeability assay

- of *Cryptosporidium* oocyst wall using saturated sodium chloride solution. Joint online meeting of the Japan Society of Protistology and Korean Society of Protistologists. November 2020, Kobe, Japan.
2. 泉山信司、井上亘、橋本温、国内の水道原水におけるクリプトスポリジウムの検出状況、

環境技術学会、2020年6月、京都市(オンライン)

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

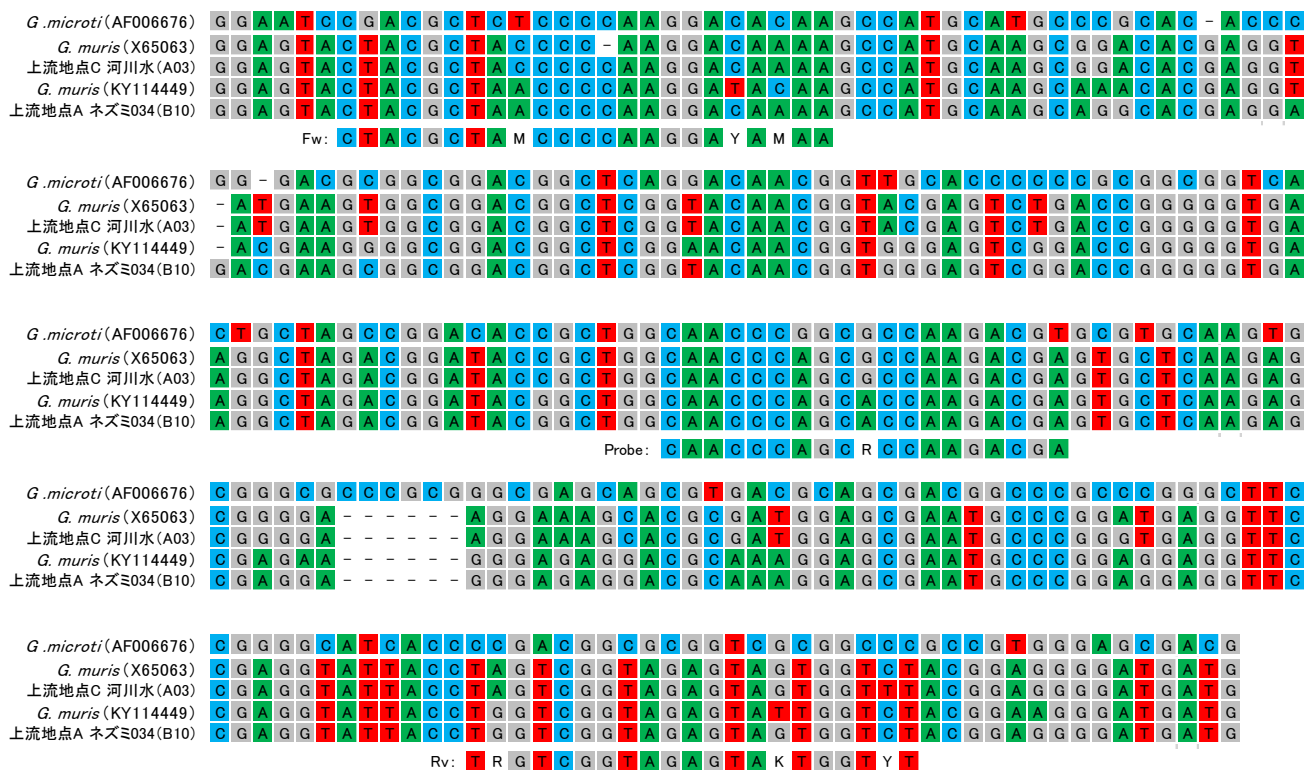


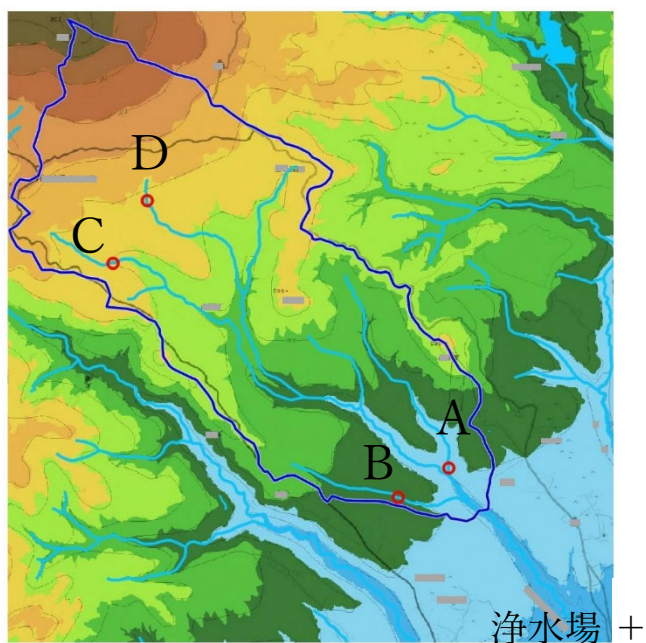
図1 *Giardia muris* の配列比較とRT-PCR 増幅領域

G. muris は2種類の配列が取得され、以後 A03 系統、B10 系統と呼び分けている

表1 *Giardia muris* 増幅条件

【プライマー・プローブの塩基配列】			
Fw プライマー: CTACGCTAMCCCCAAGGAYAMAA (兼シーケンスプライマー)			
Rv プライマー: ARACCAMTACTCTACCGACYA (兼シーケンスプライマー)			
プローブ: 5'-(FAM)-CAACCCAGCRCCAAGACGA-(MGB)-3'			
【反応系】			【反応条件】
Distilled Water	9	μL	50cycle 95°C,10分 95°C,15秒 55°C,20秒 72°C,40秒
Taq Man Universal Master Mix	12.5	μL	
Fw プライマー(25μM)	0.5	μL	
Rv プライマー(25μM)	0.5	μL	
プローブ(5μM)	0.5	μL	
cDNA サンプル	2	μL	
反応液量		25	μL

A) 地図



B) 模式図

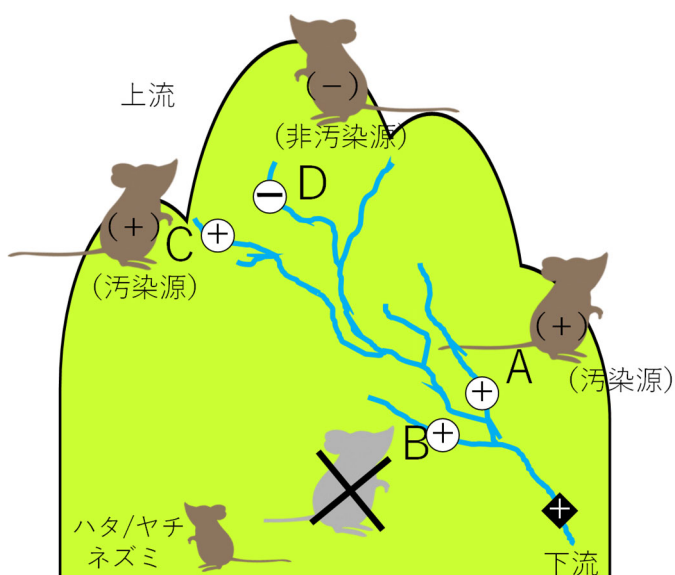
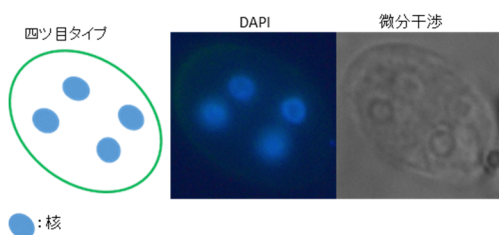


図2 ネズミ調査地点の位置関係と *Giardia microti* 検出結果の模式図

A) 地図上の地点 A は標高 102m から地点 D は標高 550m の山間部で、青の枠線は水源保護区域を意味する。赤○の地点 A から D がネズミの捕獲・糞便検査と、河川水の検査を行った地点。右下に浄水場+がある。B) 模式図、河川を意味する線上の+と-は、河川水中のジアルジア検出状況を意味する。ネズミ上の+と-は糞便中のジアルジア検出を意味する。A から D の 4 地点中、B 地点のネズミの色が薄くバツ印なのは、ネズミが捕獲されていないことを意味する。図にある通り、河川水とネズミからのジアルジア検出は、概ね対応した。

A) 核の配置が四つ目タイプ



B) 従来の鑑別基準の核の配置

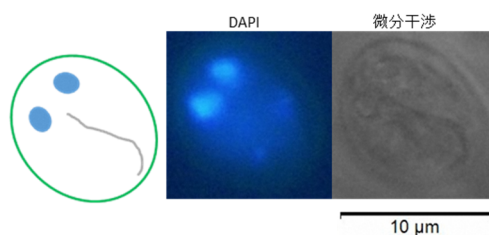


図3 浄水場着水井から検出したシスト様粒子(A)とジアルジアシスト(B)の模式図、DAPI染色像、微分干渉像
A) 実験感染や単一のシストを取り出して確認できたわけではないが、もっぱら図の通りにシスト内に核が分散して存在する試料から、*Giardia microti* の配列が検出された。B) *Giardia* の 2 ないし 4 つの核の配置は、ラグビーボール状のシストの中で、片側に寄っていると考えられていた。

図4 ジアルジア rRNA 系統樹

解析長は 237~243bp

コンベンショナル PCR で *G. muris* は 2 種類の配列が取得され、それぞれ図1と表3の A03 系統と B10 系統に対応する。

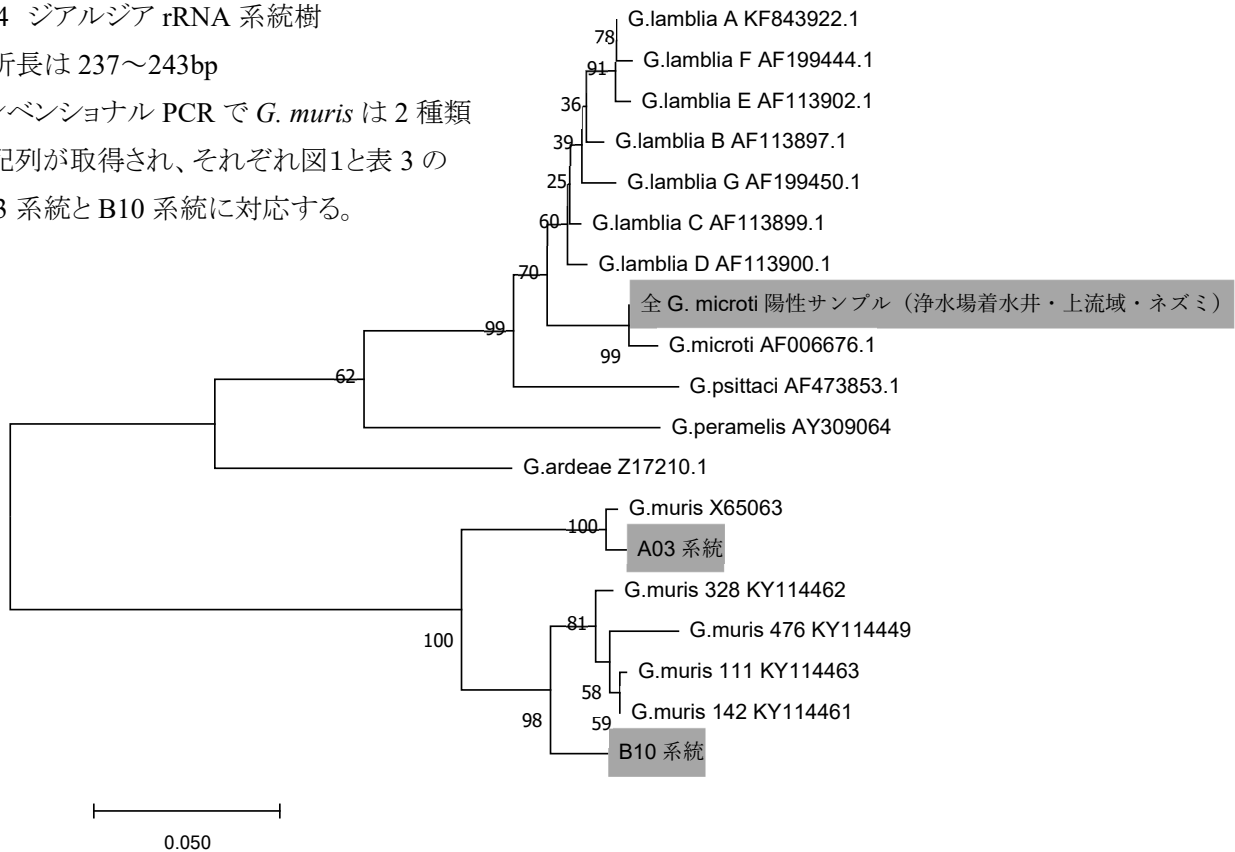


表2 着水井からの検出結果(2018/08~2019/07)

採水日	ジアルジア			
	遺伝子検査(CY231)		検鏡検査	
	増幅	シーケンス	DAPI	微分干渉
2018/08/07	±*1	×	-	-
2018/09/12	-	/	-	-
2018/10/4	+	<i>G. microti</i>	+	+
2018/11/12	+	<i>G. microti</i>	+	+
2018/12/10*2	+	<i>G. microti</i>	+	-
2019/01/21	+	<i>G. microti</i>	-	-
2019/02/12	-	/	-	-
2019/03/18	-	/	-	-
2019/04/22	+	<i>G. microti</i>	-	-
2019/05/20	+	<i>G. microti</i>	-	-
2019/6/24	±	×	+	+
2019/7/22	-	/	+	+

*1、+：増幅もしくは観察あり、±：微増幅、-：増幅もしくは観察なし、×：RT-PCR 微増幅のため、シーケンスできなかったもの。*2、2018/12/10 の試料において新規 *G. muris* RT-PCR を試行し、RT-PCR が陽性、*G. muris* (A3 系統) の配列が得られた。

表3 *Giardia muris* の塩基配列一

採取日	試料内容	配列
2017/5/17	水源地	A03
2017/5/30	地点 C 事前調査	A03
2017/6/12	浄水場着水井	B10
2017/8/1	浄水場着水井	A03
2018/6/21	ネズミ 034	B10
2018/8/7	ネズミ 050	B10
2018/8/7	ネズミ 048	B10
2018/8/8	地点 C 第2回河川水	B10
2018/12/10	浄水場着水井	A03

* 新規開発の RT-PCR は増幅効率重視の 140bp 弱と解析長が短く、その範囲で 100% 一致したことから、A03 系統と B10 系統に分類している。

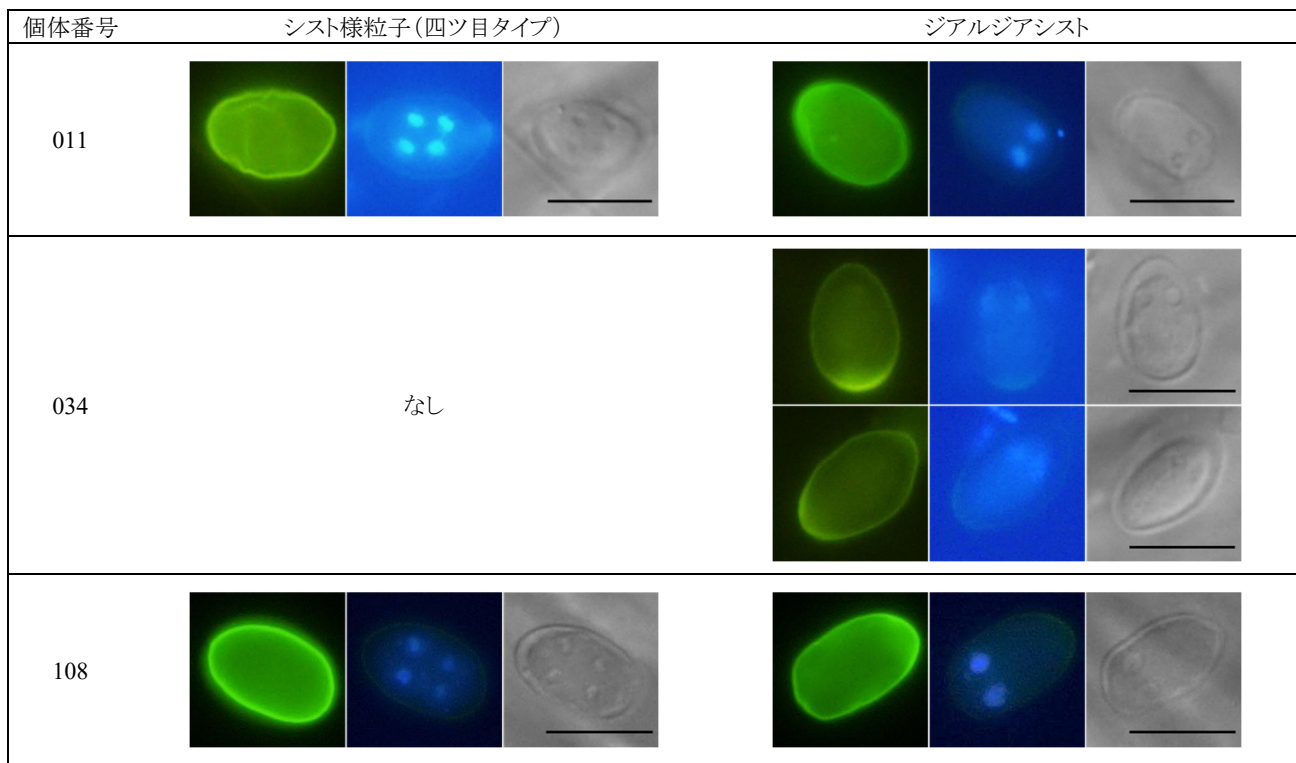


図5 ネズミ糞中のシスト様粒子(左列)、ジアルジアシスト(右列)

スケールバーは10 μ m

表4 シストもしくはシスト壁が観察されたネズミと遺伝子検査結果一覧(17匹分抜粋)

個体番号	回	地点	ネズミ推定種	検鏡結果	CY231 RT-PCR	β ジアルジンリアルタイム PCR ¹⁸⁾	新規 <i>G. muris</i> RT-PCR
002	第1回	A	ハタ	シスト壁のみ	<i>G. microti</i>	±*	
011	第1回	A	ハタ	シストと断定	<i>G. microti</i>	±	
015	第1回	A	アカ	シスト壁のみ	—	—	
017	第1回	B	ヒメ	シスト壁のみ	—	—	
020	第1回	C	アカ	シスト壁のみ	—	—	
021	第1回	D	アカ	シスト壁のみ	—	—	
034	第1回	A	アカ	シストと断定	—	+	<i>G. muris</i> (B10 系統)
048	第2回	A	アカ	シスト壁のみ	—	+	<i>G. muris</i> (B10 系統)
049	第2回	A	アカ	シスト壁のみ	—	—	
050	第2回	A	アカ	シスト壁のみ	—	+	<i>G. muris</i> (B10 系統)
054	第2回	C	ヤチ	シスト壁のみ	<i>G. microti</i>	—	
059	第2回	C	ヒメ	シスト壁のみ	—	—	
067	第2回	D	ヤチ	シスト壁のみ	—	—	
075	第2回	A	ヒメ	シスト壁のみ	—	—	
107	第3回	B	ヒメ	シスト壁のみ	—	—	
108	第3回	C	ヤチ	シストと断定	<i>G. microti</i>	—	
110	第3回	C	ヒメ	シスト壁のみ	—	—	



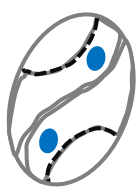
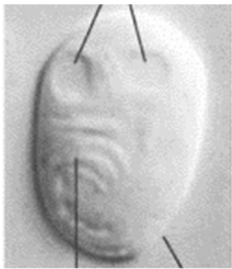

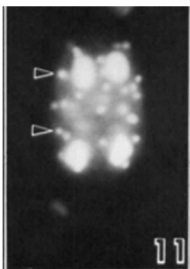
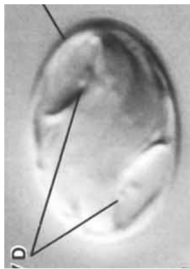
* +: 増幅、±: 微増幅、—: 増幅なし

表 5 捕獲された全てのげっ歯類の種類(n=83)と、一部検査を行い検出されたジアルジアの種類の詳細

地点	回	河川水中の <i>G. microti</i>	ハタネズミ		ヤチネズミ		アカネズミ			ヒメネズミ		ネズミ合計							
			捕獲	検査	<i>G. microti</i> 陽性	捕獲	検査	<i>G. microti</i> 陽性	<i>G. muris</i> 陽性	捕獲	検査	<i>G. microti</i> 陽性	捕獲	検査	<i>G. microti</i> 陽性	<i>G. muris</i> 陽性			
A	第1回	+*1	2	2	2	0	0	—	11	3	0	1	0	0	—	13	5	2	1
	第2回	+	0	0	—	0	0	—	4	4	0	2	1	1	0	5	5	0	2
	第3回	±	0	0	—	0	0	—	4	3	0	—	1	1	0	5	4	0	—
		地点計		2	2	2	0	0	0	19	10	0	3	2	2	0	23	14	2
B	第1回	+	0	0	—	0	0	—	2	1	0	—	3	3	0	5	4	0	—
	第2回	—	0	0	—	0	0	—	2	2	0	—	0	0	—	2	2	0	—
	第3回	+	0	0	—	0	0	—	3	2	0	—	2	2	0	5	4	0	—
		地点計		0	0	0	0	0	0	7	5	0	—	5	5	0	12	10	0
C	第1回	—	0	0	—	0	0	—	2	2	0	—	2	2	0	4	4	0	—
	第2回	+*2	0	0	—	1	1	1	7	2	0	—	4	2	0	12	5	1	—
	第3回	+	0	0	—	1	1	1	1	1	0	—	6	3	0	8	5	1	—
		地点計		0	0	0	2	2	2	10	5	0	—	12	7	0	24	14	2
D	第1回	—	0	0	—	0	0	—	3	2	0	—	4	1	0	7	3	0	—
	第2回	—	0	0	—	1	1	0	10	2	0	—	3	1	0	14	4	0	—
	第3回	—	0	0	—	0	0	—	0	0	0	—	3	2	0	3	2	0	—
		地点計		0	0	0	1	1	0	13	4	0	—	10	4	0	24	9	0
		ネズミ計	2	2	2	3	3	2	49	24	0	3	29	18	0	83	47	4	3
浄水場 着水井	第1回	+	/		/		/			/		/							
	第2回	±																	
	第3回	+																	

*1、+：増幅もしくは観察あり、±：微増幅、—：増幅もしくは観察なし *2、*G. muris* (B10 系統)も検出された

表 6 *Giardia microti* の論文に掲載されているシストの図・写真(転載)

<p>シストの タイプ</p>	 <p>一般的にジアルジアと 認識されるシスト</p>	<p style="text-align: center;">成熟</p>  <p>四ツ目タイプに類似のシスト (mature cyst, binary cyst)</p>  <p>(横アングル)</p>
<p>文献の 図・写真</p>	 <p>参考文献 21</p>	 <p>参考文献 22</p>  <p>参考文献 23</p>  <p>参考文献 21</p>
<p>備考</p>	<ul style="list-style-type: none"> •binary cyst に対して single individual cyst と呼ばれることもある^{21), 22)} •宿主の小腸や盲腸で多く見られる²¹⁾ •シスト内に、分化して吸着円板を備えた 2 体の栄養体を含む²¹⁾ •脱シスト前に栄養体が分化して成熟するのは他の種では見られず、<i>G. microti</i> だけである²⁴⁾ •大腸や糞中に多く見られる²¹⁾ 	

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2年度 分担研究報告書

－化学物質・農薬分科会－

研究代表者	松井 佳彦	北海道大学大学院工学研究院
研究分担者	浅見 真理	国立保健医療科学院生活環境研究部水管理研究領域
	松下 拓	北海道大学大学院工学研究院
研究協力者	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
	相澤 貴子	関東学院大学工学総合研究所
	鎌田 素之	関東学院大学理工学部理工学科
	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
	神谷 航一	茨城県企業局水質管理センター
	木下 英二	千葉県企業局水道部水質センター
	今井 美江	東京都水道局水質センター
	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
	高林 泰斗	奈良県水道局水質管理センター
	宮田 雅典	大阪市水道局工務部水質試験所
	平林 達也	大阪市水道局工務部水質試験所
	山口 敏彦	神戸市水道局事業部水質試験所
吉野 泰盛	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	
小島 健司	沖縄県企業局水質管理事務所	
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：

令和元農薬年度（平成30年10月～令和元年9月）の農薬製剤出荷量は約22.2万tで昨年と比べ0.6%減少した。農薬の用途別農薬製剤出荷量は殺虫剤が71727t、殺菌剤が39741t、殺虫殺菌剤が16130t、除草剤が81570tであった。登録農薬原体数は令和元年9月現在596種類で、登録農薬製剤数は令和元年9月現在、殺虫剤が957、殺菌剤が794、殺虫殺菌剤が417、除草剤が1418で、合計は3859（前年比423件減）と大きく減少していた。個別の農薬原体について見ると令和元農薬年度出荷量が100t以上あった農薬原体は60原体であり、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48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115種、浄水では31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かった。対象農薬リスト掲載農薬は、原水では64種、浄水では22種が検出された。Σ値の最大値は、原水が3.16、浄水が0.15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、原水では13種の農薬が1 µg/Lを超過し、浄水ではプロモブチドが2.00 µg/Lと高い値を示した。検出率の場合、原水、浄水では、それぞれ26、6種の農薬で10%を超えていた。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高い値を示した。浄水では、10農薬の最大個別農薬評価値が0.01以上であった。本年度の実態調査の傾向は、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が浄水でも比較的高い濃度、頻度で検出され、Σ値への寄与も大きいことから分類の見直しが必要と考えられた。メタゾスルフロンのように一部の事業者で一定の濃度、頻度で検出されている農薬は、全国の実態を把握する必要があると考えられた。

水道事業の農薬類の測定実施の有無は、2009年度と2017年度で大きくは変わらなかった。農薬類の検査体制は、測定回数が少ない方が委託の割合が高く、測定回数が多い場合に自己検査の割合が増える傾向にあった。測定農薬類数と1試料あたりの検査料金には、必ずしも関連は認められなかった。

昨年度構築した代謝を考慮したChE活性阻害試験と、従来の代謝を考慮しないChE活性阻害試験を組み合わせ、2つの有機リン系農薬（ダイアジノンとメチダチオン）の塩素処理に伴う毒性変動と、毒性に寄与する物質を調べたところ、代謝の有無に関わらず、塩素処理試料のChE活性阻害性は、原体とオキソン体のみで説明ができることが分かった。すなわち、水質管理目標設定項目における対象農薬の取り扱い、ダイアジノン（原体とオキソン体が対象）については妥当であり、メチダチオン（原体のみが対象）は妥当ではないと判断された。よって、メチダチオンについては、オキソン体も測定対象とすることが提言された。

23浄水場でのPFASsの実態調査の結果、原水からは18種中9種が検出され、浄水からは21種中9種が検出された。PFBA、PFPeA、PFHxA、PFOAの4種は原水あるいは浄水での検出率が50%以上であった。原水、浄水ともにPFOAの濃度が最も高かった（それぞれ39.6、14.6 ng/L）。しかし、PFOAとPFOSの合計は、最大値は原水、浄水でそれぞれ41.5、14.6 ng/Lで、目標値（50 ng/L）を超える試料は無かった。

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、農薬類の検査体制について、水道統計を用いた解析、アンケート調査を行った。有機リン系農薬について、代謝を考慮した場合としない場合のコリンエステラーゼ（ChE）活性阻害試験を行い、毒性（ChE活性阻害性）に寄与する分解物の特定を試みた。

農薬類以外の化学物質として、有機フッ素

化合物（PFASs）を対象に、浄水場での実態調査を行った。

B. 研究方法

1) 農薬の出荷量に関する調査

農薬要覧 2020¹⁾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、農林水産省が提供している農薬登録情報³⁾とFAMICが提供して失効農薬情報²⁾から新規登録された農薬と農薬登録が失効した農薬についても取りまとめた。

2) 全国水道事業者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11水道事業者

(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、大阪市水道局、神戸市水道局、広島市水道局、福岡県南広域水道企業団)と神奈川県衛生研究所による農薬類の測定結果を取りまとめた。

3) 各水道事業体における農薬類実態調査

研究班の12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) 神奈川県内の水道水源河川の実態調査

直接注入-LC/MS/MS法を用い、神奈川県内の主要な水道水源河川である相模川と酒匂川について180種の農薬類(異性体、分解物等を含む)の実態調査を行った。採取地点は、相模川の中流~下流域の河川水10地点と相模川を原水とする水道水1地点、また酒匂川の中流~下流域の河川水7地点と酒匂川を原水とする水道水1地点とした。

5) 農薬類の検査体制の評価

水道統計により、2017年度の農薬類の測定回数や測定農薬類数を解析した。その結果を踏まえ、2017年度に農薬類を調査していた大臣認可の水道事業を対象に、2020年度の農薬類の検査体制についてアンケート調査を行った。

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

(1) バッチ式塩素処理実験

ダイアジノンあるいはメチダチオン標準品を、10 mMのリン酸バッファー(pH 7.0)に30~40 μM程度になるように添加した。これらを、マグネティックスターラーにてひと晩攪拌した後にろ過(PTFE、φ=0.45 μm)し、未溶解の農薬を除去することにより試料を調整した。ここに、次亜塩素酸ナトリウムを添加し、20°C暗所にて塩素処理を行った。塩素処理過程にて経時的にサンプルを採取し、亜硫酸ナトリウムにて残留塩素を消去した。これらに代謝活性化を施した後、あるいは代謝活性化を施さずに、ChE活性阻害試験に供して毒性を評価するとともに、農薬原体とオキソンの濃度をLC/MSにて定量した。

(2) 代謝活性化

本研究では、Ames試験にて広く用いられ

る代謝活性化法⁴⁾をサンプルに適用した。前処理後のサンプルについて、後述のChE活性阻害試験に供するとともに、農薬原体とオキソンの濃度をLC/MSにて定量した。

(3) ChE活性阻害試験

Matsushita et al.⁵⁾の手法に微修正を加えた*in vitro*細胞非依存ChE活性阻害試験を行った。前処理後のサンプルのChE阻害性を、以下の式により算出した。

$$AAA = \frac{Ch_c - Ch_s}{Ch_c - Ch_b} \quad (1)$$

但し、AAA:ChE活性阻害性(anti-acetylcholine activity)、Ch_c:コントロールのコリン(Ch)濃度、Ch_s:サンプルのCh濃度、Ch_b:ブランクのCh濃度である。

①ChE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。膜処理により、シトクロムP450と農薬類の分離を検討した。超遠心により、S9と農薬の分離を検討した。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様活性の観点から検討した。

②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

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、S9mix溶液と混合し、37°Cにて20分間プレインキュベートした。この試料を遠心分離し、S9mixを分離除去した。この上清に、ChE(ヒト由来)を加え、37°C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を加え、37°C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ChをLC-MSにより定量した。

7) 浄水場におけるPFASsの実態調査

2021年1月、全国23浄水場の原水、浄水について、21種のPFASs[ペルフルオロブタンスルホン酸(PFBS)、ペルフルオロペンタンスルホン酸(PFPeS)、ペルフルオロヘキサ

ンスルホン酸 (PFHxS)、ペルフルオロヘプタン
 スルホン酸 (PFHpS)、ペルフルオロオクタ
 スルホン酸 (PFOS)、ペルフルオロノナン
 スルホン酸 (PFNS)、ペルフルオロデカンス
 ルホン酸 (PFDS)、ペルフルオロドデカンス
 ルホン酸 (PFDoS)、ペルフルオロブタン酸
 (PFBA)、ペルフルオロペンタン酸 (PFPeA)、
 ペルフルオロヘキサン酸 (PFHxA)、ペルフル
 オロヘプタン酸 (PFHpA)、ペルフルオロオク
 タン酸 (PFOA)、ペルフルオロノナン酸
 (PFNA)、ペルフルオロデカン酸 (PFDA)、
 ペルフルオロウンデカン酸 (PFUdA)、ペルフル
 オロドデカン酸 (PFDoA)、ペルフルオロトリ
 ドデカン酸 (PFTTrDA)、ペルフルオロテト
 ラデカン酸 (PFTeDA)、ペルフルオロヘキサ
 デカン酸 (PFHxDA)、ペルフルオロオクタデ
 カン酸 (PFODA)] の調査を行った。3 物質
 (PFDoS、PFHxDA、PFODA) は、原水の回
 収率試験の真度と回収率が低かったため、浄
 水のみを対象とした。23 浄水場のうち、1 浄
 水場は 2 種の原水について調査した。

研究班の 6 水道事業体において、浄水場や
 その水源の PFASs の実態調査を行った。

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 1 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。令和元
 農薬年度（平成 30 年 10 月～令和元年 9 月）
 の農薬製剤出荷量は約 22.2 万 t で昨年と比べ
 0.6%減少した。¹⁾用途別農薬製剤出荷量は殺
 虫剤が 71727t、殺菌剤が 39741t、殺虫殺菌剤
 が 16130t、除草剤が 81570t であった。10 年
 前の平成 21 農薬年度と比べると殺虫剤 78%、
 殺菌剤 83%、殺虫殺菌剤 71%、除草剤 114%
 で、全体では 88%となっていた。

登録農薬原体数は令和元年 9 月現在 596 種
 類で、登録農薬原体数は平成 16 農薬年度以
 降、増加が続いている。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。登録農薬製剤数は令和元年 9
 月現在、殺虫剤が 957、殺菌剤が 794、殺虫殺
 菌剤が 417、除草剤が 1418 で、合計は 3859
 （前年比 423 件減）と大きく減少していた。

個別の農薬原体について見ると令和元農薬

年度出荷量が 100 t 以上あった農薬原体は 60
 原体であり、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 48 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、ダゾメット、グリホサートイソプロピ
 ルアミン塩、マンゼブ、プロベナゾールの 7
 種であった。

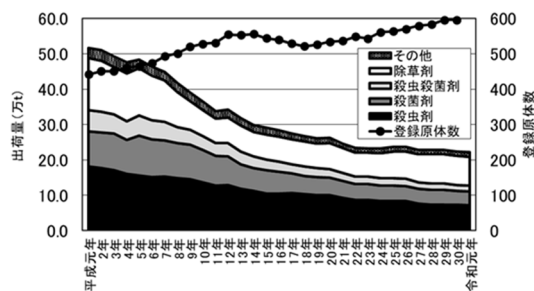


図 1 農薬製剤出荷量と登録原体数の推移

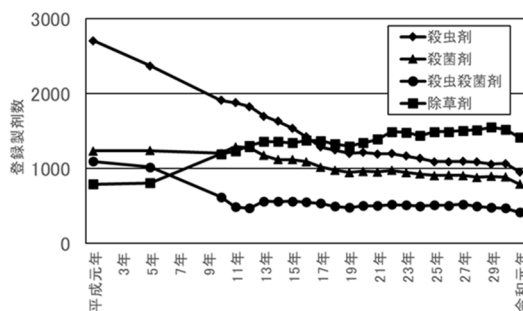


図 2 用途別登録農薬製剤数の推移

令和元農薬年度の出荷量が 10t 以上、前年
 比で 50%以上出荷量が増加した農薬として
 16 農薬が該当した。特にトルプロカルブは平
 成 28 農薬年度、メタゾスルフロンは平成 25
 農薬年度、スルホキサフロルは平成 30 農薬年
 度、フルオピラムは平成 28 農薬年度、フルフ
 ェナセットは平成 27 農薬年度の出荷開始か
 ら数年度出荷量が急速に増加してきた農薬で
 あった。

以上より、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
 あった。新規登録から数年が経過し出荷量
 が増加し監視の必要性が高まる可能性が高い農
 薬が散見される一方、これまで監視の必要性

の高かった農薬が失効する事例も確認され、農薬の出荷量を精査して、効率的なモニタリングを行う必要がある。なお、対象農薬リスト掲載農薬と要検討農薬の都道府県別および地域ブロック別の出荷量および出荷量を目標値で除した値については厚生労働省 医薬・生活衛生局 水道課 HP で掲載予定である。

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2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115種、浄水では31種の農薬および分解物が検出された。用途別に見ると、原水、浄水ともに除草剤が最も多かった。対象農薬リスト掲載農薬は、原水では64種、浄水では22種が検出された。また、原水で検出された農薬のうち、未分類であったのはカルベンダジム(MBC)、クロラントラニリプロール、メタゾスルフロン、プロピリスルフロン、ピリミスルファン、ピリフタリド、フェノキサスルホン、メソトリオンであった。

原水の検出濃度は、13農薬の最大検出濃度が1µg/Lを超過し、未分類のメタゾスルフロン、グリホサートの分解物であるアミノメチルリン酸、要検討農薬であるイプフェンカルバゾンが含まれていた。浄水では、ブロモブチドが2.00µg/Lと高い値を示し、これ以外に8農薬が0.1µg/L以上であった。昨年と比べると検出濃度は全般に低い傾向にあったが、目標値が設定されていないカルベンダジムと未分類のメタゾスルフロンが上位にランクされていた。

検出率の場合、原水では、26農薬の検出率が10%を超過し、そのうち10農薬は検出率が20%を超過していた。メタゾスルフロン、プロピリスルフロン、ピリミスルファン、ピリフタリドは検出率が10%を超えているが測定を行っている事業体が限られていた。浄水では、6農薬の検出率が10%を超過しており、テフリルトリオンの分解物であるCMTBAが高い検出率は示していた。メタゾスルフロンも30%と高い値を示しているが前述の通り測定を実施している事業体は限られていた。

個別農薬評価値の場合、原水ではテフリルトリオンが高い値を示している。7農薬の最

大個別農薬評価値が0.1を超過した。浄水では、10農薬の最大個別農薬評価値が0.01以上であった。

検出指標値(Σ値)の推移を見ると、最大値は、原水が3.16、浄水が0.15であった。原水でΣ値が1を超えるケースが2回確認されたが、いずれも小河川においてテフリルトリオンを高濃度で検出されたことに起因していた。このような例を除くと、Σ値は概ね0.5を下回っていた。浄水のΣ値もこれまでと比べて低い値で推移していた。

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は浄水でも比較的高い濃度、頻度で検出され、Σ値への寄与も大きいことから分類の見直しが必要と考えられた。これ以外にもメタゾスルフロンのように一部の事業体で一定の濃度、頻度で検出されている農薬は、全国の実態を把握する必要があると考えられた。

表1 令和2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	246	243	
検出農薬	115	31	
用途	除草剤	57	17
	殺虫剤	27	3
	殺菌剤	21	8
	分解物	10	2
	対象	64	22
分類	要検討	9	1
	その他	18	2
	除外	6	1
	未分類	8	2
検出濃度	ブロモブチド 6.70	ブロモブチド 2.00	
個別農薬評価値	テフリルトリオン 2.25	クロルニトロフェン(CNP) 0.06	
検出率(%)	メタゾスルフロン 69.2	テフリルトリオン代謝物 61.5	
検出指標値	3.16	0.15	

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、白山浄水場の馬淵川系原水、新井田川系原水、白山浄水場浄水について、73種の農薬類を調査した。原水では馬淵川系で21種、新井田川系で17種の農薬類が検出された。浄水からはブロモブチド、ブロモブチドデブromo、ベンタゾンが検出され、ほぼ例年同様の検出状況であった。馬淵川系原水でのΣ値の最高は、採水前日の降雨の影響もあり0.099と過去5年で最高であった。新井田川系原水でのΣ値の最高

は 0.060 であった。このときテフリルトリオン、ピラクロニル、フィプロニル、プロモブチドによる寄与が大きかった。浄水のΣ値の最高は 0.005 であった。

仙台市水道局では、89 種の農薬類について調査した。調査対象農薬類のうち、14 種が検出された。最大個別農薬指標値が 0.01 を超えた農薬は、原水ではプレチラクロール、ピラクロニル、テフリルトリオンが該当したが、浄水で該当するものはなかった。Σ 値について見ると、原水では 5 月の福岡浄水場原水で最も高く 0.26 で、主にテフリルトリオンが原因であった。浄水では 5 月の福岡浄水場浄水で最も高く Σ 値 0.02 で、主にピラクロニルやプレチラクロールが原因であった。茂庭浄水場浄水の Σ 値は、調査期間を通じ管理目標である Σ 値 0.05 を常に下回っていた。

茨城県企業局では、10 浄水場を対象に、110 種の農薬について測定を行った。原水では、全地点で農薬が検出され、1 地点あたりの検出項目数は河川系で最大 19 項目、湖沼系で最大 5 項目となった。検出頻度が比較的高い項目は、シメトリン、テフリルトリオン、ピロキロン、プロモブチドであった。最大の個別指標値を示した農薬はテフリルトリオン(6 月 9 日の涸沼川取水場で 0.48) であった。浄水では、河川系全ての浄水場でプロモブチドが検出され、最大濃度は 0.21 μg/L であった。検出指標値は、4 月の水戸、涸沼川浄水場を除く浄水場で 0.02 であった。

千葉県企業局では、127 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及び栗山浄水場原水)からは、テフリルトリオン、ピラクロニルの 2 種類が検出され、最大個別農薬評価値はテフリルトリオンの 0.1 であった。印旛沼の印旛取水場(柏井浄水場東側施設原水)からは、MCPA、キノクラミン(ACN)、テフリルトリオン、ピラクロニル、プロモブチドの 5 種類が検出され、最大個別農薬評価値はテフリルトリオンの 0.45 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 種類が検出され、最大個別農薬評価値はテフリルトリオンの 0.15 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、ピラクロニルが検出され、最大個別農薬評価値は 0.01 であった。なお、各浄水場浄水における農薬類検出状況は、いずれも最大個別農薬評価値 0.01 未満であった。

東京都水道局では、利根川・荒川水系、多摩川水系、相模川水系の 8 浄水場の原水、浄水について、84 種の農薬類の調査を行った。検出された農薬は 7 種で、全て除草剤であった。検出された地点は、江戸川水系、荒川水系の原水(金町、三郷、朝霞、三園、東村山 1 急系)のみであった。浄水では、全ての浄水場において、全て不検出であった。検出された農薬のうち、個別農薬評価値が 1%を超えて検出されたのはテフリルトリオン、ピラクロニル、モリネートであった。その中で、評価値が最も高かったのはテフリルトリオンで、朝霞浄水場原水では 6 月に 20%を超えていた。

神奈川県内広域水道企業団では、水源、原水、浄水について、144 種の農薬類を測定した。原水で検出されたのは 14 項目で、濃度が高かったものはプロモブチド(0.6 μg/L)であった。また、最大個別農薬指標値が高かったものはテフリルトリオン(0.125)、キノクラミン(0.060)であった。浄水で検出されたのはダラポン(0.3 μg/L)、プロモブチド(0.1 μg/L)であった。酒匂川系原水における Σ 値の最大値は 0.149、相模川系原水の最大値は 0.053 であった。一方、浄水の Σ 値の最大値は、酒匂川系が 0.004、相模川系が 0.001 であり、酒匂川系はダラポン、相模川系はプロモブチドの検出が主な要因であった。

新潟市水道局では、5 浄水場と水源河川を対象に、31 種の農薬類について調査を行った。Σ 値の推移を見ると、4 月下旬から西川水系、阿賀野川水系での検出がみられ、全体的に 6 月上旬で検出ピークとなっていた。7 月の下旬まで緩やかな下降線を示し、その後は不検出となった。Σ 値の最大は、6 月上旬の阿賀野川水系の河川水で 0.36 であった。全水系の河川水でテフリルトリオンが検出され、Σ 値に占める割合は最も大きかったが、塩素処理により分解されるため浄水では検出されなかった。イプフェンカルバザンも全水系で検出され、信濃川水系、西川水系、阿賀

野川水系の浄水でも検出された。また、執行農薬であるクロロニトロフェンの検出がみられた。信濃川水系では5月から9月にかけて複数回検出された。

大阪市水道局では、淀川本川8地点、淀川支川5地点、柴島浄水場、庭窪浄水場、豊野浄水場の各原水と浄水について、114種の農薬類と酸化物等を測定した。原水で個別農薬評価値の1%を超過して検出した農薬は、14物質であった。テフリトリオンは、最大で個別農薬評価値の34%で検出された。浄水で目標値の1%を超過して検出した農薬はなかった。

奈良県水道局では、137種の農薬を測定した。桜井浄水場の原水では、26種の農薬が検出された。Σ値の最高は、6月15日、6月22日、6月29日、7月27日、8月11日、8月17日および8月24日の0.02で、直近の5ヶ年では最も低かった。浄水では4種の農薬が検出された。Σ値は、調査期間を通じて0.01未満であった。

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。検出された農薬は、テフリトリオンやイプフェンカルバゾン、ピラクロニルなどの除草剤の比率が高く、次いで、フィプロニルやプロモブチドなどの殺虫剤であった。最も検出の回数が多かったのはテフリトリオンで、各地点合計19回の検出であった。目標値を超えて検出されたのは水源での1回だけであったが、他の水源からも目標値の95%で検出された。浄水場の原水では、7月までテフリトリオンが検出されたが、目標値の5%程度であった。浄水からの農薬の検出は一年を通じなかった。

広島県水道局では、高陽・緑井浄水場の原水、浄水について、103種の農薬類を調査した。原水で10農薬、浄水で4農薬が検出された。個別の農薬項目で指標値が0.01以上となったのは、原水におけるテフリトリオンのみで最大0.105であった。Σ値の最大は原水0.118(高陽5月18日)、浄水0.007(緑井6月4日)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た。Σ値の最高値は6月9日の試験の0.125(前年度:0.29)で、テフリトリオンの影響によるものであった。浄水では、Σ値の最高値はMCPA(除草剤)、2,4-D(除草剤)の影響により、4月14日の0.0068(前年度:0.0043)で、平均では0.0010(前年度:0.0005)であった。

4) 神奈川県内の水道水源河川の実態調査

2020年4月下旬より12月下旬までの実態調査において、相模川の原水からは39種類、水道水からは6種類の農薬類が、酒匂川の原水からは27種類、水道水からは9種類の農薬類が検出された。全体的な傾向として、検出率、検出濃度の最大値共に相模川水系の方が高くなる傾向がみられた。

5) 農薬類の検査体制の評価

2017年度において、原水、浄水を測定した水道事業の割合はそれぞれ44%と29%、原水、浄水のいずれかで農薬類を測定した水道事業は55%であった。2009年度と2017年度では、水道事業数や対象農薬数は異なるが、検査状況は変わっていないことが示された。2017年度において、測定回数が1回である水道事業が最も多く358であった。原水で、測定回数が年1回の水道事業のうち、20%が全項目を測定していた。また、浄水でも測定回数が年1回の水道事業が最も多かった。

農薬類の検査実施機関についてアンケートしたところ、回答のあった202水道事業のうち、91水道事業で農薬類の自己検査を行っていた(そのうち、34は他の選択肢も回答)。2水道事業では、農薬類の測定は行っていなかった。2017年度の情報を元に、2020年度の状況を調査したためであった。農薬類の測定回数と検査体制の関係を見たところ、測定回数が少ない方が、20条分析機関への委託の割合が高く、測定回数が増えるにつれて自己検査の割合が高いことが示された。

20条分析機関に委託していると回答した水道事業のうち(複数回答であった場合を含む)、1回あたりの検査料金の回答があった機関は120であった。原水または浄水の料金として回答した機関はその値を、原水と浄水の料金を回答した機関は、その半分の料金を採用し、1試料あたりの料金として評価したと

ころ、測定農薬類数は異なるが、10,875～1,126,800 円の範囲であった。測定農薬数と1試料あたりの検査料金の関係について見たところ、両者の間に関連性は認められず、検査料金は必ずしも測定農薬類数に依存しないと考えられた。

6) 代謝を考慮した ChE 活性阻害試験の構築とそれを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

(1) ダイアジノンについての検討

①ダイアジノンとオキソン体の ChE 活性阻害性

ダイアジノン原体は、代謝を考慮しない ChE 活性阻害性試験では毒性を誘発しなかったが、代謝を施した後に ChE 活性阻害性試験に供すると、用量依存的に毒性が誘発された。一方、ダイアジノンのオキソン体は、代謝を考慮しない ChE 活性阻害性試験にて毒性を誘発した。このように、代謝により、ダイアジノンの毒性は大きく増加し、オキソン体の毒性はいくぶん減少した。すなわち、従来の、代謝を考慮しない *in vitro* の細胞非依存性 ChE 活性阻害試験でのみ毒性を評価することは不十分であり、代謝を考慮した毒性試験も行い、その結果を総合して毒性評価をすることが重要であると提言された。

今後、本研究では、代謝を施した後に ChE 活性阻害試験を行った際に誘発された毒性を「間接毒性」、代謝を施さずに ChE 活性阻害試験を行った際に誘発された毒性を「直接毒性」と呼ぶ。

②塩素処理に伴う毒性変動

②-1 直接毒性

ダイアジノンは塩素と速やかに反応し、10分の接触時間で完全に消失し、一部はオキソン体へと変換された。

ダイアジノン水溶液は、塩素処理前には、直接毒性を誘発しなかったが、塩素添加後は、誘発するようになった。オキソン体は直接毒性を誘発することが示されているため、塩素処理試料で誘発された直接毒性に寄与する可能性が高いと推察された。しかし、ダイアジノンのオキソン体の変換率は最大0.63であり、少なくとも残りの0.37は、他の分解物へと変換されたと判断された。実際、塩素処理試料

中には、2-イソプロピル-6-メチル-ピリミジン-4-オール (IMP)、リン酸ジエチル、リン酸ジメチルが検出されていた。これら3種の分解物の標準品を用い、ChE 活性阻害試験により直接毒性を評価した。その結果、これら3種の分解物は、0.1～10 μM の濃度範囲では、直接毒性を誘発しないことがわかった。塩素処理試料には、同定された4種の分解物以外に、未検出・未同定の分解物が存在し、これらが直接毒性を誘発している可能性も考えられた。

②-2 間接毒性

直接毒性とは異なり、塩素処理前のダイアジノン水溶液は、間接毒性を誘発した。この間接毒性は、ダイアジノン由来であると推察された。また、塩素処理に伴い、誘発された間接毒性は緩やかに減少したため、少なくともダイアジノンの一部は、塩素処理により、間接毒性を誘発する分解物へと変換されることがわかった。塩素処理により生成されたダイアジノンオキソンは間接毒性を誘発するため、塩素処理試料にて観察された間接毒性に寄与する可能性が高いと推察された。一方で、それ以外の3種の分解物は、間接毒性を示さなかったため、これら以外の未検出・未同定の分解物が間接毒性に寄与する可能性は否定できない。

③塩素処理試料が誘発した毒性に寄与する分解物の推定

各塩素処理試料中のオキソン体濃度から、オキソン体の用量-反応関係を用い、その試料に含まれるオキソン体が誘発する毒性を算出した。一方、塩素処理前試料中にはダイアジノンのみが含まれるため、同様の手法により、ダイアジノン由来の毒性を算出した。

まず、塩素処理前試料に含まれるダイアジノン濃度では、直接毒性が誘発されないと算定された。次に、いずれの塩素処理試料についても、塩素処理試料にて観察された直接毒性と、試料中のオキソン体濃度から算出した直接毒性が概ね一致した。すなわち、塩素処理試料が誘発した直接毒性は、オキソン体のみで説明できることが示された。加えて、オキソン体以外の分解物（同定された3種も、それ以外の未検出・未同定の分解物も）は、直接毒性に寄与しないことがわかった。

塩素前試料にて誘発された間接毒性は、試料中のダイアジノン濃度から算定した値と概ね一致し、塩素前試料が誘発する間接毒性は、ダイアジノンのみで説明できることがわかった。さらに、塩素処理試料にて誘発された間接毒性は、試料中のオキソン体濃度から算定した値と概ね一致した。また、オキソン体以外の分解物は、試料が誘発した間接毒性に寄与しないこともわかった。

以上より、塩素処理前後のダイアジノン水溶液が誘発する直接毒性も間接毒性も、試料中のダイアジノンとオキソン体でのみ説明することができ、オキソン体以外の分解物は毒性に寄与しないことがわかった。したがって、現行の水質管理目標設定項目の農薬類におけるダイアジノンの取り扱い、「オキソン体の濃度も測定し、原体の濃度と、オキソン体濃度を原体に換算した濃度を合計して算出する」という方法は妥当で、オキソン体以外の分解物を測定する必要はないと判断された。

④代謝により生成された間接毒性に寄与する代謝物の推定

ダイアジノンとオキソン体の間接毒性の用量-反応関係は概ね一致したことから、代謝により、ダイアジノンとオキソン体が共通の代謝物へと変換され、その代謝物が毒性を誘発しているのではないかと考えた(図3)。ダイアジノン標準品とオキソン体標準品に代謝を施した試料をLC/MS(ポジティブイオンモード)に供し、トータルイオンクロマトグラムを比較した。いずれの試料にも、いくつかのピークが確認されたが、コントロール(リン酸バッファーとS9mixを混合し、インキュベーションしたもの)には存在せず、ダイアジノンとオキソン体の代謝後サンプルにのみ共通して存在したピークが2つあることがわかった。このうち、一方はIMP(LC保持時間7分頃のピーク#1)であった。

一方、LC保持時間9分頃のピーク#2では、ダイアジノンとオキソン体の代謝後サンプルにおけるピーク#2の面積値と、これらの試料の毒性の間に相関があり、また、ダイアジノンとオキソン体で同一曲線に乗ることがわかった。さらに、代謝後の塩素処理試料中のピーク#2の面積値とこの図から、塩素処理試料

中にてピーク#2として検出された代謝物が誘発すると期待される毒性を算出し、それらを塩素処理試料にて観察された間接毒性と比較したところ、いずれの試料も概ね一致することがわかった。以上より、ピーク#2として検出された代謝物が、毒性を誘発する可能性が高いと判断された。

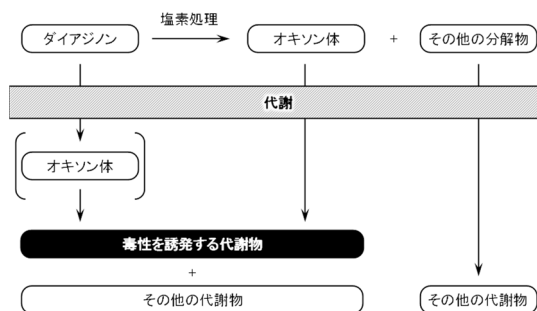


図3 塩素処理と代謝によるダイアジノンの推定変換経路

そこで、この物質の推定を試みた。まず、LC/MSによりポジティブイオンモードで精密質量を測定したところ、ピーク#2の m/z は305.1256であった。この精密質量を基に、質量精度3ppm以内で分子式を予測したところ、 $C_{12}H_{22}O_5N_2P$ (理論的 m/z , 305.1261; 質量誤差, -1.6ppm)であると判断された。よって、ピーク#2として検出された代謝物の分子式は $C_{12}H_{21}O_5N_2P$ であると考えられた。ここで、オキソン体の分子式から、この代謝物は、代謝によりオキソン体が酸素原子が1つ付加された(酸化された)ものであると想像し得た。ベンゼン環が開裂しないとの仮定の下、オキソン体に酸素原子が1個付加された構造として、6種(S11a~f)の構造が考えられた。

次に、構造を決定するため、異なる衝突エネルギー(10、30、50 eV)にてピーク#2をMS/MS分析し、得られたマススペクトルを、異なるアルゴリズムをもつ2種のフラグメント解析ソフトウェアを用いて分析した。その結果、S11a~dの4つの構造では、全てのフラグメントイオン(16イオン)に対して親イオンからの生成が説明できたのに対し、S11eとS11fの2つの構造では3つのフラグメントイオンの生成が説明できなかった。よって、

後者2つの構造を、ピーク#2として検出された代謝物の構造候補から外すこととした。

体内での物質酸化への貢献が最も大きい酵素はシトクロムP450 (CYP) であり、本研究で用いたS9は、CYPが存在するミクロソーム画分を含む。したがって、この毒性代謝物の生成の原因となるオキソン体への1酸素付加は、CYPによるものであると考えることができる。そこで、残された候補をさらに絞り込むために、CYPによる代謝部位を予測する4つの異なる *in silico* ツール (FAME 2、<https://nerdd.zbh.uni-hamburg.de/glory/> ; RS-WebPredictor、<http://reccr.chem.rpi.edu/Software/RS-WebPredictor/> ; SMARTCyp、https://smartcyp.sund.ku.dk/mol_to_som ; SOMP、<http://www.way2drug.com/SOMP/>) を用いて、オキソン体において最も1酸素付加が生じる可能性の高い部位の推定を試みた。それぞれのツールで、可能性の高い順に部位をランク付けし、ランキングの平均値が小さい部位に1酸素付加が生じる可能性が高いと判断した。なお、RS-WebPredictor、SMARTCyp、SOMPでは、それぞれCYPの9つ、3つ、5つのアイソザイムの平均値をランキング値とした。その結果 (表2)、S11aとS11cのランキング値より、S11bとS11dのランキング値の方が小さかった。すなわち、残された4つの構造 (S11a~d) のうち、S11bとS11dが、オキソン体の1酸素付加により生成される可能性が高いと判断された。以上より、ダイアジノンの

の塩素処理試料から代謝により生成されるChE活性を阻害する代謝物は、S11b (6-(hydroxymethyl)-2-(propan-2-yl) pyrimidin-4-yl phosphate) あるいはS11d (diethyl 2-(2-hydroxypropan-2-yl)-6-methyl pyrimidin-4-yl phosphate) である可能性が高いと推察された。これら2つの代謝物は、動物体内におけるダイアジノンの代謝実験でも生成の報告があり⁶⁾、後者は *in vitro* 代謝実験でも生成の報告がある⁷⁾。なお、これらの物質は生体内での代謝後に生成される物質であり、(おそらく) 水道水中には存在しないと考えられるため、水質管理目標設定項目における対象農薬 (の分解物) に追加する必要はないと判断された。

(2) メチダチオンについての検討

①メチダチオンとオキソン体のChE活性阻害性

メチダチオン原体は、代謝を考慮しないChE活性阻害性試験では毒性を誘発しなかったが、代謝を施した後にChE活性阻害性試験に供すると、用量依存的に毒性が誘発された。一方、メチダチオンのオキソン体は、代謝を考慮しないChE活性阻害性試験にて毒性を誘発した。代謝を施してもオキソン体は毒性を誘発したが、代謝なしと比較すると、その毒性はいくぶん減少した。

②塩素処理に伴う間接毒性の変動

メチダチオンは塩素と速やかに反応し、20分の接触時間で完全に消失し、これにともない、オキソン体が生成されたが、その後の塩素処理の延長 (4日間) により減少した。

表2 4つの *in silico* 代謝部位予測ツールを用いた毒性代謝物候補のランキング

	S11a	S11b	S11c	S11d
FAME 2	2	3	4	1
RS-WebPredictor	2.3	1.0	2.9	2.9
SMARTCyp	3.7	1.0	3.3	2.0
SOMP	3.4	1.6	3.4	1.6
平均ランキング	2.9	1.7	3.4	1.9

一方、塩素処理前のメチダチオン水溶液は、間接毒性を誘発した。塩素処理前のメチダチオン溶液には、メチダチオンのみが含まれていたことに加え、メチダチオンは間接毒性を誘発することから、この間接毒性は、メチダチオン由来であると推察された。また、20分間の塩素処理により間接毒性は増加した。すなわち、塩素処理により、少なくともメチダチオンの一部が間接毒性を誘発する分解物へと変換されたと考えられた。塩素処理により生成されたメチダチオンオキソンは間接毒性を誘発するため、塩素処理にともない増加した間接毒性に寄与する可能性が高いと推察された。しかしながら、塩素処理20分間におけるメチダチオンのオキソン体への変換率は40%であったため、オキソン体以外の分解物が生成されたと考えられた。また、20分の塩素処理により増加した間接毒性は、その後4日間の塩素処理により減少した。

③塩素処理試料が誘発した間接毒性に寄与する分解物の推定

塩素前試料にて誘発された間接毒性は、試料中のメチダチオン濃度から算定した値と概ね一致した。すなわち、塩素前試料が誘発する間接毒性は、メチダチオンのみで説明できることがわかった。さらに、塩素処理試料にて誘発された間接毒性は、試料中のオキソン体濃度から算定した値と概ね一致した。すなわち、塩素処理試料が誘発する間接毒性は、オキソン体のみで説明できることが示された。また、オキソン体以外の分解物は、試料が誘発した間接毒性に寄与しないこともわかった。

一方、既に我々は、塩素処理にともなうメチダチオンの直接毒性の変動について調べており、塩素処理試料が直接毒性を誘発することと、誘発された直接毒性は、塩素処理により生成されたオキソン体のみで説明ができることを報告している^{5,8)}。

以上より、塩素処理前後のメチダチオン水溶液が誘発する直接毒性も間接毒性も、試料中のメチダチオンとオキソン体でのみ説明することができ、オキソン体以外の分解物は毒性に寄与しないことが分かった。したがって、現行の水質管理目標設定項目の農薬類におけるメチダチオンの取り扱い、すなわち、「メチ

ダチオンのみを測定対象とする」ことは妥当ではなく、「オキソン体の濃度も測定し、原体の濃度と、オキソン体濃度を原体に換算した濃度を合計して算出する」という枠組みにすべきであると提言された。

④代謝により生成された間接毒性に寄与する代謝物の推定

毒性に寄与する代謝物を調べるため、代謝後の塩素処理試料をLC/MSにて分析したところ、これらの試料からいずれもオキソン体が検出された。塩素処理前のメチダチオン濃度に対する、これらの残存オキソン体濃度は極めて小さく、最大でも0.15%程度であったが、これらの残存オキソン体がChE活性を阻害していた可能性が考えられた。そこで、各サンプル中のオキソン体濃度と、オキソン体の用量-反応関係より、各サンプル中のオキソン体が誘発すると期待されるChE活性阻害性を算出したところ、塩素処理試料が誘発した間接毒性と（いくぶん大きい）ほぼ同程度であることがわかった。すなわち、ダイアジノンのケースとは異なり、代謝後のメチダチオン塩素処理試料（あるいは塩素処理前試料）で観察されたChE活性阻害性は、代謝後も残存していたオキソン体由来であると示唆された。

7) 浄水場におけるPFASsの実態調査

23浄水場でのPFASsの実態調査の結果、原水からは18種中9種が検出され、浄水からは21種中9種が検出された。PFBA、PFPeA、PFHxA、PFOAの4種は原水あるいは浄水での検出率が50%以上であった。原水、浄水ともにPFOAの濃度が最も高かった（それぞれ39.6、14.6 ng/L）。しかし、PFOAとPFOSの合計は、最大値は原水、浄水でそれぞれ41.5、14.6 ng/Lで、目標値（50 ng/L）を超える試料は無かった。

原水と浄水を比べると濃度はほとんど変わらない場合が多かったが、粒状活性炭処理や粉末活性炭処理を行っているところでは、浄水中の濃度が低下した。ただし、生物活性炭処理のところ、注入率が高くはない粉末活性炭処理のところでは濃度はあまり変わらなかった。

千葉県企業局では、6浄水場の原水と浄水

ついて、21種のPFASsを測定した。原水からは、PFBA、PFPeA、PFHxA、PFHpA、PFOA、PFNA、PFBS、PFHxS、PFOSの計9物質が検出され、浄水からは、上記9物質のうちPFHxS、PFOSを除く7物質が検出された。原水の総PFASs濃度は19~92 ng/L、浄水の総PFASs濃度は9~35 ng/Lであり、PFBA、PFHxA、PFOAが高い割合であった。

東京都水道局では、11浄水場の原水、浄水、給水について、PFOS、PFOAを測定した。表流水系の浄水場では、原水、浄水ともに全ての箇所 で定量下限(5 ng/L)未満であった。一方、伏流水系の砵浄水場、砵下浄水所では、14~25 ng/Lで検出された。給水の場合、ほとんどの地点で定量下限(5 ng/L)未満であり、最大でも7 ng/Lであった。定量下限以上で検出された地点は砵浄水場、砵下浄水所の系統の地点であるが、いずれも他の浄水場の浄水と混合されて配水されており、PFOS、PFOA濃度は低い値に抑えられていた。

神奈川県内広域水道企業団では、3原水、4給水について、PFOS、PFOAを測定した。原水の一つ(社家吸水井)から、PFOSが過去最大の31 ng/L検出された。

大阪市水道局では、8水源、3浄水場の原水と浄水について、12種のPFASsを測定した。9種のPFASsが検出され、PFOAの濃度が最も高かった(原水(豊野浄水場、1月15日):15 ng/L、浄水(庭窪浄水場、7月1日):15 ng/L)。

神戸市水道局では、6水源、4原水、11浄水(受水点含む)について、PFOS、PFOAを測定した。原水の場合、PFOS、PFOAの合計値の最大は、奥平野浄水場系で8 ng/L(PFOS:2 ng/L、PFOA:6 ng/L)、本山浄水場系で9 ng/L(PFOS:2 ng/L、PFOA:7 ng/L)であった。浄水の場合、PFOS、PFOAの合計値の最大は、奥平野浄水場系で7 ng/L(PFOS:1 ng/L、PFOA:6 ng/L)、本山浄水場系で5 ng/L(PFOA:5 ng/L)であった。受水点では、PFOS、PFOAの合計の最大は、阪神水道系(琵琶湖・淀川水系)で14 ng/L(PFOS:3 ng/L、PFOA:11 ng/L)、その他受水系で6 ng/L(PFOS:3 ng/L、PFOA:3 ng/L)であった。

沖縄県企業局では、北谷浄水場および各水

源においてPFOS+PFOA、PFHxS濃度を調査した。また、比謝川では支流の大工廻川でのPFOS濃度が特に高いため、河川のいくつかの地点でも調査を行った。令和2年度の沖縄地方は平年に比べ多くの降水があり、北谷浄水場では中部河川からの取水を抑制し北部地域のダムからの取水を主とする水運用を長期的に実施できたため、北谷浄水場原水のPFOSとPFOA合計値は平均12 ng/Lとなった。比謝川では、取水ポンプ場で平均142 ng/L(PFOS+PFOA合計値、以下同じ)、支流大工廻川で平均335 ng/L、大工廻川流入前の地点2で平均24 ng/Lとなった。長田川では平均14 ng/Lと低い値となったが、下流で比謝川と接続していることから、河川流量の低下時には比謝川の水が回り込み、最大値は154 ng/Lであった。

E. 結論

1) 令和元農薬年度の農薬製剤出荷量は約22.2万tで昨年と比べ0.6%減少した。登録農薬原体数は令和元年9月現在596種類で、登録農薬原体数は平成16農薬年度以降、増加が続いている。登録農薬製剤数は令和元年9月現在、殺虫剤が957、殺菌剤が794、殺虫殺菌剤が417、除草剤が1418で、合計は3859(前年比423件減)と大きく減少していた。

2) 令和2年度の研究班による農薬類の実態調査の結果、原水では115種、浄水では31種の農薬とその分解物が検出された。用途別に見ると、原水、浄水ともに除草剤が最も多かった。対象農薬リスト掲載農薬は、原水では64種、浄水では22種が検出された。Σ値の最大値は、原水が3.16、浄水が0.15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、原水では13種の農薬が1 µg/Lを超過し、浄水ではプロモブチドが2.00 µg/Lと高い値を示した。検出率の場合、原水、浄水では、それぞれ26、6種の農薬で10%を超えていた。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高い値を示した。浄水では、10農薬の最大個別農薬評価値が0.01以上であった。

3) 本年度の実態調査の傾向は、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 は浄水でも比較的高い濃度、頻度で検出され、Σ値への寄与も大きいことから分類の見直しが必要と考えられた。メタゾスルフロンのように一部の事業者で一定の濃度、頻度で検出されている農薬は、全国の実態を把握する必要があると考えられた。

4) 水道事業の農薬類の測定実施の有無は、2009年度と2017年度で大きくは変わらなかった。農薬類の検査体制は、測定回数が少ない方が委託の割合が高く、測定回数が多い場合に自己検査の割合が増える傾向にあった。測定農薬類数と1試料あたりの検査料金には、必ずしも関連は認められなかった。

5) これまでの代謝を考慮しないChE阻害試験と代謝を考慮したChE活性阻害試験を組み合わせた評価の結果、現行の水質管理目標設定項目におけるダイアジノンの取り扱いが妥当であり、その他の分解を測定項目に組み込む必要はないと提言された。一方、メチダチオンの取扱いは妥当でなく、メチダチオンに加えてオキソン体も測定項目に組み込む必要があり、それ以外の分解物は組み込む必要はないと提言された。

6) 23浄水場でのPFASsの実態調査の結果、原水からは18種中9種が検出され、浄水からは21種中9種が検出された。PFBA、PFPeA、PFHxA、PFOAの4種は原水あるいは浄水での検出率が50%以上であった。原水、浄水ともにPFOAの濃度が最も高かった(それぞれ39.6、14.6 ng/L)。しかし、PFOAとPFOSの合計は、最大値は原水、浄水でそれぞれ41.5、14.6 ng/Lで、目標値(50 ng/L)を超える試料は無かった。

F. 参考文献

- 1) (社)日本植物防疫協会. 農薬要覧2020年—令和元年農薬年度—. (社)日本植物防疫協会, 東京, 2020.
- 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>
- 3) 農林水産省. 農薬の審査報告書. https://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n_sinsa/index.html
- 4) Maron, D. M. and Ames, B. N. Revised methods

for the *Salmonella* mutagenicity test. Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects, 1983, 113, 173–215.

- 5) Matsushita, T., Fujita, Y., Omori, K., Huang, Y., Matsui, Y., and Shirasaki, N. Effect of chlorination on anti-acetylcholinesterase activity of organophosphorus insecticide solutions and contributions of the parent insecticides and their oxons to the activity. *Chemosphere*, 2020, 261, 127743.
- 6) Machin, A. F., Rogers, H., Cross, A. J., Quick, M. P., Howell, L. C., and Janes, N. F. Metabolic aspects of the toxicology of diazinon. I. Hepatic metabolism in the sheep, cow, pig, guinea-pig, rat, turkey, chicken and duck. *Pesticide Science*, 1975, 6, 461–473.
- 7) Shishido, T. and Fukami, J. Enzymatic hydrolysis of diazoxon by rat tissue homogenates. *Pesticide Biochemistry and physiology*, 1972, 2, 30–50.
- 8) 松井佳彦. 水道水質の評価及び管理に関する総合研究 平成30(2018)年度報告書. 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, 2019, 262–293.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Asami, M., Furuhashi, Y., Nakamura, Y., Sasaki, Y., Adachi, Y., Maeda, N., and Matsui, Y. A field survey on elution of lead and nickel from taps used in homes and analysis of product test results. *Science of the Total Environment*, 2021, 771, 144979.
- 2) Narita, K., Matsui, Y., Matsushita, T., and Shirasaki, N. Selection of priority pesticides in Japanese drinking water quality regulation: validity, limitations, and evolution of a risk prediction method. *Science of the Total Environment*, 2021, 751, 141636.
- 3) Kamata, M., Matsui, Y., and Asami, M. National trends in pesticides in drinking water and water sources in Japan. *Science of the Total Environment*, 2020, 744, 140930.
- 4) Matsushita, T., Fujita, Y., Omori, K., Huang, Y., Matsui, Y., and Shirasaki, N. Effect of

chlorination on anti-acetylcholinesterase activity of organophosphorus insecticide solutions and contributions of the parent insecticides and their oxons to the activity. Chemosphere, 2020, 261, 127743.

- 5) 森智裕, 谷口佳二, 小田琢也. フィプロニルとその分解物の水源実態調査及び浄水処理における反応性. 水道協会雑誌. 2021, 90

(3), 2~10.

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

なし

令和2年度厚生労働科学研究 分担研究報告書

水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究 —消毒副生成物分科会—

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
	今井美江	東京都水道局
	柴 雅彦	茨城県企業局
	渡邊みどり	北千葉広域水道企業団
	眞鍋 晋	川崎市上下水道局
	船岡英彰	京都市上下水道局
	今中壮一	大阪市水道局
	竹田泰治	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

研究要旨

ハロアセトアミド (HAcAms) は、実際の送水過程では、夏季の水温が高く経過時間が長い地点で生成量が増す可能性を示した。また、浄水中の HAcAms の THMs に対する濃度は最大でも 1 割程度と見積もられた。浄水処理対応困難物質について、1,3,5-トリヒドロキシベンゼンは、凝集沈澱処理において PAC の増量や pH の制御を行ってもクロロホルム生成能、トリクロロ酢酸生成能を低減することは困難であったが、粉炭を注入することにより大幅に低減できること等、いくつかの物質の処理性について整理した。塩素酸について、浄水場 (所) における次亜塩素酸ナトリウムの管理は、大規模浄水場よりも小規模浄水所の方が難しく、小規模浄水所においては、塩素酸の観点から次亜塩素酸ナトリウムの貯留期間の管理や、貯留槽設置室の温度管理等をより適切に行う必要があることを指摘した。臭気を呈する副生成物について、3,5-ジメチルピラゾール(DMP)のオゾン処理により生成した Bromo-DMP は GAC 処理 (新炭及び経年炭) で除去されることを示した。また、珪藻の一種であるオーラコセイラの塩素処理により、薬品臭を有する副生成物が生成することを確認した。パラベン類に関連して、パラベン類とその 1 塩素化物、2 塩素化物の定量方法を確立した。多摩川での実態調査を実施した。p-安息香酸 n-プロピル (PHMA-nP) は比較的高い値で検出されたが、河川水の希釈などの影響から下流の多摩川原橋では低値となった。1 塩素化物、2 塩素化物は全地点で不検出であった。トリハロメタンやハロ酢酸について、有機物指標 3 項目とトリハロメタン生成能の相関関係はオゾン処理、BAC 処理と処理工程が進むにつれ弱くなる傾向にあった。THM 生成能予測について、蛍光強度と電気伝導度に基づいたモデル式を作成する手法を整理した。送配水中のジクロロ酢酸が減少する現象を確認した。マンガニオンはクエン酸と塩素の反応を促進させるだけでなく、反応に直接的に関与し、反応機構そのものを大きく変えるものであることを指摘した。最後にいくつかの未規制副生成物については、現行の基準項目がマーカーとして使える可能性を示した。

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・特性、分析技術、低減策について調査を行った。あわせて、現行の基準項目が未規制の消毒副生成物のマーカーとして利用でき

るか検討を行った。

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、浄水処理工程水の実態調査を行った。

さらに、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生成特性

未規制消毒副生成物であるハロアセトアミドについて、年間を通して浄水中の実態調査を行うとともに、有機物濃度や水温等の条件を変化させハロアセトアミド生成量の違いを調査した。

2. ハロベンゾキノン

構造の異なる16種のp-芳香族アミン類について、DCBQの生成率を検討した。また、芳香族アミン類からDCBQが生成する際、p-キノンイミド類が生成することが報告されていることから、p-キノンイミド類についても調査した。

3. 浄水処理対応困難物質に関する調査

浄水処理対応困難物質について、物質のポリ塩化アルミニウム(PAC)注入率およびpH条件の変化による処理性、並びに、弱塩素・粉末活性炭(粉炭)添加による処理性を調査した。

4. 塩素酸

2016年にWHOにおいて、塩素酸の1日許容摂取量(TDI)が30 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{日})$ から約11 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{日})$ に見直された※。このTDIから水道水における指針値を試算すると、0.2mg/Lとなる(現行の水質基準は0.6mg/L)。そこで、東京都水道局で管理する浄水場(所)の浄水及び給水について、過去5年間の塩素酸の検出状況を確認した。
※WHOはこのTDI見直しによるガイドライン値の変更は行っていない。

5. 臭気を発する副生成物

5.1 3,5-ジメチルピラゾール(DMP)由来の生成物

DMPをオゾン処理することによって生成するBromo-DMPの生成挙動及び浄水処理性について調査を行った。また、Bromo-DMPを塩素処理することで生成される物質と臭気との関係についても調査を行った。

5.2 珪藻類オーラコセイラを塩素処理した際に生じる異臭

水道水の異臭の原因調査の一環として、珪藻類オーラコセイラを塩素処理した際に生じる臭気について実験的に評価を行った。

6. 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させることにより、塩素化物を生じるとされる。塩素化パラベン類における生態毒性の知見が少ないが、急性毒性がパラベンより高まるという報告もある。これらの標準品は市販されておらず、浄水処理や環境中での実態調査事例は少ない。しかし、下水処

理場など、人工由来の排出源などがある河川水等では、パラベン類による汚染よりも塩素化パラベンによる汚染の可能性がある。そこで、多摩川流域における実態調査を実施した。

7. トリハロメタン・ハロ酢酸

7.1 生物活性炭吸着における粒状活性炭更生後のTHM生成能の変化

浄水処理工程におけるTHM生成の低減化と管理手法の構築を目的とし、THM前駆物質の代替指標として蛍光強度、TOC、E260をとりあげ、その除去性とTHM生成能との関連性を調査した。

7.2 消毒副生成物実態調査および蛍光有機物質との関連調査

蛍光光度計から直接検出される蛍光強度を使用によるTHM生成能の予測を試みた。

7.3 奈良県における消毒副生成物の実態調査

浄水場からの距離やラフィド藻の発生状況と消毒副生成物濃度の関係に着目して実態調査を行った。

7.4 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

マンガンイオンとクエン酸の関係に着目し、クエン酸のハロ酢酸生成能(HAAFP)と塩素消費量の経時変化を観察した。次に、夏季の環境水と藻類増殖時の環境水を採取し、それぞれのHAAFPにマンガンイオンが与える影響を評価した。

8. 基準項目の未規制項目としての妥当性

消毒副生成物には多種多様なものが知られており、未規制のものも多い。今後毒性評価が進みより多くの物質が基準となる可能性もあるが、対象物質数が増えた場合、すべての物質を測定することは、実務上困難となることも想定される。このような状況を踏まえ、本調査ではトリハロメタン等の現行の基準項目が、これら未規制項目のマーカーとして利用できるか文献に基づき検討した。この際に、マーカーと未規制副生成物の相関だけでなく、マーカーの何%以下という緩い関係(図1右側)も有用であると判断して解析を行った。

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

ハロアセトアミド(HAcAms)のうち、クロロアセトアミド(CAcAm)、ブロモアセトアミド(BAcAm)、ジクロロアセトアミド(DCAcAm)、ブromokloro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)を対象とした。処理フロー(原水, 沈澱処理水, オゾン処理水, 活性炭処理水, ろ過水, 浄水)の調査を行うとともに, 浄水においてはHAcAmsの生成状況を整理するため, 水温(原水), 塩素注入率(殺藻用, 中間塩素及び後塩素の合計), 総トリハロメタン(総THMs・浄水), 全有機炭素(TOC・原水)及び電気伝導率(原水)との関係を調査した。さらに, 浄水への追加塩素注入の影響を確認するため, 追加塩素注入率を0.5及び1 mg/Lとし, 20 °Cで0, 2, 4, 6, 24及び72時間保管した場合の挙動を調査した。なお比較対象として, 塩素を注入しない場合の挙動も調査した。また, 追加塩素を注入せず, 浄水を10, 20及び30 °Cで, 各々0, 2, 4, 6, 24及び72時間保管した場合の挙動を調査した。分析にはGC/MSを用いた。

1.2 ハロアセトアミドの生成特性

浄水の年間調査として, 月1回, 霞ヶ浦浄水場浄水中のHAcAms(1.1同様の6種)を測定した。また, 配水池や給水末端を想定した模擬実態調査として, 配水池や給水末端を想定し, 霞ヶ浦浄水場の浄水を恒温(29 °C)で一定時間(24~168 h)静置した検体のHAcAmsを測定した。さらに, 有機物濃度及び水温の影響を評価するために, 使用期間の異なる(有機物濃度の異なる)霞ヶ浦浄水場の粒状活性炭処理水を採取し, 1 mg/L程度の次亜塩素酸ナトリウムを添加し, 恒温で24時間静置後のHAcAmsを測定した(有機物濃度2水準, 静置温度3水準)。

2. ハロベンゾキノロン

図2に対象物質を示す。第1~3級のp位に置換基を持つ16種の芳香族アミン類を対象とした[アニリン(AN), 4-メチルアニリン(MAN), 4-アミノフェノール(APH), 4-メトキシアニリン(MTAN), 4-アミノベンジルアルコール(ABAL), 4-アミノ安息香酸(ABA), 4-アミノフェニル(APAA), 3-(4-アミノフェニル)プロピオン酸(APPA), 4-アミノアセトアニリド(AAA), 4-アミノ馬尿酸(AHPA), スルファメトキサゾール(SMX), N-メチルアニリン(NMA), N-メチル-4-アミノフェノール(MAPH), 4-(メチルアミノ)安息香酸(MABA), 4-ヒドロキシアセトアニリド(HAA), N,N-ジメチルアニリン(DMA)]。また, 測定したキノロン類[DCBQ, 2-クロロ-1,4-ベンゾキノロン(CBQ)], p-キノンイミド類[p-キノン-4-クロロキノンイミド(QC), 3,5-ジクロロ-4-クロロキノンイミド(DCQC)]も図2に示す。

DCBQの生成能試験は, 対象物質の初期濃度3 µM(MANは10 µM), 反応時間4 h, 塩素添加量2.5 mg Cl₂/L(MANは3.5 mg Cl₂/L), pH 7(2 mMりん酸緩衝液), 20 °Cとした。4 h後の遊離残留塩素は1.2~2 mg Cl₂/Lであった。塩素処理後, グリシン溶液を加えて遊離残留塩素を除去

した。DCBQ測定試料は, 速やかにギ酸を添加した(最終濃度:0.25%)。p-キノンイミド類測定試料は, 速やかにインドフェノール法で誘導体化した。QC, DCBQ, CBQの生成はモル生成率(%)で評価した。DCQCは, 標準物質が市販されていないため, 4 h後のANにおける値を1とした相対生成率で示した。

DCBQ, CBQ濃度は, LC-MS/MS(1200 series; アジレントテクノロジー, 3200 QTRAP; AB Sciex)により測定した。定量下限値は, 0.1, 20 µg/Lであった。誘導体化したp-キノンイミド類は, LC-MS/MS(TQD; Waters)で測定した。

3. 浄水処理対応困難物質に関する調査

PAC注入率およびpH条件の変化による処理性調査の対象物質はトリクロロ酢酸を高い割合で生成する1,3,5-トリヒドロキシベンゼン(1,3,5-THB)とジクロロ酢酸を生成するアセトンジカルボン酸(ADC)とし, 凝集沈澱・砂ろ過の通常処理を模して, ジャーテストおよびメンブランフィルターろ過による処理性を調査した。

具体的には, 原水(淀川表流水)にそれぞれの対象物質を0.2 mg/L添加し, 0, 100 mg/Lの注入率でPACを添加した。ジャーテスターを用いて2分間急速攪拌(150 rpm)し, 10分間緩速攪拌(50 rpm)した後, 30分間静置した。上澄液をメンブランフィルターで吸引ろ過したものを測定用試料とした。この試料に対し, 24時間反応した後の遊離残留塩素濃度が1 mg/L程度残存するよう算出した注入率で塩素を添加し24時間20 °Cで反応させた。また, PAC注入率を20 mg/Lに設定し, 原水のpHの違いによる挙動を調べた。原水1.0 Lをビーカーにとり, 対象物質を0.2 mg/L添加した。pHを5, 6, 7, 8および9に6 M塩酸および50%水酸化ナトリウム水溶液を用いて調製した。PACを注入率20 mg/Lで添加し, ジャーテスターを用いて2分間急速攪拌(150 rpm)し, 10分間緩速攪拌(50 rpm)した後, 30分間静置した。上澄液をメンブランフィルターで吸引ろ過したものに塩素を添加し, 測定用試料とした。

弱塩素・粉末活性炭添加による処理性調査の対象物質は, 1,3,5-THB, ADCおよびアセチルアセトン(AA)の3物質とした。

具体的には, 原水にそれぞれの対象物質を0.2 mg/L添加し, 弱塩素処理後に粉炭を注入した。弱塩素処理は, 塩素を注入率0.5 mg/Lで添加し, 塩素接触時間を5分とした。粉炭はドライ炭を使用し, 0 mg/Lおよび20 mg/Lの各注入率で調査した。なお, 粉炭接触時間は60分とした。

その後, PACを注入率20 mg/Lで添加し, ジャーテスターを用いて2分間急速攪拌(150 rpm)し, 10分間緩速攪拌(50 rpm)した後, 30分間静置した。上澄液をメンブランフィルターで吸

引ろ過したものに塩素を添加し、測定用試料とした。

4. 塩素酸

東京都水道局は約 80 の浄水場（所）を管理しており、数十 m³/日から 170 万 m³/日まで様々な施設能力を有する浄水場（所）が存在する。施設能力の大きい浄水場（7 万～170 万 m³/日）は 10 箇所存在しており、主に 23 区に送・配水されている。また、施設能力が小さい浄水所は主に多摩地区に存在しており、管理の難しい山間部に設置されている箇所もある。本調査では、これらの浄水施設の規模に注目し、塩素酸の生成実態について取りまとめた。

5. 臭気を発する副生成物

5.1 3,5-ジメチルピラゾール(DMP)由来の生成物

臭気閾値調査として、Chloro-DMP 標準原液及び Bromo-DMP 標準原液を 10 mg/L となるよう精製水で希釈したものを標準液とし、100 mL メスフラスコに段階的な濃度となるようそれぞれ個別に標準液を添加し、精製水で定容したものを 300 mL 三角フラスコに移し、5 人のパネラーで異臭の有無を確認し Chloro-DMP, Bromo-DMP の臭気閾値を調査した。

また、上記の Bromo-DMP 標準液を、50 µg/L となるよう精製水で希釈したものをを用いて、100 mL メスフラスコに段階的な濃度となるよう水道水（遊離塩素濃度：0.46 mg/L）で定容し攪拌、20 分静置後に 300 mL 三角フラスコに移し、異臭の有無を 10 人のパネラーで確認し Bromo-DMP 塩素反応物の臭気閾値を調査した。

オゾン処理による Bromo-DMP の生成調査のために、オゾン発生装置（WAT-08, ラウンドサイエンス製）を用いてバッチ式のオゾン処理実験を行った。砂ろ過処理水（臭化物イオン濃度：34 µg/L）5 L に DMP を 100 µg/L となるよう添加し、オゾンガスを毎分約 0.2 mg/L で通気させ、オゾン接触時間毎に一定量採水、直ちに曝気し、残留オゾン除去したものを試料水とした。また、Bromo-DMP 生成と臭化物イオンとの関係を確認するため、臭化物イオンを追加（+50 µg/L, +100 µg/L）した試料水についても上記と同じ条件で実験を行った。

Bromo-DMP の砂ろ過での処理性を調べるために、Bromo-DMP 標準原液を 100 µg/L となるよう砂ろ過処理水（水温：28.5 °C）を用いて調製した。また、ろ過速度による処理性の差異を検証するため 50, 100, 150 m/d となるよう流量調整し、一定時間通水したものを採水し、試料水とした。

活性炭での処理性を調べるために、大阪市柴島浄水場で 2 年 8 ヶ月及び 5 年使用後の GAC（石炭系、水蒸気賦活のもの）を実験に使用した。Bromo-DMP 標準原液を 100 µg/L となるよう砂ろ過処理水（水温：28.5 °C）を用いて調製した。ま

た、空間速度（以下、SV）による処理性の差異を検証するため SV4, 7, 10/h となるよう流量調整し、一定時間通水したものを採水し、試料水とした。また、活性炭の物理吸着能のみの検証を行うため、上記の条件で新炭での調査も行った。

塩素処理の影響を調べるために Bromo-DMP 標準原液を 1 mg/L となるよう精製水で希釈したものを標準液とし、100 mL メスフラスコに 10 µg/L となるよう標準液を添加、遊離塩素濃度が段階的な濃度となるよう塩素水も添加して精製水で定容、攪拌後 20 分静置したものを試料水とし、Bromo-DMP 及び Bromo-DMP 塩素反応物の挙動及び臭気の確認を行った。

5.2 珪藻類オーラコセイラを塩素処理した際に生じる異臭

令和元年 11 月の原水には、数種類のオーラコセイラが観察されていた。そのうち何種類かを単離培養したものを実験に用いた。

培養株に無臭水（水道水を粒状活性炭でろ過したもの）を加え、50～200 糸状体/mL 程度になるように調整した。その後、前処理なし、藻体破壊、塩素処理の条件で、官能試験を行った。

官能試験については、冷時臭と温時臭について、5 人～6 人で、官能試験を行った。塩素添加については、塩素添加直後と 3 時間後に、官能試験を行った。冷時臭は、実際の水道水を想定したものであり、加温せず、そのまま臭いをかいだ。実験は冬季に行ったため、冷時臭時の水温は約 10 °C であった。温時臭は、検体を三角フラスコに 100 mL 程度入れ、40～50 °C に加温したのち、臭いを評価した。

6. 塩素化パラベン類に関する調査

パラベン類 6 種の塩素化物は、標準品が市販されていないため、塩素と反応させたものを暫定標準液として代用した。各 1 mg/L の 6 種混合溶液に次亜塩素酸ナトリウム（以下、塩素）1000 mg/L を添加すると、パラベン類（無塩素化物）はすぐに消失した。1 塩素化物は瞬時に生成するが、2 時間後には消失、2 塩素化物最大値となり、その後は徐々に減少していくことがわかった。そのため、塩素接触後 2 時間後に残留塩素を除去したものを 2 塩素化物の標準原液 1 mg/L とした。1 塩素化物は、塩素接触後、0.5 hr, 0.75 hr, 1.0 hr に残留塩素を除去したものを標準列として使用した。1 塩素化物の濃度の算出方法としては、各塩素接触時間における 2 塩素化物濃度を定量し、無塩素化物濃度（1 mg/L）から差し引くことにより、1 塩素化物濃度を算出し、これを標準列とした。サンプルの前処理は固相抽出法とし、LC-MS で同定・定量を行った。下水処理場からの排出の影響を調査するため、多摩川において、下水処理場のない上流部より河川水とあわせ、実態調査

を行った。

7. トリハロメタン・ハロ酢酸

7.1 生物活性炭吸着における粒状活性炭更生後の THM 生成能の変化

令和 2 年 6~10 月にかけて月 1~2 回程度の頻度で凝集沈殿処理水、オゾン処理水、BAC 処理水の調査を行った。対象 BAC 池は更生年度および使用されている活性炭の種類別に 5 池を選定し、蛍光強度、TOC、E260 を測定し、THM 生成能との関連性を調査した。

7.2 消毒副生成物実態調査および蛍光有機物質との関連調査

蛍光光度計から直接検出される蛍光強度を使用し、THMFP の予測の可能性について検討を行った。

7.3 奈良県における消毒副生成物の実態調査

浄水、受水地点、給水末端でのトリハロメタンやハロ酢酸のプロファイルを比較した。また、ラフィド藻の発生状況と消毒副生成物生成能の関係について、トリクロロ酢酸/ジクロロ酢酸比による評価を行った。

7.4 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

まずマンガンイオン (Mn^{2+}) の有無によるクエン酸の HAAFP と塩素消費量の経時変化を調べた。HAAFP 試験の条件は、サンプル量は 10 mL、クエン酸濃度は 3 mg C/L、塩素添加量はその 10 倍である 30 mg/L、マンガン添加量は 0, 100 μ g/L、反応時間は 5, 10, 24, 48, 72, 96, 120 時間、pH は 7 (5 mM リン酸緩衝液)、温度は 20 °C とし、暗所で静置した。反応後に試料の一部を取り出し、DPD 法により消費塩素量の測定を行ったのちに、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 で行った。マンガンイオンを加えた試料のみ、口径 0.2 μ m の親水性 PTFE メンブレンフィルターを用いて濾過をしたのちに HAA 濃度の測定を行った。

次に、環境水についてマンガンの影響を調べた。夏季に採水した環境水 (琵琶湖、桂川、淀川、2020/8/7) と藻類増殖時に採取した環境水 (蹴上、唐崎、2020/9/7) にマンガンイオンを濃度が 100, 1000 μ g/L になるように添加し、HAAFP 試験を行った。HAAFP 試験は、反応時間を 24 時間に固定した以外、上記のクエン酸のものと同様であった。

8. 基準項目の未規制項目としての妥当性

対象物質として、ハロアセトニトリル (HANs)、ハロアセトアミド (HAcAms)、ハロアルデヒド (Has)、ハロケトン (HKs)、ハロベンズキノ

(HBQs)、抱水クロラール、ハロニトロメタン (HNMs) を取り上げた。解析にあたってはシステマティックレビューの方法を用いて過去 20 年間の文献から 40 報を抽出した。

C. 調査結果および D. 考察

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

原水ではわずかに DcAcAm が検出され、沈殿処理水は、殺藻用の塩素注入により DcAcAm, BCAcAm, DBAcAm の順に生成が認められた。オゾン処理では増減せず、活性炭処理で低減した。ろ過水では中間塩素処理及び後塩素注入により、DBAcAm, BCAcAm, DCaAcAm の順にジハロアセトアミドの生成が認められた。浄水は、塩素との接触時間が長いこと、ろ過水に比べ各成分が増加した。浄水の総 HAcAms は 1.0~4.5 μ g/L であり、夏季に高く冬季に低い検出傾向であった。さらに、HAcAms 水温、塩素注入率及び総 THMs と相関が強く、TOC とも相関があることがわかった。

追加塩素注入率を変化させた場合、DBAcAm, BCAcAm, DCaAcAm について、いずれの注入率も経過時間とともに概ね増加した。また各時間において、追加塩素 (0.5 mg/L, 1 mg/L) した場合、追加塩素なし (0 mg/L) に比べ生成がやや高まる傾向であった。しかし、0.5 mg/L 及び 1 mg/L で追加塩素注入した場合、総 HAcAms は、72 時間で各々約 1.3 倍に増加し、両者の注入率による明確な生成の差は認められなかった。

水温を変化させた場合、DBAcAm, BCAcAm, DCaAcAm について、水温 30 °C での生成が最も高く、総 HAcAms は、72 時間で各々約 1.5~2.2 倍に増加した。HAcAms の増加は、追加塩素注入よりも経過時間や水温の寄与が大きいと考えられた。

1.2 ハロアセトアミドの実態調査

水温が低下する 10 月~12 月には HAcAms が高濃度で検出され、この時には $KMnO_4$ 消費量も高濃度であった。一方、6~9 月は水温が高いものの HAcAms はほとんど検出されなかった。これは、高水温期には前塩素処理により HAcAms が高濃度で生成する (砂ろ過水中の HAcAms は 6~8 μ g/L 程度) もの、THMs 対策として再生された粒状活性炭により大半が除去されたためと考えられた。

採水した浄水を 29 °C で一定時間静置した場合、採水時には BCaAcAm, DBAcAm が検出され、24 時間後 (配水池を想定) にはこれらの濃度が増加し、さらに DCaAcAm も検出された。72 時間後には各項目ともさらに濃度が増加し、合計で 3.8 μ g/L となった。168 時間後 (給水末端を想定) には 72 時間後とほぼ同じ濃度であった。夏の高

水温期を想定して29℃の静置温度とした調査を行ったが、THMsに注意した通常の処理をすれば浄水は今回の調査条件(KMnO₄消費量:1.3 mg/L, 残留塩素:0.8 mg/L)程度の水質となり、この場合の給水末端におけるHAcAms濃度は4 µg/L程度になることが推定された。

粒状活性炭処理水(約100日間使用(KMnO₄消費量2.2 mg/L), および約50日間使用(KMnO₄消費量2.7 mg/L))を採水、次亜塩素酸ナトリウムを添加し、10℃、20℃、30℃の各水温で24時間静置した。いずれの場合も、静置水温を高くするほどHAcAmsは多く生成し、30℃のときには10℃に比較して約2倍の濃度になっていた。また、活性炭池ごとの比較をすると試用期間が長い場合の方が1.3~1.7倍多く生成していた。

この傾向は同時に測定したTHMsと同様であることから、浄水処理におけるHAcAms対策としては、THMsと同様に高水温期には処理過程で十分に有機物を除去する(適切に粒状活性炭の再生を行う)ことが重要であると考えられた。なお、浄水中のHAcAms濃度は最大でもTHMs濃度の1割程度であると見積もられた。

2. ハロベンゾキノン

図3に、p-芳香族アミン類からのDCBQ、QC生成率を示す。16種のp-芳香族アミン類のうち、12種からDCBQが生成した(生成率:0.02~8.1%)。ANと-CH₂OH、-COOH、-C(O)-NRを持つアミン類の生成率が高かった。一方、-OH、-O-CH₃、-NH-C(O)-CH₃を持つアミン類からは生成しなかった。QCは、全てのアミン類から生成し、HAAを除いて、DCBQより生成率は高かった(0.2~90%)。QCとDCBQの生成率に関連性は無かった。このとき、DCBQが生成しなかった3物質のQC生成率は、約90%と高かった。QCの塩素反応性を検討したところ、低かったことから、QCはp-芳香族アミン類由来の主な消毒副生成物であると考えられた。

p-芳香族アミン類からDCBQが生成する場合、DCQCが中間体となる。そこで、DCQCとDCBQの生成率の関係を見たところ、第1級アミンについて相関が認められた(図4)。ただし、-OHを持つアミン類を除いた。これは、-OHを持つアミノフェノール類からはDCBQは生成せず、また、アミドであるHAAからはDCBQが生成したが、DCQCは生成しなかったため、フェノールによる生成経路と推察されたためである。

第2級アミンの場合、DCQC生成あたりのDCBQ生成率は第1級アミンより大きかった。このことから、第2級アミンは、DCQCを中間体とする経路以外の経路によってもDCBQが生成すると推察された。図5に、構造が類似する第1~3級のp-芳香族アミン類について、DCBQ、CBQ、QCの生成率を示す。構造が類似する場合、DCBQ

とQCは、第1級、2級、3級の順に高かった。しかし、CBQは第2級アミンのみから生成された。CBQを塩素処理したところ、DCBQは生成しなかった。この結果も、第2級アミンでは、塩素化ベンゾキノン類、QC類の生成特性が異なり、第2級アミンは、DCQC以外の経路によってもDCBQが生成した可能性を支持していると考えられた。

3. 浄水処理対応困難物質に関する調査

1,3,5-THBは、PAC注入率やpHに関係なくいずれの生成能も変化がみられなかったことから、1,3,5-THBは凝集沈澱によって除去できないことが確認できた。一方、ADCはいずれの生成能もPAC注入率の増加に伴い減少傾向を示した。またpHについては、pHが低いほど処理性が高いことが確認された。

弱塩素・粉末活性炭添加による処理性調査の結果以下のことがわかった。(1)1,3,5-THBについては粉末活性炭のみを注入した場合、生成するクロロホルムおよびハロ酢酸を80%以上低減できるが、前塩素を併用すると、粉末活性炭単独の場合に比べて処理性は低下する。(2)ADCについては、粉末活性炭のみを注入した場合、生成するクロロホルムおよびハロ酢酸の低減効果は20~40%と高くなく、前塩素の併用による効果はみられなかった。(3)AAについては、粉末活性炭のみを注入した場合、生成するクロロホルムおよびハロ酢酸を約60%低減できるが、前塩素の併用による効果はみられなかった。

4. 塩素酸

平成27年度から令和元年度までの大規模浄水場浄水及び給水の検出状況を評価した。過去5年間の10浄水場(所)浄水及び47箇所の給水の平均値は浄水、給水共に0.03 mg/L程度と低く、また最大値でも0.13 mg/L以下であり、0.2 mg/Lを超えたことはなかった。浄水及び給水の各地点における最大値の分布も年度によって大きな変化はなく、水質基準が仮に強化された場合においても、超過する懸念はないものと考えられた。

平成27年度から令和元年度までの小規模浄水場原水及び浄水の検出状況を評価した。過去5年間の全箇所の平均値は浄水、給水共に0.04 mg/L以下であったが、最大値は0.40 mg/Lを超える年度があった。各地点における最大値の分布は、どの年度においても0.15mg/Lを超える箇所が浄水、給水共に数か所あり、年度によっては0.20 mg/Lを超えた箇所が1、2箇所あった。

浄水場(所)における次亜塩素酸ナトリウムの管理は、大規模浄水場よりも小規模浄水所の方が難しく、小規模浄水所においては、次亜塩素酸ナトリウムの貯留期間の管理や、貯留槽設置

室の温度管理等をより適切に行う必要があるものと考えられた。

5. 臭気を発する副生成物

5.1 3,5-ジメチルピラゾール(DMP)由来の生成物
Chloro-DMP 及び Bromo-DMP の臭気閾値調査をした結果、Chloro-DMP は 40 $\mu\text{g/L}$ 、Bromo-DMP は 10 $\mu\text{g/L}$ であった。臭気の種類については共に薬品様臭を呈した。次に Bromo-DMP 塩素反応物の臭気閾値調査をした結果、パネラー半数以上が通常の塩素臭と異なる臭気を検知した濃度は 0.03 $\mu\text{g/L}$ であり、臭気の種類については、カルキ臭あるいは薬品様臭といった表現がパネラーから寄せられた。

次にオゾン処理による DMP からの Bromo-DMP を調べた。DMP 濃度が減少するにつれ、Bromo-DMP 濃度が徐々に上昇、注入率 0.9 mg-O₃/L 付近で濃度ピークを示し、その後減少する傾向がみられた。また、臭化物イオン添加の有無による Bromo-DMP 生成挙動は、臭化物イオン濃度が高いほど Bromo-DMP の生成量が増加した。この結果から、DMP をオゾン処理することによって生成する Bromo-DMP は臭化物イオンの含有量に依存し、濁水等で臭化物イオン濃度が上昇した際には、Bromo-DMP の生成量も増加することが示唆された。DMP の流入濃度及び臭化物イオン濃度の影響を受けるものの、後オゾン処理で Bromo-DMP が完全に処理されない可能性があることが示された。

処理性について、Bromo-DMP の処理に砂ろ過処理は効果的でないことが示された。一方、経年炭、新炭ともに Bromo-DMP 除去率は 99%以上と高い処理性を示した。

Bromo-DMP を塩素処理すると、塩素濃度が高くなるにつれ、また時間経過とともに濃度は低下した。Chloro-DMP は検出されることはなかった。Dichloro-DMP は、添加 20 分後の塩素濃度 1.0、1.5 mg/L 試料でピークを確認できたが時間経過とともに減少し、24 時間後の試料ではピークは確認できなかった。Chloro-Bromo-DMP は塩素添加試料全てにおいて、時間経過とともに面積値が増加する傾向がみられた。これらの変化が臭気の変化に影響している可能性が示された。

5.2 珪藻類オーラコセイラを塩素処理した際に生じる異臭

A. *granulata* var. *angustissima* の試料について、塩素添加したところ、溶剤臭がした。これは、令和元年 11 月及と概ね同じ種類の臭気であった。一方、同試料を超音波破碎した試料については、溶剤臭はしなかった。そのため、この異臭は、塩素と反応して発生したものである可能性が高いと考える。また、ろ液（ろ過した際の通過液）を塩素処理も臭気は発生しなかった。

6. 塩素化パラベン類に関する調査

全調査地点で 1 塩素化物、2 塩素化物は不検出であった。一方パラベン的一种である p-安息香酸 n-プロピル (PHMA-nP) は比較的高い値で検出されたが、下流の多摩川原橋では希釈の影響により定量下限値付近までの低値となっていた。ただし、下水処理水からはパラベン類が存在する可能性が示され、これらを原水とする浄水場では消毒副生成物として塩素化パラベン類生成の可能性がある。

7. トリハロメタン・ハロ酢酸

7.1 生物活性炭吸着における粒状活性炭更生後の THM 生成能の変化

THM 生成能は沈澱処理水に対し、オゾン処理後で約 33%、BAC 処理後で約 53~63%まで低減されていた。各 BAC 池における差は小さかったものの、吸着性能の劣化状況とは異なり、再生炭使用池の THM 生成能は低い傾向がみられた。

浄水における THM 濃度は、平成 27~28 年度については、沈澱池傾斜管における藻類繁殖対策として前塩素の定率注入を実施したことや濁水の影響もあり、高めに推移しているが、高度浄水処理開始前と比較し浄水中の THM 濃度は低減され、更生工事により濃度はさらに低下する傾向にあった。

蛍光強度、TOC、E260 の除去性と THM 生成能との関連性については、沈澱水等前段では、相関が見られたが、処理が進むにつれて関係が不明瞭となる傾向が認められた。

7.2 消毒副生成物実態調査および蛍光有機物質との関連調査

蛍光強度で予測を実施するにあたり、久志浄水場原水における成分ごとの蛍光強度と久志浄水場原水の THMFP の関係を比較した。この結果、成分 1 と成分 2（ここでいう成分とは PARAFAC によるピーク位置の蛍光強度）が THMFP と相関があることが分かったことから、蛍光強度で予測を実施するにあたり、成分 1 と 2 及び導電率を用いて実施することとした。

石川浄水場原水の予測は、1 系原水（以下「1R」）は久志浄水場の処理水のみであることから、石川 1R の THMFP を久志浄水場原水の成分 1 と成分 2 の蛍光強度、導電率から重回帰分析を行い予測した。次に、2 系原水（以下「2R」）は金武ダムと漢那ダム、返送水等のその他の水源から構成されている。そこで、金武ダムと漢那ダムについてはそれぞれの THMFP を成分 1 と成分 2 の蛍光強度、導電率から予測し、水源比率を基に 2R の THMFP を予測した。なお、その他の水源については、THMFP が不明なことから予測するにあたり THMFP を 0 とした。測定点数は、1 系 (n=37)、2 系 (n=34) であったこの結果、相

関係数は1Rで0.83, 2Rで0.89と蛍光強度を使用した場合でも、精度よくTHMFPを予測することが可能と示唆された。なお、1系と2系を比較した場合、1系の予測精度が低い、その理由については、1Rは水源である久志浄水場において1次処理された水であり、その処理状況により原水内のTHMFPが異なるためと考える。

7.3 奈良県における消毒副生成物の実態調査

今年度も消毒副生成物定期検査において、残留塩素低下時におけるジクロロ酢酸の低下が確認されたため、桜井浄水場浄水の経時変化を調査した。その結果、クロロホルム及びトリクロロ酢酸は残留塩素の低下による影響は受けず増加傾向を示したが、ジクロロ酢酸は25℃において残留塩素が0.2~0.4 mg/Lに低下した場合に減少する事象を確認した。

今年度の水源定期検査において、ラフィド藻の大幅な増殖はほとんど確認されず最大でも10/11の取水塔表層で220細胞/mL、原水池で11/20に100細胞/mLであった。また、この時期の桜井浄水場原水の生成能比を確認したところ、生成能比は通常時の2から3付近へと上昇が見られたが、3を大きく越えなかったため、ラフィド藻の影響は軽微であると判断した。

7.4 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

図6にクエン酸HAAFPの5日間の経時変化について示した。マンガンイオンの添加時は、反応時間が増えるにつれ、MCAA, DCAA, TCAA, 塩素消費量の全ての項目で増加が見られた。5日間の反応時間ではHAAFPと塩素消費量において収束ことはなく、反応時間をさらに増やせば、HAAFPと塩素消費量ともにさらに増加することが考えられた。また、ほぼ全ての反応時間でマンガンイオンを添加しなかった時に比べ、3倍以上のHAAFPおよび塩素消費量が確認できた。一方で、マンガンイオンを添加しなかったサンプルは96時間までHAAFP及び塩素消費量の増加が見られたが、その後は減少に転じた。

これらの結果から、マンガンイオンはクエン酸がHAAに変換される反応を加速させるだけでなく、クエン酸からHAAへの変換率を増大させることが示された。これは、マンガンイオンによりクエン酸と塩素の反応機構が大きく変化したことを意味する。

環境水のDCAAFPおよびTCAAFPはマンガンイオンにより促進されることはなかった。一方で、夏季の淀川で採取した環境水のTCAAFPはマンガンイオンの添加により有意に減少した($p < 0.05$)。有意な差ではなかったが、他の環境水においても同様の傾向が見られた。考えられる理由としては、マンガンイオンと塩素との反応に

より生成した二酸化マンガンが、HAAsを吸着したことやHAAs生成の抑制をしたこと、また、マンガンイオンそのものが塩素を消費しHAAs生成に利用される塩素量が減少したなどが挙げられる。

8. 基準項目の未規制項目としての妥当性

対象物質のうち、塩素処理におけるハロゲン化物の予測可能性についてのまとめを表1に示す。ハロアルデヒド、ハロベンズキノンについては情報が限られているが、他の物質についてはトリハロメタン等の現行の基準項目が大まかな目安、つまり少なくとも図1のType2の関係にあり、マーカーとして利用可能であると考えられた。

E. 結論

- HAcAmsの送水過程での増加要因を把握するため、浄水に追加塩素を注入率0, 0.5, 1 mg/Lで注入したところ、追加塩素によりHAcAmsがやや増加し、さらに経過時間が長いほどより増加した。また、水温を10, 20, 30℃で調査した結果、高水温ほど生成量が増加した。以上より実際の送水過程では、トリハロメタン等の消毒副生成物と同様に、夏季の水温が高く、経過時間が長い地点で生成が増すと考えられた。
- 浄水中のHAcAmsのTHMsに対する濃度は最大でも1割程度と見積もられた。
- 1,3,5-THBは、凝集沈澱処理においてPACの増量やpHの制御を行ってもクロロホルム生成能、トリクロロ酢酸生成能を低減することは困難であったが、粉炭を注入することにより大幅に低減できた。ただし、弱塩素を注入した場合、粉炭による処理性が低下することがわかった。ADCは凝集沈澱処理においてPAC注入率を増やし、pHを低く制御することでクロロホルム生成能、ジクロロ酢酸生成能は低減できた。粉炭および弱塩素の注入による処理性は高くなかった。AAは弱塩素注入の有無に関わらず、粉炭により低減可能であった。
- 浄水場(所)における次亜塩素酸ナトリウムの管理は、大規模浄水場よりも小規模浄水所の方が難しく、小規模浄水所においては、次亜塩素酸ナトリウムの貯留期間の管理や、貯留槽設置室の温度管理等をより適切に行う必要があるものと考えられた。
- DMPのオゾン処理により生成したBromo-DMPは、砂ろ過処理では除去されず、後オゾン処理では低減可能であるが、DMPの流入濃度及び臭化物イオン濃度によっては一部残存する可能性があること、ただしGAC処理は新炭及び経年炭ともに高い処理性を

有していることを示した。

- 珪藻の一種であるオーラコセイラの塩素処理により、薬品臭を有する副生成物が生成することを確認した。
- パラベン類とその1塩素化物、2塩素化物の定量方法を確立した。多摩川での実態調査を実施した。PHMA-nPは比較的高い値で検出されたが、河川水の希釈などの影響から下流の多摩川原橋では低値となった。1塩素化物、2塩素化物は全地点で不検出であった。
- 有機物指標3項目とTHM生成能の関係は、沈澱処理水についてはいずれも相関関係がみられたが、オゾン処理、BAC処理と処理工程がすすむにつれ、相関関係は弱くなる傾向にあった。
- THM生成能予測について、蛍光強度と電気伝導度に基づいたモデル式を作成する手法を整理した。
- 送配水中のジクロロ酢酸が減少する現象を確認した。
- マンガンイオンはクエン酸と塩素の反応を促進させるだけでなく、反応に直接的に関与し、反応機構そのものを大きく変えるものであることが示唆された。
- いくつかの未規制副生成物については、現行の基準項目がマーカーとして使える可能性を示した。

F. 参考文献

Bond, T., Huang, J., Templeto, M.R., and Graham, N. Occurrence and control of nitrogenous disinfection by-products in drinking water - A review. *Water Res.*, 2011, 45(15), 4341–4354.

Goslan, E.H., Krasner, S.W., Bower, M., Rocks, S.A., Holmes, P., Levy, L.S., and Parsons, S.A. A comparison of disinfection by-products found in chlorinated and chloraminated drinking waters in Scotland. *Water Res.*, 2009, 43, 4698–4706.

Kawamoto, T., and Makihata, N. Distribution of bromine/chlorine-containing disinfection by-products in tap water from different water sources in the hyogo prefecture. *J. Health Sci.*, 2004, 50(3), 235–247.

Krasner, S.W., Weinberg, H.S., Richardson, S.D., Pastor, S.J., Chinn, R., Scilimenti, M.J., Onstad, G.D., and Thruston, A.D. Occurrence of a new generation of disinfection byproducts. *Environ. Sci. Technol.*, 2006, 40, 7175–7185.

G. 健康危機情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

1) Tada, Y., Cordero, J.A., Echigo, S., and Itoh, S. Effect of coexisting manganese ion on the formation of haloacetic acids during chlorination. *Chemosphere*, 2021, 263, 127862.

2) Nakai T., Kosaka K., Asami M. and Akiba M. Removal of halobenzoquinone precursors during advanced water purification process, *Ozone: Science & Engineering*. (受理)

2. 学会発表

1) 小坂浩司, 鈴木知美, 吉田伸江, 秋葉道宏. 芳香族アミン類の塩素処理による2,6-ジクロロ-1,4-ベンゾキノンとp-キノンイミド類の生成特性, 第55回日本水環境学会年会講演集, 京都, 2021.3, 184.

表1 トリハロメタンやハロ酢酸による未規制副生成物の予測可能性に関するまとめ

副生成物		代表文献
ハロアセトニトリル	Type 2 (10-20%)	Bond et al., 2011
ハロアセトアミド	おそらく Type 1 (10%)	Krasner et al., 2006
ハロニトロメタン	おそらく Type 1 (数%)	Glosan et al., 2009
抱水クロラール	おそらく Type 1 (10%)	Kawamoto and Makihata, 2004
ハロアルデヒド	情報は限定的	
ハロケトン	Type 2 (10%)	Krasner et al., 2006
ハロベンゾキノ	情報は限定的	

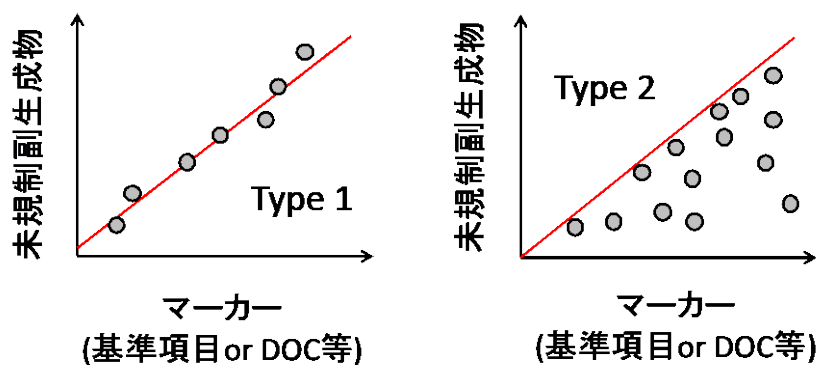


図1 未規制副生成物の管理に利用可能な関係性の区分

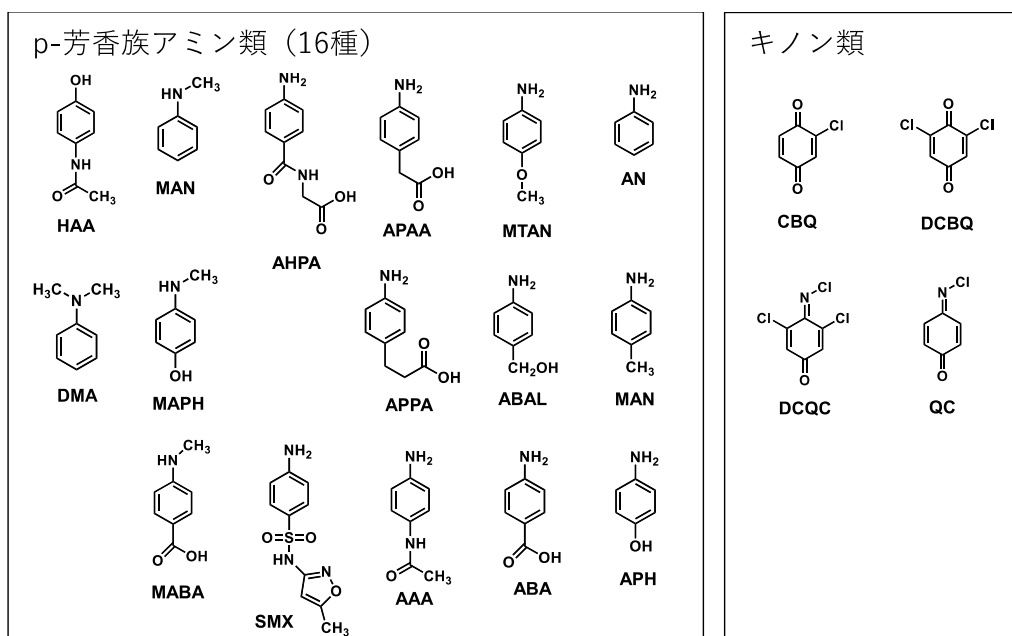


図2 対象物質

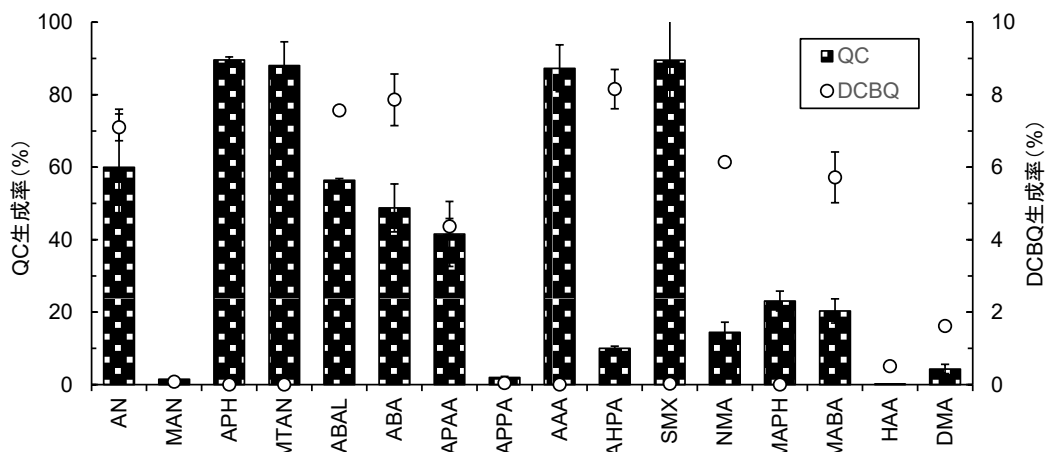


図3 p-芳香族アミン類の塩素処理によるDCBQ、QCの生成率

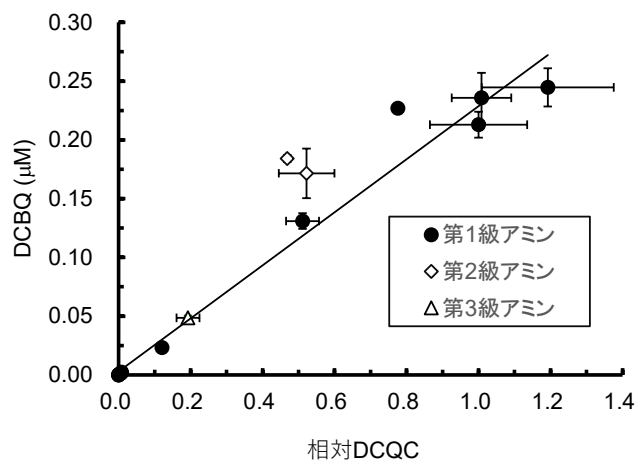


図4 DCQC生成とDCBQ生成との関係

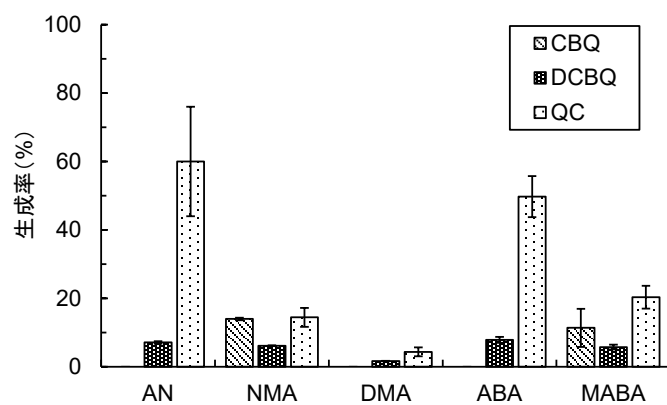


図5 第1~3級アミンのDCBQ、CBQ、QC生成率の比較

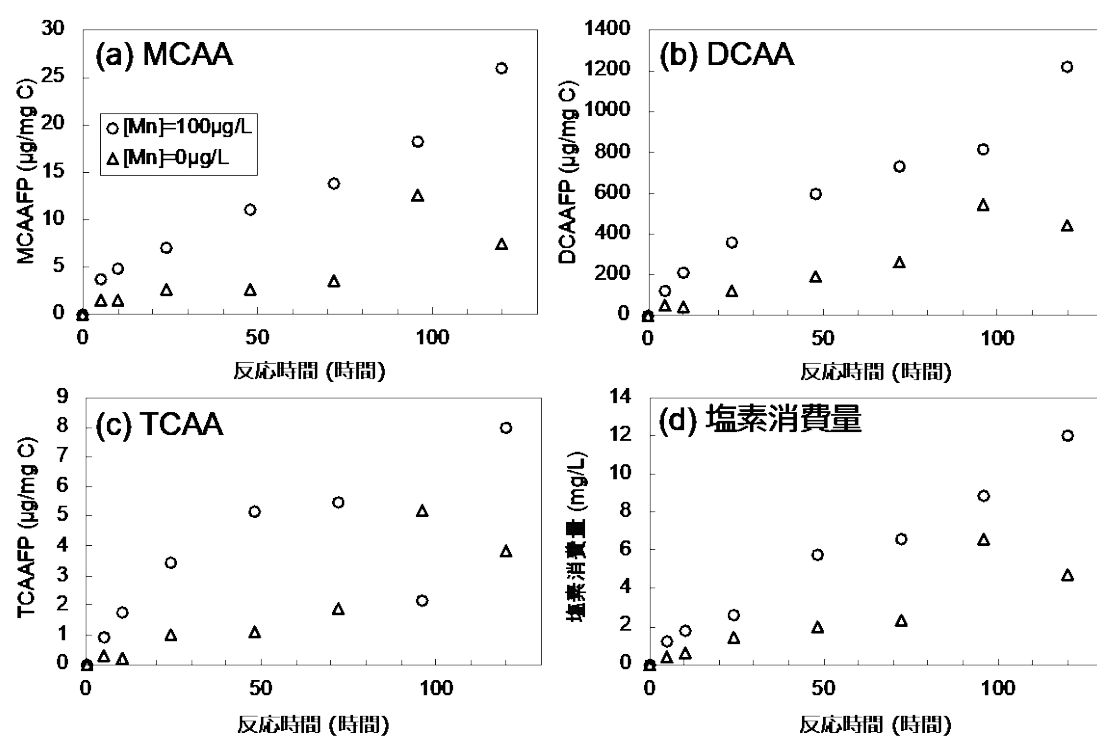


図7 クエン酸のHAAFPと塩素消費量の経時変化

厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
「水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究」
令和2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	今井美江	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

新潟市の水道水にて全揮発性窒素（TPN）と臭気強度（TON）の相関を調べたところ、簡便に数値化できる TPN を臭気の指標として利用できる可能性が示唆された。6 名のパネラーにより、全国 8 ヶ所の浄水場原水の塩素処理水が有するカルキ臭を GC/Olfactometry (GC/O)を用いて分析したところ、ほとんどの塩素処理水で感知され、かつ全体での感知頻度が 25%を越える臭気が 2 つあり、これらの臭気がカルキ臭に大きく寄与していると考えられた。珪藻類に由来する浄水の臭気異常の原因物質や発生機構を解明するため、におい嗅ぎ-GC/MS を活用して臭気物質の特定を試みた。アンモニアと 3 種のアミン類（シクロヘキシルアミン、アラニン、プロリン）を対象に、二段階塩素処理によるカルキ臭（TON で評価）の低減効果について検討したところ、アンモニアでは低減効果が認められたが、3 種のアミン類では認められなかった。Br 共存下でも、アンモニアで認められた。アミン類の GC/MS 法による測定法を確立し、原水からはジメチルアミンあるいはエチルアミンを、浄水からはメチルアミンと、ジメチルアミンあるいはエチルアミンを検出した。

A. 研究目的

臭気分科会では、3 年間の研究期間にて、(1) カルキ臭の代替指標の提案、(2) カルキ臭に大きく寄与する物質の推定、(3) 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 の 3 つの課題の達成を目標としている。以下に、研究課題ごとの本年度の研究目的と成果を示す。

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（新潟市水道局）

代表的なカルキ臭原因物質であるトリクロラミン（以下 NCl_3 ）を測定対象物質として TPN 計の応答性を評価した。本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）と残留塩素含む臭気強度（以下 TON）の関係、TPN

と TON (三点比較) の関係について調査を実施したので報告する。

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

2.1 カルキ臭に大きく寄与する臭気の特 定 (北海道大学)

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質量分析による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 (Matsushita et al., 2017)、浄水カルキ臭に寄与する物質を探ってきた。これまでの検討では、GC/O で臭気が感知された GC 保持時間に臭い嗅ぎポートから排出された臭気成分を活性炭を封入したガス捕集管を用いて捕集し、有機溶媒による回収 (+誘導体化) 後に LC/MS/MS を用いて同定を試みていた。本年度は原点に立ち返り、GC クロマトグラムの詳細解析による臭気成分の同定を試みた。

2.2 珪藻類増殖時の浄水異臭味物質の 特定 (東京都水道局)

水道水源における植物プランクトンによる異臭味障害として、フォルミジウムをはじめとする藍藻類に由来するかび臭が広く知られているが、その他に水源において珪藻類が増殖した際に、浄水で異臭 (溶剤臭、ゴム臭) が発生することが報告されている。東京都水道局においても、高度浄水処理が導入されていない浄水場において、夏場、珪藻類が増加した時期に同様の現象が発生したことがある。珪藻類に由来する臭気については、いくつかの報告があるが (伊藤, 2016; 畠ら, 2020)、臭気の原因となる物質や発生機構は十分に解明されていない。そこで、におい嗅ぎ-GC/MS を

活用し、臭気物質の特定を試みた。

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 二段階塩素処理によるカルキ臭の低減 効果 (京都大学, 保健医療科学院)

日本では安全で良質な水道水は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。また、アンモニア由来の NCl_3 の生成抑制方法の一つとして、二段階塩素処理が提案され、一部浄水場では適用されている。しかし、カルキ臭への低減効果、他のカルキ臭原因物質生成への効果は不明である。また、臭化物 (Br) の共存下で塩素処理をすると、塩素化物に代わり臭素化物が生成するが、カルキ臭への影響は報告されていない。

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。

本研究では、アンモニアを含む種々の含窒素有機化合物を対象に、二段階塩素処理によるカルキ臭抑制効果、および Br の共存影響について、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 µg/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

本研究では、新潟市内の 2 か所の浄水場 (A 浄水場と M 浄水場) の水道水について、表 1 の測定条件により TPN を定量した。

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

2.1 カルキ臭に大きく寄与する臭気の特定

2.1.1 水道原水の濃縮と塩素処理

全国 8 か所の浄水場 (A₂~H₂ 浄水場: 2020 年 7 月~8 月に採水) から採水された水道原水をリン酸緩衝液 (最終濃度 1 mM) にて pH 7 に調整した後、ロータリーエバポレータを用い、減圧下にて 35 °C で 50 倍まで濃縮を行った。このようにして得られた

濃縮原水 5 mL を 20 mL バイアル瓶に入れ、12 分後に残留遊離塩素が 25 mg-Cl₂/L 程度となるように次亜塩素酸ナトリウムを添加した。マグネティックスターラーを用いて 2 分間攪拌した後、試料を 2 L のガラス製セパラル容器に移し、シェイカーにて 10 分間激しく振盪した。振盪後、容器の中央部 (上下方向の中央) にセパレーターを挿入し、下部の液体試料 (と気相) と上部の気相に分割した。その後、上部の気相部分に SPME 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) を挿入し、1 時間静置することにより、液体試料から揮発したカルキ臭成分を吸着させた。

2.1.2 GC/Olfactometry による臭気分析

カルキ臭成分を吸着させた SPME ファイバーを GC 注入口に挿入し、直ちに GC/MS のタイムプログラムをスタートさせた。なお、GC 分離には DB-5ms (30 m, 0.25 mm, 0.25 µm, Agilent Technologies) を用いた。タイムプログラムのスタート後、臭い嗅ぎポートから出る臭気成分を含むキャリアガスを被験者に供し、臭気を感じた GC 保持時間と臭気的印象を記録するとともに、質量分析計によりスキャン解析を行った。本研究では、成人男女計 6 名を被験者とし、それぞれの試料につき 2 回の試験を行った (延べ 12 回)。

2.1.3 ライブラリサーチによるカルキ臭へ寄与する候補物質の推定

GC/O にて臭気が感知された GC 保持時間におけるトータルイオンクロマトグラムを、解析ソフト (Unknowns Analysis, Agilent) を用いてデコンボリューションし、複数のコンポーネントに分離した。次に、マススペクトルライブラリ (NIST) を用い、各コンポーネントのマススペクトルが類似する候補物質を選定した。さらに、臭気

成分に特化したライブラリ (AromaOffice 2D, Nishikawa Analytical Solution) を用い、GC 保持時間 (正確には retention index) から候補物質を絞り込んだ。

2.1.4 標準品による同定とカルキ臭への寄与の評価

絞り込まれた候補物質のうち、標準品が市販されているものを購入し、*n*-ヘキサンに適宜溶解した。これを GC/O と同一条件にて分析し、得られたマススペクトルと GC 保持時間を塩素処理試料と比較することにより、物質同定を試みた。

次に、*n*-ヘキサン溶液を適宜希釈することにより、塩素処理試料における当該物質のピーク面積の 1/10 倍, 1 倍, 10 倍となるようなサンプル (標準品希釈列) を調整した。このようにして調整した標準品希釈列と、塩素処理試料 (合計 4 サンプル) に対して GC/O を行い、臭気感知の有無と、臭気の傾向について比較した。なお、それぞれの被験者に対し、塩素処理試料と標準品希釈列のセットの GC/O を同一日に行うことにより、被験者の体調などがサンプル間の臭気感知へ与える影響をできる限り排除した。

2.2 珪藻類増殖時の浄水異臭味物質の特定

相模川水系の浄水場原水から珪藻類 (キクロテラ) を単離・培養し、メンブランフィルターによる回収後、回収液に次亜塩素酸ナトリウムを添加して検水とした。この検水について、複数の被験者による官能試験と、におい嗅ぎ-GC/MS による測定を行った。珪藻類の培養は 2 回行い、それぞれについて臭気の測定を行った。珪藻類の培養及び回収作業と、におい嗅ぎ-GC/MS による測定条件の詳細は図 1 のとおりである。

3. 水道事業体に向けたカルキ臭に関する対応集の作成

3.1 二段階塩素処理によるカルキ臭の低減効果

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を使用した。対象物質として用いた含窒素化合物は、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

含窒素化合物のうち、アンモニアと 3 種のアミン類 (シクロヘキシルアミン、アラニン、プロリン) を対象とした (図 2)。対象物質濃度は 5 μM とし、二段階塩素処理を行った。図 3 に、二段階塩素処理実験の概念図を示す。まず、水温 20°C、pH7 (5 mM リン酸緩衝液) の条件で、一回目塩素として次亜塩素酸ナトリウムを添加してから 4 h 後の遊離塩素濃度が、おおよそ 0.1 mg Cl_2/L (「BP+0.1」)、0.5 mg Cl_2/L (「BP+0.5」) となるように次亜塩素酸ナトリウムを添加した。また、「BP+0.1」の添加量の半分の添加量の試料も準備した (「<BP」)。次に一回目塩素を加えてから 4 h に、二回目塩素として次亜塩素酸ナトリウムを再度加え、このときの添加量は、二回目塩素を加えてから 24 h 後に遊離塩素濃度が 1.0 \pm 0.2 mg Cl_2/L となるように設定した。このような手順で行った塩素処理を二段階塩素処理とした。BP とは不連続点を意味し、「BP+0.1」は不連続点をおよそ 0.1 mg Cl_2/L 上回る塩素注入量、「BP+0.5」は不連続点を大きく超えた塩素注入量、「<BP」は不連続点を超えない注入量を表している。また、比較のため一段階塩素処理として、次亜塩素酸ナトリウムを添加し、24 h 後の遊離塩素濃度が

1.0 ± 0.2 mg Cl₂/L となるように調製した。これら試料について、TON、TPN、NCl₃を測定し生成能とした。

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-V_{CSN} (島津製作所) を用いて測定した (川口, 2015)。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 °C 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 2 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

1.1 全揮発性窒素化合物 (TPN) 計の妥当性評価

NCl₃ と TPN、TPN と TON の関係および TPN と TON (三点比較) の関係を図 4, 5, 6 に示す。

精製水で調製した NCl₃ 溶液の NCl₃ 濃度と TPN は高い相関があった (図 4)。一方、NCl₃ 溶液の TPN と TON にも高い相関があった (図 5, 6)。すなわち、NCl₃ が主な臭気原因の場合は、TPN は臭気強度の有効な指標であると考えられた。しかしながら、TPN が低くても TON の値が高い場合や、逆に TPN が高くても TON が低い場合もあった。このように、NCl₃ 由来ではない臭気が原因の場合は、NCl₃ とは別の測定対象物質を選定したうえで、個別に TPN 計の応答性を評価する必要があると考えられた。

今のところ臭気を数値化できる手法が官能試験しかない。簡便に数値化できる TPN は指標として利用できる可能性が示唆されたが、測定に時間を要することや、TPN 値が低くブランクとの差があまりないなどの問題もあった。今後も TON と TPN の関係性については引き続き調査していく中で、ページ時間や試料量の再検討をしていく予定である。

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

2.1 カルキ臭に大きく寄与する臭気の特

2.1.1 GC/O によるカルキ臭に大きく寄与する臭気の特

表 3 に、A₂~H₂ の全国 8 浄水場原水を塩素処理した試料について、6 名のパネラーがそれぞれ 2 回ずつ GC/O を行った結果を示す。塩素処理試料ごとに、感知された臭気成分の数は異なったものの、8 つの塩素処理試料から、合計 26 の臭気成分が感知さ

れた。いずれの塩素処理試料も、塩素処理試料そのものからは、バルクとしてカルキ臭が感知されたが、GC/O で感知された臭気成分は、いずれもカルキ臭の印象を持つものはなかった。様々な異なる臭気が合わせられることにより、カルキ臭として認識される可能性が示唆された。一方、一部の塩素処理試料（2 試料）でのみ感知される臭気（臭気#5, #11, #15）があるのに対し、ほとんどの塩素処理試料で共通して感知され、さらに全試料での感知頻度が 25% を越える臭気が 2 つ確認された（臭気#10, #17）。これら 2 つの臭気は、様々な浄水にて、カルキ臭に大きく寄与している可能性が示唆された。

2.1.2 カルキ臭に大きく寄与する臭気成分の同定

前節にてカルキ臭に大きく寄与する可能性が示唆された臭気#17 について、臭気の原因となる物質の推定を試みた。

臭気#17 を感知した GC 保持時間におけるピークに対し、上述の 2 種のライブラリを用いて、マススペクトルと GC 保持時間を基に検索したところ、デカナールが候補物質として挙げられた。そこで、デカナールの標準品を、GC/O と同じメソッドにて GC/MS に導入したところ、デカナール標準品のマススペクトルと GC 保持時間が、臭気#17 の当該ピークと一致した。すなわち、臭気#17 を感知した GC 保持時間に検出された当該ピークは、塩素処理試料中に存在するデカナールに由来することが分かった。

そこで、GC/O で感知された臭気#17 が、塩素処理試料中に存在するデカナール由来であるか否かを判断するため、デカナール標準品を GC/O に供した。図 7 に結果を示す。あるパネラー（パネラー#1）は、塩素処理試料にて臭気#17 を感知したものの

（図 1、パネラー#1、●印）、塩素処理試料と同程度の濃度になるように調整したデカナール標準品でも、その 10 倍濃度でも臭気が感知されなかった（△印）。他のパネラーについても、同様の傾向が観察された。すなわち、デカナールは確かに塩素処理試料中に存在するが、塩素処理中の濃度程度では臭気が感知されないことが分かった。よって、臭気#17 の原因物質は、デカナールではないと判断された。

2.2 珪藻類増殖時の浄水異臭味物質の特定

官能試験による臭気の検出状況を表 4 に示す。1 回目、2 回目のどちらの培養液においても、次亜塩素酸ナトリウムを添加した検水から臭気が感じられた。臭気の種類は人によって異なっており、プラスチック臭、ゴム臭、消毒臭等、色々な感じ方がなされていたが、感知された臭気はいずれも不快なものであった。

におい嗅ぎ-GC/MS の測定結果を図 8 に示す。保持時間 4.5 分～5.0 分と、10.5 分～11 分に強い不快臭が感じられ（塩素臭、溶剤臭、金属臭等）、官能試験で感じられた臭気の種類と比較的近いことから、この時間帯に原因物質が溶出しているものと推測された。

検出されたピークについて、スペクトル解析を行ったところ、アルコール類やアルデヒド類が多く確認された（図 8）。スペクトル解析を行った結果、不快な臭気が感じられた時間帯には、トリオキサンやベンズアルデヒドが確認された。文献によると、ベンズアルデヒドは甘い芳香臭、ナッツ臭のある物質との報告がなされているが、トリオキサンについては臭気の種類は不明である。今後、標準原体を入手し、臭気の確認及び測定の実験を確認する予定である。

3. 水道事業体に向けたカルキ臭に関する対応集の作成

3.1 二段階塩素処理によるカルキ臭の低減効果

3.1.1 二段階塩素処理によるカルキ臭低減効果

図9に、二段階塩素処理によるアンモニア由来のTON、TPN、 NCl_3 の低減効果を示す。「BP+0.1」では、一段階塩素処理より NCl_3 生成能は低下し、二段階塩素処理による低減効果が認められた。これは、 NCl_3 の中間体となるジクロラミン(NHCl_2)が加水分解されたためと考えられる(図3)。カルキ臭についても、同様に低減が認められ、アンモニア由来の主なカルキ臭原因物質は NCl_3 であったためと考えられる。TPNについては、「BP+0.1」で明確な低減が認められなかった。「BP+0.5」で低減効果が認められなかったのは、塩素濃度が高かったため、 NHCl_2 の加水分解よりも、 NCl_3 への生成反応が進んだためと考えられた。

図10に、二段階塩素処理による3種のアミン類由来のTON、TPN、 NCl_3 の低減効果を示す。図9の結果を踏まえて、「BP+0.1」と一段階塩素処理を比較した。 NCl_3 は、アラニンでは、「BP+0.1」において若干低下したものの、ほとんど違いは認められなかった。アミン類から NCl_3 が生成する場合、N-クロロアミノ基が脱離する必要がある。対象としたアミン類では、4hでは NCl_3 の生成が低かったためではないかと推察された。カルキ臭についても、「BP+0.1」と一段階塩素処理で違いは認められなかった。アラニン、プロリンは NCl_3 が主なカルキ臭原因物質であったことが報告されており、 NCl_3 の低減効果が認められなかったためと考えられた(施ら, 2019)。また、シクロヘキシルアミンは、 NCl_3 以外の物質が主なカルキ臭原因物質であったことが報告されている(施ら, 2019)。この原因物質の生

成抑制に対しても、二段階塩素処理による低減効果が認められなかったと推察された。

3.1.2 臭化物共存下での二段階塩素処理によるカルキ臭低減効果

図11にアンモニアの一段階塩素処理によるTON、TPN、 NCl_3 へのBrの共存影響を示す。Br濃度の増加にともなって、 NCl_3 濃度は低下した。一方、TONはBrが100 $\mu\text{g/L}$ までは大きくは変わらず、200 $\mu\text{g/L}$ では低下した。また、TPNはあまり変わらなかった。これらの結果から、100 $\mu\text{g/L}$ までのBrの共存では臭素化物(ブロマミン類)が生成し、ブロマミン類がカルキ臭原因物質であったと考えられた。一方、Br濃度がさらに増えると、カルキ臭が低い、別のブロマミン類へと変換したと推察された。

図12にアミン類の一段階塩素処理によるTON、TPN、 NCl_3 へのBrの共存影響を示す。Br濃度は100 $\mu\text{g/L}$ とした。いずれの物質の場合も、Brの共存により、 NCl_3 濃度は低下した。これは、アンモニアの場合と同様であった。一方、TONについては、ほとんど変化しなかった。アラニン、プロリンについては、 NCl_3 が主なカルキ臭原因物質であったと報告されており、アンモニア同様にカルキ臭を有するブロマミン類が生成したためと推察された。シクロヘキシルアミンについては、ブロマミン類以外のカルキ臭を有する臭素化物が生成したと推察された。

図13にBr共存下での二段階塩素処理によるアンモニア由来のTON、TPN、 NCl_3 の低減効果を示す。Br濃度が、100、200 $\mu\text{g/L}$ のいずれの場合も、一段階塩素処理より「BP+0.1」において、 NCl_3 、TONは低下した。また、TPNについても低減効果が認められた。TONの低減の程度から、カルキ臭を有するブロマミン類についても二段階

塩素処理による低減効果があると推察された。

3.2 原水中に含まれるアミン類の GC/MS 法による測定

3.2.1 分析条件の確認

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)の標準液(各アミン類濃度 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。アミン類の定量に必要な SIM の条件を決めるために、スキャンによりマススペクトルと保持時間を確認した。SIM の測定条件を表 5 にまとめた。

エチルアミンとジメチルアミンは保持時間がほとんど同じで、定量イオン、確認イオンも同じ事から、今回の分析条件では分別定量できなかつた。このため今回の実験では、ジメチルアミンの標準液を用いて、これら 2 物質の混合物(以下、エチルアミン・ジメチルアミン)として評価することとした。また、*t*-ブチルアミンとジエチルアミンも保持時間が近く m/z 198、 m/z 141、 m/z 77 が共通して出ることから、分別定量はできなかつた。

t-ブチルアミンとジエチルアミン以外の各アミン類について、濃度範囲 0.2 $\mu\text{g/L}$ ~ 1 $\mu\text{g/L}$ で検量線を作成したところ、いずれも決定係数 (R^2) が 0.998 以上と良好であった。図 14 にメチルアミンのクロマトグラム(標準液)と検量線を示す。

3.2.2 原水、浄水の分析結果

浄水(水質センターで採水: 柏井浄水場東側の浄水)、矢切取水場原水(江戸川: ちば野菊の里浄水場、栗山浄水場の原水)中

のアミン類について定量したところ、浄水からメチルアミンが 0.88 $\mu\text{g/L}$ 、ジメチルアミン・エチルアミンが 0.64 $\mu\text{g/L}$ 検出された。アミン類は塩素との反応性が高いことから、浄水中からこれらアミン類が検出された理由として、①誘導体化の工程で塩素化アミン類が元のアミン類へと変化し誘導体化されたこと、②塩素化アミン類も誘導体化し元のアミン類として検出された可能性が考えられた。また、矢切取水場原水から、検量線範囲よりも低い濃度であるが、ジメチルアミン・エチルアミンが検出(0.18 $\mu\text{g/L}$)された。

今後、アミン類が浄水から検出された理由を明らかにするとともに、ジメチルアミン・エチルアミンについては、ジメチルアミンとエチルアミンを分別定量できる分析法で再度測定する必要があると考えられた。

D. 結論

1. 臭気の強さを簡便に数値化できる TPN を指標として利用できる可能性が示唆されたが、測定に時間を要することや、TPN 値が低くブランクとの差があまりないなどの問題もあることも分かった。今後、TON と TPN の関係性について引き続き調査していく中で、パージ時間や試料量を再検討する予定である。
2. 全国 8 浄水場原水を用いた塩素処理実験と GC/O により、カルキ臭に大きく寄与する可能性が示唆される臭気を 2 つ特定することができた。GC/MS 解析と標準品を用いた GC/O により、一方の臭気の原因物質の推定を行ったところ、この臭気はデカナール由来ではないと判断された。
3. 珪藻類に由来する浄水の異臭原因物質の検出を試みた。珪藻類(キクロテ

ラ)を培養し、次亜塩素酸ナトリウムを接触させた検水をにおい嗅ぎ-GC/MSで測定したところ、不快な臭気の強い時間帯が存在し、トリオキサンやベンズアルデヒドが確認された。

4. アンモニアを対象とした場合、二段階塩素処理により、 NCl_3 、TONの低減効果は認められた。一方、3種のアミン類(シクロヘキシルアミン、アラニン、プロリン)については、二段階塩素処理による NCl_3 、TONの低減効果は認められなかった。Brが共存する場合、アンモニア、3種のアミン類のいずれも NCl_3 の生成は低下した。Br濃度が $100 \mu\text{g/L}$ の場合、TONはBrが共存しない場合とほとんど変わらなかったことから、カルキ臭を有する臭素化物が生成したと推察された。アンモニアについて、共存するBr濃度が $200 \mu\text{g/L}$ とさらに増加すると、TONは低下した。アンモニアを対象とした場合、Br濃度が 100 、 $200 \mu\text{g/L}$ のいずれでも、Br共存下における二段階塩素処理によるTON、 NCl_3 の低減効果は示された。
5. 原水・浄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、分析対象アミン類10種について誘導体化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。しかし、今回の分析条件では、エチルアミンとジメチルアミン、*t*-ブチルアミンとジエチルアミンについてピークが重なるため分別定量ができなかった。またこの分析条件で原水・浄水のアミン類を分析したところ、浄水からメチルアミン、ジメチルアミン・エチルアミンが、原水からジメチルアミン・エチルアミンが検出された。

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**, 1885–1890.
- 伊藤禎基 (2016) 藻類の塩素処理による臭気, 平成28年度水道研究発表会講演集, 762–763.
- 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.
- 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.
- 畠孝欣, 阿部晃文, 柏木勉, 古口健太郎 (2020) 長沢浄水場におけるニオイ嗅ぎ装置付きP&T-GC/MSを用いた臭気異常調査, 令和2年度水道研究発表会講演集, 638–639.
- 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.

ルキ臭原因物質の推定, 第 55 回日本
水環境学会年会.

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) 池永健太郎, 松下拓, 松井佳彦, 白崎
伸隆 (2021) GC-MS-O を用いた浄水カ

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. 本研究における全揮発性窒素 (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 (160–250 μm)	P40 (16–40 μm)	20

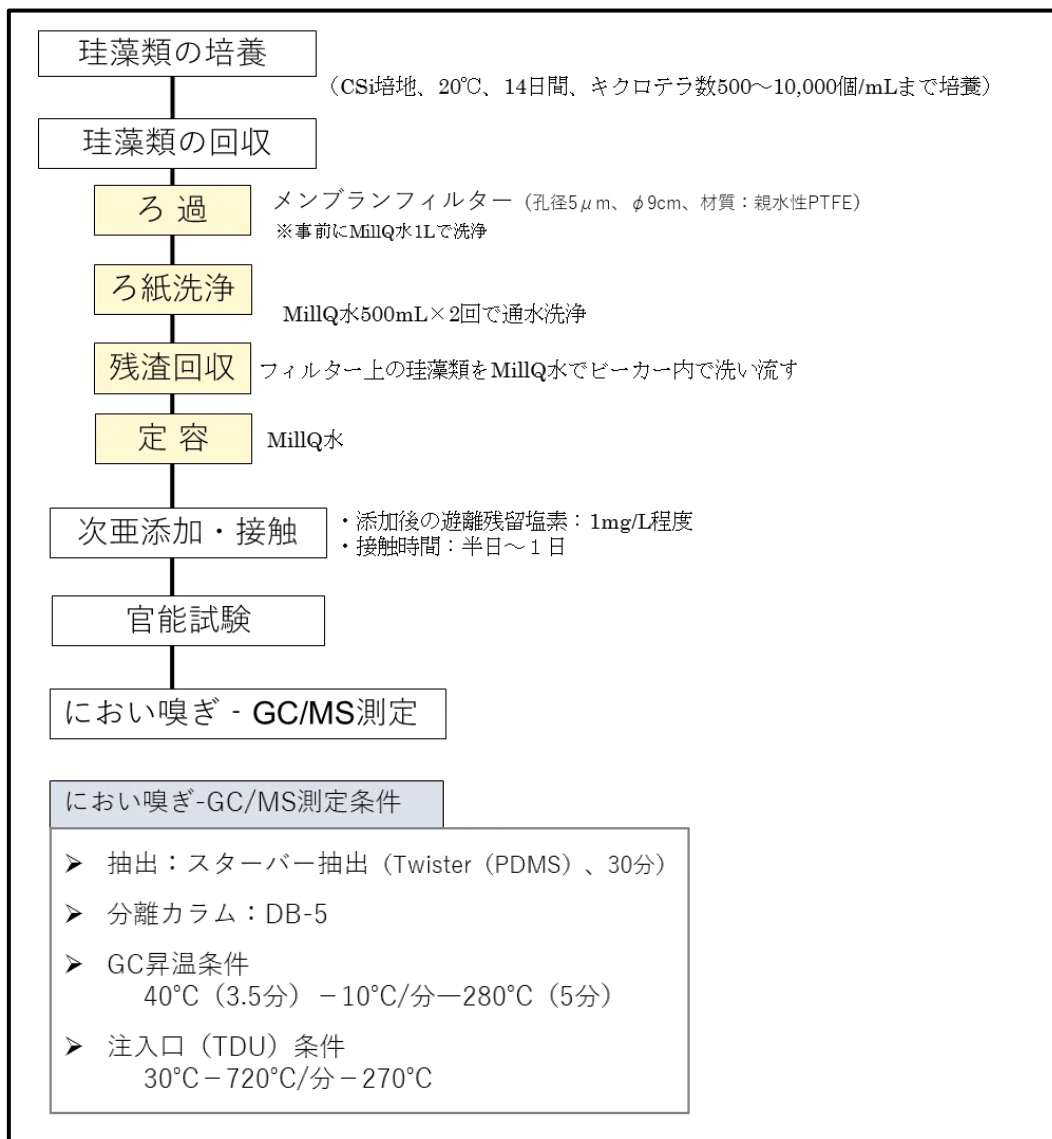


図 1. 珪藻類 (キクロテラ) の培養、回収作業の手順、及びにおい嗅ぎ-GC/MS での測定条件

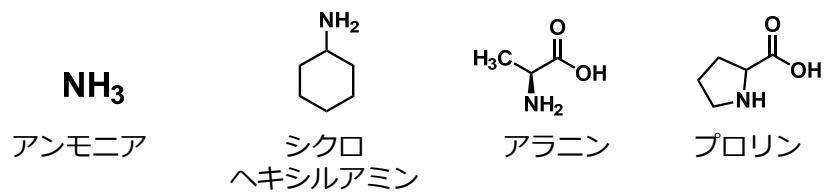


図 2. 対象物質の構造式

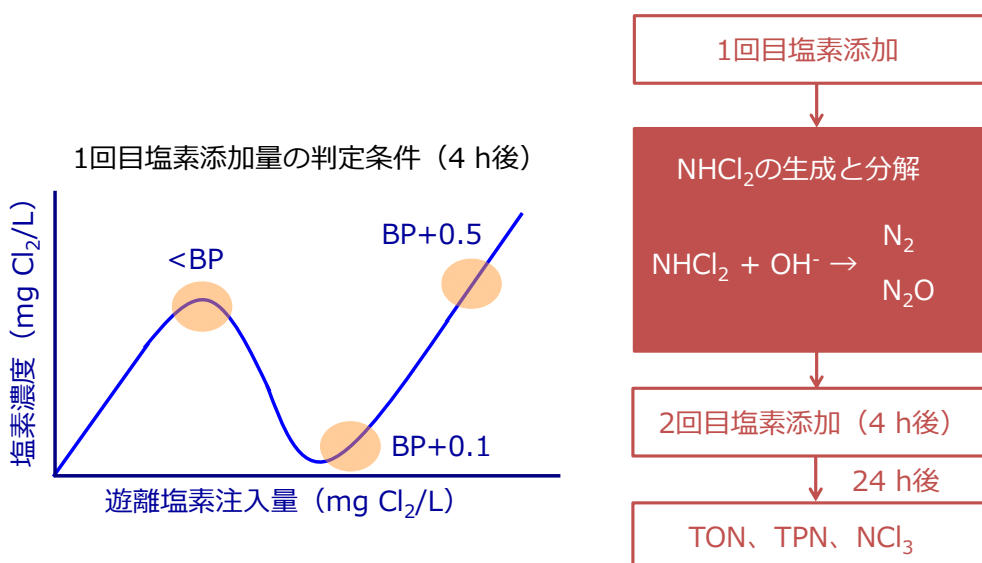


図 3. 二段階塩素処理の概念図

表 2. 本研究で用いたアミン類定量における 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 °C (10 °C/min)–290 °C (5 min)
イオン源温度	230 °C

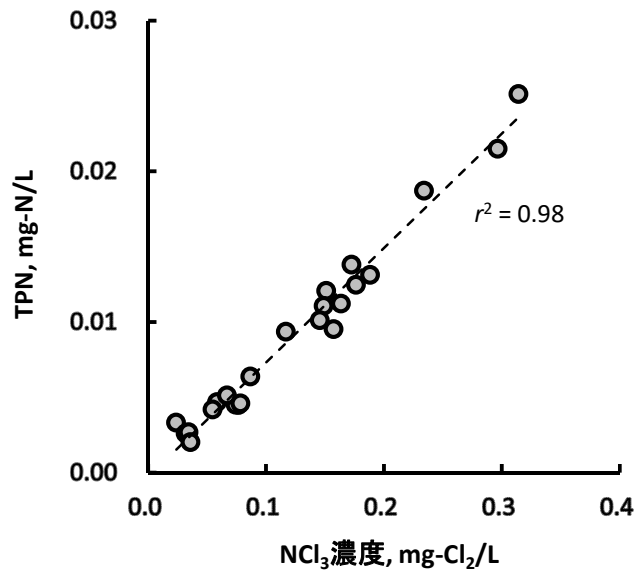


図 4. 精製水で調整した NCl_3 溶液における NCl_3 濃度と TPN の関係

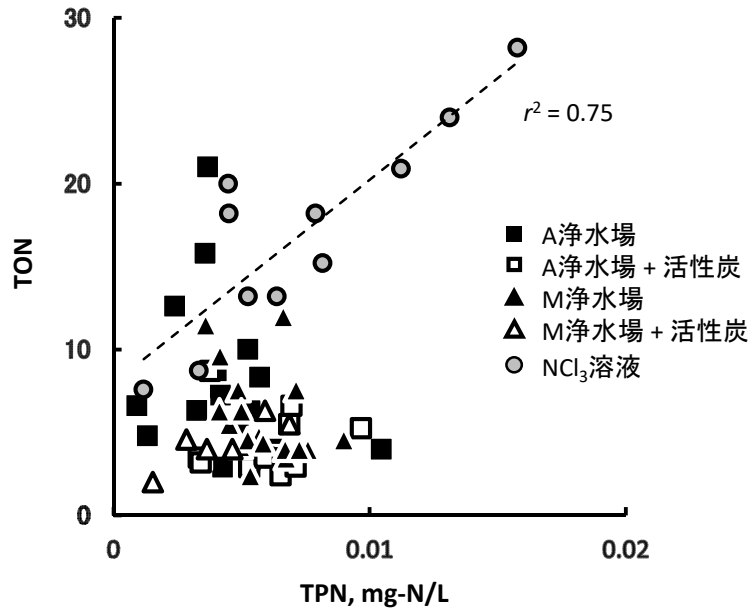


図 5. 浄水における TPN と TON の関係

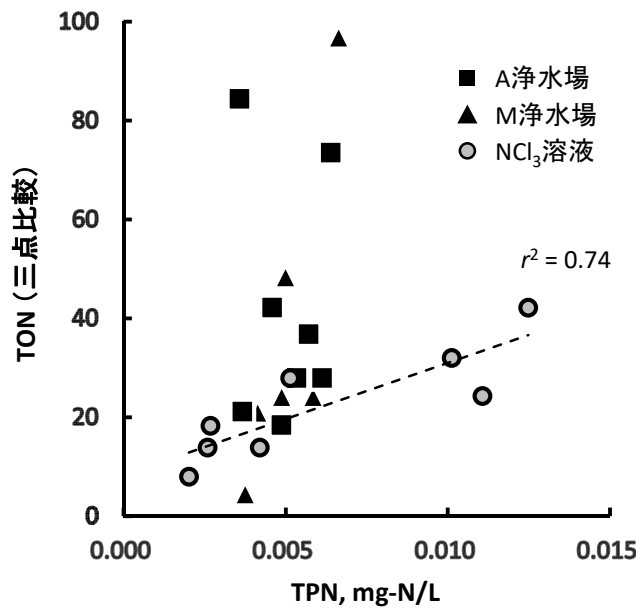


図 6. 浄水における TPN と TON（三点比較）の関係

表 3. 塩素処理試料の GC/O 結果 表中の数字は各臭気が感知された頻度 (%)

	GC保持時間, min		臭気的印象	A ₂	B ₂	C ₂	D ₂	E ₂	F ₂	G ₂	H ₂	全体
	開始	終了										
#1	2.7	2.8	有機系	0	8	0	8	0	0	0	8	3
#2	3.5	3.6	微弱	17	8	0	0	0	0	8	0	4
#3	4.5	4.6	微弱	8	33	8	17	8	0	8	0	10
#4	5.3	5.4	ビニール	42	8	0	0	0	25	25	0	13
#5	5.8	5.9	錆	0	0	0	8	0	0	8	0	2
#6	6.1	6.2	フルーツ	0	0	0	0	8	0	8	8	3
#7	7.1	7.2	甘い・砂糖	25	17	0	0	0	0	0	8	6
#8	7.6	7.8	カビ/雑巾	8	0	8	17	0	0	0	0	4
#9	8.4	8.5	パン/すっぱい	0	25	0	0	0	0	8	8	5
#10	9.2	9.5	マジック・シンナー	50	33	25	50	33	17	0	25	29
#11	9.8	9.9	ゴム	0	0	0	0	0	25	25	0	6
#12	10.4	10.5	鉄・血	8	0	8	8	8	17	25	25	13
#13	10.8	10.9	雑巾	25	0	0	8	17	0	0	17	8
#14	11.4	11.5	牛乳	25	0	0	0	8	42	25	0	13
#15	12.1	12.1	微弱	8	0	0	0	0	0	25	0	4
#16	12.3	12.4	微弱	0	8	0	8	8	17	0	0	5
#17	13.2	13.3	有機系・甘い	33	8	0	8	25	42	67	25	26
#18	14.3	14.4	微弱	17	0	0	25	0	8	17	17	10
#19	15.1	15.2	微弱	0	17	0	17	0	0	8	0	5
#20	15.5	15.6	錆	8	8	0	0	8	8	0	0	4
#21	16.0	16.1	すっぱい	0	8	0	0	17	8	8	0	5
#22	17.1	17.2	けむたい	8	25	0	17	0	0	8	8	8
#23	19.1	19.2	微弱/甘い	17	8	0	0	25	8	0	0	7
#24	20.2	20.3	微弱	25	0	17	0	0	0	8	0	6
#25	21.2	21.3	いやなにおい	0	17	0	0	8	0	8	8	5
#26	24.3	24.4	ゴム	17	0	8	17	8	0	8	0	7

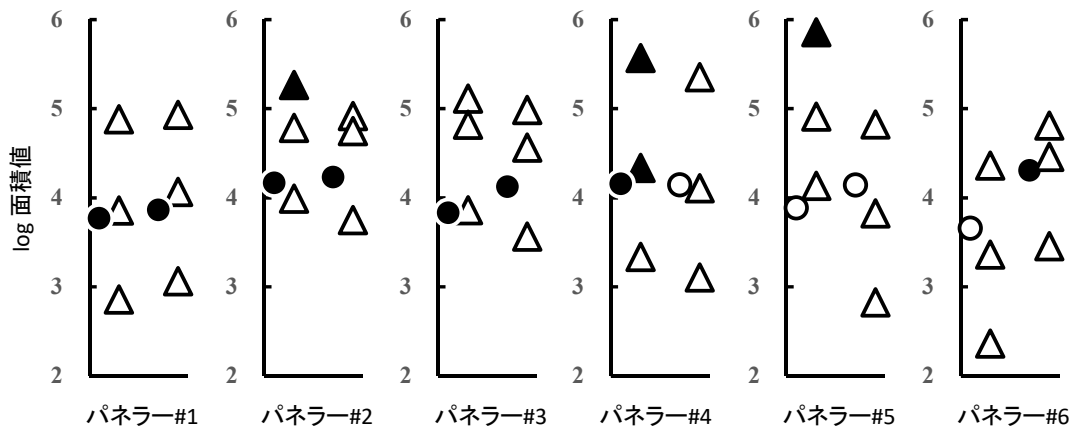


図 7. 臭気#17 (GC 保持時間 13.2~13.3 min) とデカナル標準品との臭気感知の比較 塩素処理試料 臭気感知あり● なし○, 標準品 臭気感知あり▲ なし△

表 4. 珪藻類 (キクロテラ) 培養液の官能試験結果 (次亜塩素酸ナトリウム添加した検体)

	キクロテラ培養液			操作ブランク (ろ過・回収)
	キクロテラ数	臭気の有無	臭気の種類	
培養 1 回目	200~500 個/mL	○	・ゴム臭 ・プラスチック臭	無臭
培養 2 回目	9,300 個/mL	○	・プラスチック臭 ・消毒臭 (プール) ・刺激臭 (にんにく) ・青草臭	無臭

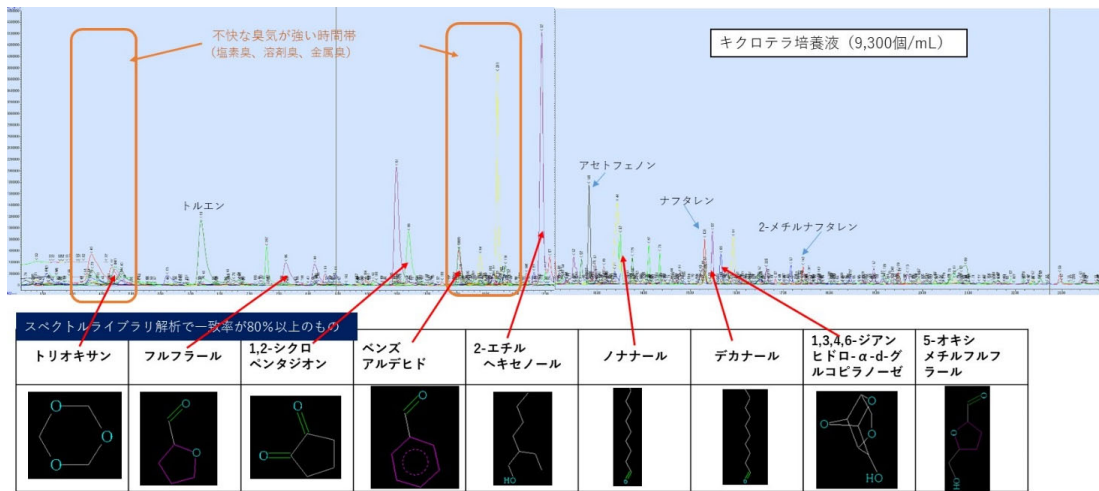


図 8. 珪藻類（キクロテラ）培養液のにおい-GC/MS による測定結果（次亜塩素酸ナトリウム添加した検体）

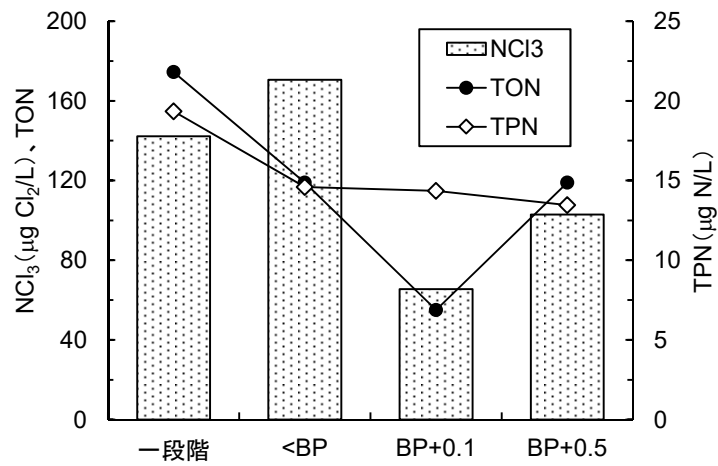


図 9. 二段階塩素処理によるアンモニアの NCl₃ 生成能、カルキ臭生成能、TPN 生成能の抑制効果

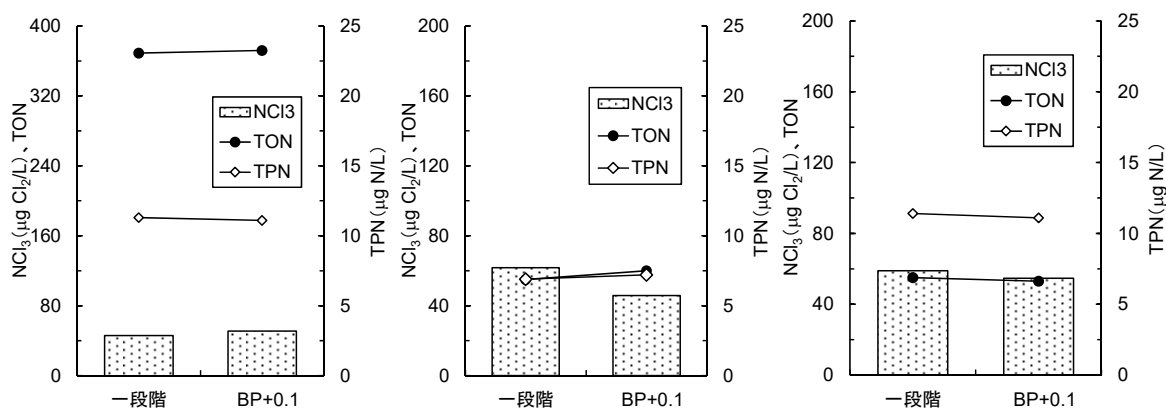


図 10. 二段階塩素処理による対象物質の NCl₃ 生成能、カルキ臭生成能、TPN 生成能の抑制効果 (左：シクロヘキシルアミン、中：アラニン、右：プロリン)

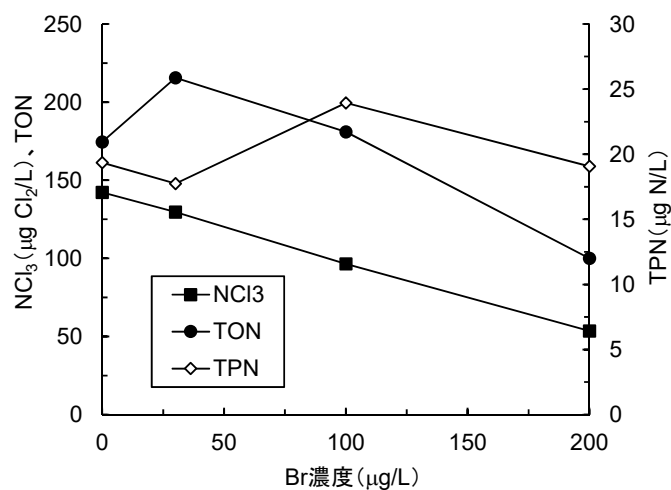


図 11. アンモニアの NCl₃ 生成能、カルキ臭生成能、TPN 生成能への Br の共存 (100 μg/L) 影響

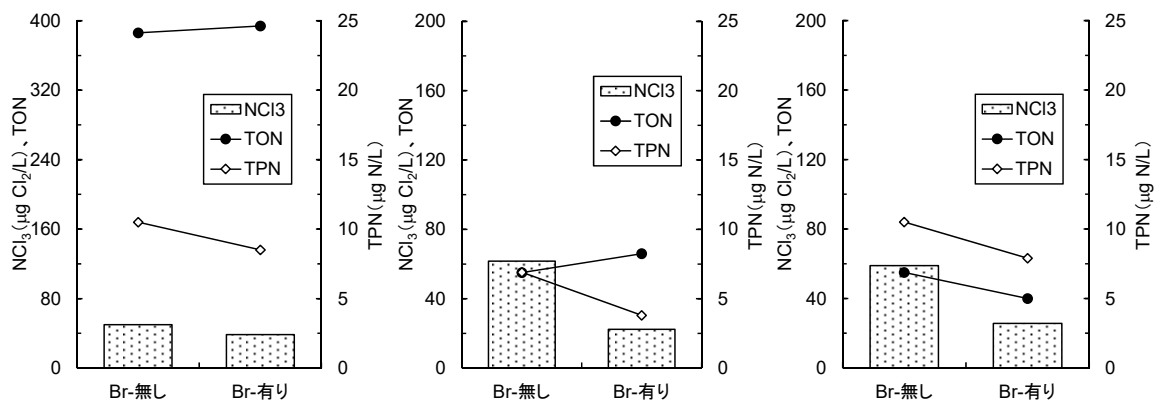


図 12. 対象物質の NCl_3 生成能、カルキ臭生成能、TPN 生成能への Br の共存 (100 $\mu\text{g/L}$) 影響 (左 : シクロヘキシルアミン、中 : アラニン、右 : プロリン)

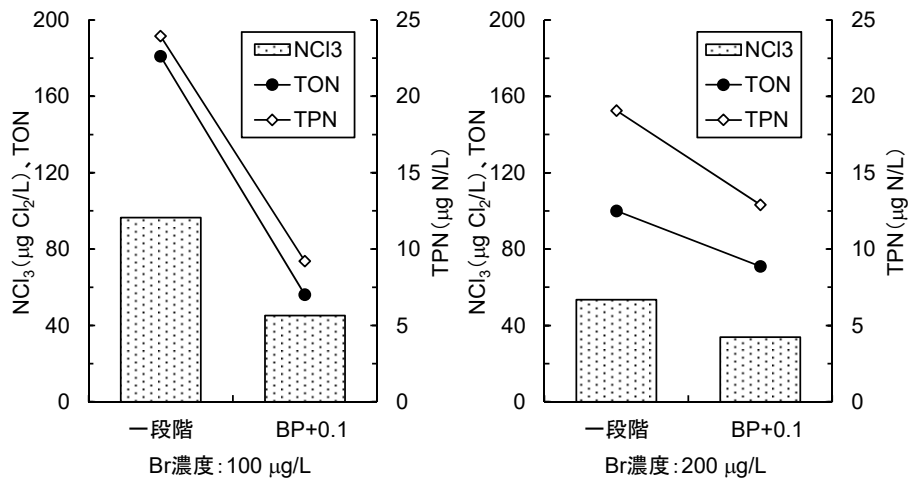


図 13. Br 共存下 (左 : 100 $\mu\text{g/L}$ 、右 : 200 $\mu\text{g/L}$) での二段階塩素処理によるアンモニアの NCl_3 生成能、カルキ臭生成能、TPN 生成能の抑制効果

表 5. 各アミン類の分析条件

物質名	保持時間	分子量	定量イオン (m/z)
エチルアミン	9.99	185	185
ジメチルアミン	10.01	185	185
メチルアミン	10.76	171	171
i-プロピルアミン	11.54	199	184
t-ブチルアミン	12.54	213	198
ジエチルアミン	12.65	213	213
n-プロピルアミン	13.62	199	199
sec-ブチルアミン	13.69	213	184
n-ブチルアミン	15.76	213	170
ピペラジン	17.92	366	224
ジメチルアミン-d6	9.90	191	191

} エチルアミンとジメチルアミンは混合物として評価

※確認イオンは各アミン共通で m/z 77 と m/z 141

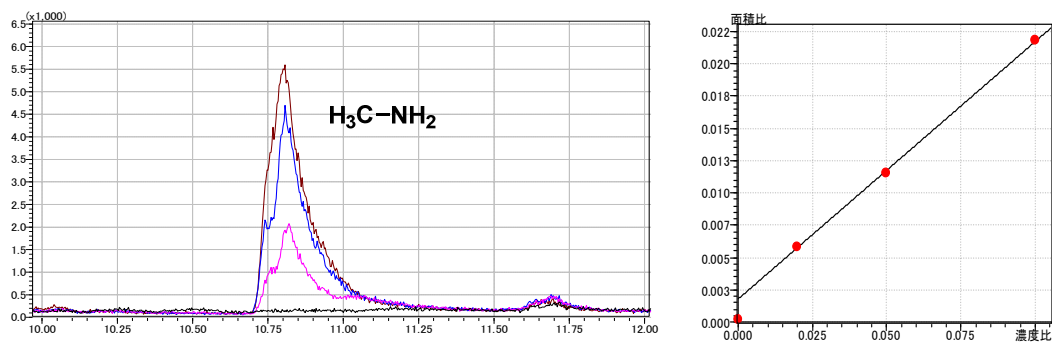


図 14. メチルアミン標準液のクロマトグラムと検量線 (0 µg/L、0.2 µg/L、0.5 µg/L、1 µg/L のクロマトグラムを重ねた)

令和2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
ーリスク評価管理ー

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	磯 貴子	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	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	村田 康允	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	広瀬 望	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	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

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ているが、入浴時などに揮発性物質の吸入や経皮経由の間接暴露が発生することがある。そこで今年度は、間接暴露を考慮したジクロロメタンと四塩化炭素の水道水質基準値の評価をおこなった。ジクロロメタンについては現行の水道水質基準値濃度の水道水の利用でTDIの超過が生じる可能性は低く、基準値は十分に安全側にたった値であった。四塩化炭素についてもTDI超過の暴露シナリオは7%と低かったが、今後より精緻な暴露評価が期待される。

一方、水道水中の目標値が設定されていない要検討項目に対する毒性情報を収集した結果、6項目（1,3-ブタジエン、アクリル酸、ヒドラジン、酢酸ビニル、プロモクロロ酢酸、及びプロモジクロロ酢酸）について信頼性の高い毒性情報が得られた。これら6項目について水道水中目標値の試算を行うことが出来た。特に、1,3-ブタジエン、ヒドラジン、プロモクロロ酢酸及びプロモジクロロ酢酸は、閾値のない発がん性物質と考えられ、水道水中目標値の試算結果が0.025 mg/L、0.005 mg/L、0.01 mg/L及び0.01 mg/Lと低い値となった。これらの項目については、浄水における存在について確認が必要であると考えられた。今回試算した水道水中目標値は、今後の水道水質基準等の逐次検討に貢献できるものと考えられた。

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）の目標値試算に向け、PBPKモデル適用方法に対する情報収集整理を行った。アメリカ合衆国環境保護庁（US-EPA）の水道水評価値導出に用いたPBPKモデルの適用手法について情報整理を行った結果、評価値導出に対しては、動物実験の血中濃度の実測値とモデル推定値による乖離やヒト半減期の選択方針による不確実性があることが示唆された。ヒトの動態に関する情報は日々更新されており、今後は最新情報に注視して評価値の試算を検討する必要があると考えられた。

A. 研究目的

水道水中の微量化学物質の混入は、水源に由来する場合のみならず、消毒副生物など浄水・給配水に至るまでに様々な理由が考えられる。本研究では、浄水中に混入し得る化学物質を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。

- 間接暴露を考慮したジクロロメタンと四塩化炭素の水道水質基準値の評価
- 水道水質管理区分「要検討項目」の毒性情報集及び評価値・目標値の試算
- 国内外で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. 間接暴露を考慮したジクロロメタンと四塩化炭素の水道水質基準値の評価

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, 3)}。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、昨年度の検討⁴⁾ではベンゼンについて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。

本年度は揮発性物質として、ジクロロメタンと四塩化炭素について検討を行った。これら2物質は経皮暴露による毒性発現は確認されていないものの、吸入・経口暴露ともに肝臓での病理学的変化や腫瘍の発生が確認されており^{5, 6)}、吸収経路によらず、吸収ポイントとは離れた部位に共通の毒性を発現することから、全ての経路のエンドポイントが同一であると推測されている^{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。

本年度では、1. 揮発性を物性値から予測する手法についての検討および2. 潜在暴露量の確率分布を算出することで水道水由来のジクロロメタン、四塩化炭素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. 水道水質管理区分「要検討項目」の毒性情報集及び評価値の試算

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(27項目)、要検討項目(45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。

水道水質基準及び水道管理区分は、平成15年に大幅な改正が行われたが、それ以降は新たな知見が得られた時に逐次検討されている。要検討項目は、毒性評価が定まらない、又は浄水中の存在量が不明な項目であり、現在は、45項目中20項目について目標値が設定されていない。

い。そこで、今年度は目標値が設定されていない要検討項目に対する毒性情報を収集し、評価値導出に十分な毒性情報が得られた 6 項目程度について水道水中目標値の算出を試みることにした。

3. 国内外で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強いことで、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に鑑み、昨年度は PFOA 及び PFOS の毒性情報の整理を行った。

PFOA 及び PFOS の体内消失半減期については、種間および性別に対し数桁の違いがあると推定されている。こうした薬物動態の違いは、同じ生体内部曝露量に到達するために必要な外部曝露量の違いを生み出す。毒性学的エンドポイントの反応の強さが化学物質の内部曝露量に依存すると仮定すると、種差による外部曝露量の違いを評価する必要がある。動物試験結果と利用可能な薬物動態モデルを使用する事により投与期間、平均血清濃度および消失速度、飽和腎再吸収に基づいて、ヒトの評価値について PBPK モデルを用いて計算することが可能となると考えられる。今年度は、次年度に目標値の算出を試みるため、PBPK モデル適用方法に対する情報整理を行うことにした。

B. 研究方法

1. 間接暴露を考慮したジクロロメタンと四塩化炭素の水道水質基準値の評価

1-1. 揮発性予測手法

水道水由来のジクロロメタン、四塩化炭素の総有効作用量は、経口経路による曝露量で換算した場合、

$$ED_{total} = C_w \times I_w + C_w \times K'_d \times Q_{alv} \times t_{exp} \times \frac{R_{inhalation}}{R_{oral}} + \frac{C_w \times A_{sk} \times K_p \times t_{exp}}{1000} \times \frac{R_{dermal}}{R_{oral}} \quad (1)$$

で表される (C_w : 水中濃度 [$\mu\text{g/L}$], I_w : 飲水量 [L/day], K'_d : 非定常分配係数 [$(\mu\text{g}/\text{m}^3)/(\mu\text{g}/\text{L})$]; Q_{alv} : 肺胞換気量 [L/hr]; 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]; R_{oral} : 経口作用率 [hr/L], $R_{inhalation}$: 吸入作用率 [hr/L], R_{dermal} : 経皮作用率 [hr/L])^{1,2,3,4}。実家庭浴室における気液中濃度比である非定常分配係数を計算によって算出する方法の検討を行った。

相間物質移動の様子を表すモデルである二重境膜モデルを用いると、任意の水道水中濃度における空气中濃度の単位時間変化量は、

$$V \cdot \frac{dC_a}{dt} = K A \left(C_w - \frac{RT}{H} C_a \right) \quad (2)$$

で表される (V : 気相体積 [m^3], C_a : 気相中濃度 [$\mu\text{g}/\text{m}^3$], K : 物質移動係数 [m/s], A : 気液接触面積 [m^2], C_w : 水中濃度 [$\mu\text{g}/\text{m}^3$], R : 気体定数 [$\text{L} \cdot \text{Pa}/\text{mol} \cdot \text{K}$], T : 温度 [K], H : ヘンリー定数 [$\text{L} \cdot \text{Pa}/\text{mol} \cdot \text{K}$])⁷。この式を時間 t について積分し、 K'_d について整式することで、

$$K'_d = \frac{C_a}{C_w} = \frac{H}{RT} \left\{ 1 - \exp \left(- \frac{K \cdot A}{V} \cdot \frac{RT}{H} \cdot t \right) \right\} \quad (3)$$

が得られる。さらに、ここで物質移動係数 K は、

$$K = \beta \left(\frac{2.5}{D_1^{2/3}} + \frac{RT}{H \cdot D_a^{2/3}} \right)^{-1} \quad (4)$$

で表される (β : 物理的要因による係数 [-], D_1 : 水中拡散係数 [m^2/s], D_a : 気中拡散係数 [m^2/s];⁸)。 β は気液相の物理的状态によって変化する値であり、物理的条件によつて

み決定され、物質種によって変化しない値である⁸⁾。(3)式において、水中拡散係数 D_1 と気中拡散係数 D_a はそれぞれHL法^{9, 10)}、WL法^{10, 11)}によって、物性値から算出できる。(3)式の右辺のうち、

$$k = \left(\frac{2.5}{D_1^{2/3}} + \frac{RT}{H \cdot D_a^{2/3}} \right)^{-1} \quad (5)$$

$$B = \frac{\beta \cdot A}{V} \quad (6)$$

とおくと

$$K'_d = \frac{C_a}{C_w} = \frac{H}{RT} \left\{ 1 - \exp \left(-B \cdot k \cdot \frac{RT}{H} \cdot t \right) \right\} \quad (7)$$

が得られた。

昨年の検討における実測値と比較すると、物理的条件によって決定される値 B は10程度で実験結果を再現することが分かったため(図1)、 $B = 10$ 、 $t = 1800$ [s]の条件で K'_d を算出した(表1)。トリクロロエチレンとテトラクロロエチレンのようなクロロホルムよりもヘンリー定数が非常に大きい物質は式7や移行係数、ヘンリー定数では、 K'_d 値の予測は難しいことが示唆された。そのような物質の正確な揮発性の予測は実測に基づく評価が必要であると考えられた。一方で、ジクロロメタンについては、それらのヘンリー定数は、クロロホルムの値に近いので、 K'_d 値が予測可能と思われる。

1-2. 総有効作用量予測手法

1-2-1. 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¹²⁾の揮発性に対してのジクロロメタンと四塩化炭素の揮発性を比較することにより、実家庭のジクロロメタンと四塩化炭素の非定常分配係数の値を推定した(図2)。ジクロロメタンの揮発性は計算式7を用い

て算出し、ヘンリー定数が大きく式7で予測が出来ないと考えられた四塩化炭素の揮発性は、ヘンリー定数が同程度のテトラクロロエチレンと同等であると仮定して算出した。

1-2-2. 潜在暴露量に対する有効作用量の割合である作用率を算出するために生理学的薬物動態モデルを作成して、水中および空气中濃度や暴露時間の条件を変化させながら作用率を算出した。両物質とも肝臓での代謝物が毒性に寄与していると考えられているため、肝臓での代謝速度の対時間面積値を有効作用量として計算した。

1-2-3. 式7のパラメータの分布を1-2-1、1-2-2. およびアンケート結果¹³⁾や体重との相関と体重分布¹⁴⁾を用いて推定し、モンテカルロシミュレーションを行うことで水道水質基準値濃度の水道水を使用した場合の有効作用量の分布を計算した。

2. 水道水質管理区分「要検討項目」の毒性情報集及び評価値・目標値の試算

水道水質管理区分の「要検討項目」について、化学物質総合情報提供システム(NITE-CHRIP)、化審法データベース(J-CHECK)より入手可能な国内外の評価書を収集し毒性情報を整理した。評価書で定めたキースタディ及び評価値を用い、水道目標値の試算を行った。国内外における既存の評価書がない項目については、毒性情報を整理し評価値導出の出発点となるPOD (Point of Departure)の選定を行った。発がん性影響についてはBMSD (Benchmark Dose Software)を用い発がん発生率に対するBMDL₁₀の推定を行った。遺伝毒性情報は発がん性の閾

値の有無の判定に用いた。閾値のない発がん性を POD として設定した場合は 10^{-5} リスクによる VSD (実質安全量, Virtually Safe Dose) (POD/1,000) を評価値とした。一方、閾値のある発がん性に対しては POD に不確実係数 (UF: 1,000 [種差 10, 個人差 10, 発がん性 10]) を適用して TDI (Tolerable Daily Intake: 耐容一日摂取量) を求めた。割当率は、水道水質基準導出の考え方に従って、デフォルトとして 10%を用いたが、閾値のない発がん性影響をエンドポイントとした時は、割当率は用いないものとした。成人の体重を 50 kg, 飲水量を 2 L/day とし、目標値を試算した。

3. 国内外で関心の高い物質の毒性情報整理

国内外の関心の高い物質として PFOA 及び PFOS を選定し、今年度は、目標値の算出を試みるため、PBPK モデル適用方法に対する情報整理を行った。まず US-EPA (2016a, b) の水道水評価値導出に用いた PBPK モデルの適用手法を調べた。次に US-EPA が用いた PBPK 手法についての原著論文を入手し、情報の精査を行った。

C. 研究結果及び考察

1. 間接暴露を考慮したジクロロメタンと四塩化炭素の水道水質基準値の評価

1-1. 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、ジクロロメタンの吸入暴露と経皮暴露は経口暴露に対して共に 46%程度しか、四塩化炭素では吸入暴露と経皮暴露のそれぞれが経口暴露に対して 55, 56%程度しか肝臓に作用しないことが分かった。

1-2. ジクロロメタンが基準値濃度 (=0.02 mg/L) である水道水を使用した場合の有効作用量の分布は図 3-A のようになった。分布の 50, 95%ile 値はそれぞれ 0.78, 1.7 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ であった。水道水質基準の策定に用いられた TDI が 6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ であることから、基準値濃度の水道水であれば十分に安全な値であり、基準値は妥当な値であると考えられる。

1-3. 四塩化炭素が基準値濃度 (=0.002 mg/L) である水道水を使用した場合の有効作用量は図 3-B のようになった。分布の 50, 95%ile は 0.20, 0.84 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ であった。基準値策定時の TDI 0.71 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ であり、分布の 93%ile に相当していることから、現行の基準値はほとんどの暴露シナリオをカバーしており、妥当な値であると考えられる。

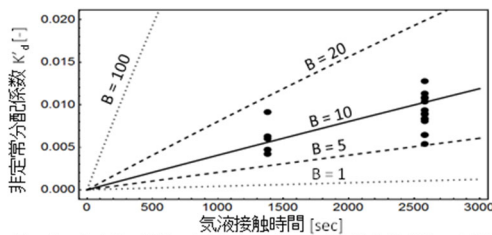


図1. 物理的条件の係数 B を変化した際の $K'd$ と気液接触時間 t の相関と実測値 (プロット: 松井, 2020) の関係. $B=10$ 程度が最も実測値に近い.

表1. 式(5)による揮発性物質の非正常分配係数 $K'd$, 予測計算値, ヘンリー定数および実測値をクロロホルムを1として比で表した比較結果. ヘンリー定数がクロロホルムに近い物質は予測式による再現性が高い.

物質	クロロホルムに対する比		
	予測 $K'd$ 値	ヘンリー定数	実測値 ^{2,3,4)}
ジブromクロロメタン	0.904	0.263	0.673 ~ 0.776
ベンゼン	0.940	1.43	0.891
テトラクロロエチレン	0.900	4.58	11.1
ジクロロメタン	1.09	0.731	-
四塩化炭素	0.946	7.31	-

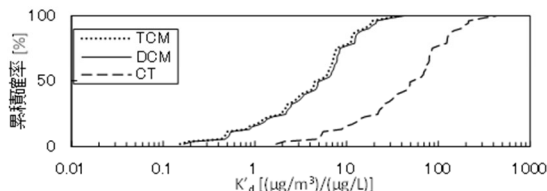


図2. クロロホルムの実家庭浴室での非正常分配係数分布¹⁾を1.09倍して得られたジクロロメタンと11.1倍して得られた四塩化炭素の非正常分配係数分布に対する作用量の割合.

表2. ジクロロメタンと四塩化炭素の経路別潜在暴露量に対する作用量の割合.

	R_{oral}	$R_{inhalation}$	R_{dermal}
ジクロロメタン	0.874	0.481	0.493
四塩化炭素	0.389	0.179	0.182

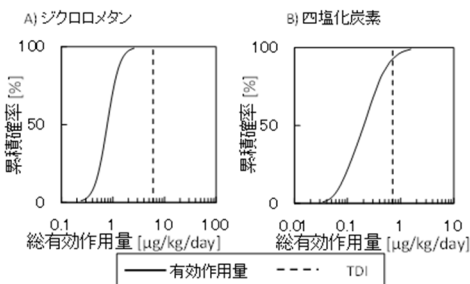


図3. ジクロロメタンと四塩化炭素の総有効作用量分布(実線)とTDI(破線:ジクロロメタン:6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$, 四塩化炭素:0.71 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$).

2. 水道水質管理区分「要検討項目」の毒性情報集及び評価値・目標値の試算

水道水質管理区分「要検討項目」のうち、目標値が定められていない20項目について毒性情報を収集した結果、1,3-ブタジエン、アクリル酸、ヒドラジン、酢酸ビニル、ブromクロロ酢酸、及びブromジクロロ酢酸について長期反復投与毒性の知見が得られ、それらの情報を

元に水道水質中の目標値の試算を行うことが出来た。

表1に、各項目のキースタディ、評価値及び目標値の概要を示す。調査した毒性情報及び目標値導出手順を以下に示す。

① 1,3-ブタジエン

ブタジエンには、1,2-ブタジエンと1,3-ブタジエンの異性体が存在するが、毒性試験情報は1,3-ブタジエンしか得られなかった。1,3-ブタジエンは化審法の優先評価化学物質として評価されており、優先評価化学物質のリスク評価(一次)・人健康影響に係る評価II・有害性情報の詳細資料より、以下の情報が得られた。ブタジエンは常温で気体のため経口経路の毒性情報は得られていないが、吸入試験から得られた評価値を経口経路の評価値に換算している。

まず、一般毒性のキースタディは、マウスに0, 6.25, 20, 62.5, 200, 625 ppm (0, 14.1, 45, 141, 450, 1,410 mg/m^3) 2年間吸入曝露した試験(6時間/日・5日/週)で、用量に依存した生存率の減少を示し、雌は200 ppm以上、雄は625 ppm群で全例が死亡した。また、最低用量の6.25 ppm以上で卵巣萎縮、62.5 ppm以上の群で大球性貧血、胸腺萎縮、心筋の鈣質化、肝臓の小葉中心性肝細胞壊死及び精巣萎縮が認められた。本試験のLOEL6.25 ppm (14.1 mg/m^3)を曝露状況で補正し、経口曝露に換算するとLOELは4.2 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ と算出されている。この値をPODとし、UF1,000(種差, 個人差, LOEL)を適用した結果、評価値は 4.2×10^{-3} $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ と算定された。

次に、生殖発生毒性のキースタディは、マウスの発生毒性試験で、妊娠6-15日に0, 40, 200,

1,000 ppm (0, 90, 450, 2250 mg/m³) で吸入曝露 (6h/day) した結果, 母動物では200 ppm以上で体重減少がみられ, 胎児では40 ppm以上の雄及び200 ppm以上の雌の群において, 胎児体重の低値がみられた. 胎児の体重低値の認められた40 ppm (90 mg/m³)を曝露補正及び経口曝露に換算し, LOAELは26.8 mg/kg/dayと算定された. この値にUF1,000 (種差・個人差・LOAEL) を適用し, 評価値は 2.7×10^{-2} mg/kg/dayと定められている.

一方, 発がん性については, 米国およびカナダのスチレンブタジエンゴム製造工場の労働者に白血病について過剰死亡が認められた疫学研究を基に評価値が定められている. カロリンスカ研究所は吸入経路の本コホートの白血病に基づくユニットリスクを 4.0×10^{-6} ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)⁻¹と算定している. 化審法の評価 II では, 1,3-ブタジエン曝露に基づく発がん性が遺伝毒性に基づくものであると判断し, このユニットリスクから VSD (10^{-5} リスク) を, 2.5×10^{-3} mg/m³ (1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$) と算出されている.

以上により, 最も低い評価値は発がん性をエンドポイントとした 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ となっている. この VSD 値を用い, 体重 50 kg, 摂水量 2L で算出した水道の目標値は 0.025 mg/L となった. なお, 水道施設の資機材や給水装置からの溶出の観点から 1,2-ブタジエン及び 1,3-ブタジエンの溶出に関して基準が設定されており, 水道施設の技術的基準を定める省令において, 資機材等の基準として, 0.001 mg/L 以下であることとされている. また, 給水装置の構造及び材質の基準に関する省令において, 0.001 mg/L 以下であることとされている.

② アクリル酸

ラットに 0, 0.012, 0.08, 0.2, 0.5% の濃度

でアクリル酸を 12 ヶ月間飲水投与 (0, 9, 61, 140, 331 mg/kg/day) した結果, 0.2% 以上の群の雄で体重の低値が認められた. この結果から, NOAEL 61 mg/kg/day が得られている. 一方, ラットに 0, 0.05, 0.25, 0.5% (0, 53, 240 及び 460 mg/kg/day) の濃度で 70 日間飲水投与した 2 世代試験で, 0.25% 群の F1 及び F2 の仔世代での体重増加の抑制が認められた. また, 同群の F2 では外耳道の開通の遅延も認められた. したがって, 本試験の NOAEL は, 0.05% (53 mg/kg/day) とされている. 我が国の環境省はリスク評価書で本試験をキースタディとしリスク評価している. また, アメリカ合衆国環境保護庁 (US-EPA) - IRIS は, 本 NOAEL に UF100 (種差・個人差) を適用し RfD を 530 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ としている. なお, アクリル酸の飲水投与による慢性毒性試験では, 78 mg/kg/day までの用量で発がん性が認められなかった. US-EPA の RfD (TDI 相当); 530 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ を用い, 体重 50 kg, 摂水量 2L, 寄与率 10% で算出した水道の目標値は 1.3 mg/L となった. なお, 水道施設の資機材や給水装置からの溶出の観点からアクリル酸については, 資機材等基準等として設定されていないが, 塗料の品質として日本水道協会規格 (水道用ダクタイル鋳鉄管内面エポキシ樹脂粉体塗装についての塗料の品質として, 0.002 mg/L 以下) が設定されている.

③ ヒドラジン

ヒドラジンは化審法の優先評価化学物質として評価されており, 優先評価化学物質のリスク評価 (一次) ・人健康影響に係る評価 II ・有害性情報の詳細資料より, 以下の情報が得られた.

ラットを用いたヒドラジン水和物の 2 年間

飲水投与試験 (0, 1.28, 2.5, 5.35 mg/kg/day) において、腎盂上皮過形成の BMDL₁₀ の 0.114 mg/kg/day (ヒドラジンとして) を POD として、UF100 (種差・個人差) を適用して一般毒性の経口経路の評価値を 1.1×10^{-3} mg/kg/day と算出している。

ラットにヒドラジン一水和物を 2, 6, 18 mg/kg/day を投与した簡易生殖発生毒性試験 (TG421) において、6 mg/kg/day 以上において親動物に流涎、腎臓及び脾臓の重量増加、肝臓の脂肪化及び脾臓の色素沈着が認められたが、生殖能に影響はなかった。一方、同群では児の体重低値傾向及び生存率低下に基づく発生毒性影響が認められたため、NOAEL は 2 mg/kg/day (1.28 mg/kg/day: ヒドラジンとして) と判断された。本 NOAEL に UF100 (種差・個人差) を適用して、生殖発生毒性の評価値を 1.3×10^{-2} mg/kg/day と算出している。

上述 2 年間飲水投与試験では、雌の肝細胞腺腫又は癌の発生率が増加しており、本エンドポイントの BMDL₁₀ は 2.13 mg/kg/day と推定された。化審法の評価 II では遺伝毒性が陽性であり閾値のない評価をすることにより、本 BMDL₁₀ を用いて VSD (10^{-5} に相当) を 2.1×10^{-4} mg/kg/day と算出している。

以上により、最も低い評価値は発がん性をエンドポイントとした 0.21 μ g/kg/day となっている。本評価ではこの VSD 値を用い、体重 50 kg、摂水量 2L で算出した水道の目標値は 0.005 mg/L となった。なお、ヒドラジンについては、現在、水道用ダクタイル鋳鉄管内面エポキシ樹脂粉体塗装についての日本水道協会規格の塗料の品質として、0.005 mg/L 以下であることとされている。

④ 酢酸ビニル

環境省のリスク評価書 (2003 年) は、酢酸ビニルの経口経路の毒性情報は信頼性のある情報が得られていないとしているが、以下の情報の記載があった。ラットに 0, 200, 1,000, 5,000 μ l/L (雄: 0, 10, 47, 202 mg/kg/day, 雌: 0, 16, 76, 302 mg/kg/day) を飲水に添加して 104 週間経口投与した結果、1,000 μ l/L 以上の群で用量に依存した摂水量の減少、5,000 μ l/L 群で摂餌量及び体重の減少がみられたが、血液や病理組織などには影響を認めなかった。発がん性の情報としては、日本バイオアッセイ研究センターが実施したラット及びマウスのラットの 104 週間飲水投与試験として以下の情報が得られた。雌雄ラット各 50 匹を 1 群とし、0, 400, 2,000, 10,000 μ l/L (雄: 0, 21, 98, 442 mg/kg/day; 雌: 0, 31, 124, 575 mg/kg/day: 換算値は論文より) を飲水に添加して 104 週間経口投与した結果、雄では 1,0000 μ l/L 群で口腔の扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮がん、雌では 400 μ l/L 以上の群で口腔の扁平上皮がん、1,0000 μ l/L 群で食道の扁平上皮がんの発生を認めた。また、マウス雌雄 50 匹を 1 群とし、0, 400, 2,000, 1,0000 μ l/L (雄: 0, 42, 202, 989 mg/kg/day; 雌: 0, 63, 301, 1418 mg/kg/day) を飲水に添加して 104 週間経口投与した結果、1,0000 μ l/L 群の雌雄で口腔及び前胃の扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮がん、食道及び喉頭の扁平上皮がん、2,000 μ l/L 群の雌で食道の扁平上皮乳頭腫及び喉頭の扁平上皮がんの発生を認めた。なお、本試験の論文が 2004 年に出版されるまで統計学的に発がん性を評価した試験情報は得られなかった。

ラットに 0, 200, 1,000, 5,000 μ l/L (雄: 0, 28, 139, 693 mg/kg/day, 雌: 0, 20, 152, 760 mg/kg/day) を交尾前 10 週から授乳期まで

飲水に添加して経口投与した結果、5,000 $\mu\text{l/L}$ 群の出生仔で有意な体重減少を認めた以外には、仔への影響を認めなかった。この結果から、NOAELは139 mg/kg/dayであった。吸入曝露については、ラット及びマウスに0, 176, 704, 2,113 mg/m^3 を104週間(6時間/日, 5日/週)吸入させた結果、2,113 mg/m^3 群で体重増加の抑制、嗅上皮の化生及び萎縮、鼻甲介上皮の変性、気管支上皮の細胞剥離及び線維状突起、肺のマクロファージ集簇の有意な発生を認めた。一方、704 mg/m^3 群では嗅上皮の化生及び萎縮が一部にみられた。マウスでは704 mg/m^3 以上の群で嗅上皮及び粘膜下腺の萎縮の有意な発生を認め、さらに2,113 mg/m^3 群では気管上皮の過形成、気管支上皮細胞の剥離、扁平化、体重増加の抑制、肝臓、心臓、腎臓の重量増加などの有意な発生を認めた。これらの結果から、NOAELは176 mg/m^3 (曝露状況での補正:31 mg/m^3)であった。我が国の環境省はこの値を基にリスク評価を行っている。

一方、化学物質の初期リスク評価書(化学物質排出把握管理促進法政令番号:1-102)は、ラットの13週間の飲水投与試験の結果を用いて経口曝露のリスク評価を行っている。ラットに0, 200, 1,000, 5000 ppmの濃度で13週間飲水投与した結果、最高用量で摂餌量の低値及び体重増加抑制が認められたことからNOAELを1,000 ppm(雄:680, 雌:870 mg/kg/day相当)とし、PODの680 mg/kg/dayにUF500(種差10・個人差10・期間5)を用いて、リスク評価を行っている。なお、日本バイオアッセイの104週間飲水投与試験については、統計処理がなされていないことに言及し13週間飲水投与試験を評価値導出に用いている。

EU-RARは、経口投与で最も信頼性の高い試

験は前述のラット及びマウスの104週間飲水投与試験(日本バイオアッセイ)とし、雌ラットの400 $\mu\text{l/L}$ 以上の群で口腔の扁平上皮がんが認められたことから発がん性のLOALEを400 $\mu\text{l/L}$ としている。

本研究では日本バイオアッセイ研究センターのマウス及びラットの104週間飲水投与試験の発がん性影響について解析を行って、PODを定めることとした。上述国内の2評価では本試験からの評価値導出を実施していないが、本評価では論文の原著を精査した結果、OECDのガイドライン試験(TG453)で実施され、口腔及び前胃の扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮がん、食道及び喉頭の扁平上皮がんに有意な増加が認められていることから本試験をキースタディとして選定した。厚生労働省(安衛法)が実施した復帰突然変異試験において、酢酸ビニルは陰性の結果が得られている。また、化学物質の初期リスク評価書(化学物質排出把握管理促進法政令番号:1-102)によると、酢酸ビニルは復帰突然変異試験で、S9添加の有無にかかわらず陰性であった。しかし、マウスリンフォーマ試験等で陽性の結果が存在することから、発がん性評価における閾値の有無の判断が困難であった。したがって、閾値のある発がん性としてTDIを求める評価と、閾値のない発がん性としてVSDを求める評価の両方を実施し、評価値を比較した。発がん性影響として最も低いBMDL₁₀が得られた毒性エンドポイントは、雄ラットの口腔扁平上皮癌による231 mg/kg/dayであった。閾値のある評価として、UF1,000(種差10・個人差10・発がん性10)を適用しTDIは0.23 mg/kg/dayと算出された。体重50 kg, 摂水量2L, 寄与率10%で算出した水道の目標値は0.6mg/Lとなった。一方閾値のない評価として、VSD_{10⁻⁵}は、0.023 mg/kg/day

と算出された。体重 50 kg, 摂水量 2L, 寄与率 100%で算出した水道の目標値は 0.6 mg/L となり, 結果的に目標値は同値となった。なお, 酢酸ビニルについては溶出に関して基準が設定されており, 水道施設の技術的基準を定める省令において, 資機材等の基準として, 0.01 mg/L 以下であることとされている。また, 給水装置の構造及び材質の基準に関する省令において, 0.01 mg/L 以下であることとされている。

⑤ プロモクロロ酢酸

プロモクロロ酢酸 (CAS : 5589-96-8) については, 国内外の評価書を調査したが, 評価値を導出している評価情報は得られなかった。毒性情報としては以下の米国 NTP 試験の情報が得られたため, 本研究で評価値導出を試みた。

非発がん性影響

雌雄ラット各 10 匹に 0, 62.5, 125, 250, 500 又は 1,000 mg/L (雄 : 5, 10, 20, 40 又は 75 mg/kg 雌 : 5, 10, 20, 40 又は 85 mg/kg) のプロモクロロ酢酸を 3 か月間飲水投与した試験において, 雌雄の肝重量が 500 及び 1,000 mg/L で, 雄の腎重量が 1,000 mg/L で有意に増加した。雌雄 1,000 mg/L 群の肝臓における細胞質の空胞化の増加が有意に認められた。

雌雄マウス各 10 匹に 0, 62.5, 125, 250, 500 又は 1,000 mg/L (雄 : 8, 16, 32, 65 又は 125 mg/kg 雌 : 8, 17, 35, 70 又は 140 mg/kg) のプロモクロロ酢酸を 3 か月間飲水投与した試験において, 体重増加減少が雌の 250 mg/L 群以上で有意に認められた。肝重量の増加が雄の 1,000 mg/L 群及び雌の全群で有意であった。雌雄の 500 又は 1,000 mg/L 群に

において, 門脈周辺の細胞質の空胞化の増加が有意に認められた。雄の 62.5, 125, and 250 mg/L 群及び雌の 125 and 1,000 mg/L 群において, 脾臓の造血細胞増殖が認められた。

雌雄ラット各 50 匹に, 0, 250, 500, 1,000 mg / L (雄 : 10, 20, 40 mg / kg ; 雌 : 13, 25, 50 mg / kg) のプロモクロロ酢酸を 2 年間飲水投与した試験において, 雄の 500mg / L 以上及び雌の 1,000 mg / L 群で体重減少が認められた。肝臓では, 500 mg / L 群以上の雌と 1,000mg / L 群の雄に好酸球細胞の有意な増加が認められ, 雌の 1,000 mg / L 群で混合細胞病巣が有意に増加した。また, 肺胞上皮過形成が雌の 1,000 mg / L 群で有意に増加した。

雌雄マウス各 50 匹に, 0, 250, 500, 1,000 mg / L (雄 : 25, 50, 90 mg / kg ; 雌 : 15, 30, 60 mg / kg) のプロモクロロ酢酸を 2 年間飲水投与した試験において, 雌雄の 1,000 mg / L 群で体重減少が認められた。肝臓に対する影響として, 全投与群において肝細胞の細胞質空胞化, 雌の 500 および 1,000 mg / L 群において好酸球性病巣, 雄の 1,000 mg / L 群において, 小葉中心性壊死が有意に増加した。また, 脾臓の造血細胞が, 500 および 1,000 mg / L 群の雄で有意に増加し, 骨髄過形成が 1,000 mg / L 群の雄で有意に増加した。

発がん影響

上記ラット飲水投与試験における悪性中皮腫の発生が雄の 500 mg / L 群で有意に増加した。大腸 (結腸または直腸) の腺腫は雌雄ラットで増加し, 1,000 mg / L の雌で有意であった。乳腺の複数の線維腺腫は 500 および 1,000 mg / L 群の雌で増加傾向を示した。膝ランゲルハンス島における腺腫の発生率は, 500 mg /

L群の雄で有意に増加した。肝細胞腺腫の発生率は、雌で用量依存に増加を示し、雄の500 mg / L及び雌雄の1,000 mg / L群では背景データと比較して増加が認められた。

上記マウス飲水投与試験において、雄の250および500 mg / L群および全投与群における肝細胞腺腫、雄の500 mg / L群以上および雌の500 mg / L群における肝細胞癌が有意に増加した。肝細胞の腺腫及び癌（複合）で解析した結果、全投与群で有意な増加が認められた。雄の全暴露群で肝芽腫が有意に増加した。

遺伝毒性試験

2つの異なる細菌変異原性試験で代謝酵素存在下において陽性（サルモネラ菌 TA100）の結果が得られている。マウスを用いた *in vivo* 小核試験は陰性であった。

ブロモクロロ酢酸は細菌変異原性試験で陽性結果が得られていることから、変異原性物質であると判断された。従って本評価では、閾値のない発がん性物質として評価値導出を行うこととした。マウス及びラットの飲水投与試験で認められた発がん性影響に対し、BMD解析を行った結果、雌の肝細胞癌の $BMDL_{10}$ (3.27 mg/kg/day) が最も適切な POD と判断された。VSD (10^{-5} リスク) は 3.27×10^{-4} mg/kg/day と算出された。なお、非発がん影響については雌マウスの肝細胞空胞化 (LOAEL = 15 mg/kg/day) が最も感受性の高い影響であるが、UF1,000 (種差・個体差・LOAEL) を適用した値 (1.5×10^{-2} mg/kg/day) は 3.27×10^{-4} mg/kg/day より十分に高い値になることから、VSD は非発がん影響も担保する値であることが確認できた。体重 50 kg、摂水量 2L、寄与率 100% で算出した水道の目標値は 0.01 mg/L と算出された。

⑥ ブロモジクロロ酢酸

ブロモジクロロ酢酸 (CAS: 71133-14-7) については、国内外の評価書を調査したが、未評価であった。毒性情報としては以下の米国 NTP 試験の情報が得られたため、本研究で評価値導出を試みた。

非発がん性影響

雌雄ラット各 10 匹に 0, 62.5, 125, 250, 500 又は 1,000 mg/L (雄: 5, 9, 19, 37 又は 72 mg/kg 雌: 5, 10, 20, 43 又は 69 mg/kg) のブロモジクロロ酢酸を 3 か月間飲水投与した試験において、雌の 1,000 mg/L 群において体重が有意に減少し、腎重量は有意に増加した。雄の 1,000 mg/L 群において左精巣重量及び精子の運動に減少が認められた。

雌雄マウス各 10 匹に 0, 62.5, 125, 250, 500 又は 1,000 mg/L (雄: 7, 15, 30, 59 又は 123 mg/kg 雌: 9, 17, 36, 70 又は 129 mg/kg) のブロモジクロロ酢酸を 3 か月間飲水投与した試験において、雄の肝臓の絶対及び相対重量が 500 及び 1,000 mg/L 群で有意に増加し、雄の腎臓の絶対重量が 1,000 mg/L 群で有意に減少した。雌の肝臓では 1,000 mg/L 投与で、グリコーゲンの枯渇が認められた。

雌雄 1 群 66 匹のラットにブロモジクロロ酢酸を 0, 250, 500 及び 1,000 mg/L (雄 0, 11, 21, 43 mg/kg/day: 雌 0, 13, 28, 57 mg/kg/day) 飲水投与した試験において、6 か月 (雌雄各 8 匹/群)、1 年 (雌雄各 8 匹/群) 及び 2 年 (雌雄各 50 匹/群) に剖検した。最高投与群において体重の減少が認められた。摂水量の低下が雄の 1,000 mg/L 群で試験期間中認められ、雌では 1 年目のみ 1,000 mg/L 群で認められた。雌の 500 および 1,000 mg / L 群の相対肝臓重量

は 6 か月時点で有意に増加していた。骨髄では、全投与群での血管拡張と雌の全群と雄の 1,000 mg / L 群で過形成が有意に増加した。雄の 1,000 mg / L 群と雌の 500 mg / L 群以上で肝臓における好酸球細胞が有意に増加した。また、雌の 500 mg / L 群以上で肝及び脾臓の造血細胞が有意に増加した。

雌雄 1 群 66 匹のマウスにプロモジクロロ酢酸を 0, 250, 500 及び 1,000 mg/L (雄: 23, 52, 108 mg/kg; 雌: 17, 34, 68 mg/kg) 飲水投与した試験において、6 か月 (雌雄各 7-8 匹/群), 14 か月 (雌雄各 7-8 匹/群) 及び 2 年 (雌雄各 50 匹/群) に剖検した。500 および 1,000 mg / L 群の雄の生存率は有意に減少した。体重は雌雄の 500 mg / L 群以上で減少した。摂水量は雄全投与群および雌の 250 および 500mg / L 群で対照群よりも増加していた。6 か月の中間評価では、1,000 mg / L 群の雄の腎重量は有意に低かった。14 か月の評価で、肝臓の非定型細胞変化の発生率の増加が雄と雌のマウスのすべての暴露群で認められ、1,000 mg / L の雄と雌の発生率が有意に増加した。用量に依存し精巣萎縮が増加し、500 mg / L 以上の群で有意であった。精巣上体は、全投与群で萎縮し、1,000 mg / L 群で精液減少、500 および 1,000 mg / L 群で上皮変性が有意に増加した。

発がん性影響

上記ラット飲水投与試験で、雌の全投与群における乳腺線維腺腫、乳腺線がん、線維腺腫及び癌 (複合) の発生率は 1,000 mg / L 群で有意に高かった。250 mg / L 群の雄 2 例、500 mg / L 群の雄 3 例、1,000 mg / L 群の雄 1 例に、乳腺線維腺腫が認められた。対照の雄では線維腺腫は観察されなかった。13 か月で 1,000

mg / L 群の精巣の悪性中皮腫が有意に増加し、2 年後には様々な臓器で悪性中皮腫が有意に増加した。雄ラットの皮膚のケラトアカントーマおよび基底細胞腺腫または癌腫 (複合) の発生率は増加し、1,000mg / L 群で有意に高かった。雄の同群で扁平上皮乳頭腫、ケラトアカントーマ、皮脂腺腺腫、基底細胞腺腫、基底細胞癌、または扁平上皮癌の合計発生率が有意に増加した。皮下線維腫の発生率は、1,000 mg / L の雄で有意に増加した。大腸 (盲腸、結腸、直腸) の腺腫の発生率は、500 および 1,000 mg / L の雄でわずかに増加した。

上記マウス飲水投与試験で全投与群の雌において肝細胞腺腫、全投与群の雄および 500 および 1,000 mg / L 群の雌において肝細胞癌、および全投与群の雄および 1,000 mg / L 群の雌において肝芽腫が対照群と比較して有意に増加した。雌雄のマウスにおいて、多発性肝細胞癌と多発性肝芽腫が、雌マウスの多発性肝細胞腺腫が用量依存に増加した。組み合わせると、肝細胞腺腫、肝細胞癌、または肝芽腫の発生率は、250 および 1,000 mg / L の雄、およびすべての暴露群の雌で有意に増加した。雄のハーダー腺では、500 および 1,000 mg / L 群の腺腫、腺腫及び癌 (複合) の発生率は対照群よりも有意に高かった。1,000mg / L の雄に肝芽腫の 1 例が認められた。

遺伝毒性試験

細菌遺伝子突然変異試験で代謝活性酵素の存在下で弱い陽性 (サルモネラ菌 TA97) の結果が得られている。2 年間のバイオアッセイで使用されたロットのプロモジクロロ酢酸で実施された試験では代謝活性酵素の存在下で陽性 (TA97, TA98, TA100 および大腸菌 WP2uvrA) の結果が得られている。大腸菌では代謝活性酵

素の非存在下においても陽性であった。マウスを用いた *in vivo* 小核試験は陰性であった。

ブロモジクロロ酢酸は細菌変異原性試験で陽性結果が得られていることから、変異原性物質であると判断された。従って本評価では、閾値のない発がん性物質として評価値導出を行うこととした。マウス及びラットの飲水投与試験で認められた発がん性影響に対し、BMD 解析を行った結果、雄の悪性中皮腫の $BMDL_{10}$ (2.83 mg/kg/day) が最も適切な POD と判断された。VSD (10^{-5} リスク) は 2.83×10^{-4} mg/kg/day と算出された。なお、非発がん影響については雌マウスの肝臓非定型細胞変化 (LOAEL = 17 mg/kg/day) が最も感受性の高い影響であるが、UF1,000 (種差・個体差・LOAEL) を適用した値 (1.7×10^{-2} mg/kg/day) は 2.83×10^{-4} mg/kg/day より十分に高い値になることから、VSD 非発がん影響も担保する値であることが確認できた。体重 50 kg, 摂水量 2L, 寄与率 100% で算出した水道の目標値は 0.01 mg/L と算出された。

水道水中の目標値が設定されていない要検討項目に対する毒性情報を収集した結果、6 項目について信頼性の高い毒性情報が得られ、水道水中目標値の算出を行うことが出来た。1,3-ブタジエンは、常温で気体であるが、水に対する溶解度は 735 mg/L (20 °C) と高く、水道水中目標値設定の必要性のある物質と判断された。我々が H30 年に実施した調査結果より、1,3-ブタジエン、アクリル酸、ヒドラジン及び酢酸ビニルは、水道水と接触する材料、製品及び部品に用いられていることから、浄水中の存在について調査が必要と考えられた。ブロモジクロロ酢酸及びブロモジクロロ酢酸は消毒副生

成分であり、動物実験において発がん性が認められたことから、既に水道水質基準項目である、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸と同様に今後管理していく必要があるか検討が必要であると考えられた。まずは、これらの項目についての浄水中の存在について確認が必要と考えられる。

3. 国内外で関心の高い物質の毒性情報整理

PFOA 及び PFOS の体内消失半減期については、種間 (PFOA については加えて性別) に対し数桁の違いがあると推定されている。こうした薬物動態の違いは、同じ生体内内部曝露量に到達するために必要な外部曝露用量に違いがあることを示唆する。毒物学的エンドポイントの反応の強さが化学物質の生体内濃度に依存すると仮定すると、薬物動態の種差を考慮したうえで毒性発現する外部曝露量を評価する必要がある。

Wambaugh ら (2013) は、ラット、マウス、サルという異なる種を用いた複数の PFOA および PFOS の *in vivo* 毒性試験の先行研究から、Andersen ら (2006) のモデルを参考にした PK モデルを用いた LOEL・NOEL 値の推定を行い、各試験間における比較を行なった。その結果、データセットは異なっているにも関わらず、種・性別・系統などによって推定精度の違いは見られないことが明らかとなった。

それぞれの先行研究において、得られた実測値に対し、PK モデルで得られた推定値をプロットすると、(1:1) の直線の周辺にプロットが現れる結果となり (図 4)、推定値は、ほぼすべての研究例において実測値におよそ近いものであった。しかし、完全に一致することはなかったことから、この PK モデルには、まだ特定

できていない未知の要因が示唆されている。
 また PFOS・PFOA それぞれについて、試験生物種、性別、試験設定およびエンドポイントなどが異なっても PK モデルから推定された LOELs の値は大体似たような値にまとまっていた (図 5)。このことから PFOS や PFOA の作用は一種類のシンプルなものではなく、複数の様々な作用を生態に及ぼしていることが示唆されている。
 これらの結果を受けて、ある程度大雑把な見解にはなるが、エンドポイントによらない大きな

枠組みでの毒性評価について、in vitro 試験によって得られた活性の値と十分な PK データがあれば予測可能であるのかもしれないと考察されている。

このように Wambaugh ら (2013) は、複数の PFOS・PFOA に関する動物試験結果を比較したが、ヒトについては動物試験結果と利用可能な薬物動態モデルを使用する事により、飽和腎再吸収、投与期間、平均血清濃度及び消失に基づいて、ヒト等価量 (動物毒性試験の LOAEL 又は NOAEL が得られた血中濃度に到達するために必要な

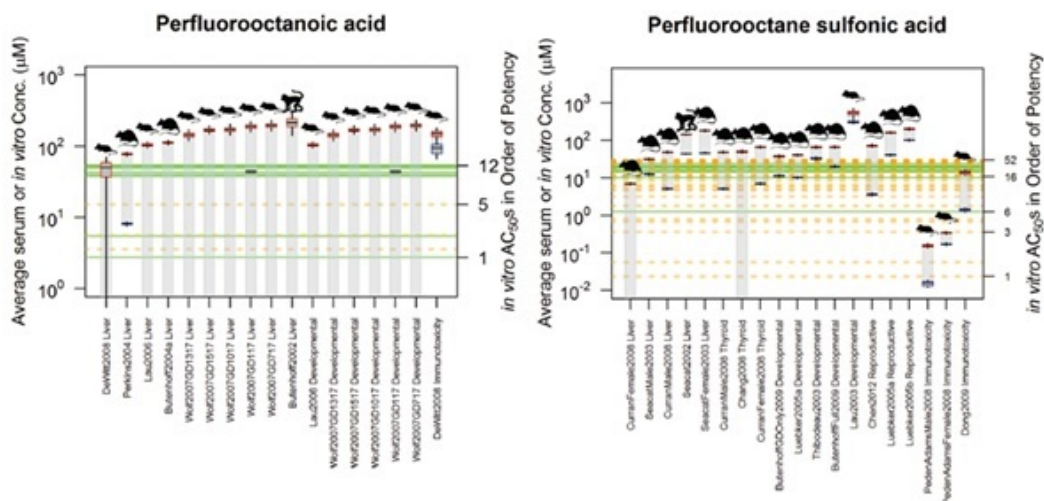


図 5 PFOA, PFOS それぞれについて、各先行研究結果から PK モデルによって推定された LOEL—NOEL のボックスプロットと、各物質で in vitro 試験から得られた AC₅₀ 値 (緑の実線は cellular 試験; オレンジの点線は cell-free 試験を示す) (Wambaugh et al. 2013. より)

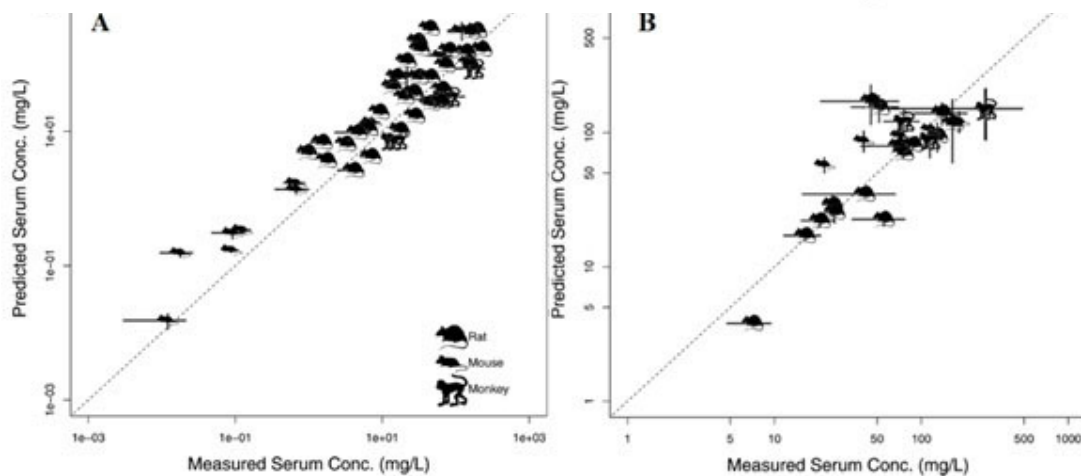


図 4 in vivo 毒性試験における実測血漿中濃度 (横軸) と PK モデルによる推定血漿中濃度の関係 A: PFOS; B: PFOA (Wambaugh et al. 2013. より)

予測ヒト経口曝露量の LOAEL 又は NOAEL) を計算することが可能となると考えられる。PFOA 等の水道水中目標値の試算を次年度に試みるため、今年度は、PBPK モデル適用方法に対する情報整理として、US-EPA (2016a, b) の水道水評価値導出に用いた PBPK モデルの適用手法を調べた。

PFOA 及び PFOS について 1 コンパートメントモデルや 2 コンパートメントモデルのようなシンプルな動態モデルを用いてヒト等価量の算出を試みると、内部曝露量が $\log P_{ow}$ などの疎水性の物性にに基づき予測される曝露量よりも大きく予測されることから、腎臓による再吸収を考慮するモデルが検討されている。US-EPA は腎臓の再吸収を考慮した Andersen ら (2006) のモデルを用いて、マウス、ラット、サルを用いた反復投与毒性試験の最終血中濃度の予測を行った。実測値と予測値の間には数倍の違いがあり、予測の不確実性が確認された。

PFOA のヒトの半減期については、Olsen ら (2007) による職業曝露による米国コホートにおいて、PFOA は 3.8 年と推定されている。一方、Bartell ら (2010) によるウェストバージニア州ワシントンのデュポン工場近くの地域の飲料水を介して曝露された一般集団において、PFOA のヒト半減期は 2.3 年と報告されている。US-EPA は一般集団による飲料水摂取による曝露がより適当なシナリオであると判断し、Bartell ら (2010) の半減期の値 (2.3 年: $2.3 \times 365 = 839.5$ 日) を用いてヒト等価量を算出した。

一方、PFOS のヒト半減期については、一般集団に対する情報はなく、職業曝露による Olsen ら (2007) の 5.4 年 ($5.4 \times 365 = 1971$ 日) を用いてヒト等価量を算出した。

PFOA 及び PFOS が一次反応 (濃度が高い時は早

く、濃度が低い時はゆっくり) に従って消失すると仮定すると、消失 (CL: Clearance) は以下の式で示される:

$$CL = V_d \times (\ln 2 \div t_{1/2})$$

V_d : Volume of distribution (分布容積)

$t_{1/2}$: Half life (半減期)

分布容積は [PFOA 又は PFOS の体内量] ÷ [PFOA 又は PFOS の血中濃度] で示される。US-EPA は Thompson ら (2010) が算出した分布容積 (PFOA: 0.17 L/kg bw; PFOS: 0.23 L/kg bw) を CL 算出に用いた。

すなわち、PFOA の消失は $0.17 \text{ L/kg bw} \times (0.693 \div 839.5 \text{ day}) = 1.4 \times 10^{-4} \text{ L/kg bw/day}$, PFOS の消失は $0.23 \text{ L/kg bw} \times (0.693 \div 1971 \text{ day}) = 8.1 \times 10^{-5} \text{ L/kg bw/day}$ と定義された。

これらの情報を用いるとヒト等価量は、動物試験の平均血中濃度から算出が可能となる。平均血中濃度 (mg/L) は、PK モデルから得られた AUC (mg/L*h) と投与期間 (h) の積として得られる。ヒト等価量は一時反応速度による反応を仮定した時、次式で示される:

$$\text{ヒト等価量} = \text{平均血中濃度 (mg/L)} \times \text{CL (L/kg bw/day)}$$

US-EPA は前述の Wambaugh ら (2013) の PK モデルによる動物実験の AUC をヒト等価量の算出に用いた。

US-EPA のヒト等価量の算出には、PK モデルの推定による不確実性やヒト半減期推定値による不確実性を含むものとなっている。すなわち、PK モデルの妥当性という点において、Andersen ら (2006) のモデルを用いて、マウス、ラット、サルを用いた反復投与毒性試験の最終血中濃度は、実測値と予測値の間には数倍の違

いがあり, Wambaugh (2013) のモデルによる AUC の推定においても不確実性があると考えられる. 一方, ヒト等価量算出にはヒトの半減期の値を用いることから, どの半減期を採用するかによって, 評価値が異なり得る. PFOA に関しては, 職業暴露者と一般集団の半減期に 1.7 倍の差がある. PFOA の半減期の推定が可能となる情報として, 発がん臨床試験の第 1 相試験の情報があるが (Elcombe ら, 2013), 本試験の結果から, 半減期は 2.3 年よりも更に短く推定されるとの情報もある (Mikkonen ら, 2020). PFOA 及び PFOS のヒトの動態に関する情報は日々更新されており, 最新情報に注視して評価値導出方針を定める必要があると考えられた.

D. 引用文献

1. 間接暴露を考慮したジクロロメタンと四塩化炭素の水道水質基準値の評価

(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) 松井, 2020. 水道水質の評価及び管理に関する総合研究報告書, (5) USEPA, 2010. Toxicological review of carbon tetrachloride; (6) USEPA, 2011. Toxicological review of dichloromethane; (7) McKone and Knezovich, 1991. *J. Air Waste Manage. Assoc.*, 41, 832-837. (8) McKone, 1987. *Environ. Sci. Technol.*, 21(12), 1194-1201; (9) Hayduk and Laudie, 1974. *AIChE. J.*, 20(3), 611-615; (10) Tucker and Nelken, 1990. Diffusion coefficients in air and water; (11) Wilke and Lee, 1955. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 47(6), 1253-1257; (12) 伊藤, 浅見, 2010. 飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究, 53-57; (13) Ohno *et al.*, 2018. *J. Water and Health*, 16(4), 562-573; (14) 総務省, 2018. 日本の統計

3. 国内外で関心の高い物質の毒性情報整理

Andersen, M. E., H. J. Clewell, Y.-M. Tan, J. L. Butenhoff, and G. W. Olsen. 2006. Pharmacokinetic modeling of saturable, renal absorption of

perfluoroalkylacids in monkeys—probing the determinants of long plasma half-lives. *Toxicology* 227:156-164.

Bartell, S. M., A. M. Calafat, C. Lyu, K. Kato, P. B. Ryan, and K. Steenland. 2010. Rate of decline in serum PFOA concentrations after granular activated carbon filtration at two public water systems in Ohio and West Virginia. *Environmental Health Perspectives* 118:222-228.

Elcombe C, Wolf C, Westwood A. 2013. US Patent Application Publication. Pub. No. : US 2013/0029928. <https://patentimages.storage.googleapis.com/24/ee/73/f58267c7d70dde/WO2011101643A1.pdf>.

Mikkonen, A. T., J. Martin, M. L. Dourson, A. Hinwood and M. S. Johnson. 2021. Suggestions for Improving the Characterization of Risk from Exposures to Per and Polyfluorinated Alkyl Substances. *Environmental Toxicology and Chemistry* 40(3): 871-886.

Olsen, G. W., J. M. Burris, D. J. Ehresman, J. W. Froehlich, A. M. Seacat, J. L. Butenhoff, and L. R. Zobel. 2007. Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environmental Health Perspectives* 115:1298-1305.

Thompson, J., M. Lorber, L.-M.L. Toms, K. Kato, A.M. Calafat, and J.F. Mueller. 2010. Use of pharmacokinetic modeling to characterize exposure of Australians to perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate. *Environment International* 36:392-397.

US-EPA 2016a. Health Effects Support Document for Perfluorooctane Sulfonate (PFOS), EPA Document Number: 822-R-16-002 May 2016

US-EPA 2016b. Health Effects Support Document for Perfluorooctanoic Acid (PFOA), EPA Document Number: 822-R-16-003 May 2016

Wambaugh, J.F., R.W. Setzer, A.M. Pitruzzello, J. Liu, D.M. Reif, N.C. Kleinstreuer, N. Ching, Y. Wang, N. Sipes, M. Martin, K. Das, J.C. DeWitt, M. Strynar, R. Judson, K.A. Houck, and C. Lau. 2013. Dosimetric anchoring of in vivo and in vitro studies for perfluorooctanoate and perfluorooctanesulfonate. *Toxicological Sciences* 136:308-327.

E. 結論

ジクロロメタンについては現行の水道水質基準値濃度の水道水の利用で TDI の超過が生じる可能性は低く、基準値は十分に安全側にたった値である。四塩化炭素についても TDI 超過の暴露シナリオは 7% と低かったが、今後より精緻な暴露評価が期待される。

水道水中の目標値が設定されていない要検討項目に対する毒性情報を収集した結果、6 項目について信頼性の高い毒性情報が得られ、水

道水中目標値の算出を行うことが出来た。1,3-ブタジエン、ヒドラジン、ブロモクロロ酢酸及びブロモジクロロ酢酸は、閾値のない発がん性物質と考えられ、水道水中目標値の試算結果が 0.025 mg/L, 0.005 mg/L, 0.01 mg/L 及び 0.01 mg/L となった。これらの値に基づき今後 6 項目についての検出実態の確認が必要になるものと考えられた。今回試算したそれぞれの項目の水道水中目標値は、今後の水道水質基準等の逐次検討にも貢献できるものと考えられた。

国内外で関心の高い有害物質として、PFOA 及び PFOS の目標値試算に向け、PBPK モデル適用方法に対する情報収集整理を行った。US-EPA の水道水評価値導出に用いた PBPK モデルの適用手法について情報整理を行った結果、評価値導出に対しては、動物実験の血中濃度の実測値とモデル推定値による乖離やヒト半減期の選択方針による不確実性があることが示唆された。ヒトの動態に関する情報は日々更新されており、今後は最新情報に注視して評価値の試算を検討する必要があると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

松本 真理子, 重田善之, 川村 智子, 井上 薫, 山田 隆志, 広瀬 明彦: 短期的緊急時における人の健康を守るための水道水中汚染物質濃度の提案, 日本毒性学会 (2020 年 6 月, web 開催)

Mariko Matsumoto, Yoshiyuki Shigeta, Yasumasa Murata, Nozomu Hirose, Takako Iso,

Akihiko Hirose: Derivation of Subacute Guidance Values of Inorganic Metal Contaminants Controlled by the Drinking Water Quality Standards in Japan, SOT 2021 (2021年3月, web開催)

- 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 評価値導出に係るキースタディ・エンドポイント及び水道水目標値試算結果

項目名	キースタディ・エンドポイント	POD		UF	評価値 (mg/kg/day)		目標値 (mg/L)
1,3-ブタジエン	ヒト疫学 白血病の過剰死亡	-		-	VSD 10 ⁻⁵	0.001	0.025
アクリル酸	ラット2世代飲水投与試験 F1及びF2の仔世代での体重増加の抑制	NOAEL	53	100	TDI	0.53	1.3
ヒドラジン	ラット2年間飲水投与試験 肝細胞腺腫又は癌	BMDL ₁₀	2.13	-	VSD 10 ⁻⁵	2.13×10 ⁻⁴	0.005
酢酸ビニル	マウス104週間飲水投与試験 口腔扁平上皮癌	BMDL ₁₀	230	1,000	TDI	0.23	0.6
				-	VSD 10 ⁻⁵	0.023	0.6
ブロモクロロ酢酸	マウス2年間飲水投与試験 肝細胞癌種	BMDL ₁₀	3.27	-	VSD 10 ⁻⁵	3.27×10 ⁻⁴	0.01
ブロモジクロロ酢酸	ラット2年間飲水投与試験 悪性中皮腫	BMDL ₁₀	2.83	-	VSD 10 ⁻⁵	2.83×10 ⁻⁴	0.01

令和2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	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部
	高木総吉	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	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
	小田 智子	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
	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
	小嶋 隼	埼玉県水質管理センター
	代 龍之介	埼玉県水質管理センター
	野村 あづみ	川崎市上下水道局
	古口 健太郎	川崎市上下水道局
	林 幸範	横須賀市上下水道局
	平林 達也	大阪市水道局
	粕谷 智浩	(一財)千葉県薬剤師会検査センター
	松澤 悠	(一財)千葉県薬剤師会検査センター
	山口 和彦	(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

研究要旨

水質分析法に関する研究として、今年度は、主として下記の3課題について検討した。

まず、これまでに検討した日本電子、島津製作所の2社に加え、アジレント・テクノロジー社のガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-MS) を用いてデータベースを構築した。その結果、176種中170種でマススペクトルイオンが検出され、既報の他メーカー (2社) による各成分の定量イオンと比較を行ったところ、170種中144種で同じイオンであった。今後は得られた情報のデータベースを用いて実試料へのスクリーニング分析法の適用を進める。

また、スクリーニング分析法を水質検査に実運用するためには、異なる機関・検査員で同じ評価ができるかどうか、事前に確認しておく必要がある。すなわち、定性の判断基準 (I/Q 比あるいはマススペクトルの一致度の基準)、定量の判断基準 (ピーク強度, S/N 比, 定量下限) を統一する必要がある。そこで、スクリーニング分析法のバリデーション試験を実施し、同一のデータベースを用いた場合の、機関による定性・定量結果の違いについて解析した。機関による差 (傾向) がみられたが、大部分の機関の検出農薬は一致した。試料毎の検出農薬数の傾向 (中央値) は、機関 A (国立衛研) と一致した。今回のバリデーション試験で得られた知見を基に、今後はデータベースおよび保持時間予測手法の改良を行い、定性・定量精度の向上を図る。

最後に、液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析計 (LC-QTOFMS) を用いたスクリーニング分析法開発のため、データベースの構築を行った。また、構築したデータベースを実際の原水、浄水および水道水源河川水に適用させた。その結果、一度の分析で対象農薬リスト掲載農薬類だけでなく、それ以外の農薬類も多く検出することができた。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、後からデータベースに追加した農薬類も同定・定量できることがわかった。このことにより、GC-MS を用いたスクリーニング分析法と同様に、LC-QTOFMS を用い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。

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物質に上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の51項目、環境基準項目と要監視項目のわずか53項目のみがモニタリングされているだけであり¹⁾、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。

このような背景の元、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。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2社(日本電子および島津製作所)のGC-MSを用いて、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なく、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²⁻⁴⁾。今回、水道水質検査機関において上記の2社に匹敵するシェアを占めているアジレント・テクノロジー社のGC-MSを用いて、176種の農薬のデータベースを構築した。

また、スクリーニング分析法を水質検査に実運用するためには、異なる機関・検査員で同じ評価ができるかどうか、事前に確認しておく必要がある。すなわち、定性の判断基準(I/Q比あるいはマススペクトルの一致度の基準)、定量の判断基準(ピーク強度、S/N比、定量下限)を統一する必要がある。そこで、スクリーニング分析法のバリデーション試験を実施し、同一のデータベースを用いた場合の、機関による定性・定量結果の違いについて解析した。

一方、農薬類の中にはGC-MSでは分析することができない農薬類も多く存在しているため、GC-MSを用いたスクリーニング分析法だけでは不十分である。そこで今回、液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析計(LC-QTOFMS)を用いたスクリーニング分析法を開発するため、データベースの構築を行った。また、構築したデータベースの実試料への適用を試みた。

B. 研究方法

1 GC-MS 水道水中農薬スクリーニング分析データベースの構築

1.1 対象物質

本研究では、厚生労働省がリストアップしている農薬のうち GC-MS で測定可能と考えられる農薬 173 種、農薬の代謝産物 2 種および構造異性体 1 種の計 176 種を対象とした。

176 種のうち殺菌剤が 60 種、殺虫剤が 40 種、除草剤が 56 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

農薬の標準品は和光純薬工業製を使用した。標準品 10 mg をメスフラスコに採り、ジクロロメタンで 10 mL にしたものを標準原液とした (1000 mg/L)。10 農薬 1 グループとし、各農薬標準原液 100 μ L をメスフラスコに採り、ジクロロメタンで 10 mL に調製した (濃度: 10 mg/L) (農薬混合標準溶液 A)。この農薬混合標準溶液 A 100 μ L をバイアルに採り、ジクロロメタン 900 μ L を添加し攪拌したものを農薬混合標準溶液 B (濃度: 1 mg/L) とし、農薬混合標準溶液 B 100 μ L をバイアルに採り、ジクロロメタン 900 μ L を添加し攪拌したものを農薬混合標準溶液 C (濃度: 0.1 mg/L) とした。農薬混合標準溶液 B および C は用時調製とした。

3 種混合内部標準液 (100 μ g/mL ジクロロメタン溶液) は和光純薬工業の水質試験用を使用した。3 種混合内部標準原液 100 μ L 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 分析条件

使用する IS は入手が容易で、高価ではなく、水質分析にすでに使用されているアントラセン-d₁₀、9-ブロモアントラセンおよびクリセン-d₁₂ を使用することとした。また、前処理条件を別添方法 5 と 5 の 2 に合わせるため検量線作成用標準液はジクロロメタンを用いて調製することにした。

カラムは DB-5MS UI (30 m \times 0.25 mm i.d., 0.25 μ m) (Agilent Technologies 製) を選択し、MS での測定はオートチューニングを行い、Scan モードで m/z 50~500 の範囲でスキャンすることとした。GC-MS 条件を表 1-2 に示す。

1.2.3 データベースの構築

GC-MS はアジレント・テクノロジー社製の 8890/5977 を使用し、データベース構築用の標準溶液は農薬混合標準溶液 A、B、C および 3 種混合内部標準液を表 1-3 に従って混合し、0.01 mg/L~5 mg/L の範囲で 9 点調製した。

調製した標準系列を表 1-2 に示した GC-MS 条件で 3 回以上測定した。フラグメントイオンとして強度の強い順に 5 つ選定し、定量イオンとして最適なイオンを選択し、各農薬のピークと IS のピーク面積比を求めた。得られた各農薬のピークと IS のピーク面積比と調製濃度から検量線を作成した。

2 GC-MS スクリーニング分析法のバリデーション試験

2.1 バリデーション試験の方法

バリデーション試験の方法としては、以下の 2 通りの方法が考えられる。

①同一のクロマトを用いて、各メーカー

のソフトウェアで定性・定量結果を比較

- ②同一の試料抽出液を用いて、各機関で測定・定性・定量結果を比較

同一の試料を用いた場合、装置状態の違いにより、定性・定量結果が影響を受ける可能性があるため、今回は「①同一のクロマトを用いて、各メーカーのソフトウェアで定性・定量結果を比較」を採用した。

この方法でバリデーション試験を行う場合でも、用いるデータベースや解析ソフトウェアにより、多くのバリエーションが存在する。しかし、異なるデータベースや解析ソフトウェアを用いた場合、データベースやソフトの仕様の違いが結果に影響する可能性があるため、今回は国立医薬品食品衛生研究所が日本電子製 GC-MS (JMS-Q1050GC) で測定したクロマトデータを配布し、これを西川計測製のソフトウェア AXEL-NAGINATA で定性・定量することとした。

島津製作所、アジレント・テクノロジー社のクロマトデータの解析や、装置メーカーのソフトを用いた解析については別途実施する予定である。

2. 2 試料

2017年～2020年にかけて採水を行い、スクリーニング分析法の前処理方法に従って前処理を行なった6試料 (No. 132, 135, 293, 305, 311, 328) のクロマトデータを、スクリーニング分析のバリデーション用の試料として配布した。また、176農薬検量線標準液のクロマト8試料 (STD1～STD8) を、定性の参考として用いるために併せて配布した。

2. 3 評価方法

バリデーション試験には、研究分担者、

研究協力者併せて14機関が参加した。参加機関は、配布した6試料のクロマトについて AXEL-NAGINATA を用いて定性・定量を行い、検出された農薬を報告した。その際、検出農薬、濃度、理由 (AXEL-NAGINATA で判定スコアが高い、スコアが高いが不検出と判断、スコアが低いを検出と判断等) を記載した。各機関から報告があったデータを、国立衛研において、各機関の結果がどの程度一致したかを評価した。

3 LC-QTOFMS による農薬類スクリーニング分析法のデータベース構築と実試料への適用

3. 1 対象物質

データベース構築用として対象農薬リスト掲載農薬類を中心に233種の農薬類を選定した。そのうち殺菌剤が46種、殺虫剤が76種、除草剤が77種、代謝産物が27種およびその他が7種であった。対象とした農薬類を表3-1に示す。

3. 2 分析法

3. 2. 1 試薬

農薬類の標準品、標準液および混合標準液は富士フイルム和光純薬、関東化学、林純薬、シグマアルドリッチ、Accu Standard、CHEM SERVICE および Toront Research Chemiclac 社製を使用した。標準品はアセトニトリルまたはメタノールを用いて500～1000 mg/L に調製したものを標準原液とした。

内部標準物質 (IS) として Methamidophos-d₆ (CDN Isotopoe Inc.)、Methomyl-d₃ (林純薬)、Carbendazim-d₄ (CDN Isotopoe Inc.)、Primicarb-d₆ (シグマアルドリッチ)、Imazalil-d₅ (林純薬) および Ethofenprox-d₅ (林純薬) を使用した。メタノールを用いて Carbendazim-d₄ は250

mg/L, その他は 1000 mg/L に調製したものを内部標準原液とした。各内部標準原液を混合してメタノールで 4 mg/L に調製したものを混合内部標準溶液とした。

ガラスフィルター (GF) は Whatman GF/C (Cytiva) を, シリンジフィルターは Millex LG (Merck) を使用した。

3. 2. 2 標準溶液調製方法

データベース構築用の標準溶液として, 各農薬類の標準原液, 標準液, 混合標準液, 混合内部標準溶液およびメタノールを混合し, 0.1, 1, 10, 100, 1000 ng/mL に調製した。

3. 2. 3 分析条件

LC-QTOFMS は Sciex 社の X500R を使用した。移動相は 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液と 5 mmol/L 酢酸アンモニウムメタノール溶液とし, カラムは Inertsil ODS-4 HP (3 μm, 2.1×150 mm) (ジューエルサイエンス) を使用した。イオン化法は ESI-ポジティブ, 測定モードは Information Dependent Acquisition (IDA) および Sequential Window Acquisition of All Theoretical Fragment Ion Spectra (SWATH) とした。走査範囲は TOF-MS は 50~1000 Da, TOF-MS/MS は 50~1000 Da を 20 分割した。プロダクトイオン生成のためのコリジョンエネルギーは 20~50 の範囲で掃引した。分析条件を表 3-2 に示す。

3. 3 実試料

試料の採水時期は 2019 年 5~7 および 9 月とし, 水道原水として 22 検体, 浄水として 30 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。

また, 水道水源河川水として大阪府内を流れる淀川および猪名川において 2019 年 4 月から 2020 年 3 月まで約 2 週間おきに採水したものを使用した。

3. 4 前処理方法

試料の前処理方法は Kadokami らの方法に従った⁵⁾。試料量は原水および浄水は 500 mL として, 水道水源河川水は 200 mL とした。

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後, リン酸緩衝液を 0.5 mL 添加した。固相は Oasis HLB Plus Short (HLB) (Waters) および Sep-Pac AC-2 Plus (AC-2) (Waters) をジクロロメタン 5 mL, メタノール 5 mL および精製水 10 mL でコンディショニングし, HLB と AC-2 を連結させた。HLB 側から流速 10 mL/min で試料を通水し, 固相を精製水 10 mL で洗浄後, 窒素ガスを 2L/min で 40 分通気させて脱水を行った。脱水後, AC-2 側からメタノール 5 mL およびジクロロメタン 3 mL で溶出し, 溶出液に窒素ガスを吹き付けて 0.4 mL 以下まで濃縮した。内部混合標準液 0.05 mL およびメタノールを添加して 0.5 mL にして, フィルターでろ過したものを LC-QTOFMS に供した。

原水および水道水源河川水は GF で浮遊物質をろ過した。ろ液については浄水試料と同様に前処理を行った。GF はメタノール 3 mL に浸し, 3 分間の超音波抽出を 2 回行った。抽出液はろ液を抽出した固相の溶出液と混合した。

3. 5 データ解析

測定データに構築したデータベースと Kadokami らが構築したデータベース (207 種) を適用し, 農薬類の同定と定量を行った⁶⁾。

C. 結果と考察

1 GC-MS 水道水中農薬スクリーニング分析データベースの構築

1.1 マススペクトルの検証

検出されたイオンは176種中170種(表1-1)で、アミトラズ、アミトラズ代謝物、トリクロピル、パラチオンメチル、ジコホルおよびベンスリドは、感度が非常に低い等の理由により対象項目から除外した。また、既報の他メーカー(2社)による各成分の定量イオンと比較を行ったところ、170種中144種で同じイオンであった。定量イオンの異なる成分の中で、プレチラクロールは、プロチオホスと保持時間が重なるため m/z 162 は使用できないが、他メーカーでは m/z 162 を使用していた。同様に、イソプロチオランはプレチラクロール、プロピコナゾールはエディフェンホス、クミルロンはクリセン- d_{12} と保持時間が重なるため、他メーカーと同じ定量イオンを使用することができなかった。その他、プロピザミドとダイアジノン、フェニトロチオンオキソンとベンフレセート、メトリブジンとマラオキソン、メタラキシルとアメトリン、ジチオピルとシンメチリン、プロシミドンとキャプタン、ジチオピルとシンメチリンは、保持時間が重なるが、最適な定量イオンを選択することで区別して定量することができた。

1.2 検量線の作成

各成分の0.01～0.5 mg/Lにおける検量線の相関係数および傾きを表1-4に示す。ただし、シアナジン、シアノホス、ジクロルボス、アセタミプリド、ジフェノコナゾールおよびアゾキシストロビンは0.02～1 mg/L、クミルロン、チアクロプリドは0.05～2 mg/Lとした。また、プロピコナゾール、ホスチアゼート、ジフェノコナゾール、シフルトリン、シプロコナゾール、シ

ペルメトリン、ピレトリン、フェンバレレートおよびプロパルギットは合算値の結果を表記した。

各成分における検量線の相関係数は0.906～0.999で、トリクロルホン(DEP)の相関係数(0.906)を除くと0.959～0.999とまずまず良好な結果であった。トリクロルホンは、インジェクション部で熱分解して安定の難しい物質と言われており、GC/MSの測定には向かない可能性がある。各成分における検量線の傾きは0.026～21.734で、MS部における感度がそれぞれ異なるため、成分毎に異なった傾きを示したと思われる。

2 GC-MS スクリーニング分析法のバリデーション試験

2.1 積分パラメータの検証

ソフトウェア AXEL-NAGINATA の適用に当たって、確認すべきポイントとして、検量線標準溶液のピークは正しく認識されるかどうかを確認した。検量線標準溶液のクロマトから176農薬が検出されないと、各機関で同一の結果を得ることができないためである。

確認された問題として、保持時間、QT比が合っているのにピークとして認識されない、あるいは別のピークを認識することがあった(インダノファン1,2、クミルロン、シフルトリン1-4、シプロコナゾール1,2、シペルメトリン1-4、ホスチアゼート1,2、プロピコナゾール1,2等)。また、ピークが細すぎてピークと認識されなかったことがあった(メタアルデヒド、メタミドホス、ジクロベニル、ジクロルボス、エトリジアゾール、クロロネブ、モリネット、チオシクラム、トリフルラリン、ベンフルラリン等)。妨害物のピークが被ってQT比が合わず、ピークとして認識されない場合も見受けられた(アラクロール、イ

ソキサチオンオキソン等)。さらに、判定スコアが高いが、妨害ピークが多数見られ、正しいピークが分からない(フェントロチオン (MEP)、シマジン (CAT) 等) ことがあり、これらの問題を回避するためには、積分パラメータの検証、確認イオンの追加、MS スペクトルの登録等が必要と考えられた。すなわち、適切な定性・定量パラメータを設定し、検量線標準溶液からほぼ全物質のピークが検出されることを確認した上で、データ解析を行う必要があると判断された。

ソフトウェアにおいて、「スレッシュホールド」の値を低く設定すると、検出農薬が増え、不検出農薬が減るが、誤検出される農薬数も増える問題が見られた。この時、保持時間許容範囲 (0.2)、QT 比率許容誤差 (0.5)、ピーク幅 (0.01) は共通であった。スレッシュホールドを 40 から 30 に変化させた場合、正しく検出される農薬は増えず、誤検出される農薬のみが増加した。面積リジェクト (20 万) を設定した場合、誤検出される農薬数を減らすことができたことから (図 2-1)、本バリデーションにおいては、これらのパラメータ設定を参考として実施した。

2. 2 バリデーション試験の結果

各試料中の検出農薬数を機関別に比較したものを図 2-3 に示す。機関による差 (傾向) がみられたが、大部分の機関の検出農薬は一致した。試料毎の検出農薬数の傾向 (中央値) は、機関 A (国立衛研) と一致した。

また、各試料における各機関の検出・不検出の判断の違いについての比較を図 2-4 に示す。1 機関のみで検出している農薬が多かったことから、判断基準の違いが結果に影響していると考えられた。

定性に関する問題点としては、今回使

用したソフトウェア NAGINATA ではモニターイオンを 2 つしか表示できないため、より多くのモニターイオンあるいはマススペクトルを見ないと、判断できない農薬があることが挙げられた。また、データベースは 2017 年に作成したものを使用したが、配布試料の一部は 2019 年の測定試料なので、保持時間がずれており、これらの試料に関しては判断が難しかったと考えられる。このような場合は、保持指標 (RI) を用いて評価する必要があると考えられる。

定量に関する問題点として、ピークとみなす判断基準 (S/N 比、ピーク強度、濃度) が各機関で違うことが挙げられた。今後、判断基準の統一が必要と考えられた。

2. 3 今後の検討課題

今後、より正確な判定を行うためには、各農薬のマススペクトルを AXEL-NAGINATA のデータベースに登録して解析する必要があると考えられる。また、保持指標 (RI) を用いた保持時間予測への変更も今後の課題として挙げられる。

AXEL-NAGINATA は、各試料中の内標の保持時間から、各農薬の保持時間を予測するが、各農薬の保持時間がデータベースの保持時間と大きくずれている場合、定性が困難となる。データベース作成時に測定した n-パラフィンの保持時間 (RT) を基に各農薬の保持指標 (RI) を算出し、これを活用することで、各試料中の農薬ピークの保持時間を予測する方法が有用と考えられる。

$$RI = \frac{T_s - T_n}{T_{n+1} - T_n} \times 100 + 100n \quad (1)$$

RI : 対象とする未知成分の保持指標

T_s : 対象とする未知成分の保持時間

T_n : 炭素数 n の n-パラフィンの保持時間

T_{n+1} : 炭素数 n+1 の n-パラフィンの保持時間

例えば C12, C13 の n-パラフィンの保持時間がそれぞれ 6.51 min, 7.26 min, ある農薬の保持時間が 6.73 min であった時, その農薬の RI は次のように計算できる。

$$RI = (6.73-6.51) / (7.26-6.51) * 100+100*12=1229$$

実試料の測定時には, 各試料中に含まれる 3 内標の RT を基に, RT と RI の相関式を作成して, 各農薬の RI から RT を予測する手法に浮いて, 今後, 検討する予定である。

3 LC-QTOFMS による農薬類スクリーニング分析法のデータベース構築と実試料への適用

3. 1 プリカーサーイオンとプロダクトイオンの決定

最初に 216 種の農薬類について 1000 ng/mL の混合標準溶液について IDA 測定を実施した。そのデータから各農薬類についてプリカーサーイオンとして [M+H]⁺ または [M+NH₄]⁺ を探索した。次に, プリカーサーイオンが確認された農薬類についてプロダクトイオンを探索し, 強度の強いプロダクトイオンを 1~2 つ選択した (Appendix 3-1)。また, プリカーサーイオンの強度が最も大きい時間をその農薬類の保持時間とした。プリカーサーイオンおよびプロダクトイオンが確認された農薬類は 205 種であった。

11 種の農薬類についてはプリカーサーイオンまたはプロダクトイオンが確認されなかった。これはターゲットスクリーニング分析が, 一度に多くの化合物を分析する必要があるため, イオン化するためのイオン源設定やコリジョンエネルギーの設定が標準的な設定であることや, IDA 測定が一定以上の強度が確認されな

ければ, プロダクトイオンを生成しないことが原因であると推測された。

3. 2 検量線の作成

検量線を作成するために, 混合農薬標準液を SWATH で測定した。定量イオンはプリカーサーイオンとし, プロダクトイオンは確認イオンとした。また 6 種の IS のうち, 対象農薬と保持時間の近い IS を 1 種選び, 強度比と濃度から検量線を作成した。

検量線により算出した各検量点の濃度と調製濃度が大きくずれないように検量線のフィッティングを行った。しかし, 多くの農薬類で検量線が 2 次式になる傾向にあった。これは検量線の濃度範囲が 0.1 ~1000 ng/mL と広いこと, TOF の特性として直線性が得られる濃度範囲が狭いことが原因と考えられた。

3. 3 検出農薬類

実試料を分析した結果, 412 種類の農薬類のうち, 浄水試料からは 43 種, 原水試料からは 76 種, 水道水源河川試料からは 74 種の農薬類が検出された。検出された農薬類のうち検出率の上位 28~30 物質を図 3-1~3-3 に示す。

対象農薬リスト掲載農薬類以外の農薬類も多く検出された。検出された農薬類のうち, 浄水試料で 47%, 原水試料で 46%, 水道水源河川試料で 46% が対象農薬リスト掲載農薬類以外の農薬類であった。これは, 昨年度行った GC-MS によるスクリーニング分析法と同様の結果であった。このことより, LC-QTOFMS による農薬類スクリーニング分析法は GC-MS スクリーニング分析法と同様に水質管理に面からも有用であり, 両方のスクリーニング分析法を用いることにより, より確実に多くの農薬類を監視できることがわかっ

た⁴⁾。

なお、検出濃度は非常に低値であり、目標値が定められた農薬類については、その目標値を超えた試料はなかった(Appendix 3-2~3-4)。

3.4 経時的変化

水道水源河川水の結果を用いて、検出された濃度の経時的変化を確認した。その結果、図3-4のように検出濃度の変化がわかり、スクリーニング分析法を用いた定期的なモニタリングにより、検査を実施すべき時期の予測も可能であることが示唆された。

3.5 新規農薬類への応用

厚生労働省によりピックアップされていない農薬類を中心17種の農薬類について新たにデータベースを構築して、水道水源河川水試料のデータの再解析を実施した。これら17種のデータベース用の検量線については直線性を考慮して、検量点を0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10, 20, 50, 100, 200, 500 および 1000 ng/mL と細かくとり、1次式で整理できる範囲で検量線を作成した。

再解析の結果、5種の農薬類が検出された(表3-3)。このことから、GC-MSスクリーニング分析法と同様に追加解析することにより、知見の少ない化学物質の存在状況把握にも利用できることがわかった⁴⁾。

D. 結論

1 GC-MS 水道水中農薬スクリーニング分析データベースの構築

GC-MS データベースについて、176 種農薬類を対象としたGC-MS(アジレント・テクノロジー社製 8890/5977)を用いたスクリーニング分析の検討を行った。その

結果、176 種中 170 種でマススペクトルイオンが検出され、既報の他メーカー(2社)による各成分の定量イオンと比較を行ったところ、170 種中 144 種で同じイオンであった。今後は得られた情報のデータベースを用いて実試料へのスクリーニング分析法の適用を進める。

2 GC-MS スクリーニング分析法のバリデーション試験

スクリーニング分析法を水質検査に実運用するためには、異なる機関・検査員で同じ評価ができるかどうか確認する必要があることから、スクリーニング分析法のバリデーション試験を実施し、同一のデータベースを用いた場合の、機関による定性・定量結果の違いについて解析した。

機関による差(傾向)がみられたが、大部分の機関の検出農薬は一致した。試料毎の検出農薬数の傾向(中央値)は、機関A(国立衛研)と一致した。

今回のバリデーション試験で得られた知見を基に、今後はデータベースおよび保持時間予測手法の改良を行い、定性・定量精度の向上を図る。

3 LC-QTOFMS による農薬類スクリーニング分析法のデータベース構築と実試料への適用

水道水質検査対象の農薬類を中心に222種の農薬類についてLC-QTOFMSを用いたスクリーニング分析法用のデータベースを構築することができた。

また、LC-QTOFMSスクリーニング分析法を実試料に適用した結果、対象農薬類リスト掲載農薬類以外の農薬類も検出することができた。スクリーニング分析法を用いることにより、効率的な農薬類のモニタリングが可能であることがわかつ

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：2020年4月の水道水質基準と検査方法の改正について．環境と測定技術，47(9)，17-24 (2020).
- 2) 小林憲弘，土屋裕子，五十嵐良明：塩素処理による水道水中プロチオホスの分解とプロチオホスオキシソンの生成挙動．水道協会雑誌，89(9)，2-11 (2020).
- 3) 小林憲弘，土屋裕子，高木総吉，五十嵐良明：水道水中農薬のGC/MSスクリーニング分析法の開発と実試料への適用．環境科学会誌，33(5)，136-157 (2020).
<https://doi.org/10.11353/sesj.33.136>
- 4) Yutaka Abe, Norihiro Kobayashi, Miku Yamaguchi, Motoh Mutsuga, Asako Ozaki, Eri Kishi, Kyoko Sato: Determination of formaldehyde and acetaldehyde levels in poly (ethylene terephthalate) (PET) bottled mineral water using a simple and rapid analytical method. Food Chemistry, 344, 128708 (2021).
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128708>
- 5) 木下輝昭：水道法に基づく水質検査及びその精度管理への取り組み．日本防菌防黴学会誌，49 (4)，191-199 (2021)

2 学会発表

- 1) 小林憲弘，土屋裕子：水道水中農薬のGC/MSスクリーニング分析法のバリ

デーション試験．統計数理研究所共同研究「令和2年度 情報科学による環境化学分野の問題解決と新展開に関する研究集会」（2021.2.15 オンライン）．

- 2) Norihiro Kobayashi, Yuko Tsuchiya, Sokichi Takagi, Yoshiaki Ikarashi: GC/MS target screening method for 176 agricultural chemicals in drinking water samples. SETAC North America 41st Annual Meeting (2020.11.15-20 Online).
- 3) Sokichi Takagi, Yuki Hasegawa, Maoko Koike, Jin Yoshida, Fumie Adachi, Norihiro Kobayashi, Kiwao Kadokami, Nobuyasu Yamaguchi: Concentrations of agricultural chemicals in water sources by the target screening method using LC-QTOF-MS-SWATH. SETAC North America 41st Annual Meeting (2020.11.15-20 Online).
- 4) 高木総吉，長谷川有紀，小池真生子，吉田仁，安達史恵，小林憲弘，門上希和夫，山口進康：液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析計によるターゲットスクリーニング分析法を用いた水道水源中農薬類の存在実態の把握，第68回質量分析総合討論会（2020 紙上開催）．
- 5) 吉田 仁，高木総吉．水道水質における有機フッ素化合物の一斉分析法の検討，令和2年度全国会議（水道研究発表会）（2020 紙上開催）

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) 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>
- 2) 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関する総合研究－水質分析法に関する研究－
- 3) 水質分析法分科会, 2018. 平成 30 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関する総合研究－水質分析法に関する研究－
- 4) 水質分析法分科会, 2019. 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総合研究－
- 5) Kadokami, K., Miyawaki, T., Iwabuchi, K., Takagi, S., Adachi F., Iida H., Watanabe, K., Kosugi Y., Suzuki T., Nagahora S., Tahara R., Orihara T. and Eguchi A., 2021. Inow and outow loads of 484 daily-use chemicals inwastewater treatment plants across Japan. *EMCR*, 1, 1-16.
- 6) Kadokami, K., Ueno, D., 2019. Comprehensive Target Analysis for 484 Organic Micropollutants in Environmental Waters by the Combination of Tandem Solid-Phase Extraction and Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry with Sequential Window Acquisition of All Theoretical Fragment-Ion Spectra Acquisition. *Anal. Chem.*, 91(12), 7749–7755.

表 1-1. GC/MS スクリーニング分析対象農薬類の概要と代表的なフラグメントイオン (1/5)

	化合物名	分子量	目標値 (mg/L)	保持時間 (分)	定量 イオン	参照イオン			
						1	2	3	4
対4	EPN	323.31	0.004	18.81	157	169	141	185	77
	EPNオキシゾン		-	17.43	141	77	169	306	307
対7	アセフェート	183.16	0.006	8.08	136	94	42	95	79
対8	アトラジン	215.69	0.01	10.34	200	215	58	202	68
対9	アニロホス	367.85	0.003	19.32	125	226	184	93	154
対10	アミトラズ	293.42	0.006						
	アミトラズ代謝産物		-						
対11	アラクロール	269.77	0.03	11.70	160	188	146	117	132
対12	イソキサチオン	313.31	0.008	15.55	105	77	177	313	97
	イソキサチオンオキシゾン		-	14.83	105	77	161	125	102
対13	イソフェンホス	345.4	0.001	13.48	213	58	121	96	120
	イソフェンホスオキシゾン		-	12.70	229	201	120	121	58
対14	イソプロカルブ (MIPC)	193.25	0.01	8.77	121	136	91	77	103
対15	イソプロチオラン (IPT)	290.39	0.3	14.82	290	162	189	43	118
対16	イプロベンホス (IBP)	288.34	0.09	11.15	91	204	123	122	65
対18	インダノファン-1	340.81	0.009	19.29	174	159	103	104	76
対18	インダノファン-2	340.81	0.009	19.39	174	159	103	102	104
対19	エスプロカルブ	265.42	0.03	12.39	91	71	222	162	43
対20	エディフェンホス (EDDP)	310.37	0.006	17.07	109	173	110	310	65
対21	エトフェンプロックス	376.5	0.08	24.25	163	135	107	164	183
対22	エトリジアゾール (エクロメゾール)	247.53	0.004	8.25	211	183	213	185	140
対23	α -エンドスルファン (α -ベンゾエピン)	406.92	0.01	14.51	241	237	195	239	207
対23	β -エンドスルファン (β -ベンゾエピン)	406.92	0.01	16.07	195	237	207	170	159
対23	エンドスルフェート (ベンゾエピンスルフェート)	422.92	-	17.18	272	274	237	229	239
対24	オキサジクロメホン	376.28	0.02	8.50	187	159	189	161	41
対26	オリサストロビン	391.4	0.1	19.25	116	58	205	132	117
	(5Z)-オリサストロビン	391.4	-	19.55	116	58	205	132	42
対27	カズサホス	270.4	0.0006	9.86	159	158	41	97	57
対28	カフェンストール	350.44	0.008	22.78	100	72	188	91	44
対30	カルバリル (NAC)	201.23	0.05	11.82	144	115	116	145	89
対32	カルボフラン	221.26	0.0003	10.24	164	149	131	57	122
対33	キノクラミン (ACN)	207.61	0.005	12.48	207	172	76	209	89
対34	キャプタン	300.59	0.3	13.77	79	80	77	151	81
対35	クミルロン	302.8	0.03	18.92	267	77	146	117	103
対38	クロメブロップ	324.21	0.02	19.51	120	288	148	93	77
対39	クロルニトロフェン (CNP)	318.55	0.0001	16.91	317	319	236	287	289
	CNP-アミノ体		-	15.25	108	287	289	80	65
対40	クロルピリホス	350.59	0.003	12.52	197	199	97	314	316
	クロルピリホスオキシゾン		-	12.37	197	199	109	270	242
対41	クロロタロニル (TPN)	265.91	0.05	10.82	266	264	268	109	124
対42	シアナジン	240.7	0.004	12.58	225	212	213	214	68
対43	シアノホス (CYAP)	243.22	0.003	10.59	109	243	125	79	63

表 1-1. GC/MS スクリーニング分析対象農薬類の概要と代表的なフラグメントイオン (2/5)

	化合物名	分子量	目標値 (mg/L)	保持時間 (分)	定量 イオン	参照イオン			
						1	2	3	4
対45	ジクロベニル (DBN)	172.01	0.01	7.53	171	173	100	136	75
対46	ジクロルボス (DDVP)	220.98	0.008	6.76	109	185	79	187	47
対48	ジスルホトン (エチルチオメトン)	274.39	0.004	10.89	88	89	97	61	60
対51	ジチオビル	401.41	0.009	11.91	354	286	206	237	355
対52	シハロホップブチル	357.38	0.006	20.34	256	229	357	120	228
対53	シマジン (CAT)	201.66	0.003	10.28	201	44	186	68	173
対54	ジメタメトリン	255.38	0.02	13.42	212	213	255	69	71
対55	ジメトエート	229.25	0.05	10.19	87	93	125	58	63
対56	シメトリン	213.3	0.03	11.76	213	170	155	68	198
対57	ジメピペレート		0.003	13.82	119	118	117	91	103
対58	ダイアジノン	304.35	0.005	10.64	137	179	152	199	153
	ダイアジノンオキソン		-	10.40	137	273	151	288	152
対65	チオベンカルブ	257.78	0.02	12.58	100	72	125	257	89
対66	テルブカルブ (MBPMC)	277.41	0.02	11.46	205	220	206	57	58
対67	トリクロビル	256.47	0.006						
対68	トリクロルホン (DEP)	257.44	0.03	8.30	79	84	49	109	82
対69	トリシクラゾール	189.24	0.08	14.90	189	162	161	135	118
対70	トリフルラリン	335.29	0.06	9.60	306	264	43	41	290
対71	ナプロパミド	271.36	0.03	14.65	72	128	100	115	127
対73	ビペロホス	353.48	0.0009	18.91	320	140	122	97	55
対75	ピラゾキシフェン	403.27	0.004	26.25	105	91	77	173	207
対77	ピリダフェンチオン	340.34	0.002	18.50	340	97	77	199	188
対78	ピリプチカルブ	330.45	0.02	18.33	165	108	181	93	166
対79	ピロキロン	173.22	0.05	10.75	173	130	172	144	117
対80	フィプロニル	437.15	0.0005	13.32	367	369	213	351	353
対81	フェントロチオン (MEP)	277.23	0.003	12.19	125	109	277	260	79
	フェントロチオンオキソン		-	11.41	244	109	79	127	261
対82	フェノブカルブ (BPMC)	207.27	0.03	9.25	121	150	91	77	107
対83	(E)-フェリムゾン+(Z)-フェリムゾン	254.3	0.05	13.86	239	132	123	137	130
対84	フェンチオン (MPP)	278.32	0.006	12.62	278	125	109	169	153
	MPPスルホキシド		-	15.97	125	278	279	109	169
	MPPスルホン		-	16.10	310	125	109	136	93
	MPPオキソン		-	11.92	262	109	247	263	153
	MPPオキシンスルホキシド		-	15.03	262	109	263	247	79
	MPPオキシンスルホン		-	15.13	109	294	215	107	79
対85	フェントエート (PAP)	320.36	0.007	13.67	274	121	125	93	91
対87	フサライド	271.92	0.1	12.97	243	241	245	272	270
対88	ブタクロール	311.86	0.03	14.27	176	160	57	188	146
対89	ブタミホス	332.36	0.02	14.48	286	200	96	202	232
	ブタミホスオキソン		-	13.82	244	216	287	136	65
対90	ブプロフェジン	305.44	0.02	15.22	105	106	172	104	57
対91	フルアジナム	465.1	0.03	16.30	387	389	417	371	419
対92	ブレチラクロール	311.86	0.05	14.82	238	162	176	43	309
対93	プロシミドン	284.14	0.09	13.77	96	283	67	285	68

表 1-1. GC/MS スクリーニング分析対象農薬類の概要と代表的なフラグメントイオン (3/5)

	化合物名	分子量	目標値 (mg/L)	保持時間 (分)	定量 イオン	参照イオン			
						1	2	3	4
対94	プロチオホス	345.24	0.004	14.78	267	162	309	113	43
	プロチオホスオキソン	329.18	-	13.63	162	139	97	164	293
対95	プロピコナゾール-1	342.23	0.05	17.08	259	69	173	175	261
対95	プロピコナゾール-2	342.23	0.05	17.26	173	69	259	175	261
対96	プロピザミド	256.13	0.05	10.64	173	175	145	254	147
対97	プロベナゾール	223.25	0.05	12.29	130	103	76	104	159
対98	プロモブチド	312.25	0.1	11.58	119	120	118	91	232
対100	ベンシクロン	328.84	0.1	9.91	125	180	127	182	209
対103	ベンタゾン	240.28	0.2	12.95	119	198	161	92	120
対104	ペンディメタリン	281.31	0.3	13.28	252	162	253	281	77
対106	ベンフルラリン (ベスロジン)	335.29	0.01	9.64	292	264	276	293	145
対107	ベンフレセート	256.32	0.07	11.42	163	121	91	256	164
対108	ホスチアゼート-1	283.34	0.003	13.08	195	97	41	103	104
対108	ホスチアゼート-2	283.34	0.003	13.13	195	97	41	104	103
対109	マラチオン (マラソン)	330.35	0.05	12.34	125	173	127	93	158
	マラオキソン		-	11.56	127	99	109	125	55
対113	メタラキシル	279.34	0.06	11.83	206	132	160	146	192
対114	メチダチオン (DMTP)	302.32	0.004	14.05	145	85	93	125	58
対115	メチルダイムロン	268.36	0.03	13.54	107	106	146	77	91
対116	メトミノストロビン	284.32	0.04	14.73	191	196	77	238	195
対117	メトリブジン	214.29	0.03	11.56	198	57	41	199	74
対118	メフェナセツト	298.36	0.02	20.29	192	77	120	136	106
対119	メプロニル	269.35	0.1	16.59	119	91	269	65	120
対120	モリネート	187.3	0.005	8.88	126	55	41	187	83
要1	アセタミプリド	222.67	0.2	18.45	152	56	126	67	42
要5	テブコナゾール	307.82	0.07	17.72	125	250	70	83	127
要7	バラチオンメチル	263.21	0.04						
要8	ヒドロキシイソキサゾール	99.09	0.1	6.35	99	43	44	49	84
要9	ビラクロホス	360.8	-	21.38	360	194	138	139	111
要10	フルスルファミド	415.17	-	19.05	179	243	181	414	245
要11	プロマシル	261.12	0.05	12.26	205	207	42	206	190
要12	ペントキサゾン	353.78	0.6	19.89	70	285	41	42	182
要13	ホサロン	367.81	0.005	19.89	182	121	187	184	69
要14	メタアルデヒド		0.06	5.13	89	45	43	44	87
要16	メトラクロール	283.8	0.2	12.50	162	238	240	146	163
他4	MCPBエチル	256.73	0.08	11.26	87	115	77	43	107
他8	アメトリン	227.33	0.2	11.84	227	212	170	68	58
他11	ウニコナゾールP	291.78	0.04	15.04	234	236	70	57	235
他13	エトベンザニド	340.21	0.1	22.76	179	59	121	149	180
他18	キザロホップエチル	372.81	0.02	23.95	299	372	163	243	244
他21	クロルタルジメチル (TCTP)	331.97	-	12.64	301	299	303	221	142
他22	クロルピリホスメチル	322.53	0.03	11.57	286	288	125	79	109
他24	ジクロフェンチオン (ECP)	315.15	0.006	11.44	279	223	97	162	251
他26	ジクロメジン	255.1	0.05	17.89	254	256	197	163	126

表 1-1. GC/MS スクリーニング分析対象農薬類の概要と代表的なフラグメントイオン (4/5)

	化合物名	分子量	目標値 (mg/L)	保持時間 (分)	定量 イオン	参照イオン			
						1	2	3	4
他28	ジコホル (ケルセン)	370.49	0.06						
他31	ジフェノコナゾール-1	406.26	0.02	26.08	265	323	325	267	44
他31	ジフェノコナゾール-2	406.26	0.02	26.20	265	325	267	44	324
他32	シフルトリン-1	434.3	0.05	23.04	163	206	165	199	77
他32	シフルトリン-2	434.3	0.05	23.23	163	206	165	77	199
他32	シフルトリン-3	434.3	0.05	23.33	163	206	165	77	199
他32	シフルトリン-4	434.3	0.05	23.42	163	206	77	165	207
他34	シプロコナゾール-1	291.77	0.02	15.58	222	139	125	224	83
他34	シプロコナゾール-2	291.77	0.02	15.63	222	139	125	224	82
他35	シプロジニル	225.29	0.07	13.31	224	225	77	210	226
他36	シペルメトリン-1	416.31	0.1	23.63	181	163	165	91	209
他36	シペルメトリン-2	416.31	0.1	23.83	181	163	165	91	77
他36	シペルメトリン-3	416.31	0.1	23.92	181	163	165	209	91
他36	シペルメトリン-4	416.31	0.1	24.01	181	163	165	91	77
他37	シメコナゾール	293.41	0.02	11.70	121	73	75	83	211
他38	(E)-ジメチルビンホス	331.52	0.01	12.27	295	109	297	204	206
他38	(Z)-ジメチルビンホス	331.52	0.01	12.57	295	109	297	79	296
他39	シラフルオフェン	408.59	0.3	24.54	179	286	258	151	181
他40	シンメチリン	274.41	0.1	11.91	105	43	123	107	71
他43	チアクロプリド	252.72	-	24.64	101	179	126	286	258
他44	チアメトキサム	291.71	0.05	13.18	182	132	44	212	42
他45	チオシクラム	181.33	0.03	8.65	71	135	44	70	56
他46	チフルザミド	528.06	0.04	15.03	194	166	449	447	125
他48	テトラクロルビンホス (CVMP)	365.97	0.01	14.20	329	109	331	333	79
他49	テトラコナゾール	372.1	-	12.73	336	338	101	337	171
他52	トリフルミゾール	345.75	0.04	13.79	73	278	206	179	41
他53	トルフェンピラド	383.87	0.01	27.53	383	171	197	211	137
他56	パクロプロトラゾール	293.8	0.05	14.28	236	125	238	82	167
他61	(E)-ピリミノバックメチル	361.36	0.05	17.17	302	256	330	303	230
他61	(Z)-ピリミノバックメチル	361.36	0.05	15.90	302	256	303	330	230
他62	ピリミホスメチル	305.33	0.06	12.10	290	276	305	125	233
他63	ピレトリン I	328.46	0.1	16.72	123	91	81	105	133
他63	ピレトリン II	372.45	0.1	21.13	133	207	91	107	105
他63	シネリン I	316.43	0.1	15.26	123	93	121	91	81
他63	シネリン II	360.44	0.1	19.97	107	121	93	91	105
他63	ジャスモリン I	330.46	0.1	16.32	123	91	164	81	93
他63	ジャスモリン II	374.47	0.1	21.06	133	91	135	93	167
他64	フェノキサニル		0.02	15.67	189	140	191	139	125
他65	フェンバレレート-1	419.91	0.04	25.29	125	167	181	152	169
他65	フェンバレレート-2	419.91	0.04	25.68	125	167	181	152	169
他67	フラメトピル	333.81	0.02	19.52	157	159	298	291	161
他69	プロパニル (DCPA)	218.08	0.04	11.45	161	163	57	217	219
他70	プロパホス	304.34	0.001	14.10	220	304	140	139	125

表 1-1. GC/MS スクリーニング分析対象農薬類の概要と代表的なフラグメントイオン (5/5)

	化合物名	分子量	目標値 (mg/L)	保持時間 (分)	定量 イオン	参照イオン			
						1	2	3	4
他71	プロパルギット (BPPS)-1	350.48	0.02	17.78	135	173	81	107	57
他71	プロパルギット (BPPS)-2	350.48	0.02	17.85	135	173	81	57	107
他73	プロボキスル (PHC)	209.25	0.2	9.26	110	152	81	57	111
他74	プロメトリン	241.36	0.06	11.88	241	184	226	58	43
他75	cis-ペルメトリン	391.29	0.1	22.02	183	163	165	184	77
他75	trans-ペルメトリン	391.29	0.1	22.26	183	163	165	184	91
他77	ベンダイオカルブ	223.23	0.009	9.70	151	126	166	57	51
他79	ボスカリド	343.21	0.1	23.64	140	342	112	142	344
他81	メタミドホス	141.13	0.002	6.62	94	95	141	47	64
他83	モノクロトホス	223.17	0.002	9.73	127	67	109	97	192
除1	アゾキシストロビン	403.4	0.5	27.00	344	345	388	75	102
除2	イプロジオン	330.17	0.3	18.52	314	187	70	316	189
	イプロジオン代謝産物		-	19.66	187	189	127	124	142
除3	クロロネブ	207.06	0.05	8.58	191	193	206	208	141
除5	テニルクロール	323.84	0.2	17.58	127	288	141	287	59
除6	トルクロホスメチル	301.13	0.2	11.72	265	267	125	250	266
	トルクロホスメチルオキソン		-	11.35	249	251	109	234	250
除8	ビフェノックス	342.14	0.2	19.35	341	343	75	173	189
除9	ピリプロキシフェン	321.38	0.3	20.24	136	78	77	96	137
除11	フルトラニル	323.32	0.2	14.66	173	145	281	323	174
除12	ベンスリド (SAP)	397.51	0.1						
内部 標準 物質	アントラセン-d10	188.29	-	10.94	188	94	187	80	189
	9-プロモアントラセン	257.13	-	14.49	256	258	176	88	177
	クリセン-d12	240.36	-	18.85	240	236	241	120	118

表 1-2. GC/MS (アジレント・テクノロジー社製 8890/5977) 分析条件

機器	項目	設定
GC	カラム	DB-5MS UI (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	1.2 mL/min
	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 50~500の範囲でスキャン)
	インターフェイス温度	280° C
	イオン源温度	250° C

表 1-3. 各農薬の検量線用標準試料 (STD0~9) の調製方法

	各農薬 濃度 (mg/L)	添加量 (μL)				
		農薬標準液A (10 mg/L)	農薬標準液B (1 mg/L)	農薬標準液C (0.1 mg/L)	3種混合 内部標準液 (1 mg/L)	ジクロロ メタン
STD0	0	-	-	-	100	900
STD1	0.01	-	-	100	100	800
STD2	0.02	-	-	200	100	700
STD3	0.05	-	-	500	100	400
STD4	0.1	-	100	-	100	800
STD5	0.2	-	200	-	100	700
STD6	0.5	-	500	-	100	400
STD7	1	100	-	-	100	800
STD8	2	200	-	-	100	700
STD9	5	500	-	-	100	400

表1-4. 各分析対象農薬類の検量線範囲における相関係数および傾き (1/5)

	化合物名	面積比を算出するための 内部標準物質	検量線範囲 (mg/L)	相関係数	傾き
対4	EPN	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.999	2.054
	EPNオキソン	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.995	2.099
対7	アセフェート	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.989	0.666
対8	アトラジン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.992	4.022
対9	アニロホス	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.999	1.069
対10	アミトラズ		~		
	アミトラズ代謝産物		~		
対11	アラクロール	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.997	1.169
対12	イソキサチオン	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.998	7.708
	イソキサチオンオキソン	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.986	4.708
対13	イソフェンホス	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.988	4.777
	イソフェンホスオキソン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.998	1.365
対14	イソプロカルブ (MIPC)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.998	11.890
対15	イソプロチオラン (IPT)	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.979	1.900
対16	イプロベンホス (IBP)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.997	2.754
対18	インダノファン合算	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.991	1.610
対19	エスプロカルブ	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.979	8.340
対20	エディフェンホス (EDDP)	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.999	2.170
対21	エトフェンプロックス	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.994	6.692
対22	エトリジアゾール (エクロメゾール)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.998	0.915
対23	α -エンドスルファン (α -ベンゾエビン)	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.996	1.890
対23	β -エンドスルファン (β -ベンゾエビン)	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.997	1.953
対23	エンドスルフェート (ベンゾエビンスルフェート)	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.998	1.497
対24	オキサジクロメホン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.995	1.357
対26	オリサストロビン	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.998	2.086
	(5Z)-オリサストロビン	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.997	1.513
対27	カズサホス	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.991	1.317
対28	カフェンストロール	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.997	3.013
対30	カルバリル (NAC)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.997	2.986
対32	カルボフラン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.997	1.742
対33	キノクラミン (ACN)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.988	2.381
対34	キャプタン	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.996	8.098
対35	クミルロン	クリセンd-12	0.05 ~ 2	0.991	0.043
対38	クロメプロップ	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.992	5.285
対39	クロルニトロフェン (CNP)	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.995	0.864
	CNP-アミノ体	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.997	12.896
対40	クロルピリホス	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.992	1.934
	クロルピリホスオキソン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.997	0.448
対41	クロロタロニル (TPN)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.998	7.589

表 1-4. 各分析対象農薬類の検量線範囲における相関係数および傾き (2/5)

	化合物名	面積比を算出するための 内部標準物質	検量線範囲 (mg/L)	相関係数	傾き
対42	シアナジン	アントラセン-d10	0.02 ~ 1	0.997	0.213
対43	シアノホス (CYAP)	アントラセン-d10	0.02 ~ 1	0.991	3.075
対45	ジクロベニル (DBN)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.991	6.967
対46	ジクロルボス (DDVP)	アントラセン-d10	0.02 ~ 1	0.999	3.844
対48	ジスルホトン (エチルチオメトン)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.986	3.159
対51	ジチオピル	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.998	2.802
対52	シハロホップブチル	クリセン-d12	0.01 ~ 0.5	0.999	1.562
対53	シマジン (CAT)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.994	1.247
対54	ジメタメトリン	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.984	21.734
対55	ジメトエート	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.999	0.724
対56	シメトリン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.988	2.481
対57	ジメピペレート	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.995	4.575
対58	ダイアジノン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.996	1.148
	ダイアジノンオキソン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.994	0.589
対65	チオベンカルブ	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.998	5.731
対66	テルブカルブ (MBPMC)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.999	7.064
対67	トリクロピル		~		
対68	トリクロルホン (DEP)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.906	0.026
対69	トリシクラゾール	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.995	2.111
対70	トリフルラリン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.999	0.944
対71	ナプロパミド	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.986	10.848
対73	ピペロホス	クリセン-d12	0.01 ~ 0.5	0.987	0.417
対75	ピラゾキシフェン	クリセン-d12	0.01 ~ 0.5	0.961	0.337
対77	ピリダフェンチオン	クリセン-d12	0.01 ~ 0.5	0.985	0.512
対78	ピリブチカルブ	クリセン-d12	0.01 ~ 0.5	0.997	2.623
対79	ピロキロン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.996	3.525
対80	フィブロニル	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.999	3.566
対81	フェニトロチオン (MEP)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.989	0.900
	フェニトロチオンオキソン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.998	0.504
対82	フェノブカルブ (BPMC)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.999	6.743
対83	(E)-フェリムゾン+(Z)-フェリムゾン	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.991	1.144
対84	フェンチオン (MPP)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.981	3.390
	MPPスルホキシド	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.992	2.414
	MPPスルホン	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.983	3.352
	MPPオキソン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.995	2.033
	MPPオキシンスルホキシド	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.959	1.108
	MPPオキシンスルホン	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.990	1.581
対85	フェントエート (PAP)	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.998	2.349
対87	フサライド	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.998	11.185
対88	ブタクロール	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.991	4.864

表 1-4. 各分析対象農薬類の検量線範囲における相関係数および傾き (3/5)

	化合物名	面積比を算出するための 内部標準物質	検量線範囲 (mg/L)	相関係数	傾き
対89	ブタミホス	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.998	2.339
	ブタミホスオキソン	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.979	3.113
対90	ブプロフェジン	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.999	9.627
対91	フルアジナム	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.992	0.313
対92	ブレチラクロール	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.986	4.481
対93	プロシミドン	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.996	14.882
対94	プロチオホス	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.984	5.001
	プロチオホスオキソン	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.996	1.585
対95	プロピコナゾール合算	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.995	0.847
対96	プロピザミド	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.994	2.834
対97	プロベナゾール	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.994	0.461
対98	プロモブチド	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.997	2.850
対100	ペンシクロン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.997	2.757
対103	ベンタゾン	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.997	2.721
対104	ベンディメタリン	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.993	3.888
対106	ベンフルラリン (ベスロジン)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.998	1.578
対107	ベンフレセート	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.999	6.336
対108	ホスチアゼート合算	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.998	0.758
対109	マラチオン (マラソン)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.991	1.530
	マラオキソン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.998	2.463
対113	メタラキシル	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.983	1.535
対114	メチダチオン (DMTP)	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.999	4.705
対115	メチルダイムロン	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.962	0.588
対116	メトミノストロピン	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.990	7.560
対117	メトリブジン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.995	1.431
対118	メフェナセット	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.998	1.737
対119	メプロニル	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.999	13.926
対120	モリネート	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.997	7.713
要1	アセタミプリド	クリセンd-12	0.02 ~ 1	0.996	0.206
要5	テブコナゾール	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.993	0.969
要7	パラチオンメチル		~		
要8	ヒドロキシイソキサゾール	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.995	0.571
要9	ピラクロホス	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.996	0.698
要10	フルスルファミド	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.995	1.090
要11	プロマシル	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.980	2.671
要12	ペントキサゾン	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.980	8.853
要13	ホサロン	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.997	1.969
要14	メタアルデヒド	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.998	2.377
要16	メトラクロール	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.984	9.023
他4	MCPBエチル	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.994	5.128

表 1-4. 各分析対象農薬類の検量線範囲における相関係数および傾き (4/5)

	化合物名	面積比を算出するための 内部標準物質	検量線範囲 (mg/L)	相関係数	傾き
他8	アメトリン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.977	5.534
他11	ウニコナゾールP	9-ブロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.999	4.207
他13	エトベンザニド	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.997	2.232
他18	キザロホップエチル	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.994	2.854
他21	クロルタルジメチル (TCTP)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.996	6.577
他22	クロルピリホスメチル	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.986	3.153
他24	ジクロフェンチオン (ECP)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.987	1.786
他26	ジクロメジン	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.980	0.250
他28	ジコホル (ケルセン)		~		
他31	ジフェノコナゾール-合算	クリセンd-12	0.02 ~ 1	0.995	0.965
他32	シフルトリン-合算	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.997	1.078
他34	シプロコナゾール-合算	9-ブロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.996	2.677
他35	シプロジニル	9-ブロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.987	19.296
他36	シペルメトリン-合算	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.998	1.199
他37	シメコナゾール	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.999	1.390
他38	(E)-ジメチルビンホス	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.993	2.336
他38	(Z)-ジメチルビンホス	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.988	2.736
他39	シラフルオフエン	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.991	10.075
他40	シンメチリン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.994	7.416
他43	チアクロプリド	クリセンd-12	0.05 ~ 2	0.995	0.808
他44	チアメトキサム	9-ブロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.996	1.978
他45	チオシクラム	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.991	4.647
他46	チフルザミド	9-ブロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.998	6.169
他48	テトラクロルビンホス (CVMP)	9-ブロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.998	5.538
他49	テトラコナゾール	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.999	1.577
他52	トリフルミゾール	9-ブロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.994	1.684
他53	トルフェンピラド	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.998	1.175
他56	パクロブトラゾール	9-ブロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.994	2.419
他61	(E)-ピリミノバックメチル	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.998	2.118
他61	(Z)-ピリミノバックメチル	9-ブロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.996	7.063
他62	ピリミホスメチル	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.974	2.640
他63	ピレトリン 合算	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.992	0.510
他64	フェノキサニル	9-ブロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.991	3.766
他65	フェンバレレート合算	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.998	1.627
他67	フラメトピル	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.979	6.821
他69	プロパニル (DCPA)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.982	6.560
他70	プロバホス	9-ブロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.997	3.727
他71	プロパルギット (BPPS)-合算	クリセンd-12	0.01 ~ 0.5	0.989	3.110
他73	プロボキスル (PHC)	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.996	5.523
他74	プロメトリン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.986	2.360

表 1-4. 各分析対象農薬類の検量線範囲における相関係数および傾き (5/5)

	化合物名	面積比を算出するための 内部標準物質	検量線範囲 (mg/L)	相関係数	傾き
他75	cis-ペルメトリン	クリセンド-12	0.01 ~ 0.5	0.998	4.743
他75	trans-ペルメトリン	クリセンド-12	0.01 ~ 0.5	0.983	5.490
他77	ベンダイオカルブ	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.994	3.164
他79	ボスカリド	クリセンド-12	0.01 ~ 0.5	0.995	3.181
他81	メタミドホス	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.996	1.446
他83	モノクロトホス	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.997	1.985
除1	アゾキシストロビン	クリセンド-12	0.02 ~ 1	0.987	1.196
除2	イプロジオン	クリセンド-12	0.01 ~ 0.5	0.994	0.598
	イプロジオン代謝産物	クリセンド-12	0.01 ~ 0.5	0.995	1.065
除3	クロロネブ	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.998	8.031
除5	テニルクロール	クリセンド-12	0.01 ~ 0.5	0.998	3.536
除6	トルクロホスメチル	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.992	7.813
	トルクロホスメチルオキソン	アントラセン-d10	0.01 ~ 0.5	0.987	5.475
除8	ビフェノックス	クリセンド-12	0.01 ~ 0.5	0.992	0.612
除9	ピリプロキシフェン	クリセンド-12	0.01 ~ 0.5	0.988	8.321
除11	フルトラニル	9-プロモアントラセン	0.01 ~ 0.5	0.999	18.820
除12	ベンスリド (SAP)	アントラセン-d10	~		

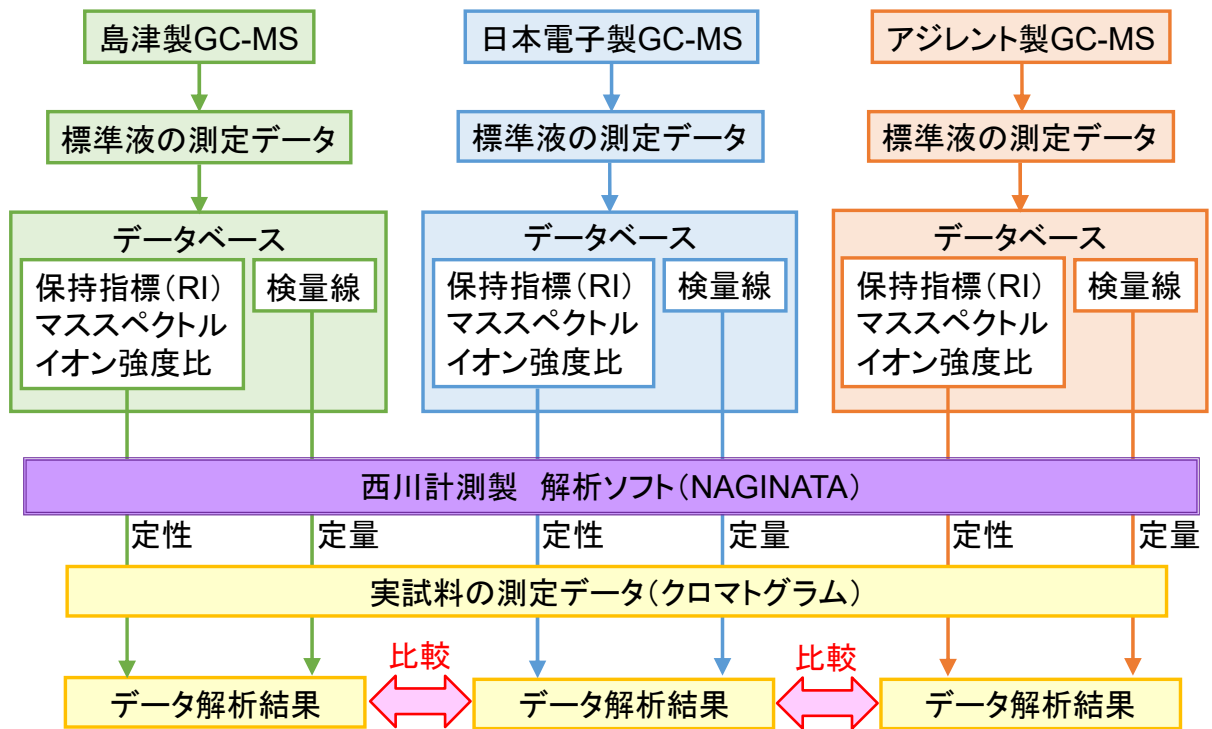


図2-1. バリデーション試験の概念図

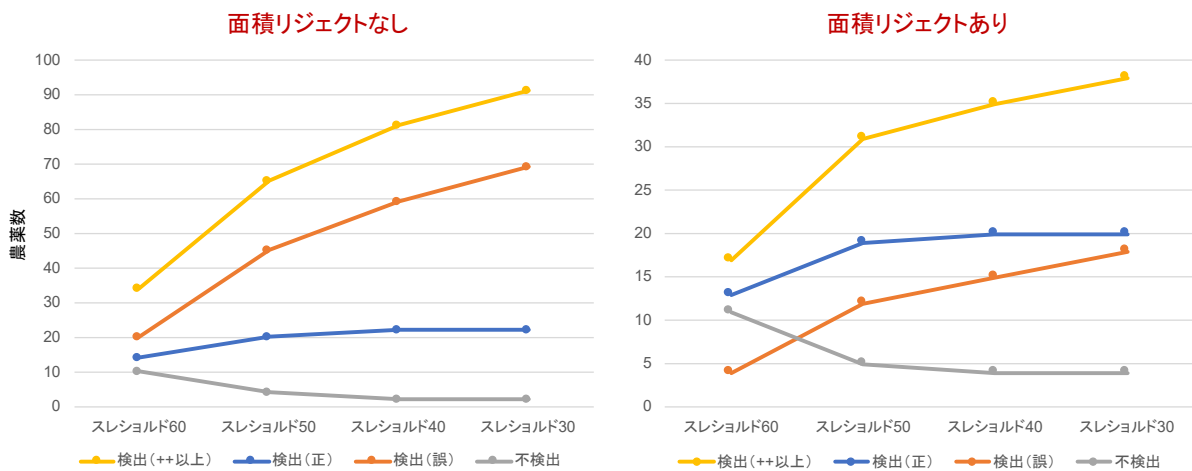


図2-2. 積分パラメータの検証結果

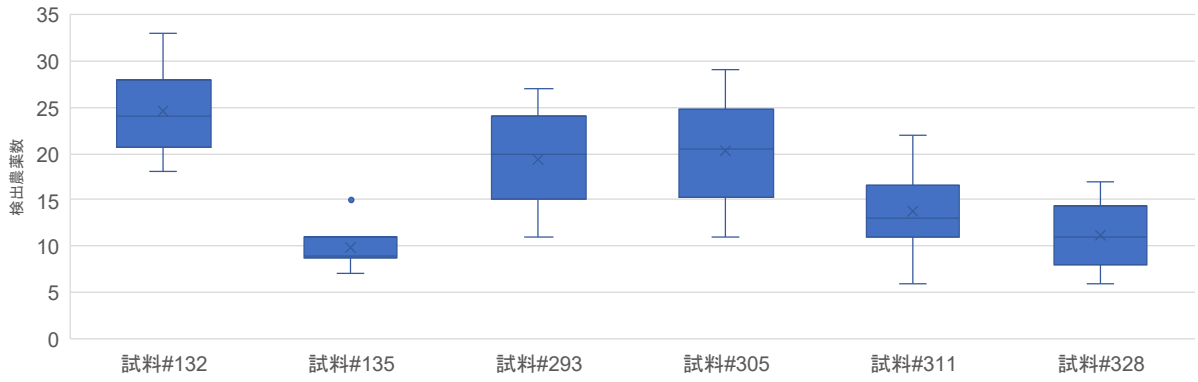


図2-3. 各試料中の検出農薬数

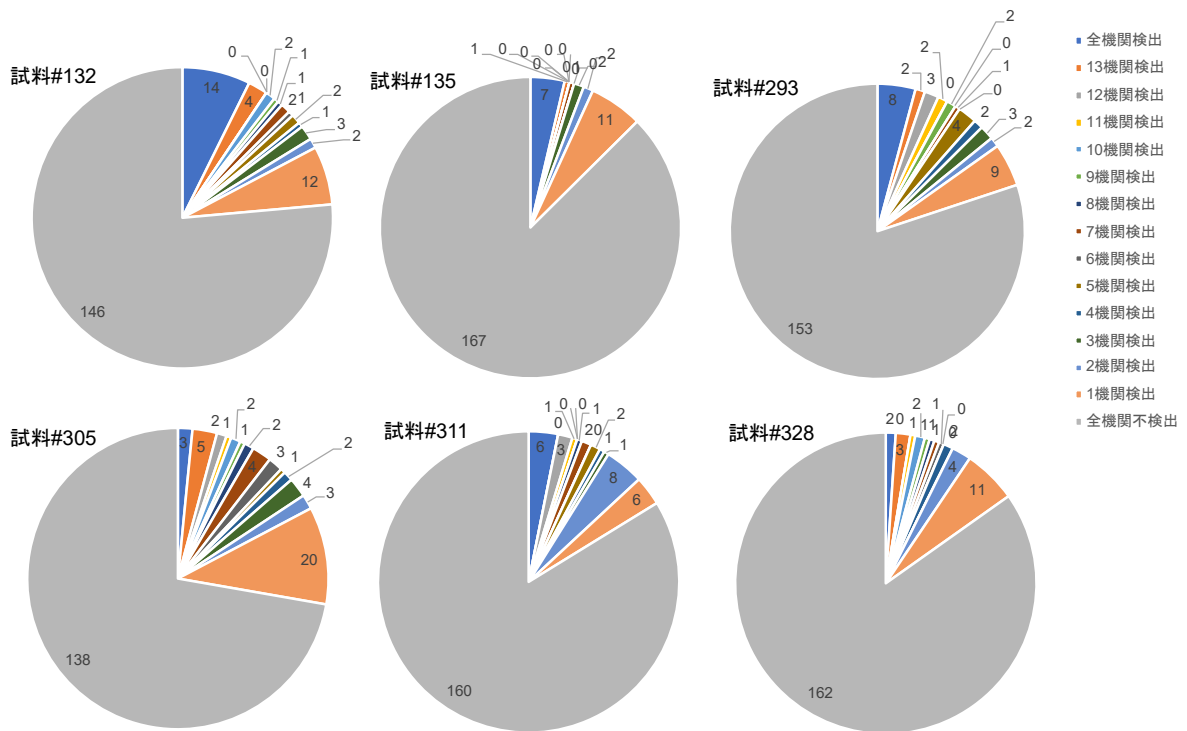


図2-4. 各試料における各機関の検出・不検出の判断の違い

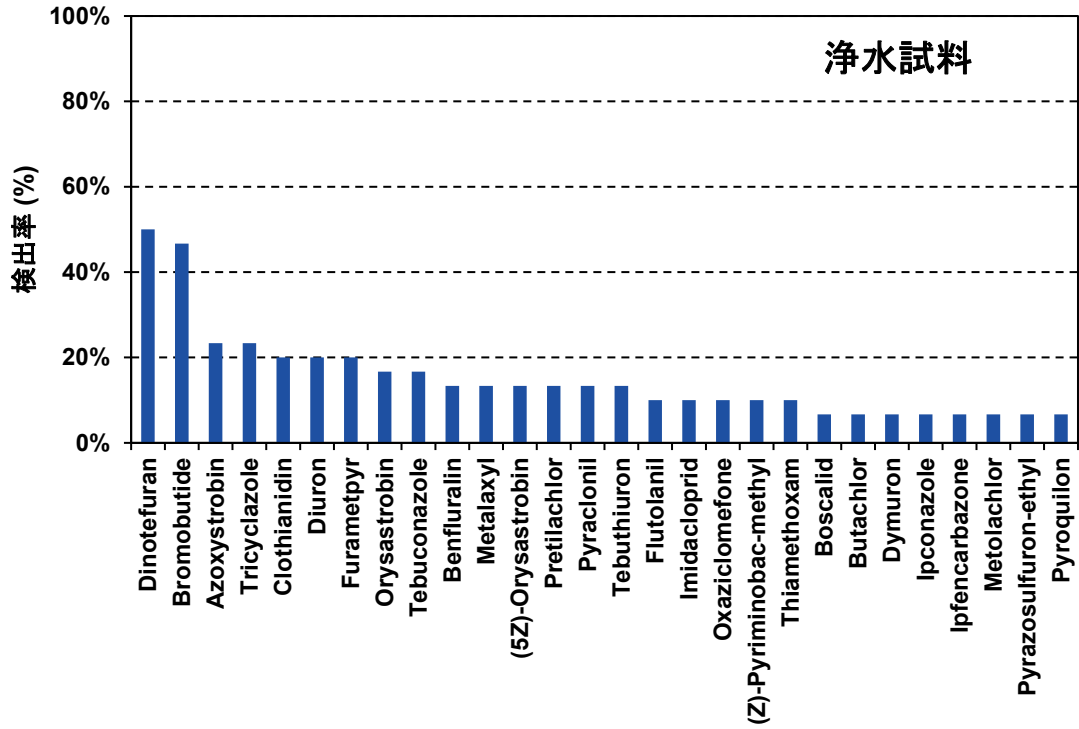


図 3-1. 浄水試料における検出率（上位 28 物質）

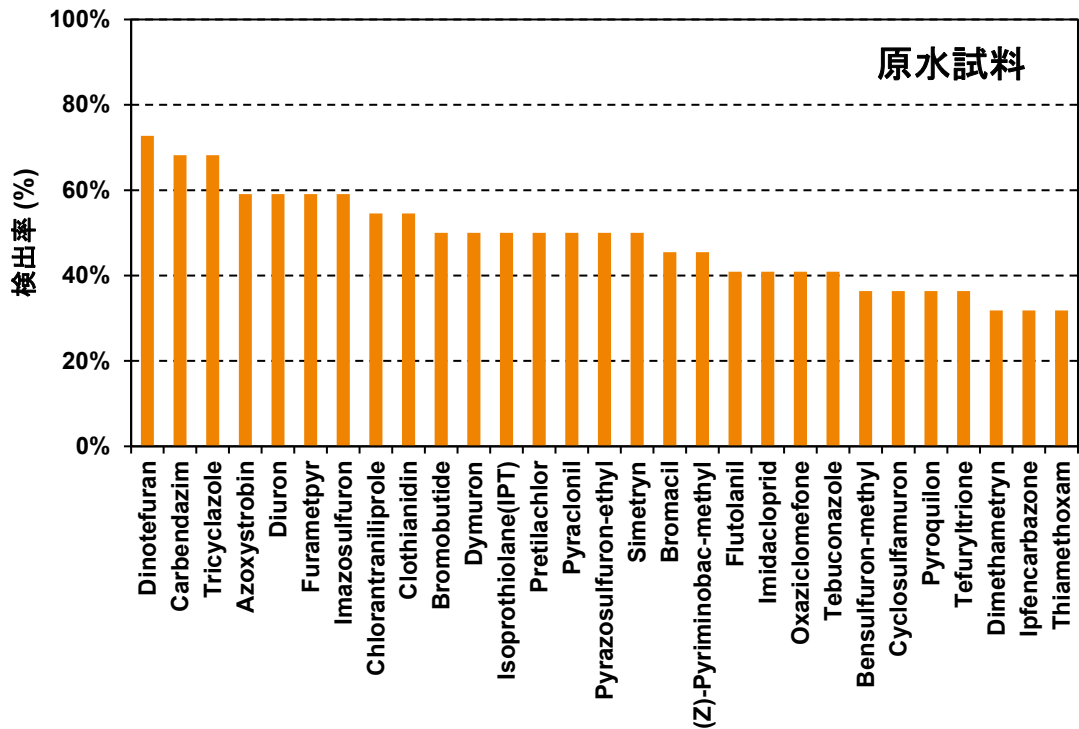


図3-2. 原水試料における検出率（上位29物質）

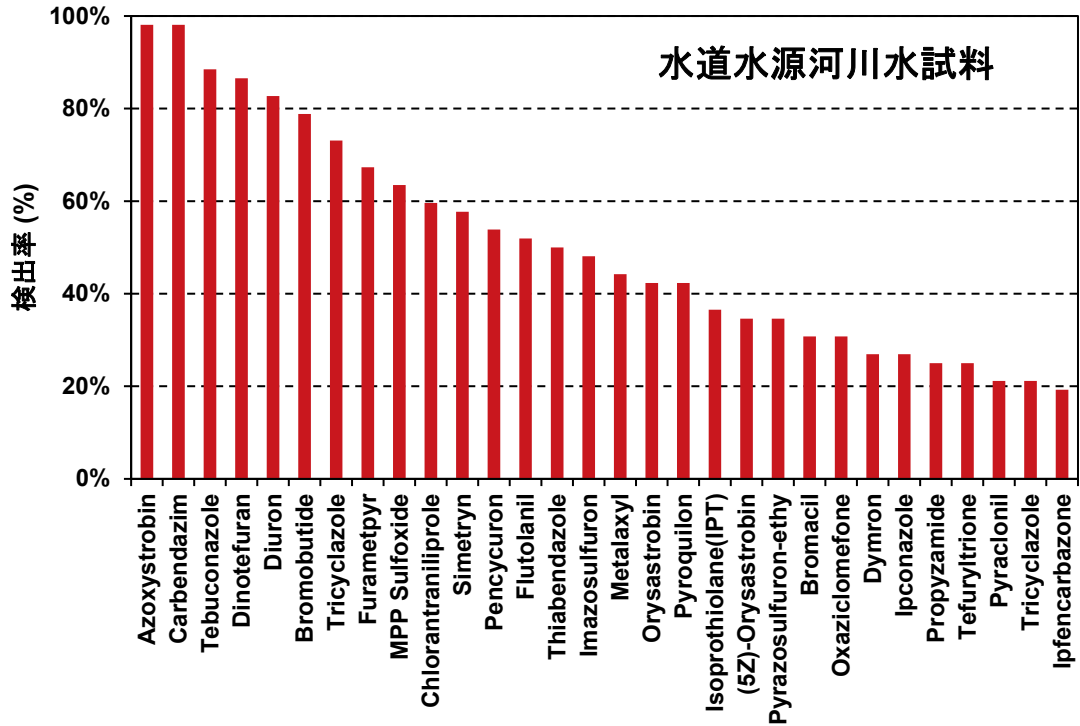


図3-3. 水道水源河川水試料における検出率（上位30物質）

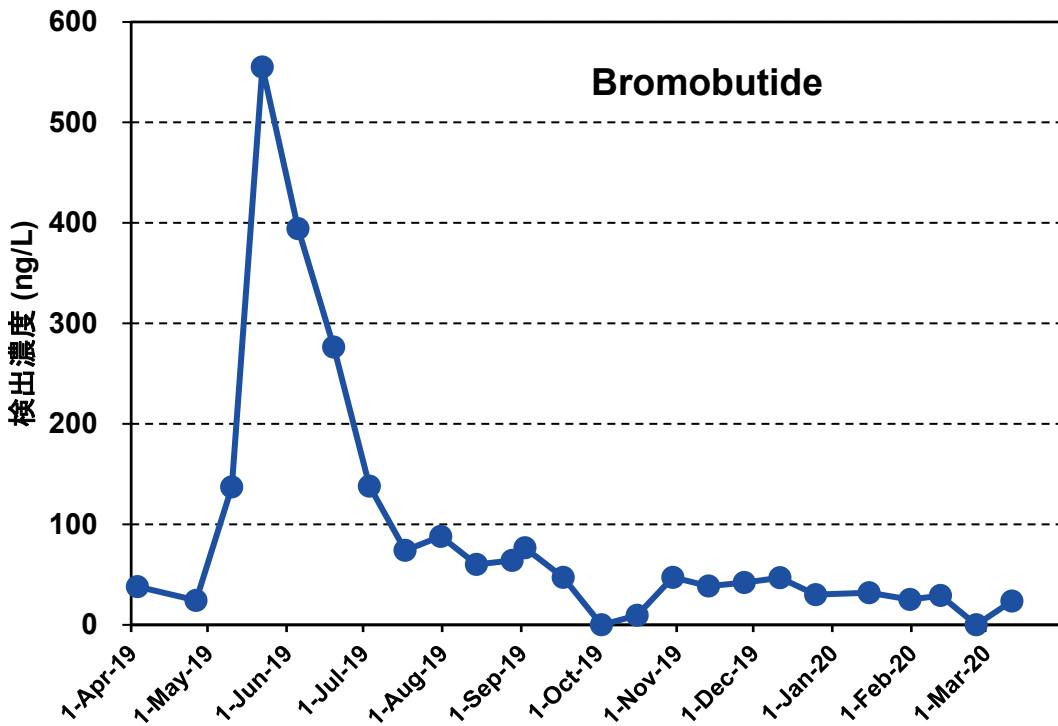


図3-4. ブロモブチドの経時的変化

表3-1. LC-Q/TOFMSスクリーニング分析対象農薬類一覧 (1/3)

Acephate	Acetamiprid	Acibenzolar-S-methyl	Alachlor	Ametryn
Amitraz	Anilofos	Asulam	Atrazine	Azoxystrobin
Bendiocarb	Benfluralin (Bethrodine)	Benfuresate	Bensulide (SAP)	Bensultap
Benzobicyclon	Benzofenap	Bifenox	Bispyribac-sodium**	Boscalid
Bromacil	Bromobutide	Bromobutide-debromo**	Buprofezin	Butachlor
Butamifos	Butamifos Oxon	Cadusafos	Cafenstrole	Captan
Carbaryl (NAC)	Carbofuran	Carbosulfan	Carpropamid	Chlorantraniliprole**
Chlornitrofen (CNP)*	Chloroneb*	Chlorothalonil (TPN)*	Chlorpyrifos	Chlorpyrifos Oxon
Chlorpyrifosmethyl	Chlorthal-dimethyl (TCTP)	Chromafenozide	Cinmethylin	Cinosulfuron
Clomeprop	Clothianidin	CNP-amino	Cumyluron	Cyanazine
Cyanophos (CYAP)	Cyantraniliprole**	Cycloprothrin	Cyfluthrin	Cyhalofop-butyl
Cypermethrin	Cyproconazole	Cyprodinil	Diazinon	Diazinon Oxon
Dichlobenil (DBN)*	Dichlofenthion (ECP)	Dichlorprop	Dichlorvos (DDVP)	Diclomezine
Difenoconazole	Diflubenzuron	Dimepiperate	Dimethametryn	Dimethenamid**
Dimethoate	(E)-Dimethylvinphos	(Z)-Dimethylvinphos	Dinotefuran	Disulfoton (Ethylthiomethon)
Dithiopyr	DMF*	Dymron	Edifenphos (EDDP)	Endosulfan Sulfate* (Benzoepin Sulfate)
Endothal	EPN	EPN Oxon	Esprocarb	Ethiprole
Ethoxysulfuron	Etobenzanid	Etofenprox	Etridiazole (Echlomezol)	Fenitrothion (MEP)

表 3-1. LC-Q/TOFMS スクリーニング分析対象農薬類一覧 (2/3)

MEP Oxon	Fenobucarb (BPMC)	Fenoxanil	Fenoxasulfone**	Fenthion (MPP)
MPP Oxon	MPP Oxon Sulfone	MPP Oxon Sulfoxide	MPP Sulfone	MPP Sulfoxide
Fentrazamide	Fenvalerate	(E)-Ferimzone	(Z)-Ferimzone	Fipronil Desulfinyl
Fipronil Sulfide	Fipronil Sulfone	Fluazifop	Flubendiamide**	Flupyradifurone**
Flusulfamide*	Flutolanil*	Fosthiazate	Fthalide*	Furametypr
Hydroxyisoxazole	Imazosulfuron	Imicyafos**	Imidacloprid	Inabenfide
Indanofan	Ipfencarbazone	Iprobenfos (IBP)	Iprodione	Iprodione Metabolite
Isofenphos	Isofenphos Oxon	Isoprocarb (MIPC)	Isoprothiolane (IPT)	Isoxathion
Isoxathion Oxon	Linuron	Malaoxon	Malathion (Malathon)	Mefenacet
Mepronil	Metalaxyl	Metaldehyde	Methamidophos	Methidathion (DMTP)
DMTP Oxon**	Methomyl	Methyldymron	Metolachlor	(E)-Metominostrobin
Metribuzin	Molinate	Monocrotophos	N'-(2,4-Dimethylphenyl)-N-methylformimidamide (DMPF)	Naproanilide
Napropamide	Nereistoxin	Nitenpyram	Orysastrobin	(5Z)-Orysastrobin-
Oxadiargyl	Oxadiazon	Oxamyl*	Oxaziclomefone	Paclbutrazol
Pencycuron	Pendimethalin	Penflufen**	Penthiopyrad**	Pentoxazone
<i>cis</i> -Permethrin	<i>trans</i> -Permethrin	Phenthoate (PAP)	Phosalone	Phoxim
Piperophos	Pirimiphos-methyl	Pretilachlor	Probenazole	Procymidone*
Prohexadione**	Prometryn	Propanil (DCPA)	Propaphos	Propargite (BPPS)

表 3-1. LC-Q/TOFMS スクリーニング分析対象農薬類一覧 (3/3)

Propiconazole	Propoxur (PHC)	Propyrisulfuron**	Propyzamide	Pymetrozine
Pyraclufos	Pyraclonil	Pyrazolynate (Pyrazolate)	Pyrazosulfuron-ethyl	Pyrazoxyfen
Pyributicarb	Pyridaphenthion	Pyrifluquinazon**	(E)-Pyriminobac- methyl	(Z)-Pyriminobac- methyl
Pyriproxyfen	Pyroquilon	Quinoclamín (ACN)	Quizalofop-ethyl	Sethoxydim
Siduron	Silafluofen	Simazine (CAT)	Simeconazole	Simetryn
Spinetoram**	Sulfoxaflor**	Tebuconazole	Tebufenozide	Tecloftalam
Tefuryltrione	Terbucarb (MBPMC)	Tetrachlorvinphos (CVMP)	Tetraconazole	Thenylchlor
Thiacloprid	Thiamethoxam	Thifluzamide	Thiobencarb (Benthiocarb)	Thiocyclam
Thiodicarb	Thiuram	Tiadinil	Tolclofos-methyl	Tolclofos-methyl Oxon
Tolfenpyrad	Trichlorfon (DEP)	Tricyclazole	Triflumizole	Trifluralin
Trinexapac-ethyl	Uniconazole P	Validamycin A		

* データベースに登録できなかった農薬類

** 追加で登録した農薬類

表3-2. LC-Q/TOFMS測定条件

機 器	項 目	設 定
HPLC	装置	Exion LC (Sciex)
	カラム	Inertsil ODS-4 HP (3 μm 2.1 × 150 mm) (ジューエルサイエンス)
	移動相A	5 mmol/L酢酸アンモニウム溶液
	移動相B	5 mmol/L酢酸アンモニウム-メタノール溶液
	グラジエント	A:B = 95:5 (0 min) - A:B = 5:95 (30 - 40 min)
	注入量	2 μL
MS	装置	X500R (Sciex)
	イオン化方法	ESI-Positive
	測定モード	IDAおよびSWATH
	TOF-MS	50~1000 Da, 0.1s
	TOF-MS/MS	50~1000 Da×22, 0.07s
	コリジョンエネルギー	20~50 V (Ramp)

表 3-3. 追加解析により検出された農薬類

	検出率 (%)	最大濃度 (ng/L)	平均濃度 (ng)	最小濃度 (ng/L)
Bromobutide-debromo	77%	36.6	16.7	3.2
Penflufen	48%	21.0	3.1	1.0
Chlorantraniliprole	42%	35.1	12.9	5.3
Propyrisulfuron	19%	26.4	13.4	2.4
Dimethenamid	2%	1.5	1.5	1.5

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
Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y. Koriki, S.	Suitability of pepper mild mottle virus as a human enteric virus surrogate for assessing the efficacy of thermal or free-chlorine disinfection processes by using infectivity assays and enhanced viability PCR	Water Research	186	116409	2020
鳥居将太郎, 片山浩之	ウイルス種内の遊離塩素耐性分布幅が全体不活化率の推定に及ぼす影響	土木学会論文集 (G)	76	III_423 -III_42 9	2020
Torii, S., Itamochi, M., Katayama, H.	Inactivation kinetics of waterborne virus by ozone determined by a continuous quench flow system. Water Research	Water Research	186	116291	2020
Canh, V. D., Furumai, H., Katayama, H.	Effect of viral genome property on the efficiency of viability (RT-)qPCR.	土木学会論文集 (G)	76	III_189 -III_19 6	2020
Canh, V. D., Torii, S., Furumai, H., Katayama, H.	Application of Capsid Integrity (RT-)qPCR to Assessing Occurrence of Intact Viruses in Surface Water and Tap Water in Japan	Water Research	189	116674	2020
大河内由美子, 泉山信司, 前川純子	貯水槽水道で滞留した水道水からのレジオネラ属菌および関連微生物の検出状況	日本防菌防黴学会誌	48(8)	377-382	2020
泉山信司	最近の感染確率に基づく、水道水からクリプトスポリジウムを除去・不活化する目標の再計算	水道協会雑誌	89(8)	2-7	2020

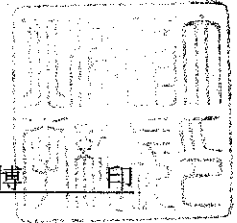
橋本温, 中本佳奈, 鈴木裕之, 土岡宏彰, 泉山信司	ハイドロキシアパタイト粉体 ろ過法の効率と大腸菌試験へ の適用性	環境技術	49(2)	31-37	2020
Kamata, M., Matsui, Y., Asami, M.	National trends in pesticides in drinking water and water sources in Japan	Science of the Total Environment	744	140930	2020
Matsushita, T., Fujita, Y., Omori, K., Huang, Y., Matsui, Y., Shirasaki, N.	Effect of chlorination on anti- acetylcholinesterase activity of organophosphorus insecticide solutions and contributions of the parent insecticides and their oxons to the activity	Chemosphere	261	127743	2020
Tada, Y., Cordero, J. A., Echigo, S., Itoh, S.	Effect of coexisting manganese ion on the formation of haloacetic acids during chlorination	Chemosphere	263	127862	2021
小林憲弘	2020年4月の水道水質基準と 検査方法の改正について	環境と測定技術	47(9)	17-24	2020
小林憲弘, 土屋裕子, 五十嵐良明	塩素処理による水道水中プロ チオホスの分解とプロチオホ スオキシソンの生成挙動	水道協会雑誌	89(9)	2-11	2020
小林憲弘, 土屋裕子, 高木総吉, 五十嵐良 明	水道水中農薬のGC/MSスクリ ーニング分析法の開発と実試 料への適用	環境科学会誌	33(5)	136-157	2020
Abe, Y., Kobayashi, N., Yamaguchi, M., Mutsuga, M., Ozaki, A., Kishi, E., Sato, K.	Determination of formaldehyde and acetaldehyde levels in poly (ethylene terephthalate) (PET) bottled mineral water using a simple and rapid analytical method	Food Chemistry	344	128708	2021
Asami, M., Furuhashi, Y., Nakamura, Y., Sasaki, Y., Adachi, Y., Maeda, N., Matsui, Y.	A field survey on elution of lead and nickel from taps used in homes and analysis of product test results	Science of the Total Environment	771	144979	2021
Narita, K., Matsui, Y., Matsushita, T., Shirasaki, N.	Selection of priority pesticides in Japanese drinking water quality regulation: validity, limitations, and evolution of a risk prediction method	Science of the Total Environment	751	141636	2021
森智裕, 谷口佳二, 小田琢也	フィプロニルとその分解物の 水源実態調査及び浄水処理に おける反応性	水道協会雑誌	90(3)	2-10	2021
木下輝昭	水道法に基づく水質検査及び その精度管理への取り組み	日本防菌防黴学 会誌	49(4)	191-199	2021
Nakai T., Kosaka K., Asami M. Akiba M.	Removal of halobenzoquinone precursors during advanced water purification process	Ozone: Science & Engineering			受理

国立保健医療科学院長 殿

機関名 北海道大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 寶金 清博



次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業
2. 研究課題名 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
3. 研究者名 (所属部局・職名) 大学院工学研究院・教授
(氏名・フリガナ) 松井 佳彦・マツイ ヨシヒコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

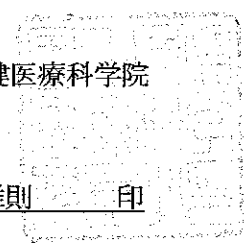
令和3年3月28日

国立保健医療科学院長 殿

機関名 国立保健医療科学院

所属研究機関長 職名 院長

氏名 宮寄 雅則 印



次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業
- 2. 研究課題名 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
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) 生活環境研究部・部長
(氏名・フリガナ) 秋葉 道宏・アキバ ミチヒロ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

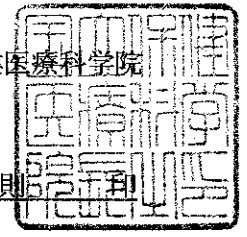
令和3年3月29日

国立保健医療科学院長 殿

機関名 国立保健医療科学院

所属研究機関長 職名 院長

氏名 宮崎 雅則



次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業
- 2. 研究課題名 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
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) 生活環境研究部・上席主任研究官
(氏名・フリガナ) 浅見 真理・アサミ マリ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

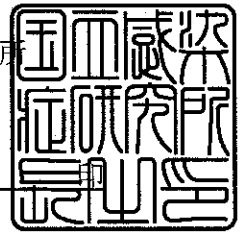
(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

国立保健医療科学院長 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字



次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業
2. 研究課題名 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
3. 研究者名 (所属部・職名) 寄生動物部・主任研究官
(氏名・フリガナ) 泉山信司・イズミヤマシンジ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	--

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

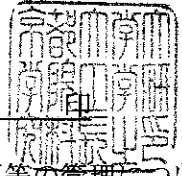
令和 3年 3月 31日

国立保健医療科学院長 殿

機関名 京都大学大学院工学研究科

所属研究機関長 職名 研究科長

氏名 大嶋 正裕



次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業
2. 研究課題名 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
3. 研究者名 (所属部局・職名) 大学院工学研究科 教授
(氏名・フリガナ) 伊藤 禎彦 (イトウ サダヒコ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

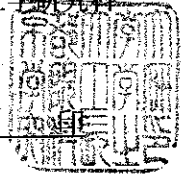
(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

国立保健医療科学院長 殿

機関名 京都大学大学院工学研究科

所属研究機関長 職名 研究科長

氏名 大嶋 正裕



次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業
2. 研究課題名 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
3. 研究者名 (所属部局・職名) 大学院工学研究科 准教授
(氏名・フリガナ) 越後 信哉 (エチゴ シンヤ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

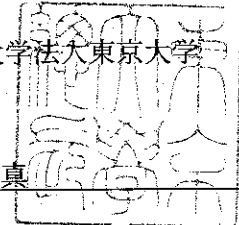
令和3年3月23日

国立保健医療科学院長 殿

機関名 国立大学法大東京大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 五神 真 印



次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業
- 2. 研究課題名 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
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) 大学院工学系研究科・教授
(氏名・フリガナ) 片山 浩之・カタヤマ ヒロユキ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入(※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査(※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針(※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他(特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

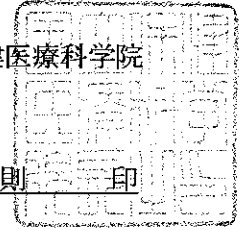
令和3年3月29日

国立保健医療科学院長 殿

機関名 国立保健医療科学院

所属研究機関長 職名 院長

氏名 宮寄 雅則 印



次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部局・職名) 生活環境研究部・上席主任研究官

(氏名・フリガナ) 小坂 浩司・コサカ コウジ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

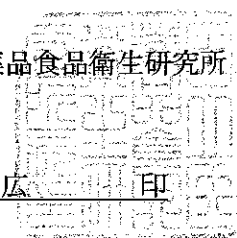
令和3年 3 月 29 日

国立保健医療科学院長 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 合田 幸広



次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業
2. 研究課題名 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
3. 研究者名 (所属部局・職名) 生活衛生化学部第三室・室長
(氏名・フリガナ) 小林 憲弘 (コバヤシ ノリヒロ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

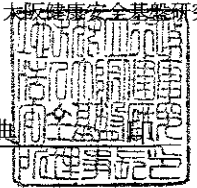
(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

国立保健医療科学院長 殿

機関名 地方独立行政 大阪健康安全基盤研究所

所属研究機関長 職 名 理事長

氏 名 朝野 和典



次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業
2. 研究課題名 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
3. 研究者名 (所属部局・職名) 衛生化学部 生活環境課 主幹研究員
(氏名・フリガナ) 高木 総吉 (タカギ ソウキチ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

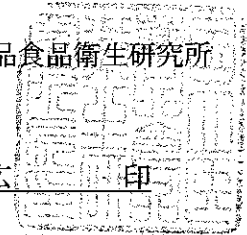
(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

国立保健医療科学院長 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 合田 幸広 印



次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業
2. 研究課題名 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
3. 研究者名 (所属部局・職名) 安全性予測評価部 部長
(氏名・フリガナ) 広瀬 明彦・ヒロセ アキヒコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

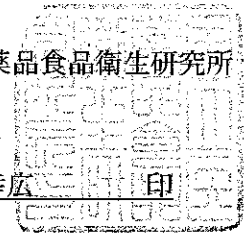
(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

国立保健医療科学院長 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 合田 幸広



次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業
2. 研究課題名 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
3. 研究者名 (所属部局・職名) 安全性予測評価部 主任研究官
(氏名・フリガナ) 松本 真理子・マツモト マリコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和3年3月29日

国立保健医療科学院長 殿

機関名 国立保健医療科学院

所属研究機関長 職名 院長

氏名 宮寄 雅則 印

次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業2. 研究課題名 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3. 研究者名 (所属部局・職名) 生活環境研究部・主任研究官(氏名・フリガナ) 三浦 尚之・ミウラ タカユキ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。

・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

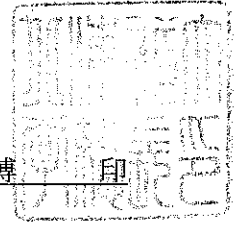
令和3年2月12日

国立保健医療科学院長 殿

機関名 北海道大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 實金 清博



次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業
2. 研究課題名 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
3. 研究者名 (所属部局・職名) 大学院工学研究院・准教授
(氏名・フリガナ) 松下 拓・マツシタ タク

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

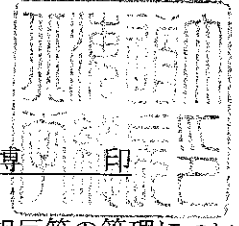
令和3年2月12日

国立保健医療科学院長 殿

機関名 北海道大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 寶金清博



次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業
- 2. 研究課題名 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
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) 大学院工学研究院・准教授
(氏名・フリガナ) 白崎 伸隆・シラサキ ノブタカ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。