

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～3年度 総合研究報告書

研究代表者 松井 佳彦（北海道大学）

令和4（2022）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

令和元年～3年度 総合研究報告書

研究者代表者 松井 佳彦

令和4（2022）年 3月





## 目 次

I. 総合研究報告	
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 -----	33
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 -----	59
秋葉道宏	
3. 微生物（寄生虫等）に関する研究 -----	71
泉山信司	
4. 化学物質・農薬に関する研究 -----	87
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 -----	101
伊藤偵彦，越後信哉，小坂浩司	
6. 臭気物質に関する研究 -----	129
松下拓，越後信哉，小坂浩司	
7. リスク評価に関する研究 -----	165
広瀬 明彦，松本真理子	
8. 水質分析法に関する研究 -----	201
小林 憲弘，高木 総吉	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	241



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

浄水処理プロセスにおけるウイルス除去を示す遺伝子マーカーとして、トウガラシ微斑ウイルス（PMMoV）の有効性を示すことを目的として、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 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 はヒト病原ウイルスよりも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。凝集-MF 膜ろ過処理、UF 膜ろ過処理を実施している実浄水場における PMMoV の除去率はそれぞれ、0.6–1.5 log, 1.7→2.6 log であった。塩素耐性が高いコクサッキーウイルス B5 型（CVB5）の 9 log 不活化に必要な CT 値は pH 7.0 で 40 mg-Cl<sub>2</sub>-min/L 程度、pH 8.0 では 100 mg-Cl<sub>2</sub>-min/L 程度であった。しかし、野生株の一部は基準株と比して 2.3 倍遊離塩素耐性が高いことから、種内の遊離塩素耐性の違いを考慮する必要がある。水道事業体の水質担当者がろ過水や浄水中の PMMoV を検査する方法を検討し、10<sup>3</sup> copies/L のオーダーの濃度を簡便に検出できることを示した。

従属栄養細菌に関する実態調査を全国 21 浄水場の原水などについて行った。一般細菌数との間に相関関係が確認されたが、従属栄養細菌数は一般細菌数よりも再増殖の影響を受けやすく、目標値設定には細菌類再増殖を考慮した上で検証する必要があることが示された。従属栄養細菌の再増殖は自由活性アメーバ(FLA)の再増殖確認日より 3-12 日前に確認されたことから、従属栄養細菌数が FLA 再増殖の先行指標となりうる可能性が指摘された。遊離残留塩素が 0.4 mg/L 以上の大半の試料でレジオネラ属菌の遺伝量が定量下限未満であった。

水道におけるクリプトスポリジウム対策の向上を目指して、原水におけるクリプトスポリジウム等の汚染実態の把握、顕微鏡検査を遺伝子検査で補うこと、顕微鏡検査の精度管理を行うこと、下水の検査による検査感度の向上について検討した。

平成 30 年～令和 2 農薬年度間で農薬製剤出荷量に変化はなかった。農薬原体の出荷量が減少傾向にあるが、登録農薬原体数も平成 30 農薬年度以降は増減がなかった。令和元年度～3 年度の農薬類実態調査の結果、河川水では 111 種類、原水では 108 種類、浄水では 48 種類の農薬および分解物が検出された。個別農薬評価値は、河川水では特にテフリトリオンが高い値を示し、それ以外ではイプフェンカルバゾン等が高い値を示した。原水ではモリネートも高い値を示した。エチプロールの主な塩素処理分解物としてエチプロールスルホンが推察された。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。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。代謝を考慮した ChE 活性阻害試験の結果メチダチオンとピリダフェン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 浄水場での有機フッ素化合物 (PFASs) の実態調査の結果、原水からは 18 種中 9 種が、浄水からは 21 種中 9 種が検出された。目標値 (50 ng/L) を超える試料は無かった。粉末活

活性炭処理では PFAS の除去率は Log D が小さい（親水性が高い）ほど除去率が低かった。重金属に関連する給水栓水調査の結果、通常使われている家庭等の蛇口のごく初流水で鉛の基準値を超過する場合があります、過去の試買試験の解析により青銅製の蛇口からの溶出が多いことが分かった。また樹脂を材質とする給水栓の浸出性能試験で鉛が検出される場合やニッケルの水質管理目標設定項目目標値の 1/10 を超過する事例があることなどが分かった。

ハロアセトアミドの濃度はトリハロメタン (THM) に対応するが、浄水中では THM の 1 割程度以下であった。塩素酸が 0.2 mg/L を超えている地点では、高次亜塩素酸注入量や貯留槽温調の未設、継ぎ足し方式補充が原因と推察された。淀川水系周辺で 3,5-ジメチルピラゾール及びその塩素化物が検出された。浄水処理対応困難物質 (1,3,5-トリヒドロキシベンゼン、アセチルアセトン及びアセトンジカルボン酸) はオゾン・粒状活性炭 (GAC) 処理で除去が有効である。標準天然有機物試料のジクロロベンゾキノン (2,6-dichloroquinone-4-chloroimide(DCQC)) 生成能が高い画分は、UV254 の吸収を持つ画分であることを示した。p-芳香族アミン類から比較的高濃度で p-quinone-4-chloroimide (QC) が生成することを示した。ハロベンゾキノン類の細胞毒性の強さは QC >> DCQC > DCBQ であった。マンガンイオンはクエン酸および類似物質のハロ酢酸生成能を増加させることを示した。珪藻類オーラコセイラの塩素処理により、薬品臭を有する 1-hexen-3-one が生成する。全国調査では、消毒副生成物は、THM、トリハロ酢酸、トリハロアルデヒド、ジハロ酢酸、ジハロアセトニトリルの順に濃度は高かった。塩素化体の消毒副生成物濃度は関連性があった。ブロモクロ酢酸、ブロモジクロ酢酸の検出率は、それぞれ目標値案の 40%超、50%超であった。未規制消毒副生成物の濃度と基準項目には多くの物質について緩い関係性があった。オゾン注入率が高くなると、オゾン処理でシアン化合物が増加するが、GAC 処理は有効であった。

全揮発性窒素化合物 (TPN) をカルキ臭 (臭気強度 >70) の管理に用いることができる可能性が示された。原水の塩素処理水のカルキ臭物質としてベンズアルデヒドの可能性が示され、珪藻類が多く含まれる原水の塩素処理においてもトリオキサンやベンズアルデヒドの可能性が示唆された。第二、三級アミンよりも第一級アミンは臭気生成能が高く、多くの場合トリクロラミンが主なカルキ臭原因物質であり、TPN へもトリクロラミンが主に寄与していたが、いくつかの窒素化合物ではトリクロラミン以外が臭気強度と TPN へ大きく寄与することが示唆された。二段階塩素処理は、アンモニア由来のトリクロラミンと TON を低減したが、アミン類由来のものに対しては低減しなかった。Br が共存すると、トリクロラミンの生成が低下したが、TON がほとんど変わらないことから、カルキ臭を有する臭素化物の生成が推察された。実浄水場浄水でメチルアミン、エチルアミン・ジメチルアミンが検出されたが、カルキ臭への寄与は限定的と推察された。シクロヘキシルアミンはオゾン-活性炭処理にて 70%~程度の除去に留まったのに対し、それと塩素の反応で生成される臭気物質である N,N-ジクロロシクロヘキシルアミンは、粉末活性炭、あるいはオゾン処理でほぼ完全に除去できた。アンケート調査により、水道事業者では塩素臭以外の臭気を対象としていたが、臭気の場合は残留塩素を消去せずに、臭気強度の場合は消去している事業者と消去していない事業者があることが分かった。

揮発経由の吸入曝露や経皮曝露を合算評価すると、ベンゼンの評価値は水質基準値の半分程度となった。ジクロロメタンと四塩化炭素に関しては、現行の水道水質基準値濃度の水道水の利用で耐容一日摂取量 (TDI) の超過が生じる可能性は低いと算定された。短期的な水道水質汚染が生じた際に参考とすべき参照値として水道水質基準項目のうち 6 項目について亜急性参照

値を設定した。カドミウム、セレン、水銀の亜急性参照値は基準値の3～10倍以上の値となったが、ヒ素、鉛及び六価クロムの亜急性参照値は基準値と同値となった。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の試算した。1,3-ブタジエン、ヒドラジン、ブromokloro酢酸、ブromojikloro酢酸はそれぞれ0.025, 0.005, 0.01, 0.01 mg/Lと低い値となった。有機フッ素化合物の目標値はPFOS：50～158 ng/L, PFOA：7～210 ng/Lと試算され、現行の暫定目標値を含む範囲であった。

陰イオン類のLC/MS/MS一斉分析条件とバリデーション試験も実施し、塩素酸、硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、亜塩素酸、過塩素酸の分析条件を確立した。GC-MSによる水道水中農薬のスクリーニング分析を検討した。同一のデータベースを用いた場合、試料毎の検出農薬数の傾向は、国立衛研と一致した。さらに、データベース作成時と試料測定時の装置状態の違いによる定量誤差について検証し、同一の装置で作成した検量線データベースを用いた場合は、ほとんどの農薬が5倍以内の定量誤差で測定できた。定量誤差の要因として装置感度の変化が考えられたことから、装置感度を良好な状態に保つことが重要である。また、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（液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析計）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した。この方法では、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。実試料から同定された74種の農薬類の約86%が濃度比0.5～2.0で分析可能であることがわかった。また、揮発性有機化合物（VOC）25成分を対象に、ヘリウム代替キャリアーガスとして窒素を用いた分析条件について検討し、水質基準項目のVOCについては水質基準の1/10の定量下限を確保し、真度・併行精度の妥当性の目標を満たした。

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	研究分担者	所属機関	職名
秋葉 道宏	国立保健医療科学院生活環境研究部	主任研究官	小林 憲弘	国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部	室長
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	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	主幹研究員
泉山 信司	国立感染症研究所寄生動物部	主任研究官	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
伊藤 禎彦	京都大学大学院工学研究科	教授	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
越後 信哉	京都大学大学院地球環境学堂	教授	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
片山 浩之	東京大学大学院工学系研究科	教授	松下 拓	北海道大学大学院工学研究院	准教授
小坂 浩司	国立保健医療科学院生活環境研究部	上席主任研究	白崎 伸隆	北海道大学大学院工学研究院	准教授

		官
鎌田 素之	関東学院大学 理工学部	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方法として、浄水処理プロセスにおけるウイルス除去の指標としてトウガラシ微斑ウイルス（PMMoV）を用いること、および塩素消毒による病原ウイルスの不活化を保証するパラメータとしてCT値（C: 遊離塩素濃度 × T: 接触時間）を用いることを検討した。令和元年度から令和3年度にかけては、浄水処理プロセスにおけるウイルス除去遺伝子マーカーとしてのPMMoVの有効性、塩素消毒における病原ウイルスの不活化を保証する条件、および水道事業者の水質担当者が実施しやすいPMMoV検査方法を示すことを目的として、以下に示す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PMMoVの濃度変動調査。2) PMMoVよりもロタウイルスA（RVA）濃度が高かった原水試料に含まれるRVAの遺伝子型解析。3) 表流水を水源とする国内21箇所の浄水場におけるろ過水および浄水中のPMMoVの実態調査。4) 凝集-MF膜ろ過処理におけるPMMoVの除去性評価。5) 実浄水場のUF膜ろ過処理におけるPMMoVの除去性評価。6) 塩素処理における病原ウイルスの不活化特性評価。7) 遊離塩素、紫外線、オゾン処理によるウイルスの不活化効率。8) 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。9) 水質による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評価。10) 水道水中のPMMoV検査方法の検討。

## 微生物（細菌）：

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、下記の検討を行うこととした。水質基準項目である一般細菌数と水質管理目標設定項目である従属栄養細菌数の関係性について評価する。文献調査ならびに室内実験により残留塩素消失過程におけるレジオネラ属菌、従属栄養細菌数、自由生活性アメーバ(FLA)の再増殖を調べ、レジオネラ汚染に対する従属栄養細菌の指標性とレジオネラ汚染の制御方法を検討する。あわせて、生物活性炭処理での細菌類の挙動に関する情報を整理する。

## 微生物（寄生虫等）：

日本全国の水道原水から年50件ほどの汚染が報告され、11年間にクリプトスポリジウムは618件、ジアルジアは573件あった。関東地方に検出が多かったものの、全国的な分布を示し、場所によらず汚染に注意を要すると考えられた。

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。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。顕微鏡検査が遺伝子検査によって補われ、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。

クリプトスポリジウム検査の訓練により検査技術の維持が確認できた。しかし、クリプトスポリジウム検査は煩雑な作業を要し、回収率が変動することがあり、定期的な訓練の必要性を改めて認識した。陽性コントロールと河川水試料を統一し、5事業者間の添加回収試験を行い、回収率は概ね50%以上と良好であった。試験者や事業者の間で特段の問題はなく、検査結果の共有と比較が可能と考えられた。これまでクリプトスポリジウム検査の精度管理には注意が払われておらず、訓練と施設間の精度管理を例示することで今後の改善を期待した。

下水道事業体の協力を得て、計 22 箇所から 137 試料を検査した。下水放流水 3 試料からクリプトスポリジウムが検出された。ジアルジアは、32 試料と検出が多かった。対象地域内ではこの期間にクリプトスポリジウム症とジアルジア症の届出がなかった。従来の河川水の検査は 1 個/10L の検出限界で行われてきたが、下水放流水は 1 個/L で行っても汚染の恐れを判断する目的には十分と考えられた。下水の検査による感度の向上は有用と考えられた。

**化学物質・農薬：**水道水源で使用される化学物質・農薬の状況を把握し、水道の水質管理の向上に資するため、実態調査を実施し、検出傾向の解析を行った。特に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。有機りん系農薬について、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。農薬以外の化学物質では、有機フッ素化合物 (PFASs) を対象に、全国の浄水場での実態調査を行った。

重金属に関連しては、食品安全委員会において鉛ばく露低減のための取組が必要であるとされているも、鉛製給水管の残存延長が > 4,000km であることを踏まえて、給水栓水調査結果の解析と給水装置浸出試験等の情報収集と解析を行った。

**消毒副生成物：**ハロアセトアミド類 (HAcAms)、塩素酸、塩素化パラベン、浄水処理対応困難物質、臭気物質、ハロベンゾキノン類 (HBQs)、ハロ酢酸、トリハロメタン等を対象に、生成実態、分析技術、低減策、合理的な管理手法について調査することを目的とした。より詳細は以下の様である。

ハロアセトアミド類については実態調査、ハロアセトアミドの長期トレンド、生成条件および処理性を行った。塩素酸の小規模施設における検出状況、塩素酸濃度に及ぼす施設規模の影響など実態を調査し、塩素酸が水質基準を超過した事例の原因を調査するとともに対策を講じた。塩素化パラベン類に関する調査を行った。浄水処理対応困難物質として 3,5-ジメチルピラゾールなどの存在実態やオゾン処理及び粒状活性炭処理による処理性についての調査を行なった。消毒副生成物のモニタリングと制御

に関しては、ラフィド藻の発生状況と消毒副生成物濃度の関係、消毒副生成物と蛍光有機物質との関連、生物活性炭吸着における粒状活性炭更生後のトリハロメタン (THM) 生成能の変化、粒状活性炭 (GAC) 吸着池での消毒副生成物生成能の除去、豪雨時の消毒副生成物の生成、マンガンイオンが消毒副生成物に与える影響に関して調査を行った。天然有機物 (NOM) を用いて有機態窒素に着目し、ハロベンゾキノン類の前駆物質として特性解析を行い、さらにハロベンゾキノン類の細胞毒性を評価した。臭気を発する消毒副生成物として、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。シアン化合物の生成能及び生成量、生成しやすい条件を調査した。

全国の浄水場における消毒副生成物の網羅的調査を行った。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スとして利用できるか文献と事業体から提供されたデータをもとに基づき検討した。

**臭気物質：**臭気の原因、対策、分析法に関して次のような検討を行うこととした。カルキ臭原因物質としてトリクロラミンなど揮発性窒素化合物が報告されている。そこで定量分析可能な TPN (全揮発性窒素化合物) を取り上げ、測定条件について検討し、臭気強度などとの関連を調査する。多種の窒素化合物を対象に、カルキ臭生成特性について、臭気強度 (TON)、TPN、トリクロラミンの視点から評価した。さらに、未同定カルキ臭原因物質の構造推定を行った。アミン類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ことから、低分子量のアミン類の誘導體化 GC/MS による分析を検討した。また、GC/olfactometry (GC/O) のクロマトグラムの詳細解析により、塩素処理由来の臭気原因物質や珪藻類増殖時の浄水異臭味物質の特定を試みた。

塩素処理により生成する臭気物質およびその前駆物質等について、粉末活性炭処理と高度浄水処理 (オゾン処理+生物活性炭処理) での処理性を調査した。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、および Br の共存影響について、TON、TPN、トリクロラミンの視点から評価した。

また、臭気に関連する検査法について、水道事業体がどのような条件で検査しているかを調査するとともに、カルキ臭対応集としてカルキ臭原因物質や前駆物質の分析方法、低減方法

について整理した。

#### リスク評価管理：

揮発性を考慮した評価値、亜急性評価値、「要検討項目」や PFOA 及び PFOS の毒性情報整理と目標値の導出について検討することとした。

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曝露を想定し、飲水量を 2 L/day のデフォルト値としている。しかし、揮発性物質の間接曝露量や飲水量の個人差は十分に検討されていない。ベンゼン、ジクロロメタン、四塩化炭素の間接曝露と曝露量分布を考量した評価値を検討した。

要検討項目 45 項目中 20 項目について目標値が設定されていないことから、その内、6 項目について、毒性情報を収集し、水道水中目標値の算出を試みることにした。さらに、ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) 及びペルフルオロオクタン酸 (PFOA) は、一部の水源で検出され、国内での関心が高まっていることから、これらの毒性情報を整理し、PBPK モデルを用いた評価値の導出方法の適用について検討を行うことにした。

一方で、水道水質基準値等は生涯曝露を想定して設定されているものであることから、一時的な基準値・目標値超過時について曝露期間などを考慮して毒性情報を検討しておく必要がある。本研究では、水質基準項目から 25、水質管理目標設定項目 9、要検討項目 15 について、亜急性評価値 [Subacute Reference Dose; saRfD (mg/kg/day)] を算出し、短期的な水道水質汚染が生じた際に参考とすべき水道水中濃度[参照値 (mg/L)]の算出も行った。

**水質分析法：**塩素酸、硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、亜塩素酸、過塩素酸の LC/MS(MS)一斉分析条件を確立し、12 機関によるバリデーション試験を実施した。

ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS) における保持時間、マススペクトル、検量線の情報を予めデータベースに登録し、検査時には標準品を測定せずに、データベースに登録された情報を用いて定性・定量を行う GC/MS ターゲットスクリーニング分析法に関して、以下の検討を行なった。アジレント・テクノロジー社の装置を用いて農薬スクリーニング分析データベースを構築した。また、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。さらに、島津製作所と日本電子の 2 台の装置で合計 7 回作成し、各農薬の検量線の傾きや、それらの検量

線から得られる定量値を相互に比較した。

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の開発に関しては、データベースの構築を行い、実試料への適用を行った。また、定量精度を向上させるためにデータベースの再構築を実施し、農薬類スクリーニング法の定量精度を実試料により検証した。

また近年、GC/MS のキャリアーガスおよびパージ・トラップ (PT) のパージガスに用いるヘリウムガスの入手が困難になっていることから、ヘリウム代替キャリアーガスとして窒素を用いた揮発性有機化合物の分析条件について検討した。

## B. 研究方法

原水や水道水質の状況、浄水技術について調査研究を行うため、微生物 (ウイルス)、微生物 (細菌)、微生物 (寄生虫等)、化学物質・農薬、消毒副生成物、臭気物質、リスク評価管理、水質分析法の 8 課題群—研究分科会を構築し、研究分担者 15 名の他に 50 もの水道事業者や研究機関などから 125 名の研究協力者の参画を得て、各研究分担者所属の施設のみならず様々な浄水場などのフィールドにおける実態調査を行った。

水質項目は多岐にわたるため、上述の研究目的に沿って 8 課題群に分けて、研究分科会とグループを構成し、全体会議などを通じて相互に連携をとりながら並行的に研究を実施した。研究分科会は、微生物 (ウイルス) 分科会 (研究分担者 4 名、研究協力者 8 名)、微生物 (細菌) (研究分担者 1 名、研究協力者 3 名)、微生物 (寄生虫等) (研究分担者 1 名、研究協力者 12 名)、化学物質・農薬分科会 (研究分担者 3 名、研究協力者 29 名)、消毒副生成物分科会 (研究分担者 3 名、研究協力者 21 名)、臭気分科会 (研究分担者 3 名、研究協力者 4 名)、リスク評価管理分科会 (研究分担者 2 名、研究協力者 16 名)、水質分析分科会 (研究分担者 2 名、研究協力者 42 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）

本研究では、浄水処理プロセスにおけるウイルス除去を示す遺伝子マーカーとして、トウガラシ微斑ウイルス（PMMoV）の有効性を示すことを目的として、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、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、ノロウイルス GII, ロタウイルス A (RVA) 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、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(図1)。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、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。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 PMMoV よりも RVA 濃度が高かった7地点の浄水場原水試料に適用したところ、ウシやブタの RVA 遺伝子型が高頻度で検出された。一方で2箇所の浄水場では、雨天時に採水された試料においてヒトの RVA 遺伝子型が優占して検出され、ヒト糞便による汚染も明らかになった。RVA の遺伝子型を解析することで汚染源となる宿主動物を特定できること、およびその重要性が示された。

国内21箇所の浄水場において3年間に渡ってろ過水および浄水試料(それぞれN=105)を収集し、PMMoV の実態を調査した。PMMoV は、ろ過水で4.8–43%、浄水で9.5–48%の試料から検出され、濃度の最大値はろ過水、浄水ともに  $3.4 \log_{10}$  copies/L だった。

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

評価した。計5回の採水において、浄水場 Z 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(定量下限値以下の値を除く)は  $2.1 \log$  となったことから、UF 膜ろ過処理のウイルス除去への有効性が示された。

塩素消毒における病原ウイルスの不活化を保証する CT 値を検討することを目的として、高不活化率を評価可能な大容量の実験系を用いることにより、塩素消毒の対象となる水(塩素処理対象水)の水質の差異がコクサッキーウイルス B5 型 (CVB5) の不活化率に与える影響を評価した。その結果、塩素処理対象水の pH は、CVB5 の不活化に大きく影響し、pH 7.0 のリン酸バッファーを用いた場合においては、 $9 \log$  不活化に必要な CT 値は  $40 \text{ mg-Cl}_2\cdot\text{min/L}$  程度であったのに対し、pH 8.0 においては、 $100 \text{ mg-Cl}_2\cdot\text{min/L}$  程度の CT 値が必要であることが明らかとなった(図2)。一方、実際の塩素消毒が行われている実浄水場の砂ろ過水 (pH 7.1–7.2) を用いた場合の CVB5 の不活化率は、pH 7.0 のリン酸バッファーを用いた場合と概ね同程度であったことから、塩素処理対象水(濁度が管理されている水)の pH が同程度の場合においては、水質の差異がウイルスの不活化に与える影響は小さいものと判断された(図3)。本研究でこれまでに PMMoV の除去性を評価した浄水場 X, Y, Z 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  $840–1,300 \text{ mg-Cl}_2\cdot\text{min/L}$  の CT 値が確保されていた。配水池の出口でこの程度の CT 値が確保されていれば、塩素処理対象水の水質の差異を考慮した場合であっても、浄水場で実施されている塩素消毒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。

2002–2018 年に富山県内の下水処理場の流入水、河川水中から検出されたコクサッキーウイルス B3 型 (CVB3), CVB4, CVB5, エコーウイルス 11 型 (E11) の野生株、およびそれぞれの基準株を用いて、遊離塩素、紫外線、およびオゾンによる処理性を評価した。その結果、UV<sub>254</sub> 耐性に大きな違いは見られなかった一方で、遊離塩素やオゾンの耐性は大きく異なり、基準株からの遺伝的な変異に伴い遊離塩素耐性やオゾン耐性も株間で異なることが明らかになった。遊離塩素では基準株と比して2.3倍、オゾンでは2倍程度高い耐性を有す株が存在した。実験室株データを用いて遊離塩素及びオゾンによるウイルス不活化効率を推定する際は、実プラントの除去率が過大評価される可能

性が示された。実際の水環境中には多様なウイルスが含まれるため、耐性の違いを考慮して不活化を予測する必要がある。

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、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（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）。さらに、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、GI 型野生株の全体不活化率が 5.3–5.6 log と算定された。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、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。さらに、塩素耐性が高いことが報告されるエンテロウイルスを幅広く調査し、遊離塩素耐性の高いウイルスを同定した。CVB5 はほかのエンテロウイル

スの遺伝型と比べて塩素耐性が高かった。また、CVB5 内では実験室株と比べて野生株の方が塩素耐性が高かった。その後、水道水質がウイルスの不活化に与える影響を調査し、年間を通じて 8 log の不活化を達成するために必要な遊離塩素 CT 値の推定を行った。水温を考慮して 8 log 不活化に必要な CT 値を推定した結果、浄水場 α で 27.5 mg・min/L となった（例：残留塩素濃度 0.5 mg/L の場合には、約 1 時間の接触時間でウイルスを 8 log (99.99999%) 不活化が可能）。

水道事業者の水質担当者がろ過水や浄水中の PMMoV を簡便に検査することを想定し、PMMoV を添加した水道水試料を用いて検査方法を検討した結果、Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit を用いることで 40 mL の試料から 40 μL の核酸を抽出・精製することができ、PMMoV 濃度を 10<sup>3</sup> copies/L に調製した試料の 3/3 検体で PMMoV が陽性となった（図 4）。このことから、水道水に 10<sup>3</sup> copies/L のオーダーで含まれる PMMoV を検出できることがわかった。今後は、水道事業者の水質担当者による評価を通じて、本検査方法の有用性および有効性を検証する必要がある。

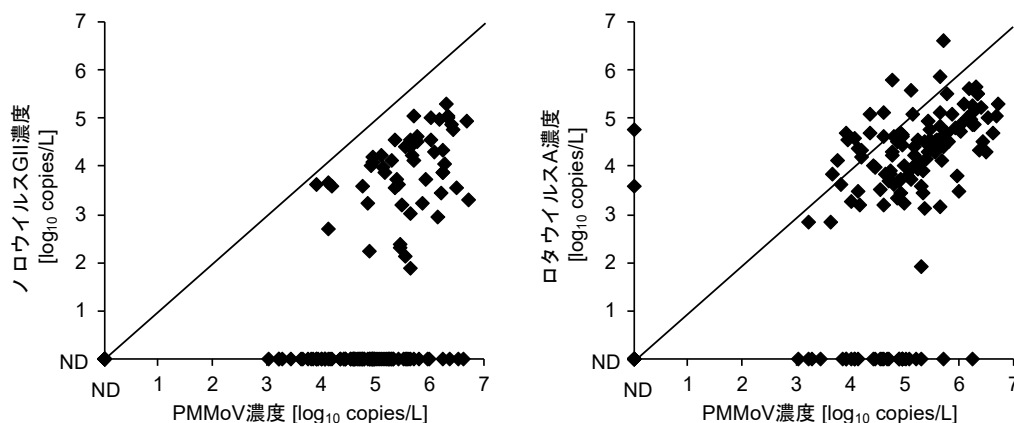


図 1 水道原水中の病原ウイルスと PMMoV 濃度の関係。2018 年 1 月から 2021 年 1 月に採水された合計 147 試料のデータをプロットした。

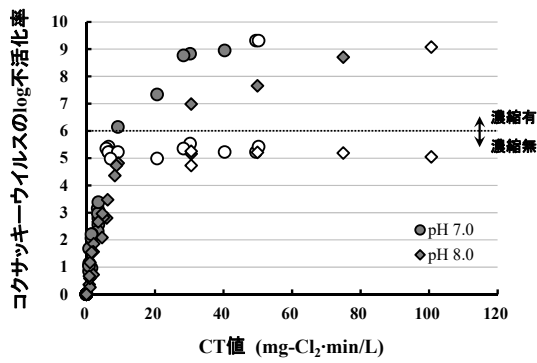


図2 リン酸バッファーを用いた塩素処理における CVB5 の不活化特性. 白抜きの値は定量下限値以下であったため、定量下限値をプロットした.

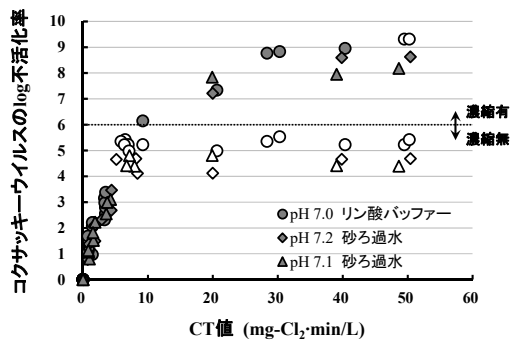


図3 塩素処理対象水の水質の差異が CVB5 の不活化に与える影響. 白抜きの値は定量下限値以下であったため、定量下限値をプロットした.

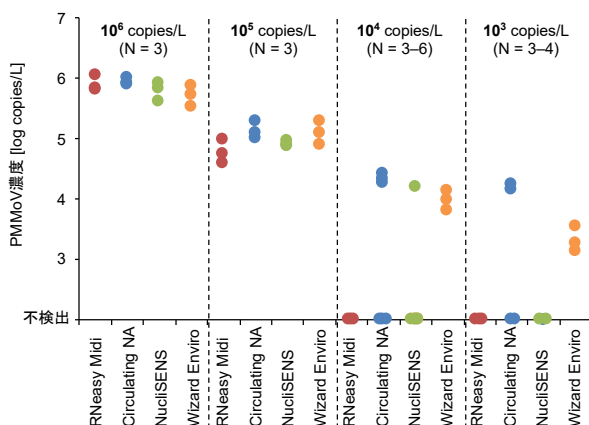


図4 PMMoV 添加水道水試料を用いた RNA 抽出精製キットの比較. PMMoV 濃度が  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$  copies/L となるように調製した水道水試料から、Qiagen RNeasy Midi Kit, Qiagen QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit, bioMérieux

NucliSENS, および Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit の4つのキットを用いてウイルス RNA を抽出・精製し、リアルタイム RT-PCR で PMMoV 濃度を定量した.

### (1-2) 微生物 (細菌)

生物活性炭処理での細菌挙動に関する文献情報を整理し、バイオフィームが形成している生物活性炭層(BAC)内ではレジオネラ属菌やマイコバクテリウム属菌などの細菌が定着・再増殖し、処理水へ流出していく可能性があるため、BAC 処理後にこれらの細菌の流出防止を含む適切な施設運用が重要であることが指摘された.

全国 21 浄水場の原水、ろ過水、浄水の一般細菌数と従属栄養細菌数の実態調査の測定結果に基づき、両者の相関性を評価した結果、回帰式は得られ相関関係が確認されたものの(図5)、浄水、ろ過水において従属栄養細菌数にバラツキが大きく、細菌類の再増殖による影響であると考えられた. 従属栄養細菌数の目標値設定には細菌類再増殖を考慮した上で検証する必要があることが示された.

従属栄養細菌数とレジオネラ汚染の関係性に関する文献考察ならびに室内実験を行った. 文献調査では、従属栄養細菌数によるレジオネラ陽性判定が可能とした報告が確認されたが、相反する報告も多数あり、従属栄養細菌数レベルとレジオネラ属菌数またはその陽性率の間関係については、議論継続中であることが明らかとなった. これらの情報に基づき、従属栄養細菌数とレジオネラ汚染の関係性を定量的に評価するための、給水システムごとに異なる特性の複合的影響をできるだけ排除可能な実験方法の検討が必要であることを指摘した.

文献調査を踏まえ、室内試験によりレジオネラ汚染に対する従属栄養細菌数の指標性評価に関する基礎的検討を実施した. まず、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 (concentration × time)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.

さらに残留塩素濃度が  $0.1$  または  $0.2$  mg/L に調整した塩素処理試料において微生物再増殖試験を実施した結果、レジオネラ属菌の安定的な再増殖は確認できなかったが、自由活性アメーバ(FLA)は多くの試料で再増殖が起こることが確認された. さらに、1 試料を除いて、FLA の再増殖確認日より 3-12 日前に従属栄養細菌

の再増殖が確認され、特に再増殖確認日より3日前の従属栄養細菌数が顕著に増加していたことから、従属栄養細菌数がFLA再増殖の先行指標となりうる可能性が指摘された。

レジオネラ汚染の制御方法に関する検討では、山間部に位置する小規模な配水区域を対象としてレジオネラ属菌に関する調査を実施し、管網の流下過程での遊離残留塩素の減少に従ってレジオネラ属菌や従属栄養細菌数が増加していることが確認された。また遊離残留塩素が0.4 mg/L以上の大半の試料でレジオネラ属菌の遺伝量が定量下限未満であったことから(図6)、残留塩素の管理の重要性を改めて指摘した。

さらに、室内実験に基づき、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。また、間欠的な塩素接触条件での生物膜形成やレジオネラ再増殖の過程を把握した。生物膜の形成状況は週0~2回の塩素接触条件で顕著な差は見られなかったものの、レジオネラの再増殖は週1回以上の塩素接触によって抑制される兆しが確認された。

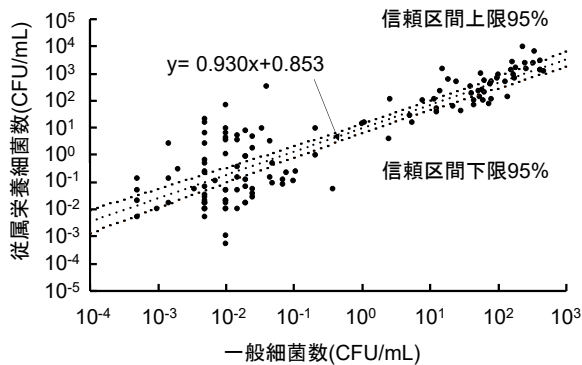


図5 一般細菌数と従属栄養細菌数の関係性評価

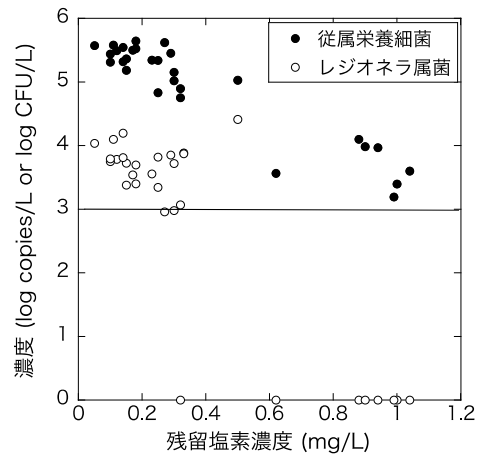


図6 遊離残留塩素濃度と従属栄養細菌/レジオネラ属菌の関係

(実線はレジオネラの定量下限。定量下限未満の検出データは全て0 log copies/Lと表示)

### (1-3) 微生物(寄生虫)

日本全国の水道原水から年50件ほどの汚染が報告され、11年間にクリプトスポリジウムは618件、ジアルジアは573件あった。関東地方に検出が多かったものの、全国的な分布を示し、場所によらず汚染に注意を要すると考えられた。

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。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。顕微鏡検査が遺伝子検査によって補われ、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。

クリプトスポリジウム検査の訓練により検査技術の維持が確認できた。しかし、クリプトスポリジウム検査は煩雑な作業を要し、回収率が変動することがあり、定期的な訓練の必要性を改めて認識した。陽性コントロールと河川水試料を統一し、5事業体間の添加回収試験を行い、回収率は概ね50%以上と良好であった。試験者や事業体間で特段の問題はなく、検査結果の共有と比較が可能と考えられた。これまでクリプトスポリジウム検査の精度管理には注意が払われておらず、訓練と施設間の精度管理を例示することで今後の改善を期待した。

下水道事業者の協力を得て、計22箇所から137試料を検査した。下水放流水3試料からクリプトスポリジウムが検出された。ジアルジア

は、32 試料と検出が多かった。対象地域内ではこの期間にクリプトスポリジウム症とジアルジア症の届出がなかった。従来の河川水の検査は 1 個/10L の検出限界で行われてきたが、下水放流水は 1 個/L で行っても汚染の恐れを判断する目的には十分と考えられた。下水の検査による感度の向上は有用と考えられた。

## (2) 化学物質・農薬

平成 30 年～令和 2 農薬年度の農薬製剤出荷量は 22.3 万 t、22.2 万 t、22.3 万 t とほぼ同じであった。用途別出荷量は、除草剤は増加に転じているがそれ以外はこれまで通り減少傾向にあった。原体数は令和 2 年 9 月現在 596 種類で、農薬原体の出荷量が減少傾向にあるが登録農薬原体数は平成 16 農薬年度以降、増加してきたが平成 30 農薬年度以降、増減がなかった。

農薬製剤の登録農薬製剤数は令和 2 年 9 月現在、4275 となっており、平成元農薬年度に登録製剤数が大きく減少したが、令和 2 農薬年度にはほぼ平成 30 農薬年度の水準に戻っていた。個別の農薬についてみると令和 2 農薬年度において出荷量が 100 t 以上の農薬原体は 44 種類あった。平成 30 年以降新たに 22 種の化学物質が新たに農薬として登録されており、このうち 12 種は水稻適用農薬であった。一方、平成 30 年以降、12 種が農薬登録を抹消されていた。

令和元年度～3 年度の農薬類実態調査の結果、河川水では 111 種類、原水では 108 種類、浄水では 48 種類の農薬および分解物が検出された。検出された農薬の使用用途は除草剤が約半分を占めていた。検出された農薬のうち、対象リスト農薬掲載農薬は、河川水では 63 種、原水では 67 種、浄水では 29 種であった。

検出された農薬のうち検出濃度、個別農薬評価値が高かった農薬類を表 1、2 に示す。農薬類の検出濃度は、河川水、原水ではそれぞれ 15、8 農薬の最大検出濃度が 1 µg/L を超過し、浄水では 13 農薬の最大検出濃度が 0.1 µg/L を超過していた。個別農薬評価値は、河川水では特にテフリトリオンが高い値を示し、それ以外ではイブフェンカルバゾン等が高い値を示した。原水ではモリネートも高い値を示した。浄水では、15 農薬の最大個別農薬評価値が 0.1 を超えていた。Σ 値の推移を見ると、これまでの調査と比べて、特に河川水で非常に高い Σ 値が検出され、また、原水では比較的高い Σ 値が検出される頻度が増えているが、浄水の Σ 値は低い値で推移していた。したがって、原水では適切なモニタリングが、浄水ではこれまでの農薬

の検出実施を踏まえ活性炭の注入など適切な対応を講じられた結果と考えられた。

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

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。

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、ダイアジノンの塩素処理前後の ChE 阻害はダイアジノンとダイアジノンのオキソン体でほぼ説明された。このことから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は妥当であり、オキソン体以外の分解物を測定項目に組み込む必要はないと思われる。一方で、メチダチオンとピリダフェンチオンについてはそれらのオキソン体が生成し、さらに ChE 阻害を示したことから、オキソン体も測定対象に組み込む必要があると提言された。

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。原水、浄水ともに PFOA の濃度が最も高かったが、PFOA と PFOS の合計は、最大値のいずれも目標値 (50 ng/L) を超える試料は無かった。粉末活性炭処理では、PFAS の除去率は PFAS の Log D と関連があり、Log D が大きい (疎水性が高い) ほど除去率が高く、Log D が小さい (親水性が高い) ほど除去率が低かった。

通常使われている家庭等の蛇口のごく初流水 (6 時間以上の滞留水、100 mL) の約 3 割で鉛の基準値を超過する場合があった。また、過去の試買試験の解析により青銅製の蛇口からの溶出が多いことが分かった。また樹脂を材質とする給水栓の浸出性能試験で鉛が検出される場合やニッケルの水質管理目標設定項目目標値の 1/10 を超過する事例があることなどが分かった。

表1 令和元年度～3年度の農薬実態調査における最高検出濃度上位農薬（原水）

	農薬名	分類	用途	目標値	測定数	検出数	検出率	最大検出濃度 (µg/L)	最大個別農薬評価値
1	プロモプチド	対象	除草剤	100	573	407	71%	7.70	0.08
2	ペンタゾン	対象	除草剤	200	1022	324	32%	3.00	0.02
3	メタゾスルフロン		除草剤		433	11	3%	2.69	
4	テフリルトリオン	対象	除草剤	2	862	458	53%	1.60	0.80
5	ベノミル	対象	殺菌剤	20	144	74	51%	1.50	0.08
6	モリネート	対象	除草剤	5	602	52	9%	1.30	0.26
7	ダイムロン	対象	除草剤	800	704	168	24%	1.10	0.00
8	グリホサート	対象	除草剤	2000	413	3	1%	1.00	0.00
9	ピロキロン	対象	殺菌剤	50	172	142	83%	0.98	0.02
10	ブタクロール	対象	除草剤	30	532	46	9%	0.90	0.03
11	シメトリン	対象	除草剤	30	84	54	64%	0.82	0.03
12	フルトラニル	除外	殺菌剤	200	478	32	7%	0.73	0.00
13	クミルロン	対象	除草剤	30	436	6	1%	0.70	0.02
14	ピラクロニル	対象	除草剤	10	190	162	85%	0.70	0.07
15	プレチラクロール	対象	除草剤	50	161	131	81%	0.68	0.01
16	キノクラミン (ACN)	対象	除草剤	5	48	35	73%	0.63	0.13
17	イマズスルフロン	その他	除草剤	200	298	22	7%	0.58	0.00
18	メトミノストロビン	対象	殺菌剤	40	172	78	45%	0.51	0.01
19	ジノテフラン	その他	殺虫剤	600	278	112	40%	0.50	0.00
20	イソプロチオラン (IPT)	対象	殺菌剤	300	204	118	58%	0.40	0.00

表2 令和元年度～3年度の農薬実態調査における最高検出濃度上位農薬（浄水）

	農薬名	分類	用途	目標値	測定数	検出数	検出率	最大検出濃度 (µg/L)	最大個別農薬評価値
1	プロモプチド	対象	除草剤	100	685	163	24%	2.00	0.02
2	プレチラクロール	対象	除草剤	50	646	36	6%	0.76	0.02
3	ブタクロール	対象	除草剤	30	566	10	2%	0.60	0.02
4	ペンタゾン	対象	除草剤	200	588	151	26%	0.50	0.00
5	ピロキロン	対象	殺菌剤	50	636	12	2%	0.33	0.01
6	ダラボン (DPA)	対象	除草剤	80	319	11	3%	0.30	0.00
7	カルベンダジム (MBC)		殺菌剤		154	16	10%	0.20	
8	ジノテフラン	その他	殺虫剤	600	310	36	12%	0.20	0.00
9	ピラクロニル	対象	除草剤	10	434	20	5%	0.20	0.02
10	フェントラザミド	対象	除草剤	10	505	3	1%	0.20	0.02
11	フルトラニル	除外	殺菌剤	200	364	12	3%	0.14	0.00
12	CMTBA		分解物		29	19	66%	0.14	
13	トリクロピル	対象	除草剤	6	316	7	2%	0.11	0.02
14	シプロジニル	その他	殺菌剤	0	35	1	3%	0.08	
15	アミトラス	対象	殺虫剤	6	189	3	2%	0.07	0.01
16	プロモプチドデプロモ		酸化物	100	403	7	2%	0.07	0.00
17	ベンゾビシクロン	対象	除草剤	90	288	10	3%	0.07	0.00
18	シハロホップチル	対象	除草剤	6	486	2	0%	0.06	0.01
19	メタゾスルフロン		除草剤		13	4	31%	0.06	
20	カフェンストール	対象	除草剤	8	626	8	1%	0.05	0.01

### (3) 消毒副生成物

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 °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。浄水では、水温および塩素注入率が高い夏季に HAcAms の生成が増す傾向であった。また、浄水中の総トリハロメタンと同様の生成傾向であった。また、浄水中の HAcAms の THM に対する濃度比は最大でも 1 割程度と見積もられた。粒状活性炭処理では、毎年 20% の交換補充を行うことにより、10 年にわたり HAcAms の一定の除去性を維持する効果があると認められた。

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

パラベン類及びその塩素化物:分析方法を確立し、長沢浄水場及び多摩川流域において実態調査を行った結果、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、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。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。

浄水処理対応困難物質：淀川水系周辺における実態調査により、3,5-ジメチルピラゾール(DMP)及びDMP塩素化物が検出された。DMPの処理法として、塩素添加前のオゾン処理とGAC処理の有効性が示された。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。

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。アセトンジカルボン酸(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を低減できた。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。1,3,5-THB、AA及ADCは、溶存オゾンが検出される条件であれば、オゾン処理及びGAC処理において対応が可能である。

消毒副生成物のモニタリングと制御：ジクロロ酢酸については、給水末端における低濃度(減少)期間が見られた。この期間におけるジクロロ酢酸濃度の低下は遊離残塩濃度の低下に伴い発生したと考えられる。THMとハロ酢酸(HAA)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。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処理と処理工程が進むにつれて、相関関係は弱くなる傾向にあった。GAC処理水中の蛍光強度の経年変化を測定することで、消毒副生成物生成能の除去性を調査したところ、GAC吸着池の通水倍率に比例して処理水中の蛍光強度は増加し、水温が高くなるほどその増加割合は大きいこと、蛍光強度(Ex 330 nm/Em 430 nm)は総トリ

ハロメタン生成能との相関が高く、前駆物質の存在量を把握する指標として有用であることを示した。豪雨時の消毒副生成物濃度の上昇を確認した。

ハロベンゾキノロン類：スワニー川フルボ酸(SRFA)とポニー湖フルボ酸(PLFA)をHPLCで分画して各画分中のDCBQ生成能を見たところ、いずれのNOMも、DCBQ生成能が高い画分はUV254の吸収を持つ画分であった。一方、UV<sub>254</sub>が低いPLFAの方がDCBQ前駆物質を多く含むことが示された。さらに、PLFAの前駆物質には芳香族アミン類が寄与していた。一方で、p-芳香族アミン類から比較的高濃度でp-quinone-4-chloroimide(QC)が生成されることが示された。ハロベンゾキノロン類について、Chinese hamster ovary(CHO)細胞を用いた細胞毒性評価の実験系を確立し、IC50から得られる細胞毒性の強さは、p-quinone-4-chloroimide(QC) >> 2,6-dichloro-quinone-4-chloroimide(DCQC) > 2,6-dichloro-1,4-benzoquinone(DCBQ)であった。

ハロ酢酸：マンガンイオンはクエン酸およびクエン酸と類似の化学構造を持つアコニット酸のHAA生成能を増加させた。

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し、この物質は1-hexen-3-oneであることがわかった。1-hexen-3-oneは活性炭処理により最大90%除去できることを示した。珪藻類スケレトネマ・サブサルサムでも塩素処理で1-hexen-3-oneが放出または生成された。

全国の浄水場における消毒副生成物の網羅的調査：10月では、トリハロメタン、トリハロ酢酸、トリハロアルデヒド、ジハロ酢酸、ジハロアセトニトリルの順に濃度は高かった。1月では、トリハロメタン、トリハロ酢酸、ジハロ酢酸、トリハロアルデヒド、ジハロアセトニトリルの順に濃度は高かった。塩素化体の消毒副生成物濃度は関連性があり、また、消毒副生成物間のbromine incorporation factor(BIF)に関連性が認められた。さらに、原水の臭化物イオン濃度が高い場合に消毒副生成物のBIFも高い傾向にあった。

分科会参加事業者によるハロ酢酸の実態調査

：目標値案が示されたプロモクロロ酢酸、プロモジクロロ酢酸の検出率は、全国調査の方が消毒副生成物分科会より高かった。最高値はいずれの調査でも、それぞれ目標値案の40%超、50%超であった。

シアン化合物:オゾン注入率とシアン化合物濃度の関係については、夏期・冬期ともにオゾン注入率が高くなると、オゾン処理水でのシアン化合物が増加する傾向であり夏期の最大で0.0079 mg/L (基準値の8割程度) 検出されているが、GAC 以降の処理においては、シアン化合物は不検出であった。

基準項目の未規制項目としての妥当性: 未規

制消毒副生成物の濃度と総トリハロメタン等基準項目の「緩い関係性」について、国内水道事業体の測定データを用いて解析を行った。図7に示すように、検出例がある多くの物質について関係性があるケースが認められ、現行の基準項目がある程度未規制消毒副生成物の目安(マーカー) となる可能性が示された。

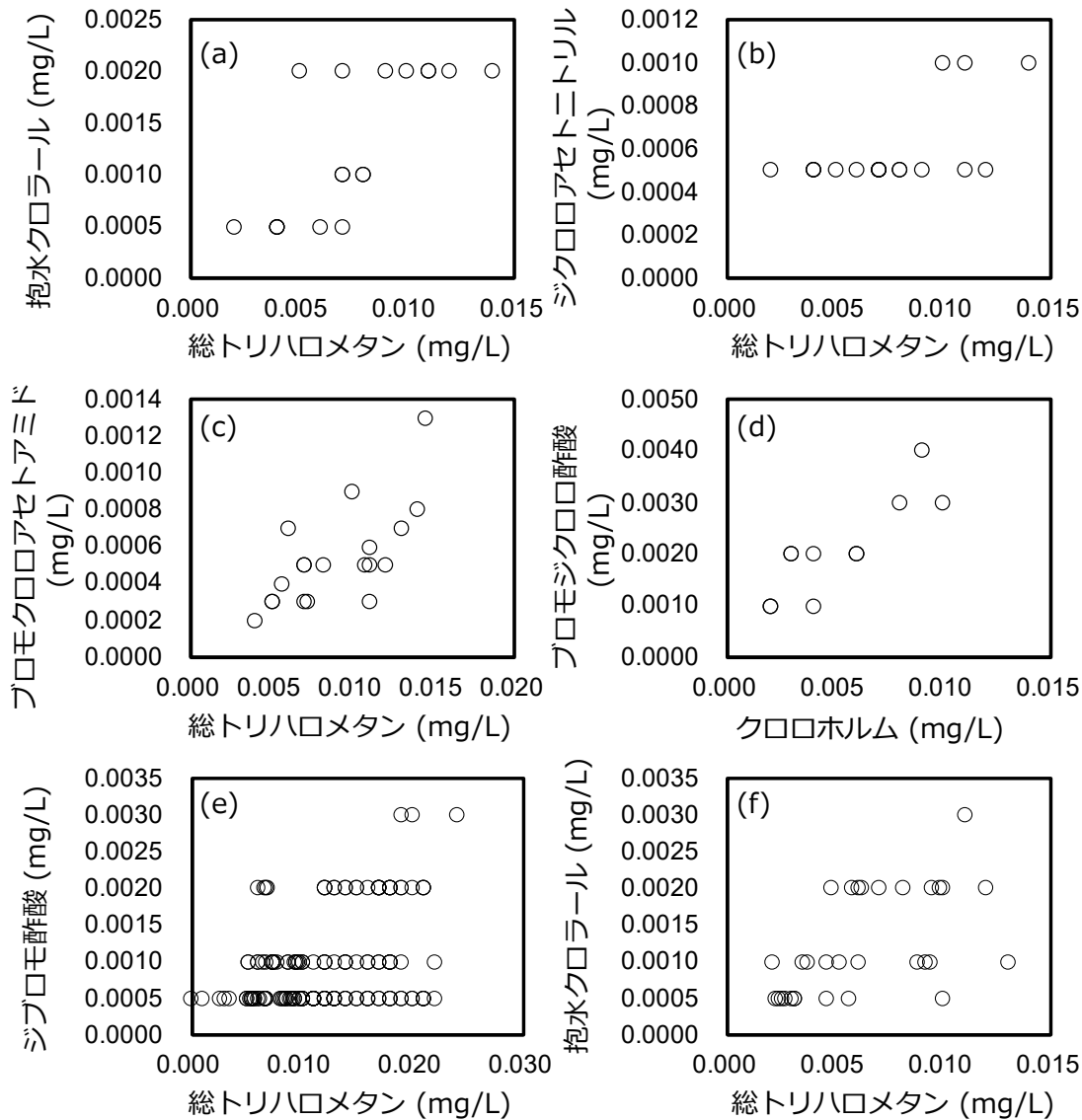


図7 確認された関係性の例 ((a),(b)C 事業体-1, (c)D 事業体-2, (d)F 事業体, (e) H 事業体-1, (f)I 事業体)

#### (4) 臭気物質

全揮発性窒素化合物 (TPN) の測定法の最適化を試み、TPN を精度良く定量する手法を構築した。その手法を用いて、新潟市の2つの浄

水場にて TPN と臭気強度の関係を調べたところ (図8), TPN が低い場合は、臭気強度が70を超えるような高い臭気が観察されることはなく、TPN をカルキ臭の管理に用いることが



できる可能性が示された。

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がベンズアルデヒドである可能性が高いと推察された。一方で、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、トリオキサソールやベンズアルデヒドが確認された。

窒素化合物のうち、塩素との反応性が高いと考えられる部位を持つ物質について 30 物質を対象物質に選定しさらに構造（一～三級アミン、無機物質、アミノ酸、アミノ糖）から分類した。30 種の対象物質のカルキ臭生成能は 5 倍異なり、アルキルアミンについては第一級アミンが第二、三級アミンより臭気強度（TON）生成能が高いことがわかった。トリクロロアミン生成能とカルキ臭生成能の関係を見たところ、対象物質の多くは、トリクロロアミンが主なカルキ臭原因物質であるが、8 物質については、トリクロロアミン以外の物質が主なカルキ臭原因物質であると考えられた。TPN とカルキ臭生成能の関係から、多くの物質の場合、TPN に寄与する主な物質はトリクロロアミンであるが、一部の物質については、臭気強度の強い含窒素化合物、臭気強度の低い含窒素化合物が TPN に寄与していることが示された。一級アミンであるメチルアミン、エチルアミン、シクロヘキシルアミンのほとんどがジクロロ体へと変化していることがわかった。物質のほとんどがジクロロ体へと変化していることから、これらのジクロロ体がカルキ臭原因物質である可能性が高い。三級アミンである *N*-メチルピペリジンと *N,N*-ジメチルアニリンそれぞれを塩素処理した生成物から、*N,N*-ジクロロ-*N*-メチルアミン(DCMA)とみられる物質の生成を確認した。生成量はメチルアミンに比較して少ないものの、三級アミンからジクロロ体の生成を確認できたことは、三級アミンと塩素の反応経路を解明するための手がかりになると期待される。

アンモニアを対象とした場合、二段階塩素処理により、トリクロロアミンと 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トリクロロアミンと TON の低減効果は認められなかった。また、

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トリクロロアミンの生成は低下した。しかし、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合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、トリクロロアミンの低減効果は示された。また、今回対象とした窒素化合物については、トリクロロアミン生成量の低減に対して二段階塩素処理が有効であることが確認できた。また、メチルアミン、エチルアミン、*N,N*-ジメチルアニリンそれぞれを塩素処理した際に生成されるジクロロ体の生成量の低減に対しては、二段階塩素処理の効果が小さいことがわかった。

千葉県企業局の各浄水場浄水に含まれるアミン類を誘導体化 GC/MS 法により分析したところ、メチルアミン、エチルアミン・ジメチルアミンが検出された。検出されたアミン類は、水源、処理方法によらず各浄水場の浄水から検出されたことから、千葉県企業局においては浄水中にアミン類が普遍的に存在していると考えられた。しかし、これらのアミン類由来の臭気強度を推定したところ、メチルアミンは 1.5 程度であり、エチルアミン・ジメチルアミンは、臭気強度への寄与がエチルアミンであれば 3.6、ジメチルアミンであれば 0.2 であると見積もられ、浄水臭気への寄与は限定的であると判断された。

臭気物質の浄水処理性を室内実験で調べたところ、フェノール類とトリハロゲン化アニソール類は、オゾン-活性炭処理によりほぼ完全な除去が期待できたのに対し、臭気前駆物質であるシクロヘキシルアミンは 70%~程度の除去に留まった。一方、シクロヘキシルアミンから塩素との反応で生成される臭気物質である *N,N*-ジクロロシクロヘキシルアミンは、粉末活性炭、あるいはオゾン処理でほぼ完全に除去できた。よって、水源水質事故により、原水のシクロヘキシルアミン濃度が高くなった場合には、高度浄水処理を行う場合でも、前塩素注入により *N,N*-ジクロロシクロヘキシルアミンへ変換し、処理を行うことが効果的であると考えられた。

アンケート調査により、水道事業体では、臭気と臭気強度のいずれも塩素臭以外の臭気を対象としていたが、臭気の場合は残留塩素を消

去せず、臭気強度の場合は消去している事業体と消去していない事業体があることが分かった。臭気強度について、残留塩素を消去していない事業体では、臭気の場合と同様に検査員の経験を基に評価が行われていた。一方、残留塩素を消去している事業体では、臭気強度の評価に際し、塩素臭の影響は無いと考えられるが、塩素処理によって生成した臭気のうち、用いた還元剤によって消失されない臭気があった場合には臭気強度に含まれていると推察された。

文献調査を行い、カルキ臭の対応集としてま

とめた。一部のカルキ臭原因物質は質量分析計、比色法等により分析可能であり、また、TPN といった総合指標も提案されていることがわかった。また、カルキ臭原因物質やカルキ臭前駆物質の低減策として、活性炭処理、オゾン処理、紫外線処理、イオン交換処理が検討され、原因物質と前駆物質の両方に有効な場合、一方に有効な場合があった。一部のカルキ臭原因物質は、塩素処理条件の変更によっても低減可能であった。

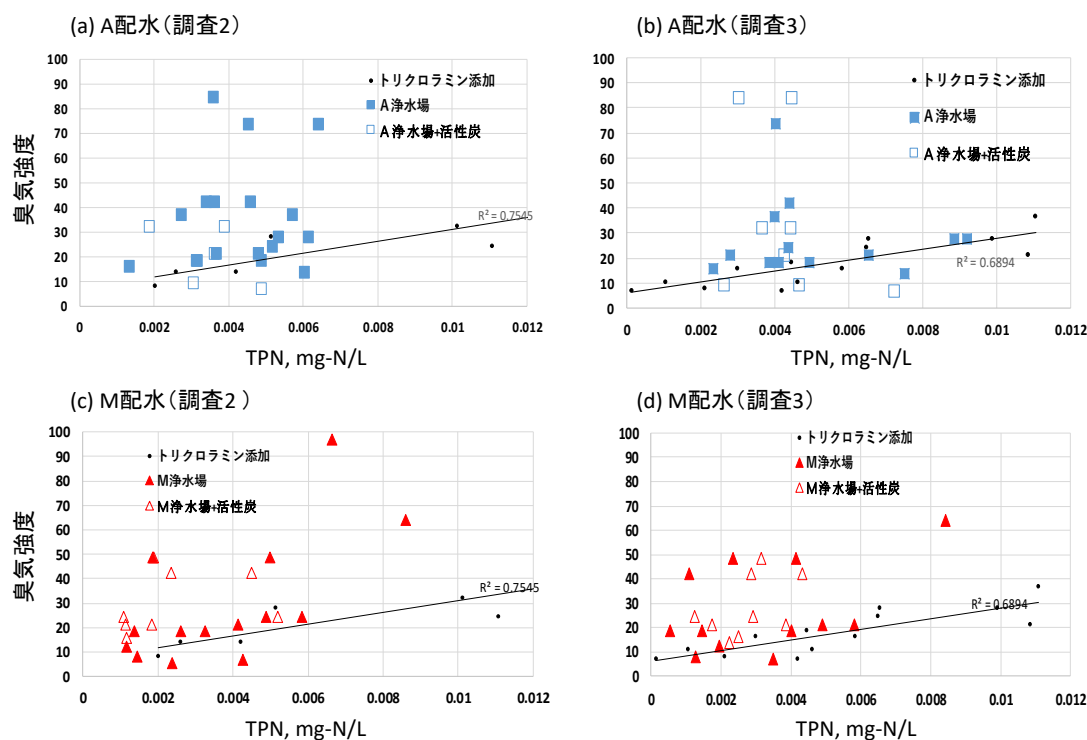


図8 TPN と臭気強度の関係

### (5) リスク評価管理

揮発性を考慮したベンゼン、ジクロロメタン、四塩化炭素の水道水質基準値の評価: 経口経路以外の間接曝露を考慮したベンゼンの水道水質基準のリスク評価を行った。揮発経路の吸入曝露や経皮曝露を想定すると、間接飲水を含む飲水当量の分布の 95%ile 値を許容しうる暴露量とすれば、飲水当量値は水質基準を算出する際に用いられる 2 L/day の直接飲水量の 2 倍程度であった。現行のベンゼンの水道水質基準値 10 µg/L は直接飲水量 2 L/day に基づいて算出しているが、間接曝露を合算して考慮すれば、現行の水質基準値の値の半分の 5 µg/L 程度が

導出された。間接曝露を考慮したジクロロメタンと四塩化炭素の質基準値の評価をおこなった。1-2. ジクロロメタンが基準値濃度(0.002 mg/L)である水道水を使用した場合、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(0.02 mg/L)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。

水道汚染物質の亜急性評価値に関する研究: 水道水質基準項目のうち無機化合物 6 項目について短期間曝露を対象とした saRfD を用いて亜急性参照値を算出した。カドミウム、セレ

ン、水銀については生涯曝露を前提とした基準値の3～10倍以上高い値となった。一方、ヒ素、鉛及び六価クロムについては、亜急性参照値は基準値と同値であった（表3）。

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。その結果、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、水道水中目標値の試算を行うことが出来た（表4）。この中で、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。

PFOS 及び PFOA の POD (Point of Departure) を設定し、それぞれ 0.1, 1 mg/kg/day に対する内部曝露量をヒト等価量に換算した結果、使用するヒトの半減期の値に応じて、PFOS:  $5.9 \times 10^{-4} \sim 1.9 \times 10^{-3}$  mg/kg/day 及び PFOA:  $8.4 \times 10^{-4} \sim 2.5 \times 10^{-2}$  mg/kg/day となった。これらの値を用いて参照用量を計算すると PFOS:  $2.0 \times 10^{-5} \sim 6.3 \times 10^{-5}$  mg/kg/day, PFOA:  $2.8 \times 10^{-6} \sim 8.4 \times 10^{-5}$  mg/kg/day となった。水道水中の目標値を試算すると PFOS: 50～158 ng/L, PFOA: 7～210 ng/L となり、現行の暫定目標値を含む範囲となることが示された。しかしながら、今後半減期や疫学情報などのヒトにおける知見が集積される事によって、より精度の高い目標値の算出が可能となると考えられた。

表3 成人及び小児の亜急性参照値及び基準値との比較

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

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

\* 基準値導出に用いられた割当率：60%

表4 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 <sub>10</sub>	2.13	-	VSD $10^{-5}$	$2.13 \times 10^{-4}$	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 <sub>10</sub>	230	1000	TDI	0.23	0.6
				-	VSD 10 <sup>-5</sup>	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 <sub>10</sub>	3.27	-	VSD 10 <sup>-5</sup>	3.27×10 <sup>-4</sup>	0.01
ブロモジク ロ酢酸	ラット2年間飲水投 与試験 悪性中皮腫	BMDL <sub>10</sub>	2.83	-	VSD 10 <sup>-5</sup>	2.83×10 <sup>-4</sup>	0.01

## (6) 水質分析法

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

GC-MS 水道水中農薬スクリーニング分析：GC-MS データベースについて，GC-MS (アジレント・テクノロジー社製 8890/5977) を用い，176 種農薬類を対象としたスクリーニング分析を検討し，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ことが必要である。

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。

**GC/MS ターゲットスクリーニング分析法：**水道水質検査への GC/MS ターゲットスクリーニング分析法の適用において，データベース作成時と試料測定時の装置状態の違いによる定量誤差について検証するため，水質検査の対象農薬としてリストアップされている 172 農薬を対象に，メーカーが異なる 2 台の装置（GCMS-QP2010Plus および JMS-Q1050GC）を用いて GC/MS ターゲットスクリーニング分析用の検量線データベースを異なる時期に合計 7 回作成し，各農薬の検量線の傾きや，それらの検量線から得られる定量値を相互に比較した。各農薬の検量線の傾きを比較した結果，いずれの装置でも各農薬と保持時間が最も近い内標を用いて作成した検量線が，複数回の測定で最も再現性がよい結果となった。また，JMS-Q1050GC において，装置の移設前後（2017 と 2018-1）および

移設後（2018-2, 2019, 2021）に合計 5 回測定して作成した検量線を比較した場合、移設後に繰り返し測定して作成した検量線の方が良好な再現性が得られたことから、検出感度等の装置状態を一定に保つことが、良好な定量精度を得るために重要であることが分かった。各農薬の検量線の定量下限における定量値を比較した結果、同一の装置で作成した検量線データベースを用いた場合は、ほとんどの農薬が 5 倍以内の定量誤差で測定できることが分かった。これらの結果から、水道水に含まれる可能性の高い農薬を広く検索した上で検出農薬の目標値の超過を評価するための手法として、GC/MS ターゲットスクリーニング分析法は有用と考えられた。定量誤差の要因として装置感度の変化が考えられたことから、ターゲットスクリーニング分析法を水道水試料に適用する際には、検量線データベース作成時と同様に良好な装置感度を保つことが重要である。そのため、ターゲットスクリーニング分析時の装置状態の評価方法の確立が今後の課題と考えられる。

LC-QTOFMS による農薬類スクリーニング分析法：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（液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析計）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。さらに、LC-QTOFMS スクリーニング分析法を水道原水、浄水および水道水源河川水の実試料に適用した結果、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

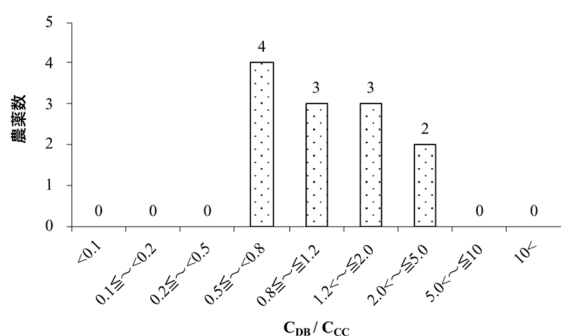


図 9 1 地点から検出された農薬類の  $C_{DB}$  (データベースによる定量値) /  $C_{CC}$  (検量線による定量値) の分布

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、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。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った。

さらに、LC-QTOFMS を用いたスクリーニング分析法について実試料による定量精度の評価を行った。その結果、実試料から同定された 74 種の農薬類の約 86% が濃度比 0.5 ~ 2.0 で分析可能であることがわかった (図 9, 10)。したがって、LC-QTOFMS を用いたスクリーニング分析法は検査対象とする農薬の選定や検出オーダーの把握に非常に役立つ、簡便に農薬類を測定する手段として有用であることが明らかになった。ただし、定量誤差が大きかった農薬類も存在したことから、これらの農薬類については引き続きの改良とその結果の取り扱いに注意が必要である。

ヘリウム代替キャリアーガスを用いた揮発性有機化合物の分析条件の検討：分析条件検討と、精製水・水道水の添加回収試験により分析方法の妥当性を評価した結果、ヘリウムガスを用いた場合と比べ全体的に感度の低下が見られたが、水質基準の 1/10 の定量下限まで分析は可能であり、妥当性評価の目標を満たした。

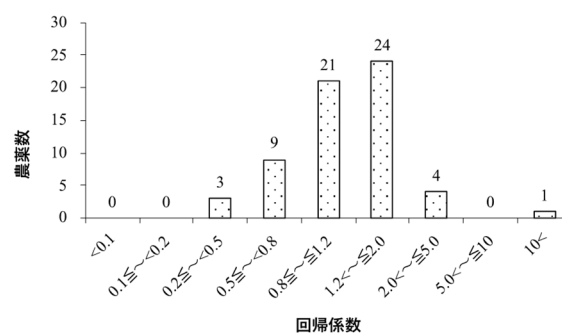


図 10 2 地点以上から検出された農薬類の回帰係数の分布

## D. 結論

### (1-1) 微生物（ウイルス）

国内 21 箇所の浄水場における PMMoV の濃度の最大値はろ過水、浄水ともに  $3.4 \log_{10}$  copies/L だった。原水において 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、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。PMMoV よりも RVA 濃度が高かった 7 地点の浄水場原水試料に適用したところ、ウシヤブタの RVA 遺伝子型が高頻度で検出された。凝集-MF 膜ろ過処理と UF 膜ろ過処理による PMMoV の除去率は  $0.6-1.5 \log$ ,  $1.7 \rightarrow 2.6 \log$  であった。CVB5 の  $9 \log$  不活化に必要な CT 値は pH7.0 で  $40 \text{ mg-Cl}_2\text{-min/L}$ 、pH 8.0 で  $100 \text{ mg-Cl}_2\text{-min/L}$  程度であった。水環境中に存在するエンテロウイルスの遺伝子型内で遊離塩素やオゾンの耐性が大きく異なり、実験室株よりも遊離塩素耐性の高い野生株が存在する。水道事業者の水質担当者がろ過水や浄水中の PMMoV を簡便に検査することを想定し、PMMoV を添加した水道水試料を用いて検査方法を検討した結果、Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit を用いることで水道水に  $10^3$  copies/L のオーダーで含まれる PMMoV を検出できることがわかった。

### (1-2) 微生物（細菌）

バイオフィームが形成している BAC 内ではレジオネラ属菌などの細菌が定着・再増殖し、処理水へ流出していく可能性がある。全国 21 浄水場の原水、ろ過水、浄水の調査では、一般細菌数と従属栄養細菌数に相関関係が確認されたものの、浄水とろ過水においてはバラツキが大きく、細菌類の再増殖による影響であると考えられた。文献調査では、従属栄養細菌数によるレジオネラ陽性判定が可能とした報告もあったが、相反する報告も多数あり、従属栄養細菌数レベルとレジオネラ属菌数またはその陽性率の間の関係については、議論継続中であった。室内試験ではレジオネラ属菌の安定的な再増殖は確認できなかったが、FLA は多くの試料で再増殖が起こり、従属栄養細菌数とその先行指標となりうる可能性が指摘された。レジオネラ汚染の制御方法に関する検討では、山間部に位置する小規模な配水区域を対象としてレジオネラ属菌に関する調査を実施し、残留塩素 ( $0.4 \text{ mg/L}$  以上) の管理の重要性を改めて指

摘した。さらに再増殖は週 1 回以上の塩素接触によって抑制される兆しが確認された。

### (1-3) 微生物（寄生虫等）

日本全国の水道原水から年 50 件ほどの汚染が報告され、11 年間にクリプトスポリジウムは 618 件、ジアルジアは 573 件あった。クリプトスポリジウム検査の訓練により検査技術の維持が確認できた。クリプトスポリジウム汚染の検査対象を従来の河川水から下水放流水とし  $1 \text{ 個/L}$  レベルで汚染の恐れを判断すれば、検査感度の向上には有用と考えられた。

### (2) 化学物質・農薬

平成 30 年～令和 2 農薬年度の農薬製剤出荷量はほぼ 22 万 t で同じであった。平成 30 年以降新たに 22 種の化学物質が新たに農薬として登録されており、このうち 12 種は水稻適用農薬であった。一方、平成 30 年以降、12 種が農薬登録を抹消されていた。農薬類の検出濃度は、原水では 8 農薬の最大検出濃度が  $1 \mu\text{g/L}$  を超過し、浄水では 13 農薬の最大検出濃度が  $0.1 \mu\text{g/L}$  を超過していた。個別農薬評価値は、原水ではモリネートも高い値を示した。浄水では、15 農薬の最大個別農薬評価値が 0.1 を超えていた。Σ 値の推移を見ると、浄水の Σ 値は低い値で推移していた。したがって、浄水ではこれまでの農薬の検出実施を踏まえ活性炭の注入など適切な対応を講じられた結果と考えられた。エチプロールを塩素処理したところ分解物が検出され、エチプロールスルホンであると推察された。エチプロールスルホンは塩素の存在下の 24 時間後でもその大半が残存していた。

水道事業の農薬類の委託検査において、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。メチダチオンとピリダフェンチオンは塩素処理でオキソン体が生成し、さらに ChE 阻害を示したことから、オキソン体も測定対象に組み込む必要があると提言された。

23 浄水場の原水・浄水から 9 種の PAFS が検出された。PFOA の濃度が最も高かったが、PFOA と PFOS の合計が目標値 ( $50 \text{ ng/L}$ ) を超える試料は無かった。粉末活性炭処理では、Log D が大きい（疎水性が高い）PFAS ほど除去率が高かった。

家庭等の蛇口のごく初流水の約 3 割で鉛の基準値を超過する場合があります。青銅製の蛇口からの溶出が多かった。浸出性能試験では樹脂材質の給水栓から鉛の検出やニッケルの目標値  $1/10$  超過する事例があった。

### (3) 消毒副生成物

HAcAms は追加塩素により増加し、さらに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。

高濃度の塩素酸の事例について調査した。原因は、貯蔵槽への継ぎ足し方式の補充による次亜塩素酸の劣化であった。その他、温調設備がないことや高アンモニア態窒素濃度等のための高注入量があげられた。多摩川においてパラベン類と下水処理水との関係が示唆されたが、長沢浄水場における塩素化パラベン類は未検出であった。PHMA-nP は比較的高い値で検出されたが、下流では低値となった。

淀川水系周辺における実態調査では、DMP 及び DMP 塩素化物が検出された。1,3,5-THB は弱塩素を注入した場合、粉炭による処理性が低下する。ADC は凝集沈澱処理において高 PAC 注入率と低 pH 制御でクロロホルム生成能とジクロロ酢酸生成能を低減できた。ジクロロ酢酸が給水末端において低濃度（減少）期間が見られ、遊離残塩濃度の低下に関連していると考えられた。

THM と HAA 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。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。蛍光強度(Ex 330 nm/Em 430 nm)はトリハロメタン前駆物質の存在量を把握する指標として有用である。PLFA と SRFA の DCBQ 生成能が高い画分は UV254 の吸収を持つ画分であった。p-芳香族アミン類から比較的高濃度で QC が生成している。ハロベンゾキノンの CHO 細胞毒性は  $QC \gg DCQC > DCBQ$  であった。

マンガンイオンはクエン酸などの HAAFP を増加させる。珪藻オーラコセイラやスケルトネマ・サブサルサムの塩素処理により、薬品臭を有する副生成物が 1-hexen-3-one が生成する。

全国調査では、10 月では、トリハロメタン、トリハロ酢酸、トリハロアルデヒド、ジハロ酢酸、ジハロアセトニトリルの順に濃度は高かった。1 月では、トリハロメタン、トリハロ酢酸、ジハロ酢酸、トリハロアルデヒド、ジハロアセトニトリルの順に濃度は高かった。消毒副生成物間の BIF 関連性が認められた。ブロモクロロ

酢酸とブロモジクロロ酢酸の最高値はそれぞれ目標値案の 40%超、50%超であった。現行の基準項目がある程度未規制消毒副生成物の目安（マーカー）となる可能性が示された。オゾン注入率が高くなるとシアン化合物が増加する傾向であったが、GAC で除去されていた。

### (4) 臭気物質

TPN を精度良く定量する手法を構築した。TPN が低い場合は、臭気強度が 70 を超えるような高い臭気が観察されることはなく、TPN をカルキ臭の管理に用いることができる可能性が示された。

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物質としてベンズアルデヒドが推察された。珪藻類に由来の塩素処理後の臭気物質としてトリオキサンやベンズアルデヒドが確認された。

窒素化合物の内、アルキルアミンについては、第一級アミンが第二、三級アミンより臭気（TON）生成能が高い。一級アミンのほとんどがジクロロ体へと変化し、カルキ臭原因物質原因物質である可能性が高い。三級アミンからは DCMA とみられる物質が生成した。窒素化合物の塩素処理後の主なカルキ臭原因物質はトリクロラミンであるが、いくつかの窒素化合物についてはトリクロラミン以外の物質が主なカルキ臭原因物質であると考えられた。多くの場合、TPN に寄与する主な物質はトリクロラミンであるが、一部の物質については、臭気強度の強い含窒素化合物、臭気強度の低い含窒素化合物が TPN に寄与していることが示された。

二段階塩素処理により、アンモニアや多くの窒素化合物については、トリクロラミン、TON の低減効果があるが、3 種のアミン類については、低減効果は認められなかった。しかし、Br が共存する場合トリクロラミンの生成は低下した。

千葉県企業局の各浄水場の浄水中にアミン類が普遍的に存在していることが分かったが、浄水臭気への寄与は限定的であると判断された。臭気前駆物質であるシクロヘキシルアミンのオゾン-活性炭処理に除去率は 70%~程度の除去に留まった。シクロヘキシルアミンの塩素処理臭気物質である N,N-ジクロロシクロヘキシルアミンは、粉末活性炭、あるいはオゾン処理でほぼ完全に除去できた。アンケート調査により、水道事業体では、臭気と臭気強度のいずれも塩素臭以外の臭気を対象としていたが、臭気の場合は残留塩素を消去せずに、臭気強度



の場合は消去している事業体と消去していない事業体があることが分かった。

#### (5) リスク評価管理

揮発経路の吸入や経皮の間接曝露を考慮したベンゼンの水道水質基準のリスク評価を行った。間接飲水込みの飲水当量値は水質基準を算出する際に用いられる 2 L/day の直接飲水量の 2 倍程度となり、現行の水質基準値の値の半分の 5 µg/L 程度が導出された。間接曝露を考慮してもジクロロメタンと四塩化炭素の水質基準値は安全側の評価となっていた。

カドミウム、セレン、水銀の亜急性参照値は水道水質基準値の 3~10 倍以上の値となった。ヒ素、鉛及び六価クロムについては基準値と同値であった。

水道水中の目標値が設定されていない要検討項目の内、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、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、低い目標値となった。

有機フッ素化合物の参照用量は PFOS :  $2.0 \times 10^{-5} \sim 6.3 \times 10^{-5}$  mg/kg/day, PFOA :  $2.8 \times 10^{-6} \sim 8.4 \times 10^{-5}$  mg/kg/day となり、目標値は PFOS : 50~158 ng/L, PFOA : 7~210 ng/L と試算され、現行の暫定目標値を含む範囲であった。

#### (6) 水質分析法

LC/MS/MS 分析法により塩素酸、亜塩素酸、過塩素酸については、臭素酸と同時分析が可能であることが示された。

GC-MS (アジレント・テクノロジー社製 8890/5977) を用い 176 種農薬類のスクリーニング分析データベースを構築した。さらに、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。ついで、水道水質検査への GC/MS ターゲットスクリーニング分析法の適用において、データベース作成時と試料測定時の装置状態の違いによる定量誤差について検証した。同一の装置で作成した検量線データベースを用いた場合、ほとんどの農薬が 5 倍以内の定量誤差で測定できる。定量誤差の要因として装置感度の変化が考えられた。

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 (液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析計) 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し、河川水などから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。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。実試料から同定された 74 種の農薬類の約 86% が濃度比 0.5~2.0 で分析可能であった。

窒素キャリアーガスを用いた揮発性有機化合物の分析に関しては、ヘリウムガスを用いた場合と比べ全体的に感度の低下が見られたが、水質基準項目の VOC は水質基準の 1/10 まで分析可能であり、妥当性評価の目標を満たした。

#### 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. 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.

Miura, T., Takino, H., Gima, A., Haramoto, E., Akiba, M. Recovery of nucleic acids of enteric



viruses and host-specific Bacteroidales from groundwater by using an adsorption-direct extraction method. *Appl Environ Microbiol.*, 87(18), e00710-21, 2021.

Shirakawa, D., Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Yamashita, R., Matsumura, T. and Koriki, S. Evaluation of reduction efficiencies of pepper mild mottle virus and human enteric viruses in full-scale drinking water treatment plants employing coagulation-sedimentation-rapid sand filtration or coagulation-microfiltration. *Water Research*, 213, 118160, 2022.

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.

井上亘, 萩田堅一, 藤瀬大輝, 橋本温, 泉山信司, 小規模下水処理場放流水の塩素抵抗性原虫調査, *水道協会雑誌*, 90(11), 23-27, 2021

橋本温, 柳下真由子, 小林謙介, 泉山信司, 水道水質関連調査データを用いた水源のクリプトスポリジウム等検出状況とその定量的微生物リスク評価, *水道協会雑誌*, 90(4), 1-9, 2021

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*, 2020, 49(2), 31-37

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

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.

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.

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.

Matsushita, T., Kikkawa, Y., Omori, K., Matsui, Y. and Shirasaki, N. (2021) A metabolism-coupled cell-independent acetylcholinesterase activity assay for evaluation of the effects of chlorination on diazinon toxicity, *Chemical Research in Toxicology*, 34, 2070–2078.

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.

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.

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.

Nakai T., Kosaka K., Asami M. and Akiba M. Removal of halobenzoquinone precursors during advanced water purification process, *Ozone: Science & Engineering*, 2022, 44(2), 208-216.

小坂浩司, 施昊, 松本創, 越後信哉, 伊藤禎彦 (2021) 塩素処理による含窒素化合物由来のカルキ臭生成特性, *土木学会論文集 G (環境)*, 58, III\_261–III\_268.

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

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

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.

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.

小林憲弘, 土屋裕子, 五十嵐良明. イプロジオンの水中での分解性と検査法の検討. 水道協会雑誌, 90(11), 11-22, 2021.

小林憲弘, 高木総吉, 木下輝昭, 仲野富美, 古川浩司, 粕谷智浩, 松巾宗平, 寺中郁夫, 山本剛, 米久保淳, 田中誠也, 丹羽宏之, 会田祐司, 高原玲華, 齊藤香織, 五十嵐良明. 液体クロマトグラフィー質量分析による水道水中の陰イオン一斉分析法の検討と妥当性評価. 水環境学会誌, 45(2), 51-66, 2022.

小林憲弘, 土屋裕子, 五十嵐良明. GC/MS ターゲットスクリーニング分析法による水道水中農薬の定量精度の評価, 環境科学誌, 35(2), 88-102, 2022.

高木総吉, 長谷川有紀, 小池真生子, 吉田 仁, 安達史恵. GC/MS ターゲットスクリーニング分析法の水道原水および浄水への適用, 環境科学誌, 35(2), 78-87, 2022.

長谷川有紀, 小池真生子, 高木総吉, 吉田 仁, 安達史恵, 小泉義彦, 中島孝江, 竹中凜代, 山口進康. 大阪府内浄水場の水道原水および浄水中におけるイプフェンカルバゾンの存在実態, 環境科学誌, 35(2), 70-77, 2022.

古川浩司, 橋本 真, 小林珠美, 滝埜昌彦. トリ

ガーMRM 法を用いた四重極 LC-MS/MS による水道水中の農薬スクリーニング分析法の検討, 環境科学誌, 35(2), 34-49, 2022.

木下輝昭, 小田智子, 山崎貴子, 栗田 翔, 鈴木俊也, 中嶋順一, 守安貴子. 固相抽出-LC/MS 法による水道水中界面活性剤の一斉分析法の検討及び妥当性評価, 環境科学誌, 35(2), 59-69, 2022.

岩間紀知, 窪田吉洋, 中村弘揮. ダンシルクロリド誘導体化-液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析法による水道水中フェノール類の測定, 環境科学誌, 35(2), 50-58, 2022.

## 2. 学会発表

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

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

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

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

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

三浦尚之, 儀間ありさ, 徳安真理奈, 秋葉道宏. 水道原水中ウイルスモニタリングのための効率的なウイルス濃縮方法の検討. 第 56 回環境

工学研究フォーラム講演集. B35, 2019.

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

白川大樹, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦. 外来遺伝子を封入した人工合成ウイルス様粒子の創製: 培養困難なノロウイルスの浄水処理性評価への適用. 第 54 回日本水環境学会年会, 盛岡, 2020/3/16-18.

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

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

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.

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.

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.

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.

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.

三浦尚之, 門屋俊祐, 瀧野博之, 佐野大輔, 秋葉道宏. 水道水源におけるロタウイルスの遺伝的多様性解析. ウイルス性下痢症研究会 第 32 回学術集会抄録集, 20-21, 2021.

三浦尚之, 瀧野博之, 門屋俊祐, 三浦耀平, 佐野大輔, 秋葉道宏. 浄水処理におけるウイルス除去遺伝子マーカーとしてのトウガラシ微斑ウイルスの実態調査. 第 56 回日本水環境学会年会講演集, 256, 2022.

Hu, Q., Shirakawa, D., Shirasaki, N., Takagi, H., Oka, T., Matsushita, T. and Matsui, Y. (2022) Evaluating the efficacy of drinking water treatment processes to remove and inactivate human sapovirus: Application of in vitro cell-culture method. 第 56 回日本水環境学会年会, 富山大学, 2022/3/16-18 (新型コロナウイルスの影響によりオンライン開催).

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

泉山信司, 古川紗耶香, 油川一紀, 山本貢平, 今健亘, 赤坂遼平, 山崎朗子, 東北地方のある浄水場上流山間部における, げっ歯類の *Giardia* 流行調査, 日本寄生虫学会東日本大会, 2021年10月, 栃木県 (オンライン)

2. 井上亘, 泉山信司, *Cryptosporidium* のオーシスト壁の透過性に関する研究, 日本水処理生物学会, 2021年10月, 神奈川県 (オンライン)

泉山信司, 消化管寄生性原虫のクリプトスポリジウム・ジアルジアへの対応, 日本水処理生物学会, 2021年10月, 神奈川県 (オンライン)

泉山信司, 古川紗耶香, 油川一紀, 山本貢平, 今健亘, 赤坂遼平, 山崎朗子, 山間部のげっ歯類が汚染源と推定される, 腸管寄生性原虫による水道原水の汚染検出と対策の事例, 日本防菌防黴学会, 2021年9月, 大阪市 (オンライン)

井上亘, クリプトスポリジウム研究のための水質検査計画のデータの地図化およびデータベース化, 兵庫自治学会研究発表大会 2021年9月, 神戸市 (オンライン)

泉山信司, 古川紗耶香, 油川一紀, 今健亘, 赤坂遼平, 山崎朗子, 「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」, 環境技術学会, 2021年6月, オンライン

泉山信司, 「環境水 (河川, 畜舎排水, 下水放流水) 中のクリプトスポリジウム, ジアルジア調査についての研究意義と将来展望」より, 国内の検出状況等について」, 水道微生物問題研究会, 令和3年4月, 神奈川県 (オンライン)

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.

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)

井上亘, 荻田堅一, 鈴木雅和, 野村素行, 四方浩人, 水道水の感染リスク把握のための小規

模下水処理場排水の塩素抵抗性原虫調査, 水道研究発表会, 2019年11月, 函館市

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

泉山信司, クリプトスポリジウム症, 平成30年度希少感染症診断技術研修会, 平成31年2月, 東京都

泉山信司, 耐塩素性病原生物について, 水道水質検査セミナー, 平成31年2月, 青森市

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

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

安藤大将, 松下拓, 松井佳彦, 白崎伸隆. 塩素処理による農薬フェントエートの ChE 活性阻害性の変化と阻害に寄与する生成物の推定, 第56回日本水環境学会年会, 2022.

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

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

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

知見圭悟. 相模川・酒匂川の水道原水における農薬検出状況と対応. 令和元年度日本水道協会関東地方支部水質研究発表会講演集. 2019. 松下拓. 毒性からみた水道における有機リン系農薬管理枠組みの妥当性評価, 第58回環境工学研究フォーラム, 2021.

森智裕, 谷口佳二, 小田琢也. フィプロニル分解物の実態調査と活性炭処理における除去効

果. 令和元年度全国会議(水道研究発表会)講演集. 2019, 821~822.

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

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

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

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

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

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

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-キノニ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.

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

小坂浩司, 施昊, 松本創, 川口佳彦, 越後信哉,

伊藤禎彦 (2019) 窒素化合物由来のカルキ臭原因物質の生成特性, 環境衛生工学研究, 33(3), 97-99.

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

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

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

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

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)

松本真理子, 村田康允, 広瀬望, 重田善之, 磯貴子, 広瀬明彦: 水道水要検討項目「酢酸ビニル」の有害性評価 第 48 回日本毒性学会学術年会 (2021 年, 7 月)

村田康允, 重田善之, 磯貴子, 広瀬望, 松本真理子, 広瀬明彦: 水道水要検討項目「プロモジクロロ酢酸」の有害性評価 第 48 回日本毒性学会学術年会 (2021 年, 7 月)

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

Iso, Akihiko Hirose: Hazard assessment of disinfection by-products, bromo chloroacetic acid and bromo dichloroacetic acid, in drinking water 56th EUROTOX (2021 年, 9 月)

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

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

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

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

高木総吉. 水道原水・浄水試料における GC/MS ターゲットスクリーニング分析法の定量精度について, 環境科学会 2019 年会 (2019.9.14 愛知県名古屋市)

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

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

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

発表会) (2019.11.8 北海道函館市)

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

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

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

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.

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.

Takagi, S., Yoshida, J., Adachi, F., Hasegawa, Y.,

Koizumi, Y., Nakajima, T., Taniguchi, T., Yamaguchi, N. Wide Distribution of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Raw and Drinking Water in Osaka, Japan. SETAC North America 42nd Annual Meeting (online), 2021/11/14-18.

高木総吉, 鈴木俊也, 川元達彦, 小林 浩, 西村哲治, 森田久男, 石橋融子, 川崎直人, 北村壽朗, 環境試験法, 水質試験法, ペルフルオロアルキルおよびポリフルオロアルキル化合物 (PFAS), 日本薬学会第 142 年会(オンライン開催), 2022/3/26.

## F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
(該当なし)

2. 実用新案登録  
(該当なし)

3. その他  
(該当なし)

## G. 謝辞

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

表 A

### <微生物 (ウイルス) 分科会>

北澤 弘美	(公社) 日本水道協会工務部
小田 琢也	神戸市水道局事業部水質試験所
佐野 大輔	東北大学大学院工学研究科
門屋 俊祐	東京大学大学院工学系研究科
三浦 耀平	東北大学大学院工学研究科
板持 雅恵	富山県衛生研究所ウイルス部
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>

井上 亘	神戸大学大学院農学研究科
古川 紗耶香	青森市企業局水道部
鎌田 智子	神奈川県内広域水道企業団技術部
大杉 由利子	神奈川県企業庁企業局
宮本 雅史	横浜市水道局
藤瀬 大輝	川崎市上下水道局
古口 健太郎	川崎市上下水道局
森山 富美	横須賀市上下水道局
安原 雄作	九十九里地域水道企業団浄水課
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
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
中沢 禎文	国立保健医療科学院生活環境研究部
関川 慎也	八戸圏域水道企業団水質管理課
上條 宏滋	八戸圏域水道企業団水質管理課
寺嶋 誠	仙台市水道局浄水部水質検査課
浅見 真紀	茨城県企業局水質管理センター
神谷 航一	茨城県企業局水質管理センター
吉田 岳己	千葉県企業局水質センター
木下 英二	千葉県企業局水質センター
今井 美江	東京都水道局水質センター
広木 孝行	東京都水道局水質センター

	一
藤巻 志津恵	神奈川県内広域水道企業団浄水部西長沢浄水場
金子 透	神奈川県内広域水道企業団浄水部
高橋 英司	新潟市水道局技術部水質管理課
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
谷口 佳二	神戸市水道局事業部水質試験所
山口 敏彦	神戸市水道局事業部水質試験所
山本 徹	奈良県水道局広域水道センター水質管理センター
高林 泰斗	奈良県水道局水質管理センター
吉野 泰盛	広島市水道局技術部水質管理課
木村 英雄	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
大瀬 俊之	東京都水道局
今井 美江	東京都水道局
柴 雅彦	茨城県企業局
関 純子	茨城県企業局
豊田 大晃	北千葉広域水道企業団
渡邊 みどり	北千葉広域水道企業団
柿沼 良介	川崎市上下水道局
眞鍋 晋	川崎市上下水道局
船岡 英彰	京都市上下水道局
岩谷 健斗	京都市上下水道局
北本 靖子	大阪市水道局
今中 壮一	大阪市水道局
孝石 健	大阪広域水道企業団
竹田 泰治	大阪広域水道企業団

中谷 悠	奈良県水道局
山中 俊弥	奈良県水道局
片木 孝徳	阪神水道企業団
塩川 敦司	沖縄県企業局
愛甲 俊郎	沖縄県企業局
鈴木 知美	国立保健医療科学院生活環境研究部

<臭気分科会>

今井 美江	東京都水道局
大瀬 俊之	東京都水道局
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
小野 敦	国立医薬品食品衛生研究所
長谷川 隆一	国立医薬品食品衛生研究所
江馬 眞	国立医薬品食品衛生研究所
山口 治子	国立医薬品食品衛生研究所
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
馬野 高昭	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
大畑 秀雄	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
--------	--------------



	所
土屋 裕子	国立医薬品食品衛生研究所
吉田 仁	(地独) 大阪健康安全基盤研究所
安達 史恵	(地独) 大阪健康安全基盤研究所
小池 真生子	(地独) 大阪健康安全基盤研究所
長谷川 有紀	(地独) 大阪健康安全基盤研究所
鈴木 俊也	東京都健康安全研究センター
木下 輝昭	東京都健康安全研究センター
小杉 有希	東京都健康安全研究センター
飯田 春香	東京都健康安全研究センター
山崎 貴子	東京都健康安全研究センター
渡邊 喜美代	東京都健康安全研究センター
栗田 翔	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
今井 浩一	埼玉県衛生研究所
清野 弘孝	千葉県衛生研究所

橋本 博之	千葉県衛生研究所
神力 絢子	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
坂本 晃子	佐賀県衛生薬業センター
北原 健一	佐賀県衛生薬業センター
門上 希和夫	北九州市立大学
寺中 郁夫	埼玉県水質管理センター
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



令和元～3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」  
分担研究報告書

指標ウイルスを用いたリスク管理方法の検討  
- 微生物（ウイルス）分科会 -

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

本研究では、浄水処理プロセスにおけるウイルス除去を示す遺伝子マーカーとして、トウガラシ微斑ウイルス（PMMoV）の有効性を示すことを目的として、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。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 PMMoV よりも RVA 濃度が高かった 7 地点の浄水場原水試料に適用したところ、ウシやブタの RVA 遺伝子型が高頻度で検出された。また、一部ではヒトの遺伝子型が優占した試料も確認され、遺伝子型を解析し宿主動物を特定することが重要であることが示された。国内 21 箇所の浄水場において 3 年間に渡ってろ過水および浄水試料（それぞれ N=105）を収集し、PMMoV の実態を調査した。PMMoV は、ろ過水で 4.8–43%，浄水で 9.5–48%の試料から検出され、濃度の最大値はろ過水、浄水ともに 3.4 log<sub>10</sub> copies/L だった。

凝集-MF 膜ろ過処理を実施している国内の浄水場 Y における PMMoV の処理性を評価した。その結果、ウイルスの除去率は 0.6–1.5 log であり、5 回の採水において得られた平均値は 1.0 log だった。この値は、浄水場 Y の凝集-MF 膜ろ過処理を模した室内実験において得られた PMMoV の除去率と同程度であったことから、実浄水場におけるウイルスの除去率を室内実験により再現できることが示された。また、UF 膜ろ過処理を実施している国内の浄水場における PMMoV の除去率を評価した。計 5 回の採水において、浄水場 Z 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（定量下限値以下の値を除く）は 2.1 log となった。

ことから、UF 膜ろ過処理のウイルス除去への有効性が示された。

塩素消毒における病原ウイルスの不活化を保証する CT 値を検討することを目的として、高不活化率を評価可能な大容量の実験系を用いることにより、塩素消毒の対象となる水（塩素処理対象水）の水質の差異がコクサッキーウイルス B5 型（CVB5）の不活化率に与える影響を評価した。その結果、塩素処理対象水の pH は、CVB5 の不活化に大きく影響し、pH 7.0 のリン酸バッファーを用いた場合においては、9 log 不活化に必要な CT 値は 40 mg-Cl<sub>2</sub>·min/L 程度であったのに対し、pH 8.0 においては、100 mg-Cl<sub>2</sub>·min/L 程度の CT 値が必要であることが明らかとなった。一方、実際の塩素消毒が行われている実浄水場の砂ろ過水（pH 7.1–7.2）を用いた場合の CVB5 の不活化率は、pH 7.0 のリン酸バッファーを用いた場合と概ね同程度であったことから、塩素処理対象水（濁度が管理されている水）の pH が同程度の場合においては、水質の差異がウイルスの不活化に与える影響は小さいものと判断された。本研究でこれまでに PMMoV の除去性を評価した浄水場 X, Y, Z 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-Cl<sub>2</sub>·min/L の CT 値が確保されていることから、塩素処理対象水の水質の差異を考慮した場合であっても、浄水場で実施されている塩素消毒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。

2002–2018 年に富山県内の下水処理場の流入水、河川水中から検出されたコクサッキーウイルス B3 型（CVB3）、CVB4、CVB5、エコーウイルス 11 型（E11）の野生株、およびそれぞれの基準株を用いて、遊離塩素、紫外線、およびオゾンによる処理性を評価した。その結果、基準株からの遺伝的な変異に伴い遊離塩素耐性やオゾン耐性も株間で異なることが明らかになった。遊離塩素では基準株と比して 2.3 倍、オゾンでは 2 倍程度高い耐性を有す株が存在した。実験室株データを用いて遊離塩素及びオゾンによるウイルス不活化効率を推定する際は、実プラントの除去率が過大評価される可能性が示された。また、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。さらに、塩素耐性が高いことが報告されるエンテロウイルスを幅広く調査し、遊離塩素耐性の高いウイルスを同定した。その後、水道水質がウイルスの不活化に与える影響を調査し、年間を通じて 8 log の不活化を達成するために必要な遊離塩素 CT 値の推定を行った。

水道事業者の水質担当者がろ過水や浄水中の PMMoV を検査することを想定し、PMMoV を添加した水道水試料を用いて検査方法を検討した結果、40 mL の試料から 40 μL の核酸を抽出・精製するキットを用いることで、水道水に 10<sup>3</sup> copies/L のオーダーで含まれる PMMoV を検出できることがわかった。

## A. 研究目的

微生物（ウイルス）分科会では、水道における病原ウイルスのリスク管理方法として、浄水処理プロセスにおけるウイルス除去の指標としてトウガラシ微斑ウイルス（PMMoV）を用いること、および塩素消毒による病原ウイルスの不活化を保証するパラメータとして CT 値（C: 遊離塩素濃度 × T: 接触時間）を用いることを検討した。令和元年度から令和 3 年度にかけては、浄水処理プロ

セスにおけるウイルス除去遺伝子マーカーとしての PMMoV の有効性、塩素消毒における病原ウイルスの不活化を保証する条件、および水道事業者の水質担当者が実施しやすい PMMoV 検査方法を示すことを目的として、以下に示す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 PMMoV の濃度変動調査
- 2) PMMoV よりもロタウイルス A（RVA）濃度

が高かった原水試料に含まれる RVA の遺伝子型解析

3) 表流水を水源とする国内 21 箇所の浄水場におけるろ過水および浄水中の PMMoV の実態調査

4) 凝集-MF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性評価

5) 実浄水場の UF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性評価

6) 塩素処理における病原ウイルスの不活化特性評価

7) 遊離塩素、紫外線、オゾン処理によるウイルスの不活化効率

8) 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

9) 水質による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評価

10) 水道水中の PMMoV 検査方法の検討

これら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

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<sup>1, 2)</sup>、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。水源における PMMoV の実態を明らかにすることを目的とし、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た。2018 年 1 月から 2021 年 1 月にかけて胃腸炎の非流行期（9-10 月）および流行期（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 の濃度およびその関係を調査した。

#### A2. 原水の RVA 遺伝子型解析

表流水を取水する一部の浄水場において PMMoV よりも RVA 濃度が高い原水試料が確認されたため<sup>3)</sup>、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<sup>4)</sup>。開発した手法を用いて、PMMoV よりも RVA 濃度が高かった原水試料中の RVA 遺伝子型を解析し、汚染源となる宿主動物を明らかにすることを目的とした。

#### A3. ろ過水・浄水の PMMoV 実態調査

これまでに、実規模の浄水場において採水されたろ過水や給水栓水試料から PMMoV の検出報告はあるが<sup>5, 6)</sup>、国内の複数の浄水場における実態は調査されてこなかった。PMMoV は塩素処理によって遺伝子数がわずかにしか減少しないことが知られており、前塩素処理や中間塩素処理を実施している浄水場においてもウイルス除去遺伝子マーカーとして利用できると考えられる。本研究タスクでは、国内 21 箇所の浄水場から原水、ろ過水、浄水試料を収集し、PMMoV の実態を明らかにすることを目的とした。

#### A4. 凝集-MF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性

これまでに室内実験において、代表的な物理的処理である凝集沈澱-砂ろ過処理、MF 膜ろ過処理、凝集-MF 膜ろ過処理、および UF 膜ろ過処理における PMMoV の除去率と水系感染症ウイルスの除去率の間に高い相関関係が認められた。また、PMMoV の除去率は、水系感染症ウイルスの除去率と同程度、あるいはやや低く<sup>7, 8)</sup>、水系感染症ウイルスの凝集沈澱-砂ろ過処理性、膜ろ過処理性を評価する上での挙動指標としての PMMoV の有効性が示された。本研究タスクでは、これまでに構築したウイルス濃縮法を適用することにより、凝集-MF 膜ろ過処理を実施している国内の浄水場における PMMoV の処理性評価を実施した。また、実浄水場の処理工程水を用いた凝集-MF 膜ろ過処理の室内添加実験を実施し、室内実験の有効性を評価した。

#### A5. 実浄水場の UF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性評価

昨年度までに、PMMoV を効果的に濃縮・回収可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 の処理性評価に成功しており、1-2 log 程度の除去率が得られることを報告している<sup>9)</sup>。また、UF 膜ろ過処理を実施している実浄水場における PMMoV の処理性評価についても実施しており、限られた採水回数ではあるものの、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) の除去率が得られている。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調査を継続し、PMMoV の処理性を明らかにすることを目的とした。

#### A6. 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)<sup>10,11)</sup>、粒子除去工程 (凝集沈澱-砂ろ過処理, 凝集-MF 膜ろ過処理, UF 膜ろ過処理) において期待されるウイルスの低減率 (1-2 log 程度)、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、最大 9 log のウイルス低減を後段の塩素消毒により達成する必要があるものと考えられる。このような状況を踏まえ、昨年度は、ウイルス濃縮法を組み合わせた大容量の塩素処理実験系を構築・適用することにより、pH 7.0 のリン酸バッファーを用いた場合、40 mg-Cl<sub>2</sub>·min/L 程度の CT 値で塩素処理耐性の高いコクサッキーウイルス B5 型 (CVB5)<sup>12)</sup> を 9 log 不活化できることを報告している。今年度は、pH 8.0 のリン酸バッファー及び実際の塩素消毒が行われている実浄水場の砂ろ過水を用いた大容量の塩素処理実験を実施し、CVB5 の 9 log 不活化に必要な塩素処理条件を明らかにすることを目的とした。

#### A7. ウイルス遺伝子型内の耐性分布幅を考慮した遊離塩素、紫外線、オゾン処理の不活化評価

消毒剤のウイルスに対する不活化効果は、これまで基準株を対象に評価されてきた<sup>13-15)</sup>。ウイルスは核酸変異率が極めて高い<sup>16)</sup>ため、野生のウイルス株は基準株と遺伝的に乖離しており、不活化速度に差がある可能性がある。USEPA の Contaminant Candidate List 4 (CCL4) に掲載されているエンテロウイルスの野生株を対象に、野生株と基準株の消毒剤 (遊離塩素、紫外線、オゾン) への耐性の違い、および種内や遺伝型内での分布幅を評価することを目的とした。

#### A8. 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。

#### A9. 水質による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評価

都市河川では、上流都市の下水処理水が下流都市の水道水源として利用され、下水処理水の非意図的間接利用が行われており<sup>17)</sup>、通常の水道であっても、下水の飲用再利用と同様の安全確保が望ましい。下水再生水のリスク管理に先進的に取り組むアメリカ (例: カリフォルニア州) では、流入下水に対して、12 log のウイルス低減が必要であることを示している<sup>18)</sup>。例えば、下水処理として標準活性汚泥法 (2 log 程度)、浄水処理において凝集沈澱・砂ろ過 (2 log 程度) を行っている場合、8 log のウイルス除去が消毒にて達成されなければならない。したがって、消毒工程におけるウイルスの正確な不活化予測は極めて重要である。

遊離塩素消毒で達成できるウイルス不活化率は、原水の水温、pH に応じて推測がされている。例えば、USEPA では、目標不活化率を達成するために必要な CT 値を定め、遊離塩素によるウイルス不活化率を保証している<sup>12)</sup>。必要 CT 値は、Sobsey et al.<sup>19)</sup>によるリン酸緩衝液 10 mM 中の A 型肝炎ウイルスの不活化実験で得られた CT 値に安全率 3 を乗じた値となっている。これまで、水質変動はこの安全率によって保証されることが明らかにされている一方で、特定の遊離塩素耐性を有すウイルス種 (CVB5) は、安全率を掛けた CT 値をもっても目的の不活化率が達成されないことが明らかとなった<sup>13)</sup>。CVB5 は、塩素消毒においてもっとも消毒耐性が高いウイルスとして認知されている。

本研究タスクでは、まず、計 34 株のエンテロウイルスのウイルス株 [コクサッキーウイルス B3 (CVB3) : 9 株, CVB4: 10 株, CVB5: 13 株, エコーウイルス 11 (E11) : 2 株] を対象とし、実験室条件で様々なエンテロウイルスの遊離塩素耐性

を明らかにした。その後、遊離塩素耐性の高いウイルスについて、実際の水道水中での不活化率を調査した。その後、実際の水質データから水温の変動を考慮してウイルス学的安全性を担保するための CT 値を推定した。

#### A10. 水道水中の PMMoV 検査方法の検討

検出結果が浄水処理プロセスにおけるウイルスの除去を確認する指標としてろ過水や浄水の PMMoV を検査する場合においては、PMMoV 濃度がリスク評価に基づき設定された目標値以下であることを確認する。飲料水中に許容されるウイルス濃度 ( $10^5$  個/L) 以下にリスクを管理するために、例えば、日本の水道原水における水系感染症ウイルスの濃度<sup>10,11)</sup>、粒子除去工程に期待される低減率、および塩素消毒で達成される不活化率を考慮すると、ろ過水や浄水における PMMoV 濃度の目標値は  $10^4$  copies/L と試算される。本研究タスクでは、水道事業者の水質担当者が簡便に検査できる方法で、水道水試料に  $10^3$  copies/L の濃度で含まれる PMMoV が検出できる感度を有する方法を選定することを目的とした。

### B. 研究方法

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

#### B1. 水源における病原ウイルスおよび PMMoV の濃度変動調査

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 (5 L) を収集した。試料の採水は、2018 年 1 月、9 月、2019 年 1 月、10 月、2020 年 1 月、10 月、および 2021 年 1 月に実施し、計 147 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<sup>11)</sup>。すなわち、試料 1 L

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  $\mu\text{m}$ 、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  $\mu\text{m}$ 、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  $\mu\text{m}$  懸濁態画分とした<sup>11)</sup>。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<sup>11,20)</sup>。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) を用いたりアルタイム RT-PCR 法により定量した。

#### B2. 原水の RVA 遺伝子型解析

2018 年 1 月から 2020 年 10 月に掛けて国内 21 箇所の浄水場から収集した原水試料のうち、PMMoV よりも RVA 濃度が高かった試料 (N=19) を対象に RVA の遺伝子型を特定する領域 (VP7 および VP4) を nested PCR により増幅した。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った。

取得した VP7 および VP4 の PCR 産物 (アンプリコン) 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、BlastN で特定した近縁配列とともに MEGA X を用いて系統解析を行った。

#### B3. ろ過水・浄水の PMMoV 実態調査

ろ過水や浄水における PMMoV の実態を明らかにするために、B1 に記載した国内 21 箇所の浄水場の協力を得て、原水に加えて、ろ過水および浄水試料 (原水は 5–10 L、ろ過水・浄水は 10–20 L) を収集した。試料の採水は、2020 年 1 月、10 月、2021 年 1 月、10 月、2022 年 1 月に実施し、それ

ぞれ 105 検体を収集した。試料は、冷蔵状態で国立保健医療科学院に輸送した。

ろ過水および浄水試料に含まれる PMMoV は、陰電荷膜法<sup>20)</sup>により濃縮した。すなわち、試料 1 L にプロセスコントロールとしてマウスノロウイルス S7-PP3 株をおよそ  $10^8$  copies 添加・混合し、塩化マグネシウムを 50 mM となるように添加・混合した。続いて、孔径 0.45  $\mu\text{m}$ 、直径 90 mm の親水性混合セルロースエステル膜 (HAWP09000, Merck) でろ過しウイルスを膜に吸着させ、0.5 mM の希硫酸を 200 mL ろ過することで酸洗浄を行ったのちに、膜を回収した<sup>2)</sup>。回収した膜から、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、B1 に記載した原水試料と同様にリアルタイム RT-PCR 法により定量した。

#### B4. 凝集-MF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性

##### (1) 使用したウイルスの培養および定量

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

##### (2) 実浄水場の浄水処理工程水へのウイルス濃縮法の適用

実浄水場における PMMoV の処理性を評価するため、これまでに構築したウイルス濃縮法を適用し、浄水場 Y の原水および浄水処理工程水 100–2,000 L における PMMoV の濃度を定量した。2018

年 5 月, 7 月, 11 月, 2019 年 1 月, 7 月に浄水場 B 内において原水 100–200 L, チオ硫酸ナトリウムのインライン添加により残留塩素を中和した前塩素処理水 100–200 L, マンガン接触ろ過水 (凝集-MF 膜ろ過前水) 100–400 L, および浄水 (凝集-MF 膜ろ過水; 膜材質: PVDF, 膜孔径: 0.1  $\mu\text{m}$ ) 100–2,000 L を, ポンプを用いて 4–6 L/min の初期流束にて専用ハウジングに収容されたナノセラム陽電荷膜 (膜孔径: 2  $\mu\text{m}$ ) に通水した。通水後, pH 9.5 の 1.5% (w/w) ビーフエキス溶液 (0.05 M グリシン含有) 合計 2 L を用いてウイルスを回収し, 濃縮した (一次濃縮)。pH を HCl にて 3.5 に調整した後, 攪拌することにより, 溶液中のビーフエキスを凝集した。これを 2,500  $\times$  g にて 15 分間遠心分離することにより, 上澄水と凝集フロックを分離した。上澄水については, タンジェンタルフロー UF 膜 (分画分子量: 300 kDa) を用いて 20 mL まで精製・濃縮した (二次濃縮[上澄み])。一方, 凝集フロックについては, pH 9 の 0.15 M リン酸バッファーを添加し, 溶解した (二次濃縮[フロック])。二次濃縮[上澄み]試料および二次濃縮[フロック]試料それぞれの PMMoV を定量することにより, 浄水場 Y の原水, 前塩素処理水, マンガン接触ろ過水, 浄水の PMMoV 濃度を算出し, 除去率 (Log 除去率 (Log[C<sub>0</sub>/C]; C<sub>0</sub>: 処理前の PMMoV 濃度, C: 処理後の PMMoV 濃度)) を算出した。

#### B5. 実浄水場の UF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性評価

UF 膜ろ過処理を実施している実浄水場における PMMoV の除去性を評価するため, 本研究で構築したウイルス濃縮法を適用し, 浄水場 Z 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。2021 年 7 月及び 10 月に浄水場 Z 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 (浄水; 膜ろ過方式: クロスフローろ過, 膜ろ過流束: 1.4 m/d, 膜材質: 酢酸セルロース, 膜の分画分子量: 150 kDa) 100–2,000 L を, ポンプを用いて 5–6 L/min の初期流束にて専用ハウジングに収容されたナノセラム陽電荷膜 (膜孔径: 2  $\mu\text{m}$ ) に通水した。通水後, ハウジング内に残った試料



水を破棄し、ここに、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 回繰り返す (2 回目の溶出時の浸漬時間は 15 分、3 回目及び 4 回目の溶出時の浸漬時間は 30 分)、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)。ウイルスを濃縮したビーフエキス溶液の pH を HCl にて 3.5 に調整した後、攪拌子を用いて 400 rpm にて 30 分間攪拌することにより、溶液中のビーフエキスを凝集した。これを 2,500 × g にて 15 分間遠心分離することにより、上澄水と凝集フロックを分離した。上澄水については、タンジェンタルフローUF 膜 (分画分子量: 300 kDa) を用いて 20 mL まで精製・濃縮し、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、pH 9.0 の 0.15 M リン酸バッファーを添加し、160 rpm にて 10 分間振とうすることにより、凝集フロックを溶解した。これを 4,000 × g にて 10 分間遠心分離した後、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 濃度を定量することにより、浄水場 Z 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。濃度の定量には、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 法を用いた。また、PMMoV 濃度を基に、浄水場 Z における PMMoV の除去率 (Log 除去率 (Log[C<sub>0</sub>/C]; C<sub>0</sub>: 原水の PMMoV 濃度, C: 処理後の PMMoV 濃度)) を算出した。

#### B6. 塩素処理における病原ウイルスの不活化特性評価

塩素処理における病原ウイルスの不活化特性を評価するため、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 CVB5 Faulkner 株を用いた大容量の塩素処理実験を実施した。4 °C

に調整した pH 8.0 の 0.01 M リン酸バッファー、あるいは、凝集沈澱-砂ろ過処理を実施している浄水場 D において採水した前/中間塩素添加の無い砂ろ過水 (2021 年 2 月採水; pH: 7.2, 濁度: 0.09 NTU, DOC: 0.5 mg/L, UV260: 0.007 cm<sup>-1</sup>, アルカリ度: 11.6 mg-CaCO<sub>3</sub>/L, 2021 年 7 月採水; pH: 7.1, 濁度: 0.08 NTU, DOC: 0.4 mg/L, UV260: 0.012 cm<sup>-1</sup>, アルカリ度: 14.3 mg-CaCO<sub>3</sub>/L) に、培養・精製した CVB5 を 10<sup>5</sup> 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 0.9-1.1 mg-Cl<sub>2</sub>/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 (塩素処理終了時まで攪拌を継続すると共に、タンクの側面及び底面を保冷材で覆うことにより低水温条件を維持した)。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 CVB5 濃度をブ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 CVB5 の不活化率 (Log 不活化率 (Log[N<sub>0</sub>/N]; N<sub>0</sub>: 原水の感染性を有する CVB5 濃度, N: 処理後の感染性を有する CVB5 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 (リン酸バッファーを用いた場合 26%, 砂ろ過水を用いた場合 22%) を考慮した。

#### B7. ウイルス遺伝子型内の耐性分布幅を考慮した遊離塩素、紫外線、オゾン処理の不活化評価

##### (1) エンテロウイルス株の分離

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

##### (2) ウイルスの培養、精製、感染価測定

分離株を BGM 細胞により培養し、濃縮した後、塩化セシウムを使用した等密度勾配遠心<sup>21)</sup>により精製した。感染価は、96 穴プレートを用いた 5 連 MPN 法<sup>22)</sup>により測定した。

### (3) 消毒試験

本研究では、野生株に加え、CVB3, CVB5, E11の基準株の計 33 株を消毒試験に供した。遊離塩素および UV<sub>254</sub> 消毒試験は回分式で実施した。1 試験では、経時的に 4 試料（初期濃度測定用を含める）を採取した。本試験を各消毒剤および各ウイルス株に対して 2 連で実施した。遊離塩素試験では、初期遊離塩素濃度を 0.3 mg/L 程度とした。全ての試験において、試験終了時に遊離塩素濃度が 83%以上維持されていることを確認した。紫外線照射には低圧水銀ランプを用いた。オゾン試験は連続流式反応槽（Continuous quench flow system）にて実施し、手法は Torii et al. under review（論文発表 1）に従った。消毒試験では、ウイルス分散媒として 10 mM リン酸緩衝液（pH 7.0）を使用した。水温は 22 ± 1 °C であった。初期濃度は 5 × 10<sup>3</sup> - 10<sup>5</sup> MPN/mL であった。

### B8. 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ブラック法により F フェージを検出した。滅菌済み爪楊枝を用いて現れたブラックを単離した。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

ブラック懸濁液 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<sup>23)</sup>、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<sup>24)</sup>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<sup>25)</sup>。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<sup>-1</sup>)

$k_z$ : 株  $z$  の不活化速度定数 (mg<sup>-1</sup> sec<sup>-1</sup> L)

### B9. 水質による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評価

#### (1) ウイルス分離と精製、定量

2002 年から 2018 年にかけて、富山県内の下水処理場の流入下水から分離されたウイルスを使用した。分離されたウイルスの中和反応試験により、CVB3, CVB4, CVB5, E11 と判明した株からランダムに計 30 株を得た。それぞれの実験室株 CVB3 Nancy 株, CVB4 J.V.B 株, CVB5 Faulkner 株, E11 Gregory 株も調査対象とした。ウイルス株は超遠心により精製し実験に供した。

ウイルス濃度は MPN 法<sup>22)</sup>（4 希釈段階，5 連）により定量した。96 穴プレート上に希釈されたサンプルを 150 μL 接種し、37°C で 6 日間まで培養した。各希釈段階で細胞変性効果が表れたウェル数から統計的に元サンプルのウイルス濃度を定量した。

#### (2) エンテロウイルス 34 株の消毒試験

遊離塩素消毒試験は、回分式試験により実施した。50 mL ビーカーに 0.30 ± 0.04 mg/L の遊離塩素入りリン酸緩衝液 20 mL を用意した。ウイルス精製液 30 μL を投入後、30 - 90 秒ごとに 1 mL ずつ過剰量のチオ硫酸ナトリウムを含むチューブに

採取した。全ての遊離塩素濃度試験終了後の遊離塩素濃度は初期濃度と比べて 81%以上維持されていた。初期濃度と終濃度の平均を有効塩素とした。各ウイルス株に対してそれぞれ 2 回または 3 回ずつ実施した。

### (3) 実際の水道水を使用した CVB5 の消毒試験

実験に使用する水道水試料を浄水場  $\alpha$  ( $n = 7$ ), 浄水場  $\beta$  ( $n = 5$ ), 浄水場  $\gamma$  ( $n = 6$ ), 浄水場  $\delta$  ( $n = 7$ ) より採取した。各浄水はリン酸緩衝液を 1 mM 加えることで pH を 7 に調整した。その後、リン酸緩衝液ではなく各浄水を使用すること以外は(2)と同様に試験を実施した。対象ウイルスは CVB5 実験室株とした。

### (4) 不活化速度の解析

不活化速度の解析には、ウイルス不活化割合が消毒剤曝露量に対して擬一次反応で進むと仮定した Chick-Watson model を使用した。

$$\frac{N_T}{N_0} = e^{-kCT} \quad (1)$$

$N_T$ : 時刻  $T$  におけるウイルス濃度 (MPN/mL)

$N_0$ : 時刻 0 におけるウイルス濃度(MPN/mL)

$C$ : 遊離塩素濃度(mg/L)

$k$ :不活化速度定数 ( $\text{mg}^{-1} \text{min}^{-1} \text{L}$ )

## B10. 水道水の PMMoV 検査方法の検討

水道事業者の水質担当者がろ過水や浄水に含まれる PMMoV を検査することを想定し、簡便な前処理方法を検討した。すなわち、水試料に含まれるウイルスの濃縮操作を行わずに、水試料からウイルス RNA を直接抽出・精製するキットとして、Qiagen RNeasy Midi Kit, Qiagen QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit, bioMérieux NucliSENS, および Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit を比較した(表 1)。Qiagen RNeasy Midi Kit, Qiagen QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit, Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit の 3 つのキットは、Qiagen QIAvac Connecting System および Qiagen QIAvac 24 Plus を吸引ポンプ (XX5510000, Millipore) に接続して使用した。bioMérieux NucliSENS は、専用の磁気ビーズプロセッサ miniMAG を使用した。国立保健医療科学院の実験室で採取した給水栓水試料 (pH 6.6–7.2, 電気伝導度 17.8–28.2 mS/m) に 40 g/mL のチオ硫酸ナトリウム水溶液を添加することで残留塩素を除去し

たのち、孔径 0.2  $\mu\text{m}$  のメンブレンフィルターでろ過した流入下水試料を添加し PMMoV 濃度がおおよそ  $10^6$  copies/L となるように調製した。続いて、残留塩素を除去した給水栓水試料を用いて 10 倍連続希釈系列を作製し、PMMoV が  $10^5$ ,  $10^4$ , および  $10^3$  copies/L の濃度で含まれる水道水試料とした。キットの推奨プロトコールを参考にして、Qiagen RNeasy Midi Kit, Qiagen QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit, bioMérieux NucliSENS は 5 mL の水道水試料から、Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit は 40 mL の水道水試料からウイルス RNA を抽出・精製した(表 1)。精製後の RNA 試料の体積は、Qiagen RNeasy Midi Kit は 200  $\mu\text{L}$ , Qiagen QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit および bioMérieux NucliSENS は 100  $\mu\text{L}$ , Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit は 40  $\mu\text{L}$  とした。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。

## 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、胃腸炎の非流行期に 10–24%の試料から検出され、濃度は 2.9–3.2  $\log_{10}$  copies/L だった。胃腸炎の流行期には 48–81%の試料から検出され、濃度の幾何平均値は 3.8–4.6  $\log_{10}$  copies/L だった。2021 年 1 月は、3 年間で最も検出率が低く (24%), 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考えられた。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<sup>26)</sup>。

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、67–

81%, 76–86%), 2021年1月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(67%)。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 log<sub>10</sub> copies/L), 非流行期においても比較的高かったことから(3.9–4.3 log<sub>10</sub> 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、81–100%の原水試料に高濃度(4.5–5.5 log<sub>10</sub> copies/L)で含まれていた。また、PMMoV の濃度は、懸濁態よりも溶存態画分の方が1 log<sub>10</sub>程度高く、大部分が溶存態画分に含まれていた。3年間の調査結果の再現性は高く、上記の傾向が確認された。

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. 原水の RVA 遺伝子型解析

2018年1月から2020年10月の実態調査の結果、PMMoV よりも RVA の濃度が高かった原水試料は19試料あり、7地点の浄水場で採水されていた(浄水場 A, C, D, G, O, R, U)。浄水場 D, G, U の一部の試料では、RVA の G 遺伝子型を決定する VP7 のアンプリコンが取得できなかったが、P 遺伝子型を決定する VP4 のアンプリコンはすべての試料から取得でき、MiSeq を用いた配列解析に供した。その結果、すべてのアンプリコン

から RVA の配列が検出され、多くの配列について遺伝子型が特定された。図2には、各地点、あるいは各試料における G および P 遺伝子型の配列割合を示した。複数の試料において遺伝子型の検出傾向が同様であった浄水場 A, C, R は、それぞれの遺伝子型の配列数を合算し、割合を算出した(図2A)。同じ地点でも試料によって傾向が異なった浄水場 G および U は、試料別に結果を示した(図2B)。

浄水場 A, C, D, O, R では、すべての試料からウシやブタの遺伝子型が検出された。G 遺伝子型では、ウシの G10 が最も多く、試料中において55–65%の割合で検出された(図2A)。また浄水場 C および R の原水試料からは、ウシの G6 が検出された。G10 および G6 は、それぞれ主に乳牛および肉牛から検出されることが報告されている<sup>27)</sup>。P 遺伝子型では、ウシの P[5]が最も多く(21–43%)、浄水場 O および R ではブタの P[23]が24–25%の割合で検出された。検出されたウシやブタに由来する配列は、中国、タイ、米国などで報告された配列に近縁だった。また、浄水場 A, C, O, R では、ヒトの患者では報告がまれな P[14]が8.3–21%の割合で検出され、当該原水試料がヒトの糞便によっても汚染されていることが示された。また、どの地点においても、RVA の遺伝子型が決定されない配列が26–66%検出された。これらは GenBank に登録のない配列であることから、ヒトよりも動物由来の配列が多く含まれていると推測された。

浄水場 G および U において2018年9月に採水された試料からは、ヒトでの検出報告が多い P[8]<sup>28)</sup>が優占して検出された(34–63%, 図2B)。当該試料の採水日の天候は、いずれも雨だった。浄水場 G においては、2018年1月および2019年1月の採水日の天候はそれぞれ晴れおよび曇りであり、ブタの遺伝子型が優占していたが、雨天時はヒト糞便に汚染される場合があることがわかった。以上の結果から、PMMoV よりも RVA の濃度が高い地点においては、主にウシやブタに由来する RVA の汚染が確認された。また、本研究で開発した nested PCR アッセイにより得られ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、RVA の遺伝子型、すなわち排出源となる宿主動物を特定することが可能となり、水源におけ

る糞便汚染の実態把握につながることを示された。

### C3. ろ過水・浄水の PMMoV 実態調査

国内 21 箇所の浄水場から収集したろ過水および浄水試料中の PMMoV は、2021 年 10 月採水の試料において検出率が低かったが（それぞれ 4.8%、9.5%）、それ以外の時期では検出率が概ね同程度で、ろ過水では 29–43%、浄水では 38–48%だった（表 2）。また、原水では 2021 年 10 月を除いて 95–100%の試料から PMMoV が検出された。当該期間に収集したろ過水および浄水試料からは、PMMoV が最大で  $3.4 \log_{10}$  copies/L の濃度で検出された。

図 3 には、浄水場別に原水、ろ過水、浄水試料中の PMMoV 検出濃度の平均値を示した。水源に都市排水が含まれる浄水場 E, F, I, J, N においては、PMMoV は原水から  $10^6$  copies/L のオーダーで検出されたが、高度処理が導入されている浄水場 J および N では、ろ過水や浄水試料ではほとんど不検出だった。また、高度処理が導入されていない浄水場 E, F, I のろ過水や浄水試料中の PMMoV 濃度は最大で  $3.2 \log_{10}$  copies/L であり、平均して  $3 \log_{10}$  程度除去されていた。

### C4. 凝集–MF 膜ろ過処理における PMMoV の除去性

#### (1) 実浄水場における PMMoV の処理性

浄水場 Y 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 4）。PCR 法にて評価した原水における PMMoV 濃度は  $10^{0.4-2.1}$  copies/mL となり、濃縮との組み合わせにより定量可能な程度の高濃度で PMMoV が存在していることが明らかとなった。また、前塩素処理水及びマンガン接触ろ過水における PMMoV 濃度はそれぞれ  $10^{0.3-2.1}$  copies/mL,  $10^{0.1-1.7}$  copies/mL となり、原水と比べて濃度の低減は確認されなかった。本研究で PMMoV の定量に用いた PCR 法は、ウイルス粒子内部の遺伝子の一部を検出・定量の標的としていることから、前塩素処理及び塩素添加を伴うマンガン接触ろ過処理においてウイルスが不活化した場合であっても標的の遺伝子の一部が残存していれば検出・定量されるため、これらの処理におけるウイルスの不活化効果を過小評

価している可能性がある。従って、PCR 法にて評価された前塩素処理及びマンガン接触ろ過処理における除去率（低減率）の解釈には注意が必要である。一方で、マンガン接触ろ過処理による PMMoV 濃度の低減が確認されなかったことから、マンガン接触ろ過処理によるウイルスの物理的な除去効果は期待できないものと推察された。これに対し、浄水、すなわち、凝集–MF 膜ろ過水における PMMoV 濃度は  $10^{-1.1-0.6}$  copies/mL となり、マンガン接触ろ過水（凝集–MF 膜ろ過前水）に比べて濃度の低減が確認された。従って、凝集–MF 膜ろ過処理はウイルスの除去に有効であることが示された。また、得られた除去率は、 $0.6-1.5 \log$ （平均:  $1.0 \log$ ）であった（マンガン後と MF 後の差）。

二次濃縮後の試料に人工的にマウスノロウイルス及び MS2 を添加し、滅菌蒸留水に添加した場合との PCR 法による定量結果を比較することにより、PCR 阻害性（遺伝子抽出工程・逆転写反応・PCR 反応における阻害性）を評価した。二次濃縮[ブロック]の試料においては、添加したマウスノロウイルス及び MS2 の定量効率、滅菌蒸留水に添加した場合（定量効率: 100%）に比べて幾分低下したものの、30–60%程度の値となった。一方、二次濃縮[上澄み]の試料においては、添加したマウスノロウイルス及び MS2 の定量効率は、二次濃縮[ブロック]の試料に添加した場合に比べて大きくなり、50–80%程度の高い値となった。以上の結果から、本研究においては、PMMoV 濃度の定量における阻害の影響は小さく、上述した浄水場 B における PMMoV 濃度の定量結果、更には、評価された PMMoV の除去率は妥当であると判断した。

#### (2) 実浄水場における水系感染症ウイルスの処理性の推定

上述したように、計 5 回の採水において得られた除去率の平均値（マンガン後と MF 後の差）は  $1.0 \log$  となった。また、これまでに実施した凝集–MF 膜ろ過処理の室内実験において、PMMoV の除去率は、水系感染症ウイルスの除去率と同程度、あるいはやや低かったことから<sup>2)</sup>、PMMoV が凝集–MF 膜ろ過処理により  $1.0 \log$  除去される浄水場 Y においては、水系感染症ウイルスは少なくとも  $1.0 \log$  程度除去されるものと推察された。一方

で、浄水場 Y における物理的処理（凝集-MF 膜ろ過処理）によるウイルスの除去率は 1 log 程度であり、昨年度報告した凝集沈澱-砂ろ過処理を実施している浄水場 X の場合と同様に、水道水の微生物学的安全性の確保においては、塩素処理に大きく依存していることが確認された。従って、塩素処理における水系感染症ウイルスの処理性の詳細な把握、並びに、物理的処理におけるウイルス除去の高度・高効率化に向けた取り組みの重要性が再確認された。

#### C5. UF 膜ろ過処理を実施している実浄水場における PMMoV の除去性

浄水場 Z において前述した濃縮法を適用し、PMMoV の処理性を評価した（図 5）。2021 年 7 月及び 10 月に採水した原水における PMMoV 濃度はそれぞれ  $10^{1.9}$  copies/mL,  $10^{1.2}$  copies/mL となり、昨年度報告した原水濃度と同程度であった。また、凝集-繊維ろ過水における PMMoV 濃度はそれぞれ  $10^{1.5}$  copies/mL,  $10^{1.6}$  copies/mL となり、凝集-繊維ろ過処理における PMMoV の除去率はそれぞれ 0.4 log, -0.4 log であった。昨年度報告した 3 回の採水において得られた除去率を合わせると、合計 5 回の採水において得られた除去率は、-0.4-1.1 log（平均: 0.5 log）であり、凝集-繊維ろ過処理によるウイルス除去は限定的、あるいはほとんど期待できないことが確認された。一方、2021 年 7 月及び 10 月に採水した UF 膜ろ過水（浄水）における PMMoV 濃度はそれぞれ  $10^{-0.7}$  copies/mL,  $10^{-1.0}$  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。また、UF 膜ろ過処理における PMMoV の除去率はそれぞれ 2.2 log, 2.6 log となり、昨年度報告した 3 回の採水において得られた除去率（1.7→2.6 log）と同程度であった。昨年度及び今年度実施した合計 5 回の採水において得られた除去率は、1.7→2.6 log（定量下限値以下であった試料を除いた平均: 2.1 log）であり（UF 後と繊維ろ過後の除去率の差）、UF 膜ろ過処理のウイルス除去への有効性が示された。

#### C6. 塩素処理対象水の水質の差異が CVB5 の不活化に与える影響

塩素処理対象水の水質の差異が CVB5 の不活化

に与える影響を評価するため、昨年度実施した pH 7.0 のリン酸バッファーに加えて、pH 8.0 のリン酸バッファー及び実際の塩素消毒が行われている実浄水場の砂ろ過水を用いた大容量の塩素処理実験を実施した。pH 7.0 及び pH 8.0 のリン酸バッファーを用いた塩素処理における CVB5 の不活化率を図 6 に示す。pH 7.0 においては、9 log 不活化に必要な CT 値は  $40 \text{ mg-Cl}_2\cdot\text{min/L}$  程度であったのに対し、pH 8.0 においては、 $100 \text{ mg-Cl}_2\cdot\text{min/L}$  程度の CT 値が必要であったことから、塩素処理対象水の pH が CVB5 の不活化に大きく影響することが明らかとなった。pH 7.0 と pH 8.0 においては、次亜塩素酸 (HOCl) と次亜塩素酸イオン (OCl<sup>-</sup>) の存在比が異なり、pH 8.0 においては、HOCl に比べて消毒効果の低い OCl<sup>-</sup> の占める割合が大きいことから、pH 7.0 の場合に比べて 9 log 不活化に必要な CT 値が大きくなったと考えられた。

実浄水場の砂ろ過水を用いた塩素処理における CVB5 の不活化率を図 7 に示す。本研究で使用した pH 7.1-7.2 の砂ろ過水においては、いずれの場合も  $20 \text{ mg-Cl}_2\cdot\text{min/L}$  程度の CT 値で 7-8 log,  $40 \text{ mg-Cl}_2\cdot\text{min/L}$  程度の CT 値で 8-9 log の CVB5 の不活化率が確認された。また、得られた不活化率は、pH 7.0 のリン酸バッファーを用いた場合の不活化率と概ね同程度となったことから、塩素消毒対象水（濁度が管理されている水）の pH が同程度の場合においては、水質の差異が CVB5 の不活化に与える影響は小さいものと判断された。

本研究で実施した塩素処理においては、CT 値の増加と共に CVB5 の不活化速度が低下する現象、すなわち、テーリング現象が確認された。テーリング現象の要因を明らかにするためには、更なる検討が必要である。

上述したように、pH 7.0 の塩素処理条件に比べて消毒効果の低い pH 8.0 の条件下においても、 $100 \text{ mg-Cl}_2\cdot\text{min/L}$  程度の CT 値で CVB5 の 9 log 不活化が達成されることが明らかとなった。昨年度報告したように、本研究でこれまでに PMMoV の除去性を評価した浄水場 X, Y, Z 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,  $1,300 \text{ mg-Cl}_2\cdot\text{min/L}$  の CT 値が確保されていることから、塩素処理を実施する対象水の水質の差異を考慮した場合であっても、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。

C7. ウイルス遺伝子型内の耐性分布幅を考慮した遊離塩素、紫外線、オゾン処理の不活化評価  
各株の 4 log 不活化に必要な遊離塩素 CT 値は CVB3, CVB4, CVB5 では 0.5–2.4 mg・min/L の範囲であったが、E11 は 0.5 mg・min/L 以下であり、コクサッキーB 型が塩素に耐性が高いことが示された。エンテロウイルス全体では、4 log 不活化に必要な遊離塩素 CT 値が 0.14–2.4 mg・min/L であり、株間で最大 17 倍以上の差が観察された。また、遊離塩素耐性が高いことで知られる CVB5 に関して、基準株より 2.3 倍耐性の高い野生株の存在も明らかになった。また、遊離塩素耐性は CVB5 > CVB3 ≈ CVB4 > E11 であり、塩素耐性が遺伝子型に依存することが示唆された。一方で、4 log 不活化に必要な UV<sub>254</sub> 線量は 23–30 mJ/cm<sup>2</sup> と、互いに最大 1.3 倍程度の差であり、分布幅は遊離塩素より小さかった。4log 不活化に必要なオゾンの CT 値は塩素に比べて非常に小さく、0.10–0.45 mg・sec/L で、エンテロウイルス内で 4.5 倍程度の差があった。以上から、多様なウイルスが含まれる環境水を消毒する際には、特に、遊離塩素において、耐性分布幅を算入した不活化予測モデルを使用する必要がある。

C8. 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 8 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 ( $\mu$ ,  $\sigma$ ) = (-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<sup>-1</sup> 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。

C9. 水質による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評価

#### (1) エンテロウイルス 34 株の消毒試験

各株の 4log 不活化に必要な CT 値を図 9 に示す。CVB3, CVB4, CVB5, E11 でそれぞれ 0.60–1.08, 0.46–1.34, 0.69–2.4, 0.16–0.28 mg min L<sup>-1</sup> であった。CVB5 内における 4-log 不活化 CT 値の差は最大 3.4 倍であった。遊離塩素感受性は遺伝子型により有意差が認められ、CVB5 < CVB3 ≈ CVB4 < E11 の順であった。また、CVB5 実験室株が属する Genogroup A の株の 4-log 不活化 CT 値は Genogroup B より有意に低かった。同様に、CVB4 J.V.B 株の属する Genogroup A に比べ、Genogroup B では遊離塩素感受性が低く、2 つの Genogroup 間に有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。以上の結果から、エンテロウイルスの遊離塩素感受性は、カプシド蛋白をコードするゲノム配列の類似性により分類されたゲノムグループまたは遺伝子型に依存することが示唆された。

これらより、遺伝型 CVB5 に属するエンテロウイルスはほかの遺伝型に比べて、遊離塩素耐性が高いこと、また、CVB5 の株間でも遊離塩素耐性に違いがあることが明らかとなった。また、遊離塩素耐性がカプシド領域の遺伝配列と関連する可能性が示唆された。

#### (2) 実際の水道水を使用した CVB5 の消毒試験

各浄水場 ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) における CVB5 Faulkner

株の不活化速度係数は  $9.0 \pm 2.7$ ,  $9.9 \pm 1.7$ ,  $7.6 \pm 1.7$ ,  $8.5 \pm 1.3 \text{ mg}^{-1} \text{ min}^{-1} \text{ L}$  であった。pH, 水温を除く水質成分が不活化速度係数に及ぼす影響は 1.3 倍と比較的小さいことが示唆された。

### (3) 浄水処理の異なる 4 浄水場における CT 値の算出・比較

実測より推定した不活化速度定数  $k$  を各浄水場ごとでプールし、それぞれを対数正規分布としてパラメータを推定した。その後、年間を通じて  $8 \log$  の不活化を達成するために必要な CT 値を推定した。推定結果を図 10 に示す。実験室株の  $8 \log (99.99999\%)$  不活化に必要な CT 値は、 $2.6\text{-}4.2 \text{ mg} \cdot \text{min/L}$  となった。

さらに野生株の塩素耐性は、実験室株の 2.3 倍であると仮定して CT 値を算出したところ、 $6.0\text{-}9.7 \text{ mg} \cdot \text{min/L}$  となった。実測値の結果からは、処理方式が異なっても 4 浄水場間で CT 値に大きな違いは見られなかった。

また、上記の結果に水温を考慮した場合の必要 CT 値の推定結果を表 3 に示す。先行研究より、水温が低くなるほどウイルスの不活化が遅くなることが知られている。例えば、USEPA は 10 度水温が下がるごとに必要な CT 値が 2 倍となると推定している。ここでは、各浄水場の過去 10 年分の水温データを参照し、最低水温においても  $8 \log$  不活化を達成するために必要な CT 値を推定した。その結果、最大値は  $27.5 \text{ mg min L}^{-1}$  であった。これは、残留塩素濃度が  $0.5 \text{ mg/L}$  の場合、1 時間の接触で  $8 \log$  が達成されることを示唆している。

### C10. 水道水の PMMoV 検査方法の検討

PMMoV 濃度を  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ , および  $10^3 \text{ copies/L}$  に調製した水道水試料から Qiagen RNeasy Midi Kit, Qiagen QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit, bioMérieux NucliSENS, および Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit の 4 つのキットを用いてウイルス RNA を抽出・精製し、リアルタイム RT-PCR で PMMoV 濃度を定量した。その結果、 $10^6 \text{ copies/L}$  の試料では、どのキットでも同様の定量検出結果が得られたが、Qiagen RNeasy Midi Kit は  $10^5 \text{ copies/L}$  の試料で他のキットと比較して検出濃度が低下し、 $10^4 \text{ copies/L}$  以下では検出されなくなった (図 11)。  $10^4 \text{ copies/L}$  の試料では、Qiagen QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit と

bioMérieux NucliSENS で不検出となる試料がそれぞれ 3/6 検体, 5/6 検体確認されたが、Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit では 3/3 検体で陽性となった。さらに 1 オーダー濃度が低い  $10^3 \text{ copies/L}$  の試料では、Qiagen QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit では 2/4 検体で陽性となったが、検出濃度としては  $10^4 \text{ copies/L}$  のオーダーとなった。Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit は、検出濃度にばらつきが見られたが  $10^3 \text{ copies/L}$  の試料でも 3/3 検体で陽性となった。

本研究では、国立保健医療科学院の給水栓水試料を用いて RNA 抽出・精製キットの検出感度を比較したが、予備検討においては国内 21 箇所の浄水場の浄水試料に PMMoV を添加し、Qiagen QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit を用いて水質の違いが PMMoV の検出濃度に与える影響も調査した。その結果、リアルタイム RT-PCR における Ct 値の平均値は 33.0, 標準偏差は 0.54 であり、最大値と最小値の差は 2.3 Ct だった。Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit は、シリカメンブレンカラムを用いた精製を行う点で Qiagen QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit と精製の基本原理は同一であり、水質の影響は同程度であると推測される。しかしながら、Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit では検出感度向上のために二次精製を行うため、検出濃度のばらつきが大きくなる可能性もある。今後は、Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit を用いて水質による影響を調査するとともに、水道事業者の水質担当者による評価を通じて、当該キットを用いた PMMoV 検査方法の有用性および有効性を検証する必要がある。

### 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。

PMMoV よりもロタウイルス A の濃度が高い原水試料に含まれたロタウイルス A の遺伝子型を解析した結果、すべての地点からウシやブタの遺伝子型が高頻度で検出され、動物による汚染が顕著であることがわかった。一方で2箇所の浄水場では、雨天時に採水された試料においてヒトのロタウイルス A 遺伝子型が優占して検出され、ヒト糞便による汚染も明らかになった。ロタウイルス A の遺伝子型を解析することで汚染源となる宿主動物を特定できること、およびその重要性が示された。

国内 21 箇所の浄水場から収集したろ過水および浄水試料中の PMMoV は、ろ過水で 4.8–43%、浄水で 9.5–48%の試料から検出された。濃度の最大値はろ過水、浄水試料ともに  $3.4 \log_{10}$  copies/L だった。

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

浄水場 Z において実施した合計 5 回の採水において、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 2.1 log であった。

塩素処理対象水の pH は、CVB5 の不活化に大きく影響し、pH 8.0 においては、9 log 不活化に必要な塩素処理の CT 値は  $100 \text{ mg-Cl}_2\cdot\text{min/L}$  程度であることが明らかとなった。pH 7.1–7.2 の砂ろ過水を用いた場合の塩素処理における CVB5 の不活化率は、pH 7.0 のリン酸バッファーを用いた場合と概ね同程度であったことから、塩素消毒対象水（濁度が管理されている水）の pH が同程度の場合においては、水質の差異が不活化に与える影響は小さいものと判断された。昨年度報告したように、本研究でこれまでに対象とした浄水場 X, Y, Z 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  $840\text{--}1,300 \text{ mg-Cl}_2\cdot\text{min/L}$  の CT 値が確保されていることから、塩素処理対象水の水

質の差異を考慮した場合であっても、浄水場で実施されている塩素消毒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。

水環境中に存在するエンテロウイルスの遺伝子型内では、UV<sub>254</sub> 耐性に大きな違いは見られなかった一方で、遊離塩素やオゾンの耐性は大きく異なることが明らかになった。実際の水環境中には多様なウイルスが含まれるため、その耐性分布幅を算入した不活化予測モデルを使用する必要がある。

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。

CVB5 はほかのエンテロウイルスの遺伝型と比べて塩素耐性が高かった。また、CVB5 内では実験室株と比べて野生株の方が塩素耐性が高かった。水温を考慮して 8 log 不活化に必要な CT を推定した結果、浄水場 α で  $27.5 \text{ mg} \cdot \text{min/L}$  となった（例：残留塩素濃度  $0.5 \text{ mg/L}$  の場合には、約 1 時間の接触時間でウイルスを 8 log (99.99999%) 不活化が可能）。

PMMoV を添加した水道水試料を用いて PMMoV の検査方法を検討した結果、Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit を用いることで 40 mL の試料から 40 μL の RNA を抽出・精製することができ、PMMoV 濃度を  $10^3$  copies/L に調製した試料の 3/3 検体で PMMoV が陽性となった。今後は、水道事業者の水質担当者による評価を通じて、本検査方法の有用性および有効性を検証する必要がある。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 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.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) Miura, T., Takino, H., Gima, A., Haramoto, E., Akiba, M. Recovery of nucleic acids of enteric viruses and host-specific *Bacteroidales* from groundwater by using an adsorption-direct extraction method. *Appl Environ Microbiol.*, 87(18), e00710-21, 2021.
- 7) Shirakawa, D., Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Yamashita, R., Matsumura, T. and Koriki, S. Evaluation of reduction efficiencies of pepper mild mottle virus and human enteric viruses in full-scale drinking water treatment plants employing coagulation-sedimentation-rapid sand filtration or coagulation-microfiltration. *Water Research*, 213, 118160, 2022.
2. 学会発表
- 1) Shirakawa, D., Shirasaki, N., Yamashita, R., Koriki, S., Matsumura, T., Matsushita, T., Matsui, Y. Evaluation of virus removal efficiency in an actual drinking water treatment plant by using a novel virus concentration method and pepper mild mottle virus as a process indicator. *Water and Environment Technology Conference 2019, Suita, Japan*, 13-14 July 2019.
- 2) Torii S, Itamochi M, Katayama H. Intra-Enterovirus B and intratypic variability in free chlorine resistance. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会, O3-4-12, 2019.
- 3) 鳥居将太郎, 板持雅恵, 片山浩之. 同種ウイルスの遊離塩素消毒耐性分布幅を考慮した不活化予測モデルの提案. 令和元年度水道研究発表会, 8-37, 2019.
- 4) 松村拓哉, 高力聡史, 白川大樹, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦. 凝集-膜ろ過処理を導入した実浄水処理場におけるウイルスの処理性評価. 第 27 回衛生工学シンポジウム, 札幌, 2019/11/8-9.
- 5) Torii S, Itamochi M, Katayama H. Variability of free chlorine resistance among *Enterovirus B* strains leads to insufficient inactivation in drinking water, 20th International Symposium on Health Related Water Microbiology, Vienna, Austria, 2019.
- 6) 三浦尚之, 儀間ありさ, 徳安真理奈, 秋葉道宏. 水道原水中ウイルスモニタリングのための効率的なウイルス濃縮方法の検討. 第 56 回環境工学研究フォーラム講演集. B35, 2019.
- 7) 三浦尚之, 徳安真理奈, 前田暢子, 吉田伸江, 越後信哉, 秋葉道宏. 全国の水道原水における腸管系ウイルスおよびトウガラシ微斑ウイルスの存在実態調査. 第 54 回日本水環境学会年会講演集, 386, 2020.
- 8) 白川大樹, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦. 外来遺伝子を封入した人工合成ウイルス様粒子の創製: 培養困難なノロウイルスの浄水処理性評価への適用. 第 54 回日本水環境学会年会, 盛岡, 2020/3/16-18.
- 9) 鳥居将太郎, 板持雅恵, 片山和彦, 片山浩之.

- エンテロウイルス野生株の遊離塩素、紫外線、オゾン処理に対する耐性分布幅の評価. 第 54 回水環境学会年会, 1-E-12-1, 2020.
- 10) 鳥居将太郎, 片山浩之. CQFS を用いたオゾン処理によるウイルス不活化速度の解析. 日本オゾン協会 第 29 回年次研究講演会, 2020.
  - 11) 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.
  - 12) 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.
  - 13) 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.
  - 14) 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.
  - 15) 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.
  - 16) 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.
  - 17) 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.
  - 18) 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.
  - 19) 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.
  - 20) 三浦尚之, 門屋俊祐, 瀧野博之, 佐野大輔, 秋葉道宏. 水道水源におけるロタウイルスの遺伝的多様性解析. ウイルス性下痢症研究会 第 32 回学術集会抄録集, 20-21, 2021.
  - 21) 三浦尚之, 瀧野博之, 門屋俊祐, 三浦耀平, 佐野大輔, 秋葉道宏. 浄水処理におけるウイルス除去遺伝子マーカーとしてのトウガラシ微斑ウイルスの実態調査. 第 56 回日本水環境学会年会講演集, 256, 2022.
  - 22) Hu, Q., Shirakawa, D., Shirasaki, N., Takagi, H., Oka, T., Matsushita, T. and Matsui, Y. (2022) Evaluating the efficacy of drinking water treatment processes to remove and inactivate human sapovirus: Application of *in vitro* cell-culture method. 第 56 回日本水環境学会年会, 富山大学, 2022/3/16-18 (新型コロナウイルスの影響によりオンライン開催).
- 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) Miura, T., Takino, H., Gima, A., Haramoto, E., Akiba, M. Recovery of nucleic acids of enteric viruses and host-specific *Bacteroidales* from groundwater by using an adsorption-direct extraction method. *Appl Environ Microbiol.* 87(18), e00710-21, 2021.
  - 3) 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.
  - 4) 秋葉道宏, 三浦尚之, 小田琢也, 佐野大輔, 門屋俊祐, 瀧野博之. 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2年度研究報告書, 35-47, 2021.
  - 5) Asami, T., Katayama, H., Torrey, J.R., Visvanathan, C., Furumai, H. Evaluation of virus removal efficiency of coagulation-sedimentation and rapid sand filtration processes in a drinking water treatment plant in Bangkok, Thailand. *Water Res.* 101, 84-94, 2016.
  - 6) 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 Res.* 189, 116674, 2021.
  - 7) Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y. and Murai, K. Assessment of the efficacy of membrane filtration processes to remove human enteric viruses and the suitability of bacteriophages and a plant virus as surrogates for those viruses. *Water Res.* 115: 29-39, 2017.
  - 8) Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y. and Yamashita, R. Evaluation of the suitability of a plant virus, pepper mild mottle virus, as a surrogate of human enteric viruses for assessment of the efficacy of coagulation-rapid sand filtration to remove those viruses. *Water Res.* 120: 460-469, 2018.
  - 9) Shirakawa, D., Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Yamashita, R., Matsumura, T. and Koriki, S. Evaluation of reduction efficiencies of pepper mild mottle virus and human enteric viruses in full-scale drinking water treatment plants employing coagulation-sedimentation-rapid sand filtration or coagulation-microfiltration. *Water Research* 213: 118160, 2022.
  - 10) 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.
  - 11) 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.
  - 12) 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.
  - 13) Cromeans, T.L., Kahler, A.M., Hill, V.R. Inactivation of adenoviruses, enteroviruses, and murine norovirus in water by free chlorine and monochloramine. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 1028-1033, 2010.
  - 14) Thurston-Enriquez, J.A., Haas, C.N., Jacangelo, J., Gerba, C.P. Inactivation of enteric adenovirus and feline calicivirus by ozone. *Water Res.* 39, 3650-3656, 2005.
  - 15) Gerba, C.P., Gramos, D.M., Nwachuku, N., Comparative inactivation of enteroviruses and adenovirus 2 by UV light. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 5167 LP - 5169, 2002.
  - 16) Sanjuan, R., Nebot, M.R., Chirico, N., Manky, L.M., Belshaw, R. Viral mutation rates, *J. Virol.* DOI:10.1128/JVI.00694-10.
  - 17) Soller, J.A., Eftim S.E. and Nappier, S.P. Comparison of predicted microbiological human health risks associated with de facto, indirect, and

- direct potable water reuse. *Environ. Sci. Technol.*, 53, 13382–13389, 2019.
- 18) Title 22 and 17 California Code of Regulations, Regulations related to recycled water state water resources control board. Division of Drinking Water. July 16, 2015, 2015.
  - 19) Sobsey, M.D., Fuji T. and Shields, P.A. Inactivation of hepatitis A virus and model viruses in water by free chlorine and monochloramine. *Water Sci. Technol.*, 20, 385–391, 1988.
  - 20) Katayama H, Shimasaki A, Ohgaki S. Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and norwalk virus from coastal seawater. *Appl Environ Microbiol.* 68(3), 1033-9, 2002.
  - 21) Torii, S., Hashimoto, T., Do, A.T., Furumai, H., Katayama, H. Impact of repeated pressurization on virus removal by reverse osmosis membranes for household water treatment. *Environ. Sci. Water Res. Technol.* 5, 910–919, 2019.
  - 22) Meister, S., Verbyla, M.E., Klinger, M., Kohn, T. Variability in disinfection resistance between currently circulating Enterovirus B serotypes and strains. *Environ. Sci. Technol.* 52, 3696–3705, 2018.
  - 23) 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.
  - 24) 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.
  - 25) Delignette-Muller M.L. and Dutang, C. *fitdistrplus: An R Package for Fitting Distributions*, *J. Stat. Softw.*, 64, 1–34, 2015.
  - 26) 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>)
  - 27) Dhama K, Chauhan RS, Mahendran M, Malik SVS. Rotavirus diarrhea in bovines and other domestic animals. *Vet Res Commun.* 33, 1-23, 2009.
  - 28) 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), 204-5, 2019.

表 1. PMMoV 添加水道水試料を用いて比較した RNA 抽出・精製キット

キット名称 (メーカー)	RNeasy Midi Kit (Qiagen)	QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit (Qiagen)	NucliSENS Lysis Buffer, Magnetic Extraction Reagents (bioMérieux)	Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit (Promega)
使用器具	QIAvac Connecting System, QIAvac 24 Plus (Qiagen), 吸 引ポンプ, 遠心分 離機	QIAvac Connecting System, QIAvac 24 Plus (Qiagen), 吸 引ポンプ, 遠心分 離機	miniMAG (bioMérieux)	QIAvac Connecting System, QIAvac 24 Plus (Qiagen), 吸 引ポンプ, 遠心分 離機
タンパク質 変性剤	グアニジン塩	グアニジン塩	グアニジン塩	プロテアーゼ
核酸吸着材	シリカメンブレン カラム	シリカメンブレン カラム	磁性シリカビーズ	シリカメンブレン カラム
サンプル体積 [mL]	5	5	5	40
精製 RNA 体積 [μL]	200	100	100	40
作業時間 [時間]	およそ 1	およそ 1	およそ 1	およそ 2

表 2. 国内 21 浄水場の原水, ろ過水, 浄水試料の PMMoV 検出状況

採水月	原水		ろ過水		浄水	
	検出率 [%]	濃度の範囲 [log <sub>10</sub> copies/L]	検出率 [%]	濃度の範囲 [log <sub>10</sub> copies/L]	検出率 [%]	濃度の範囲 [log <sub>10</sub> copies/L]
2020 年 1 月	95	不検出-6.4	43	不検出-3.3	48	不検出-3.3
2020 年 10 月	100	3.6-5.8	29	不検出-2.6	38	不検出-2.8
2021 年 1 月	100	4.4-6.7	29	不検出-3.2	38	不検出-2.9
2021 年 10 月	81	不検出-6.3	4.8	不検出-3.0	9.5	不検出-2.3
2022 年 1 月	95	不検出-6.3	33	不検出-3.4	48	不検出-3.4

表 3. 水温を考慮した必要 CT 値

実験条件	浄水場 α		浄水場 γ		浄水場 δ		浄水場 β	
	最高	最低	最高	最低	最高	最低	最高	最低
水温	31.1	3.5	25.9	3.8	27.5	4.4	21.4	10.8
必要な CT 値	27.5 mg・min/L		24.7 mg・min/L		17.8 mg・min/L		15.5 mg・min/L	

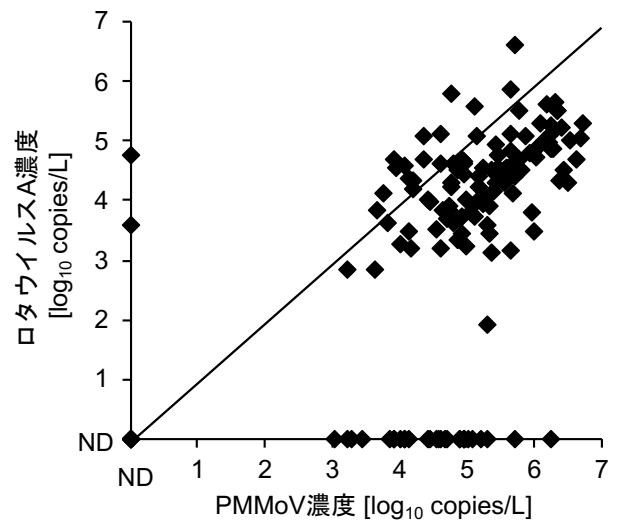
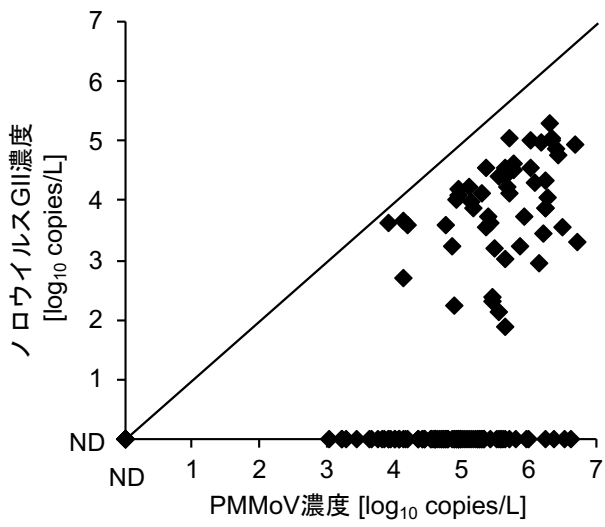


図1. 水道原水中の病原ウイルスと PMMoV 濃度の関係。2018年1月から2021年1月に採水された合計147試料のデータをプロットした。

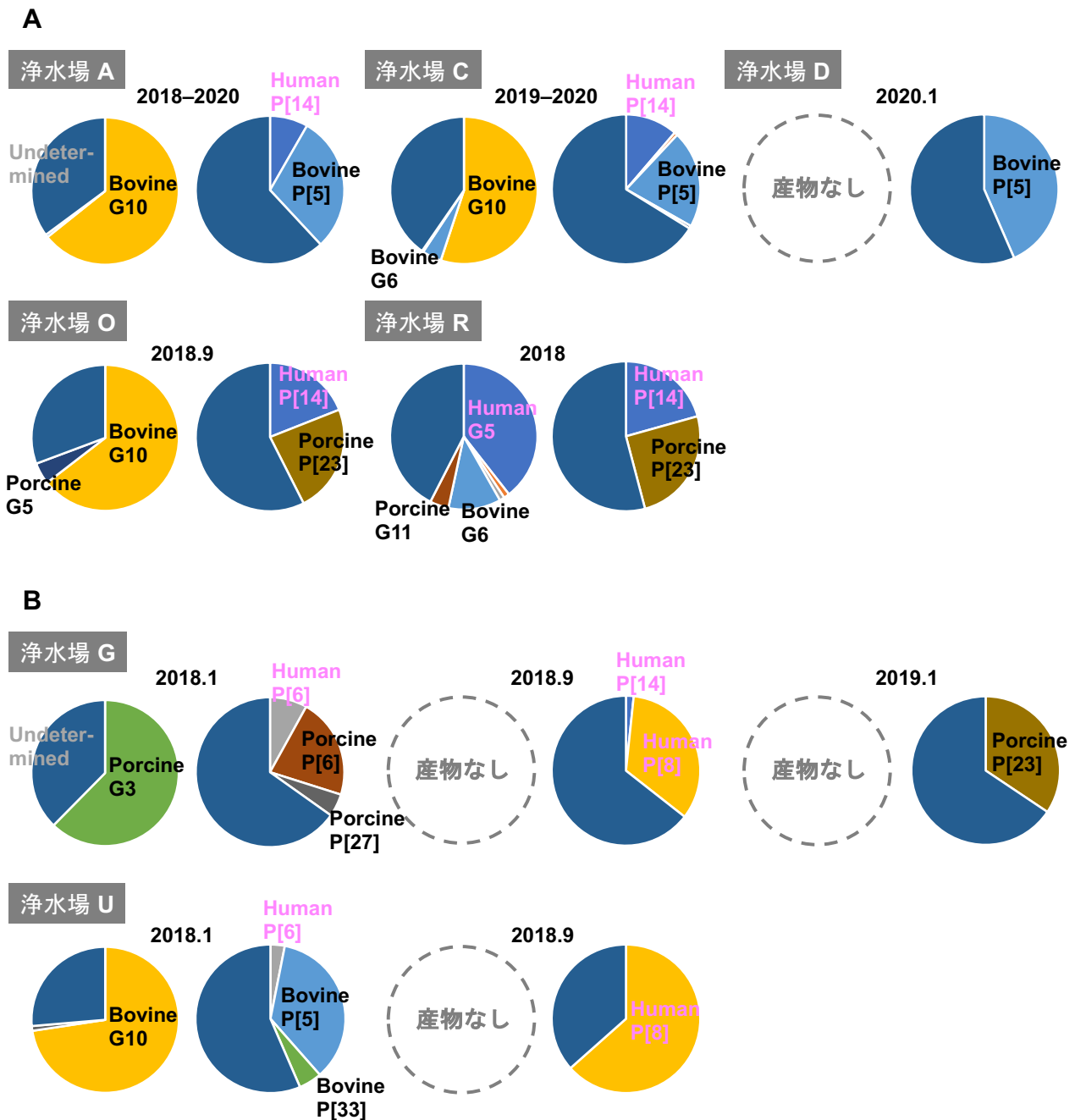


図2. PMMoV よりも RVA 濃度が高かった原水試料から検出された RVA の G および P 遺伝子型分布。それぞれの遺伝子型に分類された RVA の OTU 配列数割合を示した。近縁配列の報告がない RVA の配列は、“undetermined”として合算した。浄水場 A, C, R については、検出された遺伝子型の傾向が複数の試料で同様であったため、それぞれの試料から検出された配列数を合算した。浄水場 G および U については、試料別に示した。



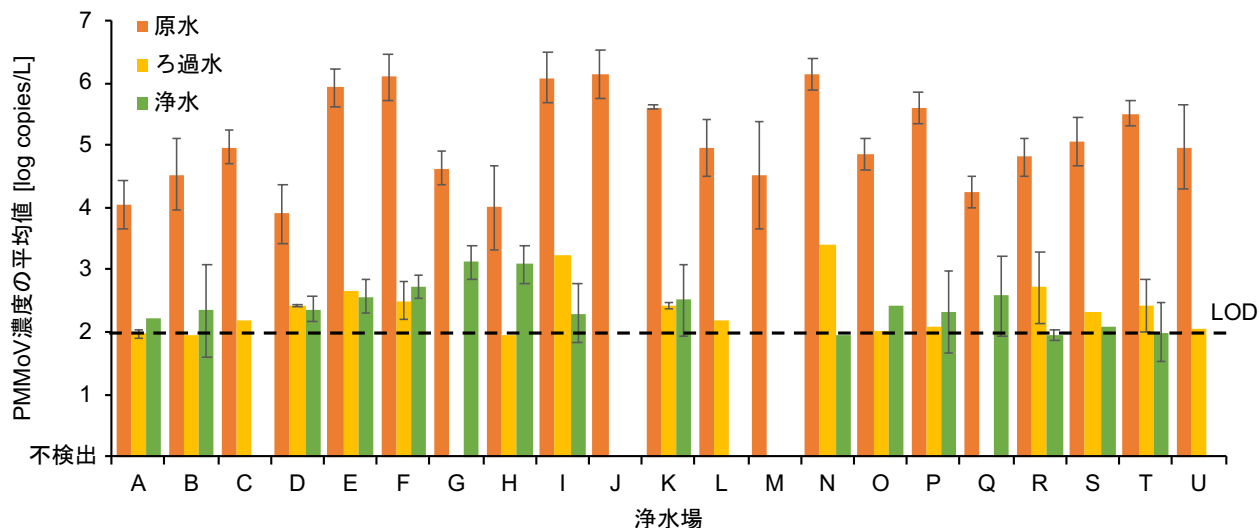


図3. 国内21浄水場の原水, ろ過水, 浄水試料中のPMMoV濃度の平均値. 2020年1月, 10月, 2021年1月, 10月, および2022年1月に採水した試料(それぞれN=5)について, 検出濃度の平均値を示した. エラーバーは, 標準偏差を示した. 検出下限はおよそ2 log<sub>10</sub> copies/L.

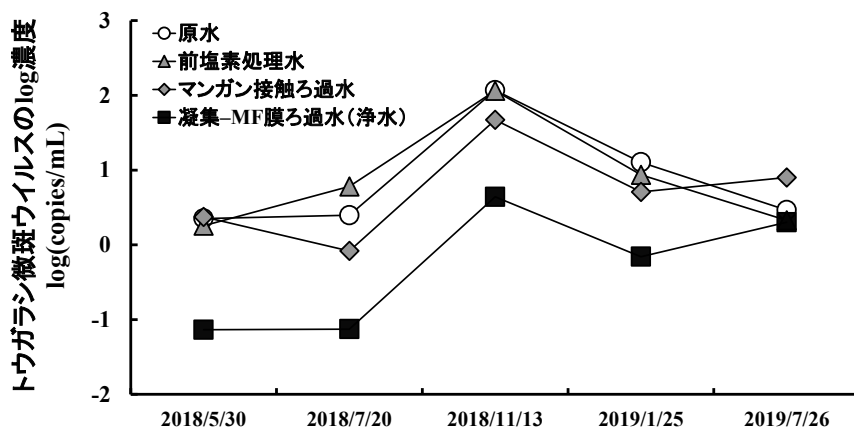


図4. 浄水場Yの各処理工程水におけるPMMoV濃度

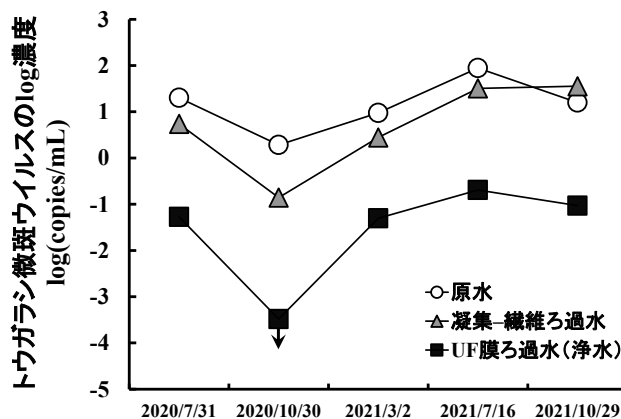


図5. 浄水場Zの各処理工程水におけるPMMoV濃度

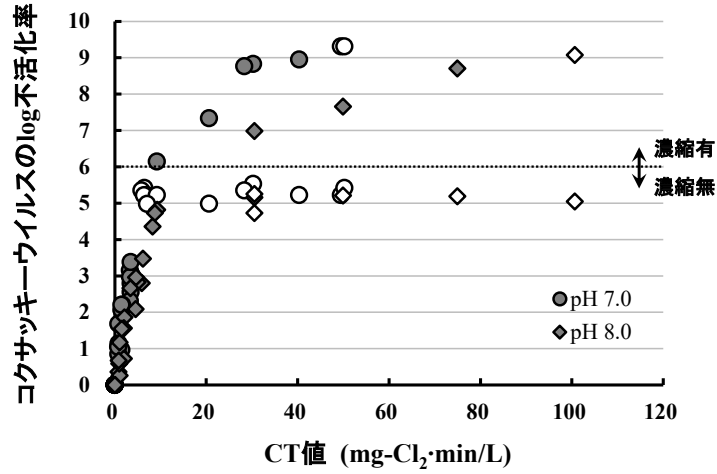


図6. リン酸バッファーを用いた塩素処理における CVB5 の不活化特性. 白抜きのは定量下限値以下であったため、定量下限値をプロットした.

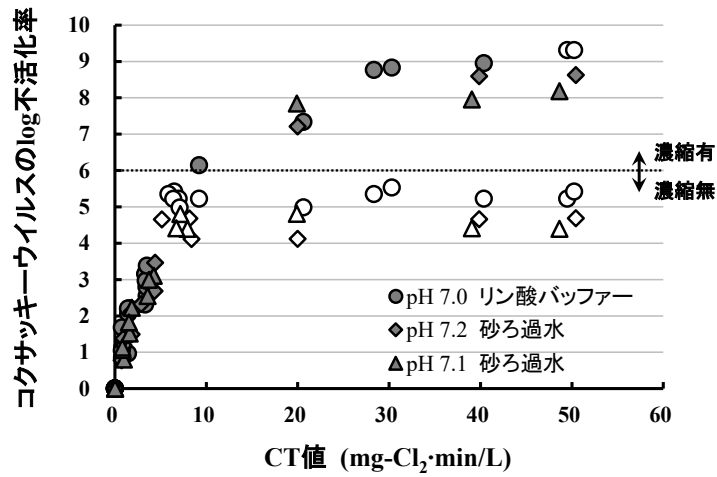


図7. 塩素処理対象水の水質の差異が CVB5 の不活化に与える影響. 白抜きのは定量下限値以下であったため、定量下限値をプロットした.

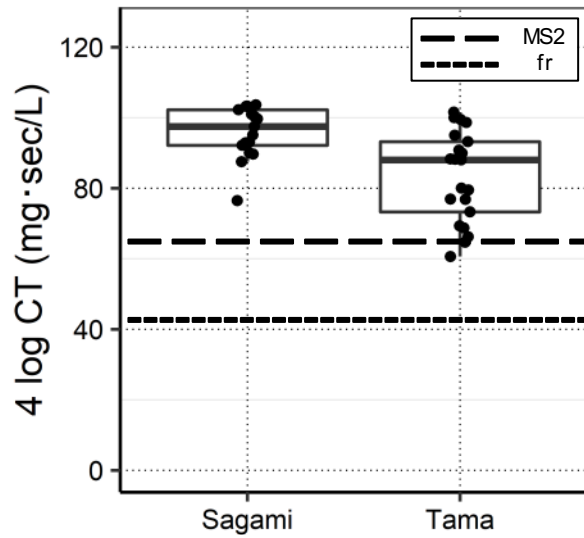


図8. 多摩川, 相模川で検出された F 特異 RNA 大腸菌ファージ GI 株の 4 log CT 値. 各河川の野生株は黒丸, 実験室株 MS2 を長破線, fr を短破線で表示した.

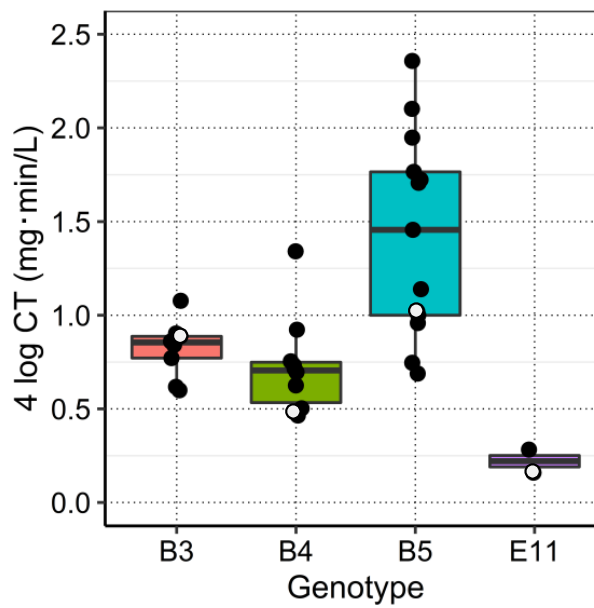


図9. 各株の 4 log の不活化に必要な CT 値. 黒丸は野生株のデータを示し, 白丸は各遺伝型に対応する実験室株のデータを示した.

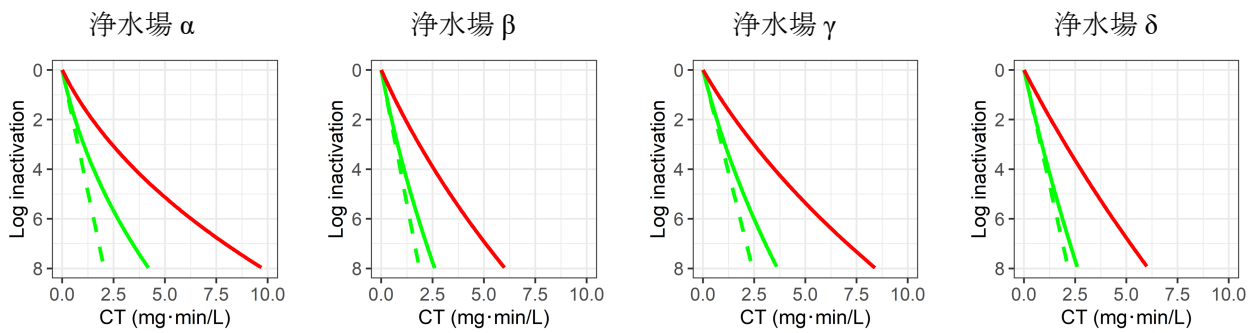


図 10. 年間を通じて 8 log の不活化を達成するために必要な CT 値. 緑点線: 実験室株-実測値の平均. 緑実線: 実験室株で対数正規分布を仮定. 赤実線: もっとも耐性の高かった株(CVB5.8)で対数正規分布を仮定.

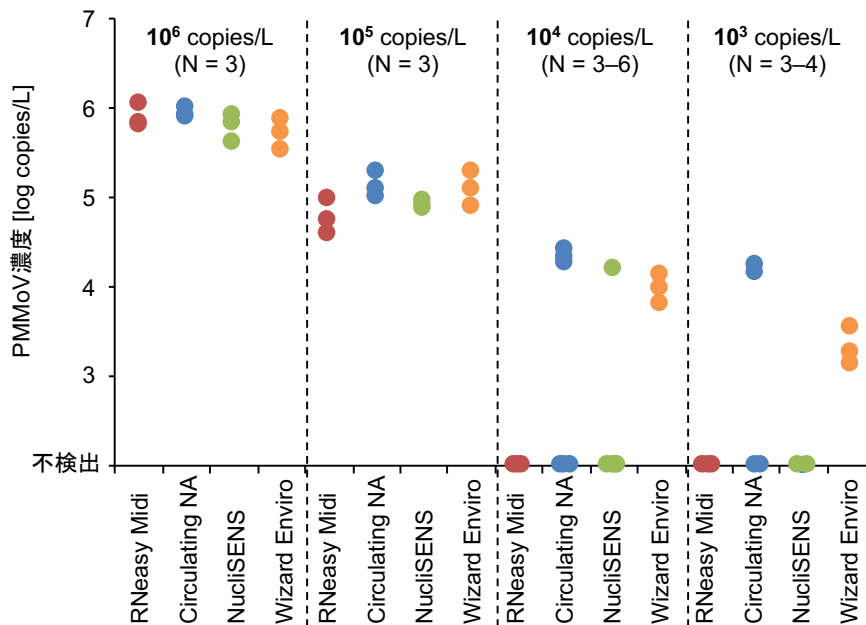


図 11. PMMoV 添加水道水試料を用いた RNA 抽出精製キットの比較. PMMoV 濃度が  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$  copies/L となるように調製した水道水試料から, Qiagen RNeasy Midi Kit, Qiagen QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit, bioMérieux NucliSENS, および Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid Kit の 4 つのキットを用いてウイルス RNA を抽出・精製し, リアルタイム RT-PCR で PMMoV 濃度を定量した.

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」  
令和元～3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、レジオネラ汚染に対する従属栄養細菌の指標性に関して検討を行った。

まず浄水処理システムの細菌類の挙動に関連する文献調査を行うとともに、従属栄養細菌に関する実態調査を実施した。文献調査では、生物活性炭処理での細菌挙動に関する情報を整理し、バイオフィームが形成している生物活性炭層(BAC)内には、レジオネラ属菌などの細菌が定着・再増殖し、処理水へ流出していく可能性が指摘された。実態調査では、全国21浄水場の原水、ろ過水、浄水について、一般細菌数と従属栄養細菌数の調査を行い、一般細菌数と従属栄養細菌数との間に相関関係が確認されたが、従属栄養細菌数は一般細菌数よりも再増殖の影響を受けやすく、目標値設定には細菌類再増殖を考慮した上で検証する必要があることが示された。

次に、従属栄養細菌数とレジオネラ汚染の関係性に関する文献考察ならびに室内実験を行った。文献調査では、従属栄養細菌数によるレジオネラ陽性判定が可能とした報告が確認されたものの、相反する報告も多数あり、各給水システム特性の影響を排除可能な評価法の確立が求められることが示された。文献調査を踏まえ、室内試験によりレジオネラ汚染に対する従属栄養細菌数の指標性評価に関する基礎的検討を実施した。まず、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。さらに残留塩素濃度が0.1または0.2 mg/Lに調整した塩素処理試料において微生物再増殖試験を実施した結果、レジオネラ属菌の安定的な再増殖は確認できなかったが、自由活性アメーバ(FLA)は多くの試料で再増殖が起こることが確認された。さらにFLAの再増殖確認日より3-12日前の従属栄養細菌の再増殖が確認されたことから、従属栄養細菌数がFLA再増殖の先行指標となりうる可能性が指摘された。

最後にレジオネラ汚染の制御方法に関する検討では、まず、山間部の小規模な配水区域を対象としてレジオネラ属菌に関する調査を実施し、管網の流下過程での遊離残留塩素の減少に従ってレジオネラ属菌や従属栄養細菌数が増加していることが確認され、残留塩素の管理の重要性を改めて指摘した。そして室内実験に基づき、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。さらに、間欠的な塩素接触条件での生物膜形成やレジオネラ再増殖の過程を把握した結果、レジオネラ属菌の再増殖は週1回以上の塩素接触によって抑制される可能性が示された。

## 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、実態調査ならびに室内実験による検討を行った。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。

まず、浄水処理システムでの細菌類の挙動について、生物活性炭処理に着目し、生物活性炭処理での細菌類の挙動に関する情報を整理した。そして、水質基準項目である一般細菌数と水質管理目標設定項目である従属栄養細菌数(HPC)について、全国 21 浄水場での実態を調査し、水質基準項目の一般細菌数との関係性について評価した。

次に、レジオネラ汚染に対する従属栄養細菌の指標性評価に関する文献調査ならびに室内実験を行った。室内実験では、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、従属栄養細菌数、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、レジオネラ汚染の制御方法の検討について、実態調査ならびに室内実験を実施した。実態調査では、小規模な配水区域を対象として、遺伝子レベルでのレジオネラ属菌の存在量を定量化し、残留塩素濃度や従属栄養細菌数との関連を評価した。室内実験では、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るとともに、給水管内面が間欠的に残留塩素と接触する状況でのレジオネラや生物膜の増殖特性を評価した。

## B. 研究方法

### 1. 浄水処理システムでの細菌類の挙動に関する調査

生物活性炭に関連する文献調査では、J-Stage、CiNii 等の論文検索サイト及び Google を用いたインターネット検索、水道研究発表会講演集、水道協会雑誌等の専門誌等を対象とした書籍検索を行った。実態調査では、全国 21 浄水場を対象とし、各浄水場の原水、ろ過水、浄水について一般細菌数と従属栄養細菌数の調査を 2 回(2021 年 10 月、2022 年 1 月)行った。原水については、滅菌

PBS により段階希釈を行い、平板培養法で培養した。ろ過水、浄水については試料 1mL を培養するとともに、100 mL (必要に応じて 1 L) を滅菌済みメンブレンフィルター(孔径: 0.22  $\mu\text{m}$ ) でろ過し、そのろ紙をあらかじめ準備した平板寒天培地上に置き、培養を行った。一般細菌数は、標準寒天培地を用いて  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  で 24 時間培養し、従属栄養細菌数は、R2A 寒天培地を用いて  $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、7 日間、14 日間培養した。

### 2. 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基礎的検討

従属栄養細菌数とレジオネラ汚染に関連する文献調査では、主に 2008 年以降に出版された文献を対象として調査を行った。

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分注し、GVPC 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) を初期濃度が  $10^3$  CFU/L 程度となるよう植菌し、 $20^{\circ}\text{C}$  または  $30^{\circ}\text{C}$  で 24 時間程度静置した。この静置は、レジオネラ属菌の宿主である自由生活性アメーバ(FLA)によるレジオネラ属菌の取り込みを目的としたものである。静置後、測定した塩素消費量・塩素要求量に基づいて、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  $20^{\circ}\text{C}$  または  $30^{\circ}\text{C}$  に静置し、残留塩素濃度(HACH Free Chlorine Reagen/Total Chlorine Reagent)を毎日測定するとともに、2~3 日おきに以下の各方法で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  $\mu\text{m}$  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<sup>1)</sup>に準い 10 分間の酸処理を行い、GVPC 培地を用いて  $37^{\circ}\text{C}$  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  $20^{\circ}\text{C}$ 、7 日間の培養後にコロニーを計数して求めた。FLA 測定は 250 mL の試料を孔径 3  $\mu\text{m}$  のメンブレンフィルターで 1 mL に濃縮した。この濃縮液を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  $30^{\circ}\text{C}$  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。

### 3. レジオネラ汚染に対する感染リスク制御に関する基礎的検討

実態調査では、急速ろ過プロセスを実施する A

浄水場の給水エリアのうち、山間部の小規模な配水区域を調査区域とした。配水池～末端に至るまでの6地点を採水地点とし、配水池、屋外の給水栓(3箇所)、末端ドレン(2箇所)からチオ硫酸ナトリウム溶液の入ったガラス瓶に水道水 2~3 L を採水した。試料 1~2L を孔径 0.2  $\mu\text{m}$  のポリカーボネート製ろ紙でろ過し、DNeasy PowerWater Kit (QIAGEN)を用いて DNA を抽出した。抽出した DNA 試料に対して、レジオネラ属菌と中でも病原性を持つとされる *Legionella pneumophila* (以降 *L. pneumophila* と記載)の遺伝子数を定量 PCR 法で測定した。その他の測定項目として、各地点の遊離残留塩素濃度をハンディ水質計(アクアブ AQ-201 型)で測定した。従属栄養細菌数は検水 1~10 mL を滅菌済みメンブレンフィルターにろ過後、R2A 寒天培地に貼付して 20°C で培養した。なお、損傷状態の細菌や増殖速度の遅い細菌類まで検出するため、培養期間を通常の7日間から21日間に延長した。

次に、室内実験によって、給水管内のレジオネラや生物膜の挙動をモデル化した。具体的には、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。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台とエポキシ樹脂粉体塗膜製の試験片を用いて、淀川表流水を流量 25~50 mL/min で循環通水することで、レジオネラを含む生物膜を作り出した。生物膜の不活化実験では、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)。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。生物膜の剥離実験では、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検水を孔径 0.2  $\mu\text{m}$  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。最後に、水流によって剥離されたレジオネラの不活化過程を把握するため、生物膜から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。以上で得られた結果をモデル式に当てはめ、管内面からの生物膜の剥離速度定数  $k_d(\text{min}^{-1})$ や、水中でのレジオネラの不活化速度定数  $k_{c12}(\text{L} \cdot \text{min}^{-1} \text{mg}^{-1})$ を推定した。

最後に3台のアニュラーリアクターに水道水を異なる塩素接触条件で供給し、装置内のポリ塩化ビニル製試験片上に形成した生物膜やレジオネラ数を測定した。まず水温約 35~40 °C に調整した水道水をリアクターに供給した。この時、30分間の通水 (流量 50 mL/min) と 30分間の止水を繰り返し、通水時にはチオ硫酸ナトリウム溶液によって水道水中の残留塩素を中和した。3台のリアクターのうち1台はこのようにして残留塩素のない水道水を常に通水し続けた。2台目と3台目のリアクターは、それぞれ週に1回と2回の頻度でチオ硫酸ナトリウム溶液の代わりに次亜塩素酸ナトリウム溶液を注入し、リアクター流出水中の残留塩素濃度を 0.3~0.7 mg/L となるように維持した。なお、1回の塩素接触時間は3時間とした。上記の運転を開始してから約1~2週間に1回の頻度でリアクター内部の試験片を2枚ずつ取り出した。原則、試験片は塩素接触後3日以上経過してから取り出したが、通水74日目と92日目の試験片は消毒効果を確認するために塩素接触してから1時間後に取り出した。試験片を滅菌 PBS 150 mL 中に浸してセルスクレーパーで生物膜を剥離させた後、1分間の超音波処理で生物膜などを懸濁させ、得られた試料水中の従属栄養細菌数とレジオネラ属菌数を測定した。

## C. 結果及びD.考察

### 1. 浄水処理システムでの細菌類の挙動に関する調査

まず、生物活性炭（BAC）を中心とした文献調査の結果を下記にまとめる。

BAC 前後での微生物挙動において、オゾン処理+BAC 処理の組み合わせでは、オゾン処理水に比べ BAC 処理水で従属栄養細菌数が高い傾向が確認されておた<sup>2,3)</sup>。また再増殖可能な病原細菌の一つであるレジオネラ属菌に着目した場合、粒状活性炭(GAC)に微生物群の定着が進みバイオフィームが発達すると *L. pneumophila* は GAC 上に定着し、増殖したことを確認している<sup>4)</sup>。また中国のオゾン処理+BAC 処理を含む実処理施設において、オゾン処理水と比較して BAC 処理水でレジオネラ属菌遺伝子数が増加しており、また BAC 層内にもレジオネラ属菌遺伝子が検出された<sup>5)</sup>ことから、BAC 層内でレジオネラが再増殖し、さらに処理水に流出する可能性がある。そのため、BAC 処理を適用する場合、後段での再凝集、砂ろ過処理の配置や塩素消毒の徹底など微生物の流出防止を含む適切な施設運用が重要であると言える。

続いて、従属栄養細菌数に関する実態調査について下記にまとめる。

全国 21 浄水場の原水、ろ過水、浄水での一般細菌数と従属栄養細菌数の測定結果により、相関関係が確認された（決定係数  $R^2=0.75$ ）（図 1）。得られた回帰式に基づき、一般細菌数 100 CFU/mL に相当する従属栄養細菌数を算出した結果、431 CFU/mL [95%信頼区間: 194 CFU/mL、956 CFU/mL] となり、現行の暫定目標値の 2000 CFU/mL を大幅に下回る結果となった。一方、浄水あるいはろ過水試料において、一般細菌と比較して従属栄養細菌の濃度範囲が広い結果となった。また本調査では、フィルター濃縮法を用いることでより低濃度での存在状況を評価しており、一般細菌が十分に制御されている状況下でも従属栄養細菌自体は再増殖し、比較的高い濃度で検出されるケースがあることが確認された。そのため、従属栄養細菌の方が、細菌類の再増殖状況を表現できていると考えられる。以上を踏まえると、一般細菌数と従属栄養細菌数の関係性より目標値を設定する際には、細菌類の再増殖を考慮した設定方法を検証

する必要があると言える。

### 2. 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基礎的検討

まず、従属栄養細菌数とレジオネラ汚染の関係性に関する文献調査の結果を下記にまとめる。

従属栄養細菌数レベルとレジオネラ属菌数またはその陽性率の間の関係については、相反する報告が出されており、議論継続中であることがわかった。従属栄養細菌数によるレジオネラ陽性判定が可能とした報告では、そのカットオフ値として 27~150 CFU/mL が提案されており、現在の日本の水質管理目標値（2000 CFU/mL（暫定））と比較して極めて低い点にも注目すべきである。従属栄養細菌数の測定法（使用培地、培養温度、培養期間）が研究者ごとに異なるため、各培地や培養温度における従属栄養細菌検出特性が影響している可能性がある。収集した文献は、各建物内の温水供給システムを対象とした実態調査の結果に基づいているため、微生物学的パラメータ以外にも水温や残留塩素濃度、その他の水質因子、配管長、設置年数やその状態、配管材質といった複数の要因が重なり合っており、あるシステムを対象として得られた両者の関係性はそのシステムにのみ特異的と考えるのが妥当であるといえる。よって、従属栄養細菌数とレジオネラ汚染の関係性を定量的に評価するためには、少なくとも配管や塩素消毒の影響を排除した試料を用いて、水温等をコントロール可能な条件下で従属栄養細菌数の変動とレジオネラ再増殖を調べることが望ましいと考えられる。

続いて、残留塩素消失過程を模擬した微生物再増殖試験に関する結果を下記にまとめる。

室内実験での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 1 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 °C 培養試料では  $3.2 \times 10^6$  CFU/L（1 回目）、 $2.3 \times 10^6$  CFU/L（2 回目）、30 °C 培養試料では  $4.4 \times 10^6$  CFU/L（1 回目）、 $7.3 \times 10^6$  CFU/L（1 回目）となり、30 °C 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 1 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 °C 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 2 に示す。塩素処理後に不検出となった後、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。

次に、残留塩素濃度が 0.1 または 0.2 mg/L に調整した塩素処理試料において微生物再増殖試験を実施した。塩素処理なしの試料では、再増殖試験開始時から従属栄養細菌数が  $10^3 \sim 10^5$  CFU/mL と高い値を示した。一方、塩素処理試料では、塩素注入により従属栄養細菌数がいったんほぼ不活化された後に再増殖したが、再増殖開始日は試料により大きく異なった。レジオネラ属菌については 1 試料のみ、GVPC 培地上に生育したコロニーを対象として確定試験を行った結果、塩素処理なしの試料では最大  $10^5 \sim 10^6$  CFU/L の濃度で検出されたが、塩素処理試料ではいずれの残留塩素濃度でも不検出 (<40 または <100 CFU/L) となった。FLA については塩素処理なしの試料では 8~192 PFU/L の濃度範囲で検出され、塩素処理試料においても多くの試料で 4~56 PFU/L の濃度に到達した。

残留塩素消失に伴って起こる FLA の再増殖に対する従属栄養細菌数の指標性を検討するため、再増殖試験の結果に基づき、各塩素処理条件における従属栄養細菌の再増殖確認日と FLA の検出日を比較した。結果を表 2 に示す。FLA の再増殖は 8 月試料では 8 日目以降、10 月試料では 11 日目以降、12 月および 1 月試料では 14 日目にそれぞれ初確認され、水温が低下するにつれて活性炭処理水中に残留する FLA の再増殖開始が遅れることが示された。また、試験期間中に FLA の再増殖が見られた試料では、1 試料 (21 年 8 月採水試料/設定残留塩素 0.2 mg/L/培養温度 20 °C) を除いて FLA の増殖確認日より 3~12 日前に従属栄養細菌の増殖が確認されていた。

この結果を踏まえて、FLA 再増殖が起こりやすくなる従属栄養細菌数レベルを探るため、各塩素処理試料のうち FLA が再増殖した群を対象として、初めて FLA の増殖が確認された日より 3 日前または 6 日前の従属栄養細菌数の分布を調べた。その結果、6 日

前の従属栄養細菌数濃度は不検出 (<1 CFU/mL) ~  $1.3 \times 10^5$  CFU/mL に広く分布し、偏りは見られなかった一方、FLA 増殖確認 3 日前の従属栄養細菌数は前述の異常値 1 点を除いて  $9.5 \times 10^3$  CFU/L 以上に偏っており、従属栄養細菌数の先行増殖が FLA 増殖の指標となりうると考えられた。

### 3. レジオネラ汚染に対する感染リスク制御に関する基礎的検討

まず、給配水システムにおけるレジオネラ属菌の実態調査結果について、残留塩素濃度と HPC、レジオネラ属菌との関係を図 3 に示す。遊離塩素が 0.4 mg/L 以上の試料では、1 つを除いた全試料でレジオネラ属菌の遺伝子が LOQ 未満となった。これより遺伝子レベルではあるがレジオネラを制御するためには高濃度の遊離塩素の残留が重要であると考えられた。

続いて、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に関する検討結果について、下記にまとめる。まず、室内実験の結果から、生物膜の剥離速度定数  $k_d$  を 0.023, 0.047  $\text{min}^{-1}$  と推定でき、不活化速度定数  $k_{Cl_2}$  を 0.21, 0.25  $\text{L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$  と推定できた。以上の結果を踏まえて、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(1)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。

$$\frac{\partial C_T}{\partial t} = -u \cdot \frac{\partial C_T}{\partial x} + SA \cdot k_d \cdot C_{b,0} \cdot \exp(-k_d \cdot t) \cdot CF \quad (1)$$

$C_T$ : 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 ( $200 \text{ m}^2$ )、 $C_{b,0}$ : 流速増加開始時の給水管内面のレジオネラ密度 (cells/cm<sup>2</sup>) (生菌状態, 0.1 cells/cm<sup>2</sup> と設定)、 $CF$ : 単位換算用の定数 (1/6)、 $u$ : 流速 (0.5 m/s) である。 $k_d$  として 0.023、0.047  $\text{min}^{-1}$  の値を用いて計算したところ、図 4(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(2)に従って推定した。 $k_{Cl_2}$ には消毒実験で得られた $0.21, 0.25 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ を用い、残留塩素濃度 $C_{Cl_2}$ は $0.5 \text{ mg/L}$  (一定)とした。

$$C_v = C_w \cdot \exp(-k_{Cl_2} \cdot C_{Cl_2} \cdot t) \quad (2)$$

$k_d, k_{Cl_2}$ 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 $0.1 \text{ cells/cm}^2$ の場合、管出口におけるレジオネラ生菌数は最大で $0.01 \sim 0.03 \text{ cells/L}$ 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 4(b))。このように、給水管内の任意のレジオネラ存在量と残留塩素濃度のもとで水道水中のレジオネラ濃度を推定可能とした。

最後に、給配水管内におけるレジオネラ汚染の制御方法に関する検討結果について、下記にまとめる。

塩素接触頻度に対する従属栄養細菌数への影響について、通水期間における試験片上の従属栄養細菌数の推移結果を図 5 にまとめる。通水開始後、約 20 日で従属栄養細菌数は約  $4 \sim 5 \text{ log CFU/cm}^2$  程度に達し、その後は  $3 \sim 5 \text{ log CFU/cm}^2$  の範囲で変動した。塩素接触頻度が 0 回/週の条件で従属栄養細菌数が最も大きい場合が多かったものの、総じて塩素接触頻度の違いによる明確な影響は見られなかった。また、74 日目と 92 日目には塩素接触直後の従属栄養細菌を測定したところ  $2.3 \sim 3.0 \text{ log CFU/cm}^2$  となり、塩素接触前後で  $1 \sim 2 \text{ log}$  程度減少していることが確認された。以上より、毎回の塩素接触によって生物膜中の従属栄養細菌は不活化されるものの、次の塩素接触までの数日間で急速に再増殖していることが推察された。

レジオネラ属菌は通水開始後 74 日目までは全てのリアクターで不検出であったが、77、92 日目には塩素接触のない条件のみ、レジオネラが  $0.9 \sim 22 \text{ CFU/cm}^2$  の密度で検出された。塩素接触のある系では全期間で不検出であったことから、間欠的な塩素接触によって生物膜でのレジオネラ増殖が抑制された可能性が考えられる。ただし、今回の試験期間は 3 ヶ月程度と非常に短く、レジオネラや宿主アメーバ等の関連微生物からなる微生物相の成熟には至っていないことには注意が必要である。

## E. 結論

本研究では、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、レジオネラ汚染に対する従属栄養細菌の指標性に関して検討を行った。得られた知見を以下に示す。

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

- ・全国 21 浄水場の原水、ろ過水、浄水での一般細菌数と従属栄養細菌数の測定結果に基づき、相関性を評価した結果、回帰式は得られたものの、浄水、ろ過水において従属栄養細菌数にバラツキが大きく、細菌類の再増殖による影響であると考えられた。

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

- ・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。

- ・塩素処理試料 (設定残留塩素  $0.1, 0.2 \text{ mg/L}$ ) においてレジオネラ属菌の安定的な再増殖は確認できなかったが、FLA は多くの試料で再増殖が起こることが確認された。1 試料を除いて、FLA の増殖確認日より  $3 \sim 12$  日前に従属栄養細菌の増殖が確認され、特に再増殖確認日より 3 日前の従属栄養細菌数が顕著に増加しており、従属栄養細菌数が FLA 再増殖の先行指標となりうる可能性が指摘された。

- ・山間部に位置する小規模な配水区域において、遊離残留塩素の減少に従ってレジオネラ属菌や従属栄養細菌数が増加していることが確認された。また遊離残留塩素が  $0.4 \text{ mg/L}$  以上の大半の試料でレジオネラ属菌の遺伝量が定量下限未満で

あったことから、残留塩素の管理の重要性を改めて指摘した。

・室内実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。

・間欠的な塩素接触条件での生物膜形成やレジオネラ再増殖の過程を把握した。生物膜の形成状況は週 0～2 回の塩素接触条件で顕著な差は見られなかったものの、レジオネラの再増殖は週 1 回以上の塩素接触によって抑制される兆しが確認された。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

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

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

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む。)

### 1. 特許取得

該当なし

## 2. 実用新案登録

該当なし

## 3. その他

該当なし

## I. 参考文献

- 1) 日本水道協会. 上水試験方法 V. 微生物編 2011 年版, 2011.
- 2) 川西敏雄, 堤行彦, 杉本隆仁. 高度浄水処理における生物活性炭処理と活性炭吸着池の構造について. 環境技術, 17(9), 575-578, 1988.
- 3) 大河内由美子, 石川卓, 高橋恭介, 伊藤禎彦. 水環境におけるエンドトキシンの変動要因と浄水処理過程におけるエンドトキシン除去特性. 環境工学研究論文集, 44, 247-254, 2007.
- 4) Sharma, H. Colonization of Granular Activated Carbon Media Filters by Legionella and Heterotrophic Bacterial Cells. Master's Thesis, Arizona State University, 2014.
- 5) Li, Q., Yu, S., Li, L., Liu, G., Gu, Z., Liu, M., Liu, Z., Ye, Y., Xia, Q. and Ren, L. Microbial communities shaped by treatment processes in a drinking water treatment plant and their contribution and threat to drinking water safety. *Front. Microbiol.*, 8, 2465, 1-16, 2017.

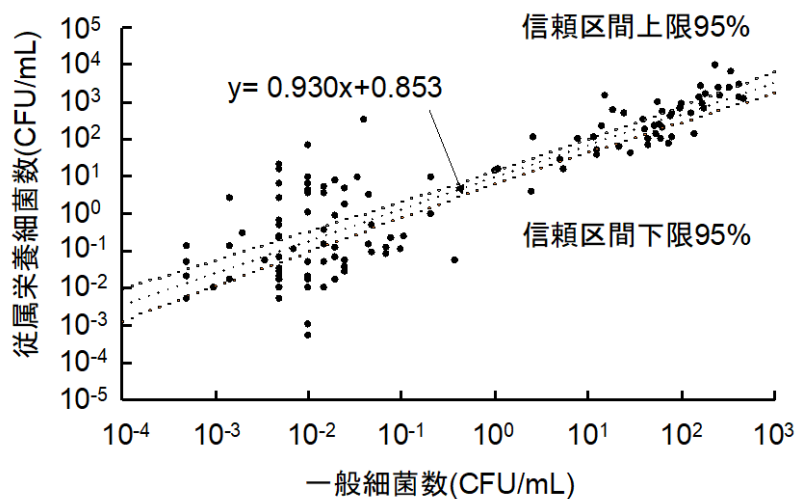


図1 一般細菌数と従属栄養細菌数の関係性評価

表1 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Cl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	$3.2 \times 10^6$
		30	—	—	—	6/6	$4.4 \times 10^6$
	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	$2.3 \times 10^6$
		30	—	—	—	6/6	$7.3 \times 10^6$
	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

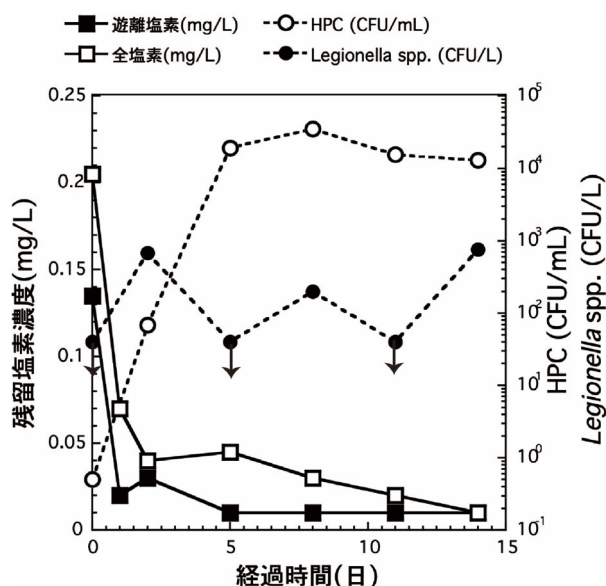


図2 残留塩素消失過程における従属栄養細菌数およびレジオネラ属菌数の経時変化 (設定塩素濃度 0.1 mg/L・培養温度 30 °C) 図中の↓は定量下限値 (40 CFU/L) 未満を表す。

表2 微生物再増殖試験における各微生物の増殖確認日

培養温度	設定塩素条件	対象微生物	2021年8月	2021年10月	2021年11月	2022年1月
20 °C	0.1 mg/L	HPC確認日	5日目	2日目	5日目	5日目
		FLA確認日	不検出	11日目	14日目	14日目
	0.2 mg/L	HPC確認日	8日目	8日目	14日目	8日目
		FLA確認日	8日目	14日目	不検出	14日目
30 °C	0.1 mg/L	HPC確認日	2日目	2日目	5日目	2日目
		FLA確認日	8日目	14日目	14日目	14日目
	0.2 mg/L	HPC確認日	5日目	2日目	5日目	2日目
		FLA確認日	8日目	11日目	不検出	14日目

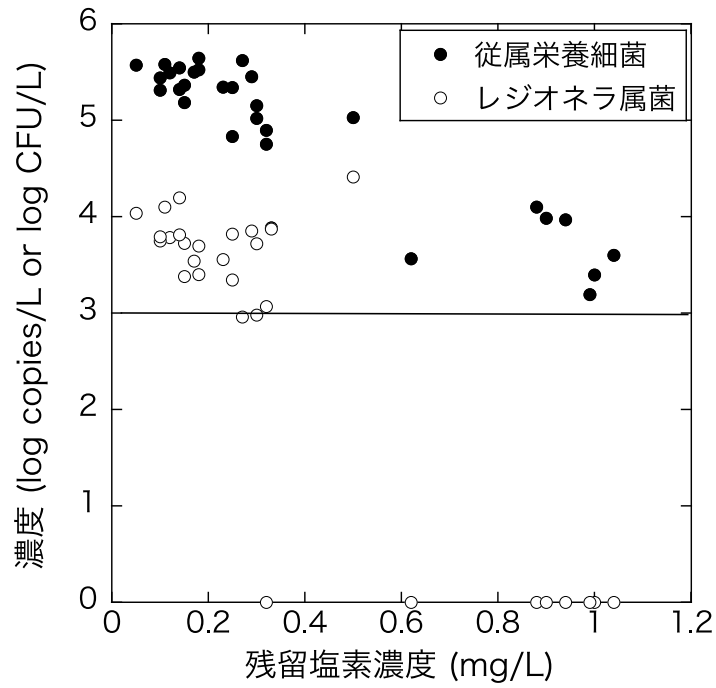


図3 遊離残留塩素濃度と従属栄養細菌/レジオネラ属菌の関係  
(実線はレジオネラの定量下限。定量下限未満の検出データは全て 0 log copies/L と表示)

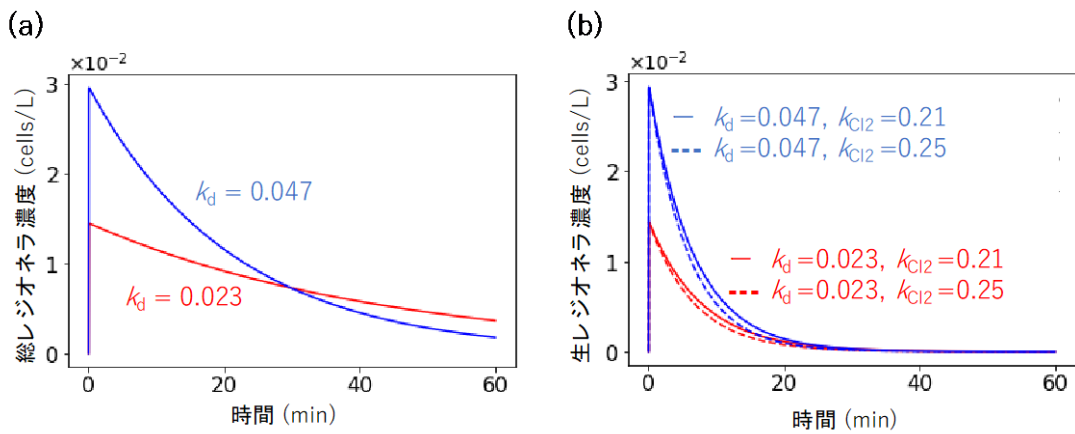


図4 各速度定数によって推定されたシャワー水中のレジオネラ濃度変化  
(a) : 全レジオネラ濃度、(b) : 生菌状態のレジオネラ濃度)

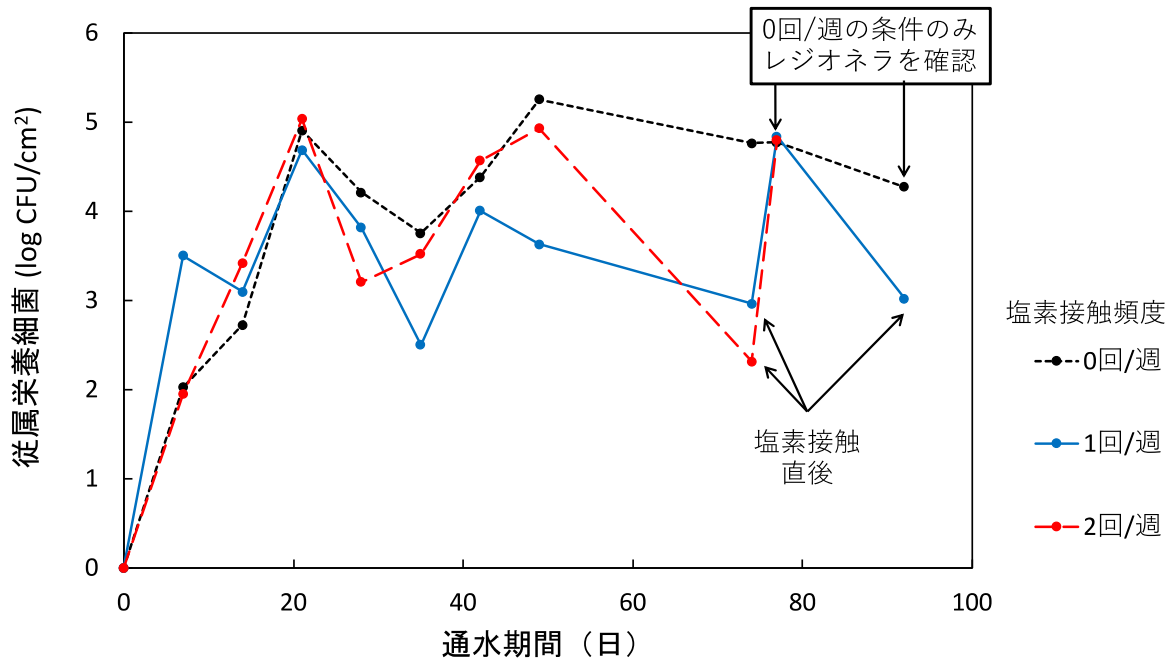


図5 異なる塩素接触頻度のもとでの試験片上の従属栄養細菌数の推移 (77日目以降、0回/週の条件においてはレジオネラが毎回確認された。)





令和元年～3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

水道原水におけるクリプトスポリジウム等検査法の向上に係る研究

研究分担者	泉山 信司	(国立感染症研究所寄生動物部)
研究協力者	井上 亘	(神戸大学大学院農学研究科)
研究協力者	古川 紗耶香	(青森市企業局水道部)
研究協力者	鎌田 智子	(神奈川県内広域水道企業団浄水部)
研究参加者	大杉 由利子	(神奈川県企業庁企業局)
研究参加者	宮本 雅史	(横浜市水道局)
研究協力者	藤瀬 大輝	(川崎市上下水道局)
研究参加者	古口 健太郎	(川崎市上下水道局)
研究参加者	森山 富美	(横須賀市上下水道局)
研究協力者	安原 雄作	(九十九里地域水道企業団浄水課)
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	中嶋 直樹	(神奈川県衛生研究所)

研究要旨

クリプトスポリジウムやジアルジア等の耐塩素性病原微生物は、塩素消毒に抵抗性があり、ろ過除去等の対策が不十分であれば、水道水を介した感染事故が生じて問題となる恐れがある。クリプトスポリジウム等は様々な動物に感染し地域に関わらず流行するもので、実際に影響を受けたと思われる水道原水からの検出報告が日本全国に分布することを確認した。以前は汚染がないと考えられてきた山間部に由来する河川水であっても、ジアルジアの遺伝子が検出され、上流の野生動物が由来と考えられた。この検出は顕微鏡検査の形態観察が容易ではなく、遺伝子検査によって補われた例であった。顕微鏡検査の安定に向け、訓練と施設間の精度管理を例示した。10Lにわずか1個を検出しなければならない困難さについては、より濃度が高い下水放流水を検査することが有用と考えられた。

A. 研究目的

非血性の水様下痢を呈するクリプトスポリジウム症とジアルジア症は、糞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<sup>1,2)</sup>。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

ら耐塩素性病原微生物の対策は、水道水における課題の一つとなっている<sup>3-6)</sup>。

対策の必要性や程度を考える上で、汚染実態の把握は基本である。クリプトスポリジウムとジアルジアは世界のどこにでもいる、ユビキタスな病原体であることが知られている<sup>7)</sup>。海外の河川の様子は、クリプトスポリジウムが不検出～ $0.05 \sim 8.4 \times 10^4$  個/10L<sup>8)</sup>、あるいは予測モデルとして $10^{-5} \sim 10^3$ /10Lの範囲にあり<sup>9)</sup>、ヒト由来の高濃度な汚染が人口の集中した地域で指摘されている。ジアルジアは、不検出～ $0.01 \sim 3.2 \times 10^4$ /10Lの範囲で報告されている<sup>10)</sup>。下水処理場が整備された日本国内でこれほどの高濃度に達するとは考えにくい、患者クラスターの発生や合流式下水道からの放流など、一時的な河川への汚染負荷は生じるかもしれない<sup>11)</sup>。現行の河川水の検査は10Lにわずか1個を検出する難しいものだが、下水の高濃度な試料を狙って検査するならば、検査感度の向上や流行の検知が期待できるかもしれない。

その河川水中の10Lに1個を検出する検査法は、今なお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<sup>12)</sup>。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るだけでなく、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。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。顕微鏡検査を遺伝子検査で補うことのできた例であった。

この様に、クリプトスポリジウム等の顕微鏡検査は、蛍光抗体で緑色に染色されたわずか1つの粒子を検出する難しいものとなっている。複雑

な濃縮や精製に熟練を要する操作を要し、検査結果は原水水質、検査手法、検査者の技量等により変動する恐れが高い<sup>12)</sup>。しかし、クリプトスポリジウム等検査は、他の試験検査と異なり、外部精度管理が導入されておらず、日頃から試験精度を把握している検査機関は少ないと推察される。施設間で行われた精度管理が10年以上前に報告されており、今なお、このような取り組みを行うことが有用と考えられる<sup>13)</sup>。

以上を受けて、本研究では水道におけるクリプトスポリジウム対策の向上を目指して、次の課題を検討した。すなわち、原水におけるクリプトスポリジウム等の汚染実態の把握、顕微鏡検査を遺伝子検査で補うこと、顕微鏡検査の精度管理を行うこと、下水の検査による検査感度の向上について、検討した。

## B. 研究方法

### B1. 全国の水道原水におけるクリプトスポリジウム、ジアルジアの検出状況

クリプトスポリジウムとジアルジアの検出報告は、「水道水及び水道用薬品等に関する調査等一式業務報告書」より、「4. クリプトスポリジウム等の検出状況の整理」を参照した<sup>14, 15)</sup>。検出地点の住所や施設名は、Webのジオコーディングサービスを利用して、緯度経度に変換した<sup>16-19)</sup>。地図上でプロットが重ならない様に、および特定の地点が強調されない様に、緯度経度に $-0.25$ から $+0.25$ の範囲で乱数( $+RAND()/2-0.25$ )を加えた。これは緯度と経度のいずれも、大雑把に50kmのずれに相当する。地理院地図のWebサービスを利用して、地図上におよその報告地点をプロットした<sup>20)</sup>。

### B2. 山間部由来の河川水原水における、野生動物由来のジアルジア検出

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<sup>12)</sup>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、 $\beta$  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<sup>21, 22)</sup>。

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<sup>23-26)</sup>。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。

### B3. クリプトスポリジウム顕微鏡検査の精度管理

回収率算出用の陽性コントロールは、Alexa594 標識のホルマリン固定クリプトスポリジウムオーシストを使用した<sup>27)</sup>。オーシストは *Cryptosporidium parvum* 感染マウスの糞便より精製したクリプトスポリジウムを、Alexa594 (Alexa Fluor 594 carboxylic acid, succinimidyl ester、Invitrogen) と混合し、室温で 1 時間反応させることで標識した。オーシストから過剰な色素を精製水との遠心洗浄で除去し、0.0005% Tween80 を加えた 10%ホルマリンで固定し、約 150 個/200  $\mu$  L に希釈したものを、陽性コントロールとした。陽性コントロールは冷蔵保管し、使用前に 1 分間以上、良く攪拌した。

添加回収試験における添加数を正確に求めるため、陽性コントロールを 2~5 回、計数し、平均値を求めた。後述の添加試料の用意と同時に、1.5mL チューブに約 150 個/200  $\mu$  L を分取し、蛍光染色試薬 (EasyStain CG、BioPoint、以下、染色試薬) を添加し染色した (4°C、1 晩)。孔径 1  $\mu$  m、直径 25mm の親水性 PTFE メンブレンフィルター (H100A025A、ADVANTEC) を、染色・観察用フィルターとして使用した。蛍光微分干渉顕微鏡の倍率 200 倍 (対物レンズ 20 $\times$ ) を使用して、B 励起光下で緑色蛍光を発するオーシスト様粒子を陽性コントロールとして計数した。標準偏差は、Microsoft Excel 2016 上で stdev 関数を使用して求めた。変動係数は、標準偏差を平均値で除して求めた。

水道事業体 E における検査の訓練に、年 1 回訓練の「訓練対象者」と、現役の検査担当者の「試験補助者」が参加した。河川水 (2021 年 10 月 21 日採水、濁度 2.5 度、あるいは 2021 年 11 月 18 日採水、濁度 1.3 度) を複数のポリ容器に 10L ずつ採水し、陽性コントロールを 200  $\mu$  L ず

つ添加することで、添加回収試験を行った。

クリプトスポリジウムの濃縮精製は、常法の PTFE メンブレンフィルター濃縮と免疫磁気ビーズ精製で行った<sup>28)</sup>。精製後のクリプトスポリジウムは 1.5mL マイクロチューブに回収し、チューブ内で蛍光抗体染色した(37°C 30 分、または 4°C 1 晩〜)。検鏡は、前述の陽性コントロールの計数と同様に行った。G 励起光で Alexa594 の赤色蛍光を発するオーシスト様粒子を陽性コントロールとして計数し、赤色蛍光のないクリプトスポリジウム様粒子は、微分干渉像あるいは DAPI 染色像を観察し、河川水由来のクリプトスポリジウムとして計数した。

5 水道事業体間(A〜E)の精度管理では、約 100〜200 個/100 $\mu$ L となるよう陽性コントロールを作成し、10mL ずつ分注したものを各事業体に配付した。河川水(2021 年 12 月 14 日採水、濁度 1.9 度)を各事業体が持参したポリ容器に採水し、統一した試料水を使用した。採水した試料水は冷暗所に保管し、1 週間以内に試験した。試料水 10L に陽性コントロール 100 $\mu$ L を加え、常法の PTFE メンブレンフィルター濃縮と免疫磁気ビーズ精製を基本として、各事業体でわずかに異なる操作方法で試験した。

#### B4. 下水放流水のクリプトスポリジウム等検査

下水道事業体の協力を得て、畜舎や動物施設の影響の少ないことを条件に、様々な排水試料を収集した<sup>16)</sup>。試料採取の頻度は月 1 回程度とし、2018 年 5 月から 2019 年 2 月に計 76 検体、2019 年 6 月から 11 月に計 61 検体を得た。最終処理水 10 L を、ポリ容器(ウォータータンク、アイリスオーヤマ)に採取した。濃縮精製は、半分の 5 L より、常法の PTFE メンブレンフィルター濃縮、免疫磁気ビーズ精製で行った<sup>28)</sup>。精製試料(約 220  $\mu$ L)の半分を、免疫蛍光染色し(EasyStain CG)、ビニールフレーム<sup>29)</sup>で顕微鏡標本を作成し、微分干渉蛍光顕微鏡を用いて

オーシストとシストを計数した。

#### C. 結果及び考察

##### C1. 全国の水道原水におけるクリプトスポリジウム、ジアルジアの検出状況

水道原水におけるクリプトスポリジウムおよびジアルジアの報告数は<sup>14, 15)</sup>、年 50 件程度、11 年間に計 1,018 件の報告の大部分は、汚染を受けやすい地表水、表流水、伏流水、浅井戸を水源としていた(表 1)。

クリプトスポリジウムの検出は 11 年間に 618 件あり、地図にプロットすると、北は北海道、南は沖縄まで、全国的に報告されていた(図 1A)。ジアルジアは、11 年間に 573 件の報告があった。クリプトスポリジウムと同様に、全国的な分布を示した(図 1B)。

元々、クリプトスポリジウム症とジアルジア症はユビキタスにどこでも認められる病気であり、南国や開発途上国に限って分布すると言ったような地域特異性は無い<sup>7)</sup>。仮に現在が清浄であっても、容易に病原体が持ち込まれる恐れが考えられる。場所によらず、流行や汚染に注意を要すると考えられた。

いずれも検出の多くは関東地方に集中したが、その河川が畜産排水に汚染されやすいこと、検査頻度が高いこと、などが理由と考えられた<sup>30)</sup>。検査能力やそもそもの検査の有無、汚染の強い河川水を避けられるといった水事情の違いも影響するかもしれない。水道原水に使われない河川の汚染実態は、この地図には反映されないことになり、地下水等の水の豊かな地域は検出報告が少ないかもしれない。年単位の集中や増減といった傾向は認められなかった。

##### C2. 山間部由来の河川水原水における、野生動物由来のジアルジア検出

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

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の存在する状況が続いた(図 2)。遺伝子検査を導入すると、ジアルジアの RT-PCR が陽性、塩基配列は近縁の配列 (AF006676) を基準として、99.6% (=224/225bp) の一致、系統樹解析の結果から *G. microti* (図 3) と推定された。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。

集水区となっている上流の河川水と、宿主と予想されるげっ歯類の汚染実態を 4 地点 (A から D) で調査した(図 4)。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 検体のうち、*G. microti* 遺伝子の読み取りに成功したのは 4 検体であった(表 3)。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。

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。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<sup>22)</sup>。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(0/24)とヒメネズミ(0/18)に *G. microti* の検出はなかった。*G. muris* の検出はアカネズミに限られた(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。

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。

### C3. クリプトスポリジウム顕微鏡検査の精度管理

訓練として行った添加回収試験の結果は、試験補助者、訓練対象者ともに回収率の平均値が 50%以上と良好であった(表 4)。試験補助者 4 名は、検査の担当年数が 1~4 年(平均 3 年)、回収率が 45%~61%(平均 53%)で、例数は少ないが経験年数と回収率の間に関連はなかった。経験年数が短くとも、日常的にクリプトスポリジウム検査を実施している職員については、一定の試験精度が保たれていると考えられた。一方、訓練対象者の回収率は 28%~87%(平均 56%)と、回収率のばらつきが大きかったものの、平均値は試験補助者 4 名の 53%と遜色なかった。毎年 1 名程度のこととして、回収率が 0%になることがあり、実際、参考までに併記した前回訓練時の 1 名が 0%であった(表 4)。わずかなミスで容易に失敗する試験であり、訓練と精度管理の必要性を、改めて指摘される内容であった。全体としては、年 1 回の訓練の成果として、技能が維持されていると言えた。

5 水道事業者の添加回収試験で施設間の成績を確認した。陽性コントロールの平均値は、5 事業者全体で 157 個(変動係数 15%)であった(表 5)。130~170 個と若干幅があったものの、全体と各事業者の間に有意差はなかった( $p>0.05$ , t 検定)。

なお、統一された同時採水の河川水試料ではあったが、試験時に確認した濁度は、1.4 から

2.3 と 1 度近い差が生じ、平均濁度 1.9、変動係数 21%であった。

全試験者における回収率は、50%～99%の範囲にあり、平均回収率 78%、標準偏差 14、変動係数 18%であった(表 5)。回収率の変動は濁度の変動と遜色なく、難しい検査としては、良く揃っていると言えた。回収率は最大 2 倍の開きがあったものの、全ての試験者が概ね 50%以上の回収率を得ており、回収率の平均(N=15) 78%は良好であった。事業体別の平均回収率は 63%～95%で、事業体間に有意差はなかった( $p>0.05$ , t 検定)。

これまでクリプトスポリジウム等検査の精度に注意が払われていなかったことから、今後はこのような精度管理が行われることを期待した。なお、添加回収試験に用いた統一試料の河川水から、元の河川水試料に由来するクリプトスポリジウムが 1～14 個検出された(表 5)。こちらは当初の目的外だったが、計数値が大きく変動しており、採水の偶然による変動が生じやすいこと、顕微鏡下の目視による判断の難しさが反映されたと考えられた。複数の検査者で判断したり(クロスチェック)、別の原理の検査(遺伝子検査)で補うといった工夫が対策として考えられた。

#### C4. 下水放流水のクリプトスポリジウム等検査

下水放流水の検査結果を表 6、7 に示した。クリプトスポリジウムは 2%(=陽性 3/全試料 137)の頻度で陽性となった(D1、E1)。

ジアルジアは 25%(=32/127)の陽性率であった。全 22 処理場のうち、16 の処理場の排水から検出され、継続的な傾向にあった。ジアルジア症の場合、旅行者下痢症などが多いこと、不顕性感染が多いこと、慢性化するなどして、シストを排出する期間がクリプトスポリジウムに比べて長いことなどが原因かもしれない。

下水の検査で陽性となった地区では、この期間に、感染症発生動向調査(NESID)へのクリプ

トスポリジウム症とジアルジア症の届出はなかった<sup>31)</sup>。すべての下痢症を検査するのは現実的ではなく、すべての患者発生を把握できないのは致し方ない面がある。病院や患者の負担なく、その地域の感染を推定できる方法として、下水の検査は有用と考えられた。従来の河川水の検査は 1 個/10L の検出限界で行われてきたが、下水放流水は 1 個/L で行っても汚染の恐れを判断する目的には十分と考えられた。排出源により近く、より高濃度な検査が有利といえた。

#### D. 結論

日本全国の水道原水から年 50 件ほどの汚染が報告され、11 年間にクリプトスポリジウムは 618 件、ジアルジアは 573 件あった。関東地方に検出が多かったものの、全国的な分布を示し、場所によらず汚染に注意を要すると考えられた。

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。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。顕微鏡検査が遺伝子検査によって補われ、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。

クリプトスポリジウム検査の訓練を行い、検査技術の維持を確認できた。しかし、クリプトスポリジウム検査は煩雑な作業を要し、回収率が変動することがあり、定期的な訓練の必要性を改めて認識した。陽性コントロールと河川水試料を統一し、5 事業体間の添加回収試験を行い、回収率は概ね 50%以上と良好であった。試験者や事業体間で特段の問題はなく、検査結果の共有

と比較が可能と考えられた。これまでクリプトスポリジウム検査の精度管理には注意が払われておらず、訓練と施設間の精度管理を例示することで今後の改善を期待した。

下水道事業体の協力を得て、計 22 箇所から 137 試料を検査した。下水放流水 3 試料からクリプトスポリジウムが検出された。ジアルジアは、32 試料と検出が多かった。対象地域内ではこの期間にクリプトスポリジウム症とジアルジア症の届出がなかった。従来の河川水の検査は 1 個/10L の検出限界で行われてきたが、下水放流水は 1 個/L で行っても汚染の恐れを判断する目的には十分と考えられた。下水の検査による感度の向上は有用と考えられた。

#### E.参考文献

1. 埼玉県衛生部, 「クリプトスポリジウムによる集団下痢症」-越生町集団下痢症発生事件-報告書 (平成 9 年 3 月)
2. 岸田一則、石田篤史、本邦初のジアルジア集団感染事例について、平成 23 年度地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会、茨城県土浦市
3. Widerström M, Schönning C, Lilja M, Lebbad M, Ljung T, Allestam G, Ferm M, Björkholm B, Hansen A, Hiltula J, Långmark J, Löfdahl M, Omberg M, Reuterwall C, Samuelsson E, Widgren K, Wallensten A, Lindh J. Large Outbreak of *Cryptosporidium hominis* Infection Transmitted through the Public Water Supply, Sweden. *Emerg Infect Dis.* Vol.20, No.4, pp.581-589 (2014)
4. 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. Savioli L, Smith H, Thompson A. *Giardia* and *Cryptosporidium* join the 'Neglected Diseases Initiative'. *Trends Parasitol.* 2006 May;22(5):203-8.
8. Betancourt, W. 2019. *Cryptosporidium* spp. In: J.B. Rose and B. Jiménez-Cisneros, (eds) Global Water Pathogen Project. <http://www.waterpathogens.org> (R. Fayer and W. Jakubowski, (eds) Part 3 *Protists*) <http://www.waterpathogens.org/book/cryptosporidium> Michigan State University, E. Lansing, MI, UNESCO.
9. Vermeulen LC, van Hengel M, Kroeze C, Medema G, Spanier JE, van Vliet MTH, Hofstra N. *Cryptosporidium* concentrations in rivers worldwide. *Water Res.* 2019 Feb 1;149:202-214.
10. Boarato-David, E., Guimarães, S., and Cacciò, S. 2017. *Giardia duodenalis*. In: J.B. Rose and B. Jiménez-Cisneros, (eds) Global Water Pathogen Project. <http://www.waterpathogens.org>
11. 井上亘, 菅野淳一. 下水処理場等の排水からのクリプトスポリジウムおよびジアルジアの検出. 病原微生物検出情報月報 (IASR). Vol.39, No.2, pp.27-28 (2018)
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. 宮島裕子、藤田貴之、秋元克己、高橋真紀、熊谷美紀、寺澤英昭、島野猶一、阿部敏弘、野中貴子、野田功、利根川・荒川水系における原虫類共同調査、用水と廃水 50(8), 676-682, 2008
  14. 環境管理センター、「4. クリプトスポリジウム等の検出状況の整理」、平成 25 年度水道水及び水道用薬品等に関する調査業務報告書より、pp.135-149.
  15. 三菱ケミカルリサーチ、「4. クリプトスポリジウム等の検出状況の整理」、平成 30 年度水道水及び水道用薬品等に関する調査等一式業務報告書より、pp.195-207.
  16. 井上亘、上村育代、川元達彦、吉田昌史、浄水処理困難物質等のリスク管理のための水道水源にある施設のデータベース化と地図化に関する研究、兵庫県立健康生活科学研究所健康科学研究センター研究報告 8 号: 50-53. 2017.
  17. 谷謙二、Yahoo!マップ API を使ったジオコーディングと地図化 (<http://ktgis.net/gcode/index.php>, 2020 年 3 月 4 日時点)
  18. Aoba、Geocoding.jp、(<https://www.geocoding.jp/>, 2020 年 3 月 4 日時点)
  19. tree、住所と緯度経度を相互変換、(<https://1-dot-tree-maps-152415.appspot.com/geocoding/>, 2020 年 3 月 4 日時点)
  20. 国土地理院、地理院地図(電子国土 Web)、(<http://geolib.gsi.go.jp/node/2555>、2020 年 3 月 4 日時点)
  21. 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
  22. 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.
  23. Feely DE. Morphology of the cyst of *Giardia microti* by light and electron microscopy. *J Protozool*. 1988 Feb;35(1):52-4.
  24. Boeck, WC. Mitosis in *Giardia microti*. *University of California Publications in Zoology*, 1917, 18: 1.
  25. 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.
  26. 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.
  27. 稲田康志、木俣勲、塩出貞光、石本知子、井関基弘、プロテインラベリング法で蛍光標識したクリプトスポリジウムオーシストのオーシスト検出検査及び除去試験への適用、水道協会雑誌 73(6), 14-21, 2004
  28. 日本水道協会(2003)親水性 PTFE ろ過ーボルテックス剥離法、クリプトスポリジウムー解説と試験方法ーより、132-133、日本水道協会、東京
  29. 井上 亘、小田琢也、簡易なクリプトスポリジウムのオーシストの計数方法、寄生虫学研究:材料と方法(宇賀昭二、丸山治彦編) 2012 年版, 三恵社, 名古屋, ISBN978-4-88361-998-6: 85-86, 2012.



30. 泉山信司, 秋葉道宏, 松下拓他. 微生物に関する研究, pp.17-32. 水道水質の評価及び管理に関する総合研究(研究代表者: 松井佳彦)平成 28 年度総括・分担研究報告書. 厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)(2016)
31. 兵庫県感染症情報センター, (<http://www.hyogo-iphes.jp/kansen/infectdis.htm>, 2020 年 3 月 4 日時点)

#### F.研究発表

##### 誌上発表

1. 井上亘, 萩田堅一, 藤瀬大輝, 橋本温, 泉山信司, 小規模下水処理場放流水の塩素抵抗性原虫調査、水道協会雑誌、90(11), 23-27, 2021
2. 橋本温, 柳下真由子, 小林謙介, 泉山信司, 水道水質関連調査データを用いた水源のクリプトスポリジウム等検出状況とその定量的微生物リスク評価, 水道協会雑誌, 90(4), 1-9, 2021
3. 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
4. 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
5. Tsuchioka H, Izumiyama S, Endo T, Wada T, Harada H, Hashimoto A. Hydroxyapatite powder cake filtration reduces false positives associated with halophilic bacteria when evaluating *Escherichia coli* in seawater using Colilert-18. J Microbiol Methods. 2019 Feb 22;159:69-74.

##### 口頭発表

1. 泉山信司, 古川紗耶香, 油川一紀, 山本貢平, 今健亘, 赤坂遼平, 山崎朗子, 東北地方のある浄水場上流山間部における、げっ歯類の *Giardia* 流行調査、日本寄生虫学会東日本大会、2021 年 10 月、栃木県(オンライン)
2. 井上亘, 泉山信司, *Cryptosporidium* のオーシスト壁の透過性に関する研究、日本水処理生物学会、2021 年 10 月、神奈川県(オンライン)
3. 泉山信司, 消化管寄生性原虫のクリプトスポリジウム・ジアルジアへの対応、日本水処理生物学会、2021 年 10 月、神奈川県(オンライン)
4. 泉山信司, 古川紗耶香, 油川一紀, 山本貢平, 今健亘, 赤坂遼平, 山崎朗子, 山間部のげっ歯類が汚染源と推定される、腸管寄生性原虫による水道原水の汚染検出と対策の事例、日本防菌防黴学会、2021 年 9 月、大阪市(オンライン)
5. 井上亘, クリプトスポリジウム研究のための水質検査計画のデータの地図化およびデータベース化, 兵庫自治学会研究発表大会 2021 年 9 月, 神戸市 (オンライン)
6. 泉山信司, 古川紗耶香, 油川一紀, 今健亘, 赤坂遼平, 山崎朗子, 「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」、環境技術学会、2021 年 6 月、オンライン
7. 泉山信司, 「環境水(河川、畜舎排水、下水放流水)中のクリプトスポリジウム、ジアルジア調査についての研究意義と将来展望」より、国内の検出状況等について、水道微生物問題研究会、令和 3 年 4 月、神奈川県(オンライン)
8. 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.
9. 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)
  10. 井上亘、荻田堅一、鈴木雅和、野村素行、四方浩人、水道水の感染リスク把握のための小規模下水処理場排水の塩素抵抗性原虫調査、水道研究発表会、2019年11月、函館市
  11. 泉山信司、水道水を介してクリプトスポリジウムに感染するリスクの計算、環境技術学会、2019年6月、京都市
  12. 泉山信司、クリプトスポリジウム症、平成30年度希少感染症診断技術研修会、平成31年2月、東京都
  13. 泉山信司、耐塩素性病原生物について、水道水質検査セミナー、平成31年2月、青森市
  14. 今健亘、油川一紀、洗砂機導入の検討経過について、第22回水道技術事例発表会、2019年8月、福島県
  15. 赤坂遼平、油川一紀、古川紗耶香、山崎朗子、横内川水源涵養保安林区域生態動向調査、日本水道協会水道研究発表会、2019年11月、北海道
- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得、2. 実用新案登録、3. その他なし

表 1 クリプトスポリジウムあるいはジアルジアの検出が報告された水道原水の水源種別と報告数

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

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

A) クリプトスポリジウム検出地点(平成 20～30 年、618 地点)

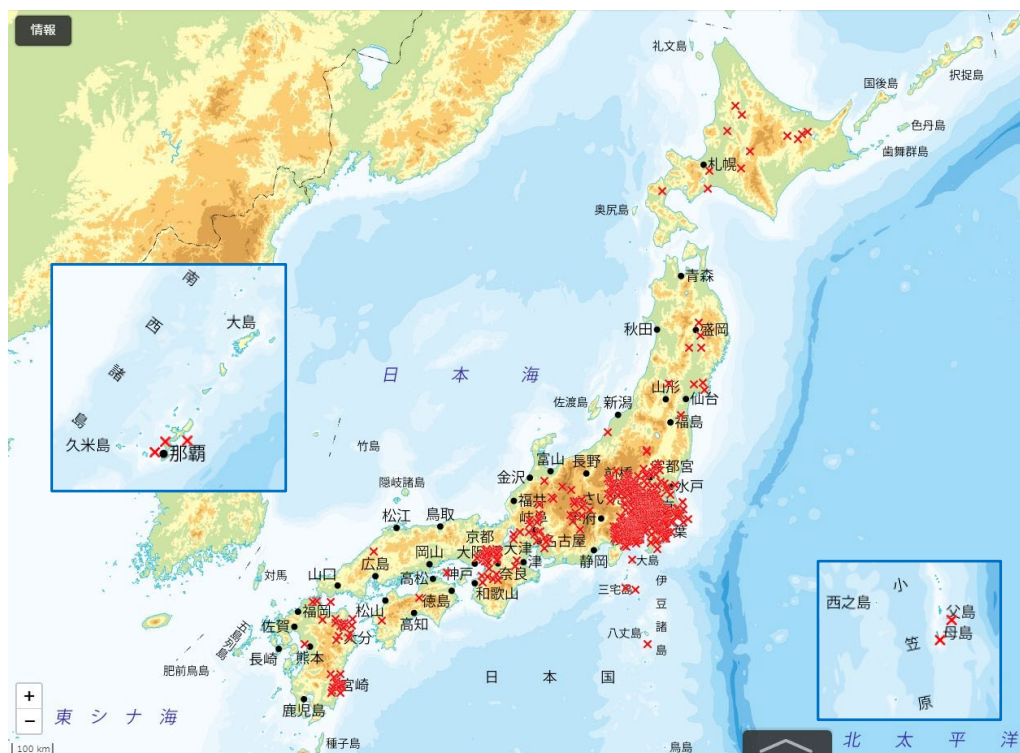


図 1 水道原水のクリプトスポリジウム、ジアルジア検査より報告地点(続く)

B) ジアルジア検出地点(平成 20~30 年、573 地点)

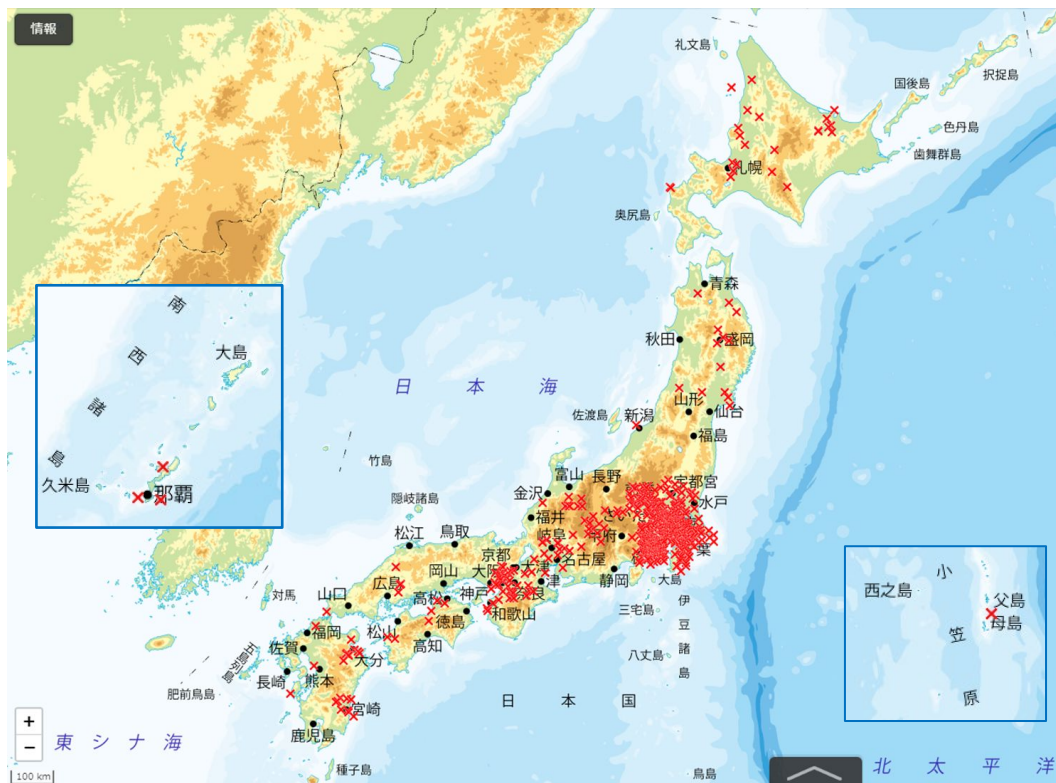
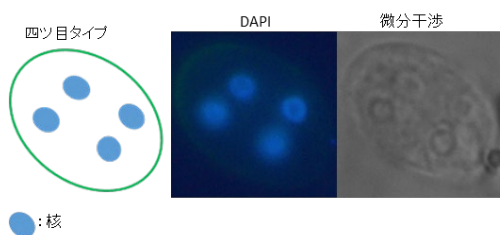


図 1 水道原水のクリプトスポリジウム、ジアルジア検査より報告地点(続き)

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

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

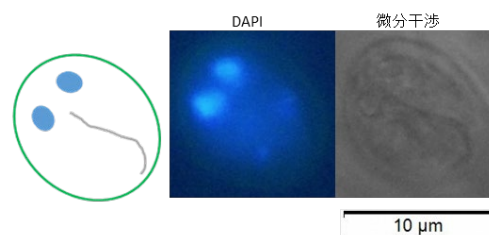


図 2 浄水場着水井から検出したシスト様粒子(A)とジアルジアシスト(B)の模式図、DAPI 染色像、微分干渉像

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3 ジアルジア rRNA 系統樹

*Giardia microti* と *G. muris* (A03 系統と B10 系統の 2 種類) の配列が取得された。配列は浄水場の着水井、上流河川水試料、ネズミ糞便の間で共通だった。

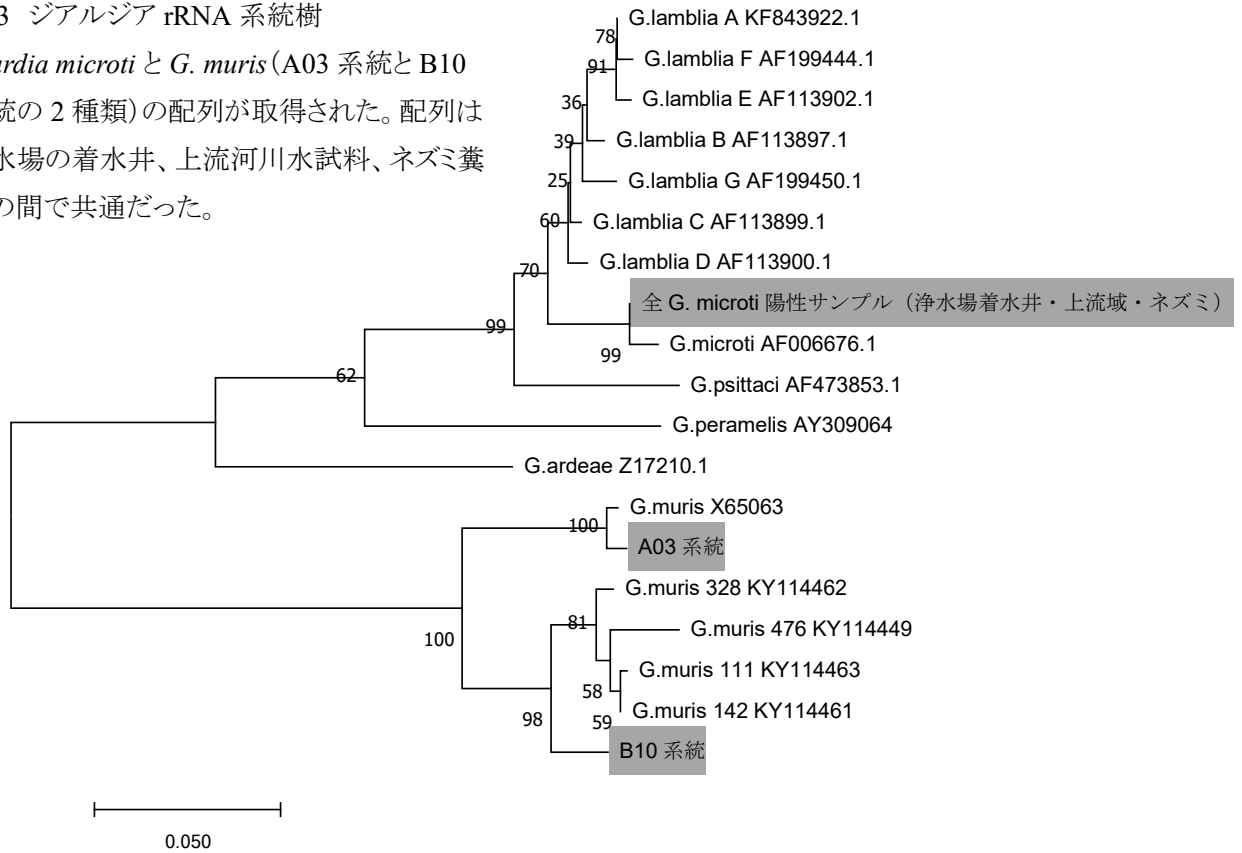


表2 着水井からの検出結果 (2018/08~2019/07)

採水日	ジアルジア			
	増幅	シーケンス	検鏡検査	
			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。

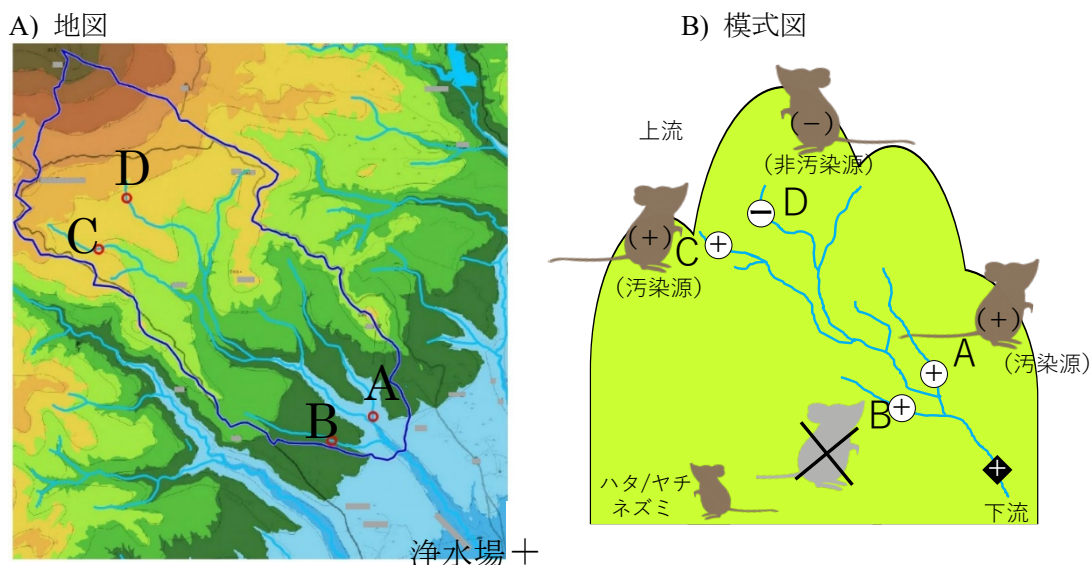


図4 ネズミ調査地点の位置関係と *Giardia microti* 検出結果の模式図

A) 赤○の A(標高 102m)から D(標高 550m)が、ネズミの捕獲・糞便検査と、河川水の検査を行った地点。青枠線は水源保護区域を表す。右下に浄水場+がある。B)模式地図、河川を意味する線上で、+は河川水中のジアルジア検出を表す。ネズミ上の+は糞便中のジアルジア検出を表す。B 地点のネズミの色が薄くXは、ネズミが捕獲されていないことを表す。

表3 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ジアルジニンリアルタイム	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 4 クリプトスポリジウム技術維持訓練、各試験者の回収率

検査日	陽性コントロール添加数	試験者	ブランク年数	試験補助者の 在職年数	検出数(個)	回収率 (%)	前回回収率(%)	対試験補助者 平均回収率(%)
11月18日	130	A	4年	-	45	34.6	62.7	64.8
	130	B	8年	-	47	36.2	82.4	67.7
	130	C	17年	-	79	60.8	42.2	113.7
	130	D	7年	-	94	72.3	59.4	135.3
11月19日	130	E	13年	-	68	52.3	26.6	97.9
	130	F	1年	-	36	27.7	84.3	51.8
	130	G	2年	-	100	76.9	72.5	144.0
	130	H	5年	-	113	86.9	28.3	162.7
10月21日	124	I	試験補助者	3	70	56.5	62.3	-
	124	J	試験補助者	4	75	60.5	60.8	-
	124	K	試験補助者	1	64	51.6	0.0	-
	124	L	試験補助者	4	56	45.2	92.5	-

表 5 5 水道事業体の添加回収試験(試験者別一覧)

実施事業体・試験者	A-1	A-2	A'-1	A'-2	B-1	B-2	B-3	C-1	C-2	C-3	D-1	D-2	E-1	E-2	E-3	全試験 者 平均
平均コントロール添加数 個	157.0	157.0	131.0	131.0	169.2	169.2	169.2	169.6	169.2	169.6	135.6	135.6	162.2	162.2	162.2	156.7
コントロール計数値 個	147	136	107	95	124	135	84	167	167	148	78	94	124	110	136	123.5
コントロール回収率 %	93.6	86.6	81.7	72.5	73.3	79.8	49.6	98.5	98.7	87.3	57.5	69.3	76.4	67.8	83.8	78.4
クリプト(試料由来) 個/10L	1	3	5	5	6	6	1	9	8	12	3	2	14	9	10	-
ジアルジア(試料由来) 個/10L	0	5	0	0	0	0	0	1	7	0	0	0	3	0	0	-

表 6 下水放流水からのクリプトスポリジウムとジアルジアの検出結果(2018年度)

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

\*:未実施



表7 下水放流水からのクリプトスポリジウムとジアルジアの検出結果 (2019年度)

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

\*:未実施



令和元～3年度厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）  
 化学物質等の検出状況を踏まえた水道水質管理のための総合研究  
 総括研究報告書

化学物質・農薬に関する研究 ー化学物質・農薬分科会ー

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	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
	中沢 禎文	国立保健医療科学院生活環境研究部水管理研究領域
	関川 慎也	八戸圏域水道企業団水質管理課
	上條 宏滋	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管理課
	浅見 真紀	茨城県企業局水質管理センター
	神谷 航一	茨城県企業局水質管理センター
	吉田 岳己	千葉県企業局水質センター
	木下 英二	千葉県企業局水質センター
	今井 美江	東京都水道局水質センター
	広木 孝行	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浄水部西長沢浄水場
	金子 透	神奈川県内広域水道企業団浄水部広域水質管理センター
	高橋 英司	新潟市水道局技術部水質管理課
	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
	谷口 佳二	神戸市水道局事業部水質試験所
	山口 敏彦	神戸市水道局事業部水質試験所
山本 徹	奈良県水道局広域水道センター水質管理センター	
高林 泰斗	奈良県水道局広域水道センター水質管理センター	
友永裕一郎	広島市水道局技術部水質管理課	
吉野 泰盛	広島市水道局技術部水質管理課	
木村 英雄	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施設部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	
仲宗根卓志	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：

平成30年～令和2農薬年度の農薬製剤出荷量は22.3万t、22.2万t、22.3万tとほぼ同じであった。用途別出荷量は、除草剤は増加に転じているがそれ以外はこれまで通り減少傾向にあった。原体数は令和2年9月現在596種類で、農薬原体の出荷量が減少傾

向にあるが登録農薬原体数は平成 16 農薬年度以降、増加してきたが平成 30 農薬年度以降、増減がなかった。農薬製剤の登録農薬製剤数は令和 2 年 9 月現在、4275 となっており、平成元農薬年度に登録製剤数が大きく減少したが、令和 2 農薬年度にはほぼ平成 30 農薬年度の水準に戻っていた。個別の農薬についてみると令和 2 農薬年度において出荷量が 100 t 以上の農薬原体は 44 種類あった。平成 30 年以降新たに 22 種の化学物質が新たに農薬として登録されており、このうち 12 種は水稻適用農薬であった。一方、平成 30 年以降、12 種が農薬登録を抹消されていた。

令和元年度～3 年度の農薬類実態調査の結果、河川水では 111 種類、原水では 108 種類、浄水では 48 種類の農薬および分解物が検出された。検出された農薬の使用用途は除草剤が約半分を占めていた。検出された農薬のうち、対象リスト農薬掲載農薬は、河川水では 63 種、原水では 67 種、浄水では 29 種であった。

農薬類の検出濃度は、河川水、原水ではそれぞれ 15、8 農薬の最大検出濃度が 1 µg/L を超過し、浄水では 13 農薬の最大検出濃度が 0.1 µg/L を超過していた。個別農薬評価値は、河川水では特にテフリトリオンが高い値を示し、それ以外ではイプフェンカルバゾン等が高い値を示した。原水ではモリネートも高い値を示した。浄水では、15 農薬の最大個別農薬評価値が 0.1 を超えていた。検出指標値（Σ 値）の推移を見ると、これまでの調査と比べて、特に河川水で非常に高い Σ 値が検出され、また、原水では比較的高い Σ 値が検出される頻度が増えているが、浄水の Σ 値は低い値で推移していた。したがって、原水では適切なモニタリングが、浄水ではこれまでの農薬の検出実施を踏まえ活性炭の注入など適切な対応を講じられた結果と考えられた。

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

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。

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、3 つの有機りん系農薬（ダイアジノン、メチダチオン、ピリダフェンチオン）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。このことから水質管理目標設定項目における対象農薬のメチダチオンとピリダフェン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。原水、浄水ともに PFOA の濃度が最も高かったが、PFOA と PFOS の合計は、最大値のいずれも目標値（50 ng/L）を超える試料は無かった。粉末活性炭処理では、PFAS の除去率は PFAS の Log D と関連があり、Log D が大きい（疎水性が高い）ほど除去率が高く、Log D が小さい（親水性が高い）ほど除去率が低かった。

重金属に関連して、給水栓水調査結果の解析と食品安全委員会における鉛の評価、給水装置浸出試験等の情報収集を行った。通常使われている家庭等の蛇口のごく初流水で鉛の基準値を

超過する場合があります、過去の試買試験の解析により青銅製の蛇口からの溶出が多いことが分かった。また樹脂を材質とする給水栓の浸出性能試験で鉛が検出される場合やニッケルの水質管理目標設定項目目標値の 1/10 を超過する事例があることなどが分かった。今後も給水栓からの試料水の採水方法に関する検討等が必要である。

## A. 研究目的

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

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。有機りん系農薬について、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。農薬以外の化学物質では、有機フッ素化合物 (PFASs) を対象に、全国の浄水場での実態調査を行った。

重金属に関連して、現状の把握と鉛ばく露低減のための取組について調査結果の解析と情報収集を行った。

## B. 研究方法

### 1) 農薬の出荷量に関する調査

農薬要覧 2019~2021 ((一社) 日本植物防疫協会) に記載のある農薬製剤別出荷量情報と (独) 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の農薬製剤別農薬原体含有率情報 (<http://www.acis.famic.go.jp/ddata/index.htm>) から、水道で監視すべき農薬の選定に必要な情報の整理を行った。

### 2) 全国水道事業体の農薬類実態調査結果のまとめ

分科会に参画している全国の水道事業体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) 農薬の分解物と未知の農薬分解物の探索

これまでに国内で登録があった 1,196 農薬のうち 1,006 農薬について、構造式と SMILES

の情報を入手した。構成元素等の情報からスルホン体、スルフィド体を生成する可能性のある農薬を探索した。探索した農薬を対象に、分解物について文献調査を行った。続いて、水環境中でスルホン体、スルフィド体が生成するかどうか、塩素処理実験を行った。塩素処理後の試料を固相抽出により濃縮した後、高分解能質量分析計 LC-Q Exactive Focus (Thermo Fisher) を用い、分解物の探索を行った。

### 4) 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。

### 5) 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

ダイアジノンメチダチオン、ピリダフェンチオン標準品を、10 mM のりん酸バッファー (pH 7.0) に 30~40  $\mu$ M 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ろ過 (PTFE、 $\phi=0.45 \mu$ m) 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  $^{\circ}$ 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、従来の質量分析ベースの ChE 活性阻害試験 (Matsushita et al., 2020) に加え、代謝を組み込んだ ChE 活性阻害試験

(Matsushita et al., 2021) を行い、塩素処理試料の毒性を評価した。

### (3) ChE 活性阻害試験

Matsushita et al. (2020) 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。

### 6) 浄水場における PFASs の実態調査

2021 年 1 月、7 月に全国 23 浄水場 (A~W) の原水と浄水を採取した。C および P 浄水場は、異なる 2 原水のそれぞれについて採取した。D、F、I、L、O、P、Q、W 浄水場では、工程水も採取し、単位浄水プロセスでの除去性を見た。すなわち、D、I、L 浄水場は粉末活性炭処理、F 浄水場は GAC 処理、P、W 浄水場はオゾン/生物活性炭 ( $O_3$ /BAC) 処理、O 浄水場は膜処理、および O、Q 浄水場は生物処理の評価を行った。試料中の残留酸化剤 (塩素、 $O_3$ ) は、アスコルビン酸ナトリウムで除去した。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ンスルホン酸 (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。

### 7) 鉛に関する調査

重金属に関連して、2021 年 6 月に発表された食品安全委員会における鉛の評価においては、鉛へのばく露はできるだけ少ないことが望ましく、今後も、鉛ばく露低減のための取組が必要であるとされた。しかし、鉛製給水管の残存延長は、2020 年 3 月現在、未だに 4,000km を超えており、本研究では、給水栓水調査結果の解析と給水装置浸出試験等の情報収集と解析を行った。

## 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

農薬要覧 2019~2021 によると平成 30 年~令和 2 農薬年度 (平成 29 年 10 月~令和 2 年 9 月) の農薬製剤出荷量は 22.3 万 t、22.2 万 t、22.3 万 t とほぼ同じであった。平成 29 農薬年度と令和 2 農薬年度の用途別出荷量は殺虫剤が 7.3 万 t から 6.9 万 t に、殺菌剤が 3.9 万 t から 3.8 万 t に、殺虫殺菌剤が 1.7 万 t から 1.7 万 t に、除草剤は 8.2 万 t から 8.6 万 t となり、除草剤は増加に転じているがそれ以外はこれまで通り減少傾向にある。20 年前の平成 12 農薬年度と令和 2 農薬年度の出荷量は殺虫剤 53%、殺菌剤 48%、殺虫殺菌剤 44%、除草剤 119% で、全体では 65%、10 年前の平成 22 農薬年度と比べると殺虫剤 80%、殺菌剤 84%、殺虫殺菌剤 82%、除草剤 124% で、全体では 95% となっており、農薬出荷量の減少傾向は続いているが減少割合は小さくなってきており、除草剤に関しては増加の傾向にある。登録農薬原体数は令和 2 年 9 月現在 596 種類で、農薬原体の出荷量が減少傾向にあるが登録農薬原体数は平成 16 農薬年度以降、増加してきたが平成 30 農薬年度以降、増減がない。

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図 1 に示す。農薬製剤の登録農薬製剤数は令和 2 年 9 月現在、殺虫剤: 1046、殺菌剤: 885、殺虫殺菌剤: 413、除草剤: 1606、合計: 4275 となっており、平成元農薬年度に登録製剤数が大きく減少した

が、令和 2 農薬年度にはほぼ平成 30 農薬年度の水準に戻っている。用途別登録農薬製剤数の推移を図 2 に示す。個別の農薬についてみると令和 2 農薬年度において出荷量が 100 t 以上の農薬原体は 44 種類あり、D-D、クロロピクリン、グリホサートカリウム塩、グリホサートイソプロピルアミン塩、ダゾメット、マンゼブの 6 種は出荷量が 1000 t 以上であった。平成 30 農薬年度と比べて令和 2 農薬年度の出荷量の増加が顕著な農薬としてスルホキサフロル (5.4t→16.3t)、トルプロカルブ (9.5t→28.1t)、フルオピラム (9.4t→25.8t)、アミカルバゾン (4.7t→12.3t)、シアントラニリプロール (16.5t→25.1t) が挙げられ、減少が顕著な農薬としてメフェナセット (60.7t→22.9t)、ピメトロジン (49.8t→18.0t) が挙げられた。

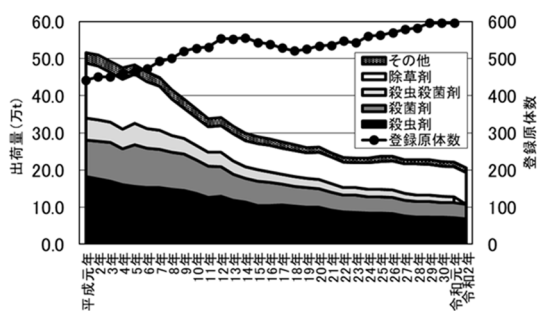


図 1 農薬製剤出荷量と登録原体数の推移

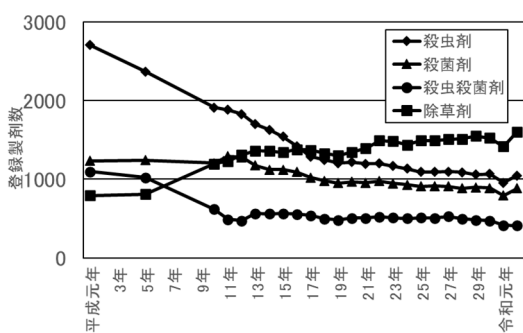


図 2 用途別登録農薬製剤数の推移

平成 30 年以降新たに殺虫剤として 9 種、殺菌剤として 8 種、除草剤として 5 種、計 22 種の化学物質が新たに農薬として登録されており、このうち 12 種は水稻適用農薬である。一方、平成 30 年以降、殺虫剤 8 種、殺菌剤 5

種、除草剤 2 種の化学物質が農薬登録を抹消されている。水道水源における調査で高い濃度、頻度で検出実績のある農薬は MPP、オリサストロビン以降抹消されていない。

農薬の分解経路と分解物の整理は主に水稻適用のある除草剤 10 種と殺虫剤 3 種を対象に整理を行い、分解物に関しては ChempSpider (Royal Society of Chemistry) や EPISuite (USEPA) を用いて物性情報を算出した。ピロキサスルホンの場合、環境中で 11 種の分解物が生じ、特に分解物 M-1 は生成量も多く、分解性も低いことから注視すべき分解物であることが示唆された。これ以外にもシクロピリモレート分解物 B、トリアファモンの分解物 M-1、プロパニルの分解物 A、スルホキサフロルの分解物 B の分解性が低く、水環境中において検出される可能性の高い分解物であると推察された。今後、これらの分解物の分析方法、毒性、浄水処理性等を精査していく必要があると考える。農薬の分解経路に関する知見は Metabolic Pathways of Agrochemicals (1999) に詳細にまとめられているが、以降、このような情報について詳細にまとめた書籍等はなく、新しい農薬についてこのような情報を蓄積する必要性は高いと考える。

なお、昨年度の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 ([https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/kenkou/suido/index.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/kenkou/suido/index.html)) において公開されている。

## 2) 全国水道事業体の農薬類実態調査結果のまとめ

表 1 に令和元年度～3 年度の農薬類実態調査における検出農薬の概要を示す。河川水では 111 種類、原水では 108 種類、浄水では 48 種類の農薬および分解物が検出された。検出された農薬の使用用途は除草剤が河川水で 51 種、原水では 56 種、浄水では 26 種と最も多く、約半分を占めていた。検出された農薬の監視農薬のカテゴリーは対象リスト農薬掲載農薬 (以下対象農薬) が河川水では 63 種、原水では 67 種、浄水では 29 種と検出農薬の約 6 割が対象農薬であった。検出された農薬

のうち検出濃度、個別農薬評価値が高かった農薬類を表2～7に示す。

表1 令和元年度～3年度の農薬類実態調査における検出農薬の概要

	河川水	原水	浄水	
検出農薬	111	108		48
用途	除草剤	51	56	26
	殺虫剤	26	24	6
	殺菌剤	24	22	12
	分解物	9	6	3
分類	対象	63	67	29
	要検討	7	7	2
	その他	19	13	8
	除外	8	6	3
検出濃度 (ng/L)	ベンタゾン 12.55	プロモブチド 7.70	プロモブチド 2.00	
個別農薬評価値	テフリルトリオン 2.25	テフリルトリオン 0.80	クロロニトロフェン 0.06	
検出率 (%)	フラメトビル 70%	ピラクロニル 85%	CMTBA 66%	
検出指標値	3.17	1.00		0.06

検出濃度に関しては、河川水、原水ではそれぞれ15、8農薬の最大検出濃度が1 μg/Lを超過していた。河川水、原水ともに上位にランクしたプロモブチド、ベンタゾン、テフリルトリオンはこれまで同様に高い濃度で検出されていた。浄水では13農薬の最大検出濃度が0.1 μg/Lを超過していた。このうち、ジノテフランは出荷量も多く、原水を含めてこれまでも継続的に検出されており、毒性の評価に見直しによっては監視の必要性の高い農薬となる可能性もあると考えられた。

個別農薬評価値は、河川水では特にテフリルトリオンが高い値を示しており、検出指標値の対する寄与も特に高かった。それ以外では河川水で要検討農薬であるイプフェンカルバゾンが高い値を示し、キノクラミン (ACN)、ピラクロニル、フェノブカルブ (BPMC)、ベンゾフェナップも最大個別農薬評価値が0.1以上を示した。原水ではモリネートも高い値を示した。上位にランクされた農薬はいずれも目標値の低い除草剤であり、今後も新規登録される目標値の低い、水稻に適用のあるに注視する必要がある。浄水では、15農薬の最大個別農薬評価値が0.1を超えていた。このうち、イプフェンカルバゾン、イソフェンホスオキソンを除いては全て対象農薬であり、イプフェンカルバゾンも令和4年4月から対象農薬となることから、検出指標値への寄与の高い農薬は適切にモニタリングされていると考えられた。

令和元年から令和3年度農薬実態調査における検出指標値(Σ値)の推移を図3に示す。

河川水ではΣ値が1を超えるケースが5回確認されたが、いずれもテフリルトリオンが高濃度で検出された場合であった。また、原水の最高値は0.997であり、Σ値が0.5を超えるケースが12回確認され、いずれもテフリルトリオンが高濃度で検出された場合であった。浄水におけるΣ値の最高値は0.055で、0.1を超えるケースが16回確認された。

3カ年の調査結果を見ると、これまでの調査と比べて、特に河川水で非常に高いΣ値が検出され、また、原水では比較的高いΣ値が検出される頻度が増えているが、浄水のΣ値は低い値で推移していた。したがって、原水では適切なモニタリングが、浄水ではこれまでの農薬の検出実施を踏まえ活性炭の注入など適切な対応を講じられた結果と考えられた。

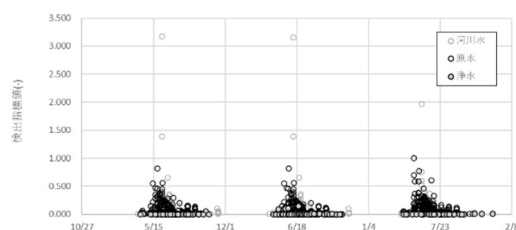


図3 令和元年～3年度の農薬実態調査における検出指標値の推移

3) 農薬の分解物と未知の農薬分解物の探索  
調査対象の農薬のうち、分子内にSを含む農薬として342種が、加えてOを含む農薬として296種が該当した。更に分子内にS(=O)の構造を有する農薬は37種に絞られた。これらに農薬について構造式を確認し、酸化されることでスルホン体、還元されることでスルフィド体に変化する可能性の有無について確認したところ、フィプロニル以外に該当する農薬はエチプロールであった。文献調査の結果、水環境中で生成する可能性のあるエチプロールの分解物として、スルホン、スルフィド、デスルフィニル、(スルホン)アミドが推察された。

エチプロールの塩素処理後(10分)の試料について、LC-Q Exactive Focusで分析した。その結果、エチプロールは検出されず、m/zが401.0029を示す分解物が確認された。この物

表2 令和元年度～3年度の農薬実態調査における最高検出濃度上位農薬（河川水）

農薬名	分類	用途	目標値	測定数	検出数	検出率	最大検出濃度 (µg/L)	最大個別農薬評価値
1 ベンタゾン	対象	除草剤	200	1241	355	29%	12.55	0.06
2 プロモブチド	対象	除草剤	100	603	242	40%	6.81	0.07
3 テフルトリオン	対象	除草剤	2	825	196	24%	4.50	2.25
4 フェノブカルブ (BPMC)	対象	殺虫剤	30	223	44	20%	4.40	0.15
5 アミノメチルリン酸 (AMPA)		分解物	2000	143	12	8%	2.11	0.00
6 プタクロール	対象	除草剤	30	172	43	25%	2.10	0.07
7 ジノテフラン	その他	殺虫剤	600	520	75	14%	1.90	0.00
8 ビロキロン	対象	殺菌剤	50	698	74	11%	1.70	0.03
9 パノミル	対象	殺菌剤	20	255	114	45%	1.66	0.08
10 ビラクロニル	対象	除草剤	10	530	111	21%	1.50	0.15
11 イブフェンカルバゾン	要検討	除草剤	2	525	121	23%	1.38	0.69
12 グリホサート	対象	除草剤	2000	272	12	4%	1.30	0.00
13 プレチラクロール	対象	除草剤	50	310	100	32%	1.30	0.03
14 メトミノストロピン	対象	殺菌剤	40	114	78	68%	1.20	0.03
15 プロピザミド	対象	除草剤	50	184	9	5%	1.12	0.02
16 キノクラミン (ACN)	対象	除草剤	5	417	56	13%	0.85	0.17
17 ダイムロン	対象	除草剤	800	427	195	46%	0.79	0.00
18 イプロベンホス (IBP)	対象	殺菌剤	90	519	4	1%	0.63	0.01
19 ビリミノバックメチル	その他	除草剤	50	253	74	29%	0.55	0.01
20 プロマシル	要検討	除草剤	50	862	238	28%	0.52	0.01

表3 令和元年度～3年度の農薬実態調査における最高検出濃度上位農薬（原水）

農薬名	分類	用途	目標値	測定数	検出数	検出率	最大検出濃度 (µg/L)	最大個別農薬評価値
1 プロモブチド	対象	除草剤	100	573	407	71%	7.70	0.08
2 ベンタゾン	対象	除草剤	200	1022	324	32%	3.00	0.02
3 メタゾスルフロン		除草剤		433	11	3%	2.69	
4 テフルトリオン	対象	除草剤	2	862	458	53%	1.60	0.80
5 パノミル	対象	殺菌剤	20	144	74	51%	1.50	0.08
6 モリネート	対象	除草剤	5	602	52	9%	1.30	0.26
7 ダイムロン	対象	除草剤	800	704	168	24%	1.10	0.00
8 グリホサート	対象	除草剤	2000	413	3	1%	1.00	0.00
9 ビロキロン	対象	殺菌剤	50	172	142	83%	0.98	0.02
10 プタクロール	対象	除草剤	30	532	46	9%	0.90	0.03
11 シメトリン	対象	除草剤	30	84	54	64%	0.82	0.03
12 フルトラニル	除外	殺菌剤	200	478	32	7%	0.73	0.00
13 クミルロン	対象	除草剤	30	436	6	1%	0.70	0.02
14 ビラクロニル	対象	除草剤	10	190	162	85%	0.70	0.07
15 プレチラクロール	対象	除草剤	50	161	131	81%	0.68	0.01
16 キノクラミン (ACN)	対象	除草剤	5	48	35	73%	0.63	0.13
17 イマズスルフロン	その他	除草剤	200	298	22	7%	0.58	0.00
18 メトミノストロピン	対象	殺菌剤	40	172	78	45%	0.51	0.01
19 ジノテフラン	その他	殺虫剤	600	278	112	40%	0.50	0.00
20 イソプロチオラン (IPT)	対象	殺菌剤	300	204	118	58%	0.40	0.00

表4 令和元年度～3年度の農薬実態調査における最高検出濃度上位農薬（浄水）

農薬名	分類	用途	目標値	測定数	検出数	検出率	最大検出濃度 (µg/L)	最大個別農薬評価値
1 プロモブチド	対象	除草剤	100	685	163	24%	2.00	0.02
2 プレチラクロール	対象	除草剤	50	646	36	6%	0.76	0.02
3 プタクロール	対象	除草剤	30	566	10	2%	0.60	0.02
4 ベンタゾン	対象	除草剤	200	588	151	26%	0.50	0.00
5 ビロキロン	対象	殺菌剤	50	636	12	2%	0.33	0.01
6 ダラボン (DPA)	対象	除草剤	80	319	11	3%	0.30	0.00
7 カルベンダジム (MBC)		殺菌剤		154	16	10%	0.20	
8 ジノテフラン	その他	殺虫剤	600	310	36	12%	0.20	0.00
9 ビラクロニル	対象	除草剤	10	434	20	5%	0.20	0.02
10 フェントラザミド	対象	除草剤	10	505	3	1%	0.20	0.02
11 フルトラニル	除外	殺菌剤	200	364	12	3%	0.14	0.00
12 CMTBA		分解物		29	19	66%	0.14	
13 トリクロピル	対象	除草剤	6	316	7	2%	0.11	0.02
14 シプロジニル	その他	殺菌剤	0	35	1	3%	0.08	
15 アミトラズ	対象	殺虫剤	6	189	3	2%	0.07	0.01
16 プロモブチドデブプロモ		酸化物	100	403	7	2%	0.07	0.00
17 パンゾピシクロン	対象	除草剤	90	288	10	3%	0.07	0.00
18 シハロホップチル	対象	除草剤	6	486	2	0%	0.06	0.01
19 メタゾスルフロン		除草剤		13	4	31%	0.06	
20 カフェンストール	対象	除草剤	8	626	8	1%	0.05	0.01

表5 令和元年度～3年度の農薬実態調査における最高個別農薬評価値上位農薬（河川水）

農薬名	分類	用途	目標値	測定数	検出数	検出率	最大検出濃度 (µg/L)	最大個別 農薬評価値
1 テフリルトリオン	対象	除草剤	2	825	196	24%	4.50	2.25
2 イブフェンカルバゾン	要検討	除草剤	2	525	121	23%	1.38	0.69
3 キノクラミン (ACN)	対象	除草剤	5	417	56	13%	0.85	0.17
4 ビラクロニル	対象	除草剤	10	530	111	21%	1.50	0.15
5 フェノブカルブ (BPMC)	対象	殺虫剤	30	223	44	20%	4.40	0.15
6 ベンゾフェナップ	対象	除草剤	5	280	24	9%	0.50	0.10
7 ベノミル	対象	殺菌剤	20	255	114	45%	1.66	0.08
8 トリクロピル	対象	除草剤	6	397	38	10%	0.47	0.08
9 ブタクロール	対象	除草剤	30	172	43	25%	2.10	0.07
10 プロモブチド	対象	除草剤	100	603	242	40%	6.81	0.07
11 ペンタゾン	対象	除草剤	200	1241	355	29%	12.55	0.06
12 カルボフラン	対象	除草剤	3	605	48	8%	0.11	0.04
13 フィプロニル	対象	殺虫剤	0.5	614	32	5%	0.02	0.04
14 ビロキロン	対象	殺菌剤	50	698	74	11%	1.70	0.03
15 シアノホス (CYAP)	対象	殺虫剤	3	362	1	0%	0.10	0.03
16 フェンチオンスルホキシド		酸化物	3	611	1	0%	0.10	0.03
17 メトミノストロピン	対象	殺菌剤	40	114	78	68%	1.20	0.03
18 メコブロップ (MCPP)	対象	除草剤	5	398	37	9%	0.15	0.03
19 フェントラザミド	対象	除草剤	10	332	34	10%	0.28	0.03
20 プレチラクロール	対象	除草剤	50	310	100	32%	1.30	0.03

表6 令和元年度～3年度の農薬実態調査における最高個別農薬評価値上位農薬（原水）

農薬名	分類	用途	目標値	測定数	検出数	検出率	最大検出濃度 (µg/L)	最大個別 農薬評価値
1 テフリルトリオン	対象	除草剤	2	862	458	53%	1.60	0.80
2 モリネート	対象	除草剤	5	602	52	9%	1.30	0.26
3 キノクラミン (ACN)	対象	除草剤	5	48	35	73%	0.63	0.13
4 イブフェンカルバゾン	要検討	除草剤	2	200	114	57%	0.20	0.10
5 プロモブチド	対象	除草剤	100	573	407	71%	7.70	0.08
6 ベノミル	対象	殺菌剤	20	144	74	51%	1.50	0.08
7 ビラクロニル	対象	除草剤	10	190	162	85%	0.70	0.07
8 クロロニトロフェン (CNP)	対象	除草剤	0.1	384	6	2%	0.01	0.07
9 カルボフラン	対象	除草剤	3	594	56	9%	0.18	0.06
10 シマジン (CAT)	対象	除草剤	3	56	8	14%	0.16	0.05
11 フィプロニル	対象	殺虫剤	0.5	318	14	4%	0.02	0.04
12 カズサホス	対象	殺虫剤	0.6	190	2	1%	0.02	0.03
13 ブタクロール	対象	除草剤	30	532	46	9%	0.90	0.03
14 フェントラザミド	対象	除草剤	10	243	29	12%	0.30	0.03
15 シメトリン	対象	除草剤	30	84	54	64%	0.82	0.03
16 エトリジアゾール (エクロメゾール)	除外	殺菌剤	4	383	1	0%	0.10	0.03
17 カフェンストロール	対象	除草剤	8	211	39	18%	0.19	0.02
18 クミルロン	対象	除草剤	30	436	6	1%	0.70	0.02
19 ビロキロン	対象	殺菌剤	50	172	142	83%	0.98	0.02
20 トリクロピル	対象	除草剤	6	835	3	0%	0.10	0.02

表7 令和元年～3年度の農薬実態調査における最高個別農薬評価値上位農薬（浄水）

農薬名	分類	用途	目標値	測定数	検出数	検出率	最大検出濃度 (µg/L)	最大個別 農薬評価値
1 クロロニトロフェン (CNP)	対象	除草剤	0.1	440	12	3%	0.01	0.06
2 プロモブチド	対象	除草剤	100	685	163	24%	2.00	0.02
3 ブタクロール	対象	除草剤	30	566	10	2%	0.60	0.02
4 ビラクロニル	対象	除草剤	10	434	20	5%	0.20	0.02
5 フェントラザミド	対象	除草剤	10	505	3	1%	0.20	0.02
6 イブフェンカルバゾン	要検討	除草剤	2	416	24	6%	0.04	0.02
7 イソフェンホスオキソン		酸化物	1	438	4	1%	0.02	0.02
8 トリクロピル	対象	除草剤	6	316	7	2%	0.11	0.02
9 ビベロホス	対象	除草剤	0.9	450	4	1%	0.02	0.02
10 プレチラクロール	対象	除草剤	50	646	36	6%	0.76	0.02
11 アミトラズ	対象	殺虫剤	6	189	3	2%	0.07	0.01
12 シハロホップブチル	対象	除草剤	6	486	2	0%	0.06	0.01
13 カルボフラン	対象	除草剤	3	407	7	2%	0.02	0.01
14 ビロキロン	対象	殺菌剤	50	636	12	2%	0.33	0.01
15 カフェンストロール	対象	除草剤	8	626	8	1%	0.05	0.01
16 ペンフルラリン (ベスロジン)	対象	除草剤	10	450	2	0%	0.04	0.00
17 ベンゾフェナップ	対象	除草剤	5	292	2	1%	0.02	0.00
18 グラボン (DPA)	対象	除草剤	80	319	11	3%	0.30	0.00
19 エトリジアゾール (エクロメゾール)	除外	殺菌剤	4	298	4	1%	0.01	0.00
20 ペンタゾン	対象	除草剤	200	588	151	26%	0.5	0.00



質の推定組成式は  $C_{11}H_5N_4O_3F_3SCl_2$  で、エチプロールスルホンであると推察された。反応時間を変化させてエチプロールスルホンの挙動を調査したところ、エチプロールとの面積比から、エチプロールは塩素処理により速やかに分解されてエチプロールスルホンに変化することが示され、エチプロールスルホンが主たる分解物であることがわかった。また、生成したエチプロールスルホンは塩素の存在下でも比較的安定であり、24 時間後でもその大半が存在していることが確認された。

#### 4) 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。

5) 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) 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。

##### 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。

### 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

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。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。

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 (りん酸バッファーと 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。

この物質の推定を試みた。精密質量の結果から、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種の構造が考えられた。次に、異なる衝突エネルギーによる MS/MS 分析と得られたマススペクトルの2種のフラグメント解析ソフトウェアによる解析により、4種に絞ることができた。さらに、CYP による代謝部位を予測する4つの異なる *in silico* ツールを用いて解析したところ、6-(hydroxymethyl)-2-(propan-2-yl) pyrimidin-4-yl phosphate あるいは 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。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。

### (3) ピリダフェンチオンについての検討

#### ①ピリダフェンチオンとオキソン体の ChE 活性阻害性

ピリダフェンチオンは、代謝を考慮しない場合、50%阻害濃度 (IC50) は 45  $\mu\text{M}$  と算定された。一方、代謝を施した後に ChE 活性阻害性試験に供すると、IC50 は 0.17  $\mu\text{M}$  と算定された。すなわち、ピリダフェンチオンは代謝を受けることにより毒性が大きく増加し、260 倍程度 (=45/0.17) となることが分かった。

ピリダフェンチオンのオキソン体は、マラチオンオキソン、メチダチオンオキソン、ダイアジノンオキソンこれらのオキソン体より毒性が 10 倍程度高いことが分かった。また、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、その毒性は減少し、IC50 は 0.051  $\mu\text{M}$  となった。

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塩素処理によるピリダフェンチオンの分解

ピリダフェンチオン水溶液を塩素を添加すると、15 分でピリダフェンチオンは消失した。このとき、ピリダフェンチオンの一部はオキソン体へと変換された。ピリダフェンチオンのオキソン体への変換率は 20%程度であった。

#### ③ピリダフェンチオンの塩素処理に伴う ChE 活性阻害性の変動

塩素処理前のピリダフェンチオン水溶液は直接毒性を誘発しなかったが、15 分間の塩素処理により、直接毒性が大きく増加した。塩素処理時間を 4 日まで延長すると、直接毒性はほぼ消失した。一方、塩素処理前のピリダフェンチオン水溶液は、間接毒性を誘発したが、塩素処理に伴い間接毒性は減少した。

#### ④毒性に寄与する塩素処理生成物の推定

用量-反応関係と濃度変化を用い、各塩素処理試料中に含まれていたピリダフェンチオンとオキソン体が誘発するであろう毒性を計算したところ、観察された直接毒性と概ね一致した。すなわち、塩素処理 15 分試料が誘発

した高い毒性は、塩素処理試料に含まれていたオキソン体由来であることが分かった。一方、算定した間接毒性も、観察された間接毒性と概ね一致した。すなわち、塩素処理前試料と塩素処理試料が誘発した毒性は、ピリダフェンチオンあるいはオキソン体由来であることが分かった。

#### 6) 全国の浄水場における PFASs の実態調査

2021 年 1 月の 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。2021 年 7 月では、1 月と同様であり、年間変動はほとんどないものと考えられた。同様に PFOA と PFOS の合計値の最大値が目標値を超える試料もなかった。2021 年 7 月のみ、P 浄水場で地下水（原水）を測定しており、この試料ではスルホン酸類の 2 種 (PFHxS、PFOS) の濃度が高かった（それぞれ 15.8、21.9 ng/L）。ただし、当該浄水場ではカルボン酸類の濃度が低く、PFOA と PFOS の合計が目標値を超えることはなかった。

粉末活性炭による PFAS の除去性について見ると、PFAS 除去率は、鎖長が長いほど高く、鎖長が短いほど低い傾向があった。このことから、短鎖 PFAS は長鎖 PFAS と比べて除去が困難であると言える。イオン性物質の親疎水性の指標である Log D と I 浄水場における PFAS 除去率との関係に着目すると疎水性が高いほど除去されやすい結果となった。除去率最大の PFNA では 40~100%、除去率最小の PFBA では 2~13%であった。

#### 7) 鉛に関する調査

通常使われている家庭等の蛇口の初流水（6 時間以上の滞留水）100 mL の約 3 割で鉛の基準値を超過する場合があった。また、過去の試買試験の解析により青銅製の蛇口からの溶出が多いことが分かった。また樹脂を材質とする給水栓の浸出性能試験で鉛が検出される

場合やニッケルの水質管理目標設定項目目標値の 1/10 を超過する事例があることなどが分かった。今後も給水栓からの試料水の採水方法に関する検討等が必要である。

## E. 結論

1) 平成 30 年～令和 2 農薬年度の農薬製剤出荷量は 22.3 万 t、22.2 万 t、22.3 万 t とほぼ同じであった。用途別出荷量は、除草剤は増加に転じているがそれ以外はこれまで通り減少傾向にあった。原体数は令和 2 年 9 月現在 596 種類で、農薬原体の出荷量が減少傾向にあるが登録農薬原体数は平成 16 農薬年度以降、増加してきたが平成 30 農薬年度以降、増減がなかった。

2) 農薬製剤の登録農薬製剤数は令和 2 年 9 月現在、4275 となっており、平成元農薬年度に登録製剤数が大きく減少したが、令和 2 農薬年度にはほぼ平成 30 農薬年度の水準に戻っていた。個別の農薬についてみると令和 2 農薬年度において出荷量が 100 t 以上の農薬原体は 44 種類あった。平成 30 年以降新たに 22 種の化学物質が新たに農薬として登録されており、このうち 12 種は水稻適用農薬であった。一方、平成 30 年以降、12 種が農薬登録を抹消されていた。

3) 令和元年度～3 年度の農薬類実態調査の結果、河川水では 111 種類、原水では 108 種類、浄水では 48 種類の農薬および分解物が検出された。検出された農薬の使用用途は除草剤が約半分を占めていた。検出された農薬のうち、対象リスト農薬掲載農薬は、河川水では 63 種、原水では 67 種、浄水では 29 種であった。

4) 農薬類の検出濃度は、河川水、原水ではそれぞれ 15、8 農薬の最大検出濃度が 1  $\mu\text{g/L}$  を超過し、浄水では 13 農薬の最大検出濃度が 0.1  $\mu\text{g/L}$  を超過していた。個別農薬評価値は、河川水では特にテフリトリオンが高い値を示し、それ以外ではイプフェンカルバゾン等が高い値を示した。原水ではモリネートも高い値を示した。浄水では、15 農薬の最大個別農薬評価値が 0.1 を超えていた。 $\Sigma$  値の推移を見ると、これまでの調査と比べて、特に河川水で非常に高い  $\Sigma$  値が検出され、また、原

水では比較的高い  $\Sigma$  値が検出される頻度が増えているが、浄水の  $\Sigma$  値は低い値で推移していた。したがって、原水では適切なモニタリングが、浄水ではこれまでの農薬の検出実施を踏まえ活性炭の注入など適切な対応を講じられた結果と考えられた。

5) エチプロールを塩素処理したところ、エチプロールは検出されず、分解物が検出され、LC-Q Exactive Focus による解析結果、この物質の推定組成式は  $\text{C}_{11}\text{H}_5\text{N}_4\text{O}_3\text{F}_3\text{SCl}_2$  で、エチプロールスルホンであると推察された。反応時間を変化させて検討したところ、エチプロールの主な塩素処理分解物はエチプロールスルホンで、エチプロールスルホンは塩素の存在下でも比較的安定であり、24 時間後でもその大半が存在していることが確認された。

6) 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。

7) 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、オキソン体以外の分解物を測定項目に組み込む必要はないと提言された。メチダチオンとピリダフェンチオンについてはそれらのオキソン体も測定項目に組み込む必要があると提言された。

8) 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。原水、浄水ともに PFOA の濃度が最も高かったが、PFOA と PFOS の合計は、最大値のいずれも目標値 (50 ng/L) を超える試料は無かった。粉末活性炭処理では、PFAS の除去率は PFAS の Log D と関連があり、Log D が大きい (疎水性が高い) ほど除去率が高く、Log D が小さい (親水性が高い) ほど除去率が低かった。

9) 通常使われている家庭等の蛇口の初流水で鉛濃度が高い場合があり、また、青銅製の蛇口からの溶出が多いことが分かった。樹脂を材質とする給水栓の浸出性能試験で、鉛やニ

ツケルが検出される場合がある。今後も給水栓からの試料水の採水方法に関する検討等が必要である。

## F. 参考文献

- 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.
- Matsushita, T., Kikkawa, Y., Omori, K., Matsui, Y. and Shirasaki, N. A metabolism-coupled cell-independent acetylcholin-esterase activity assay for evaluation of the effects of chlorination on diazinon toxicity. *Chemical Research in Toxicology*, 2021, 34, 2070–2078.
- Roberts, T.R. and Hutson, D.H. *Metabolic Pathways of Agrochemicals*. Royal Society of Chemistry, 1999.
- Royal Society of Chemistry. ChemSpider Search and share chemistry. <http://www.chemspider.com/>
- USEPA. EPI Suite -Estimation Program Interface. <https://www.epa.gov/tsca-screening-tools/epi-suitetm-estimation-program-interface>
- (一社) 日本植物防疫協会. 農薬要覧 2019 年—平成 30 農薬年度—. (一社) 日本植物防疫協会, 東京, 2019.
- (一社) 日本植物防疫協会. 農薬要覧 2020 年—令和元年農薬年度—. (一社) 日本植物防疫協会, 東京, 2020.
- (一社) 日本植物防疫協会. 農薬要覧 2021 年—令和 2 年農薬年度—. (一社) 日本植物防疫協会, 東京, 2021.
- 厚生労働省医薬・生活衛生局水道課. 都道府県別・地域ブロック別の農薬原体出荷量等について. [https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/topics/bukyoku/kenkou/suido/suishitsu/05\\_0003.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/topics/bukyoku/kenkou/suido/suishitsu/05_0003.html)
- 国立保健医療科学院. IV 活動報告／研究業績目録 4. 生活環境研究部. 保健医療科学. 2021, 70 (増刊号), 52–72.

- <https://www.niph.go.jp/journal/data/70-sp/202170sp0004.pdf>
- (独) 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>
- 内閣府食品安全委員会鉛ワーキンググループ. 評価書「鉛」. 2021.
- <https://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20210629388>

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 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.
- 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.
- 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.
- Matsushita, T., Kikkawa, Y., Omori, K., Matsui, Y. and Shirasaki, N. A metabolism-coupled cell-independent acetylcholinesterase activity assay for evaluation of the effects of chlorination on diazinon toxicity. *Chemical Research in Toxicology*, 2021, 34, 2070–2078.
- 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.
- 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

安藤大将, 松下拓, 松井佳彦, 白崎伸隆. 塩素処理による農薬フェントエートの ChE 活性阻害性の変化と阻害に寄与する生成物の推定. 第 56 回日本水環境学会年会, 2022.

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

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

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

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

松下拓. 毒性からみた水道における有機リン系農薬管理枠組みの妥当性評価. 第 58 回環境工学研究フォーラム, 2021.

森智裕, 谷口佳二, 小田琢也. フィプロニル分解物の実態調査と活性炭処理における除去効果. 令和元年度全国会議(水道研究発表会)講演集. 2019, 821~822.

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

## H. 知的所有権の取得状況

なし

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	京都大学大学院地球環境学堂
	小坂浩司	国立保健医療科学院生活環境研究部
研究協力者	小牧裕佳子	静岡県立大学
	大瀬俊之	東京都水道局
	今井美江	東京都水道局
	柴 雅彦	茨城県企業局
	関 純子	茨城県企業局
	豊田大晃	北千葉広域水道企業団
	渡邊みどり	北千葉広域水道企業団
	柿沼良介	川崎市上下水道局
	眞鍋 晋	川崎市上下水道局
	船岡英彰	京都市上下水道局
	岩谷健斗	京都市上下水道局
	北本靖子	大阪市水道局
	今中壮一	大阪市水道局
	孝石 健	大阪広域水道企業団
	竹田泰治	大阪広域水道企業団
	中谷 悠	奈良県水道局
	山中俊弥	奈良県水道局
	片木孝徳	阪神水道企業団
	塩川敦司	沖縄県企業局
	愛甲俊郎	沖縄県企業局
	鈴木知美	国立保健医療科学院生活環境研究部

研究要旨

ハロアセトアミド (HAcAms) は、トリハロメタン (THM) 濃度に対応し、浄水中の HAcAms に対する濃度は最大でも 1 割程度であった。さらに活性炭処理で毎年 20% の交換補充を行うことにより、10 年にわたり一定の除去性があることを示した。塩素酸が 0.2 mg/L を超えている地点について、温調設備のない次亜塩留槽、貯蔵槽への継ぎ足し方式の補充や必要次亜塩注入量が多い原水が原因と推察された。次亜塩素酸ナトリウムの管理は、小規模浄水施設の方が難しいことを指摘した。パラベン類と下水処理水との関係が示唆された。淀川水系周辺で、3,5-ジメチルピラゾール (DMP) 及び DMP 塩素化物が検出された。DMP の処理法として、塩素添加前のオゾン処理と GAC 処理の有効性を示した。浄水処理対応困難物質 (1,3,5-トリヒドロキシベンゼン、アセチルアセトン及びアセトンジカルボン酸) について、オゾン処理及び GAC 処理の有効性を示した。ジクロロ酢酸について、配水過程での減少の可能性を示した。THM とハロ酢酸 (HAA) 生成能予測する蛍光強度と電気伝導度に基づいたモデル式を作成した。蛍光強度の副生成物前駆物質の指標としての有効性を示した。豪雨時の消毒副生成物濃度の上昇を確認した。標準天然有機物試料のジクロロベンゾキノン (DCBQ) 生成能が高い画分は、UV254 の吸収を持つ画分であることを示した。p-芳香族アミン類から比較的高濃度で p-quinone-4-chloroimide (QC) が生成することを示した。ハロベンゾキノン類について、細胞毒性の強さは、QC >> DCQC > DCBQ であった。マンガンイオンはクエン酸および類似物質の HAA 生成能を増加させることを示した。珪藻類オーラコセイラの塩素処理により、薬品臭を有する (1-hexen-3-one) が生成することを確認した。消毒副生成物の全国調査では、10 月調査では、THM、トリハロ酢酸、トリハロアルデヒド、ジハロ酢酸、ジハロアセトニトリルの順に濃度は高かった。1 月では、ジハロ酢酸とトリハロアルデヒドが逆転した。塩素化体の消毒副生成物濃度は関連性があった。プロモクロ酢酸、プロモジクロ酢酸の検出率は、それぞれ目標値案の 40% 超、50% 超であった。未規制消毒副生成物の濃度と基準項目には多くの物質について緩い関係性があった。オゾン注入率が高くなると、オゾン処理でシアン化合物が増加するが、GAC 処理は有効であった。

## 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、浄水処理対応困難物質、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、分析技術、低減策、合理的な管理手法について調査した。

以下に研究課題ごとの具体的な研究の目的・概要を示す。

### 1. ハロアセトアミド類に関する調査

#### 1.1 ハロアセトアミドの実態調査

未規制消毒副生成物であるハロアセトアミドについて、浄水処理最終工程水の実態調査を行った。さらに、配水池や給水末端を想定した模擬実態調査を行った。併せて送配水過程でハロアセトアミド濃度の増加に影響を与える因子について調査を行った。

#### 1.2 ハロアセトアミドの長期トレンド、生成条件および処理性

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。また、活性炭における処理性に関して調査を行った。

### 2. 塩素酸に関する調査

#### 2.1 塩素酸の小規模施設における実態調査

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

#### 2.2 北千葉広域水道企業団等における塩素酸の検出状況等について

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

#### 2.3 塩素酸濃度に及ぼす施設規模の影響

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、 $0.2 \text{ mg/L}$  となる (現行の水質基準は  $0.6 \text{ mg/L}$ )。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。

### 3. 塩素化パラベン類に関する調査

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

### 4. 浄水処理対応困難物質等に関する調査

#### 4.1 3,5-ジメチルピラゾールに関する調査

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

#### 4.2 浄水処理対応困難物質の処理性に関する調査

浄水処理対応困難物質について、オゾン処理及び粒状活性炭処理 (以下、GAC 処理) による処理性についての調査を行なった。

また、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。

### 5. 消毒副生成物のモニタリングと制御

#### 5.1 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。

#### 5.2 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。

#### 5.3 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。



#### 5.4 浄水処理における GAC 吸着池での消毒副生成物生成能の除去性調査

浄水処理トータルシステムとしての高度浄水処理機能の健全性を確保する観点から、GAC 処理水中の蛍光強度の経年変化を測定することで、消毒副生成物生成能の除去性の把握を試みた。

#### 5.5 豪雨時の消毒副生成物の生成に関する調査

ハロ酢酸類の生成原因の一つとして台風等豪雨があげられ、原水の高濁度が問題となっている。しかし、消毒副生成物の挙動については報告がほとんどないため、台風等豪雨時のハロ酢酸前駆物質やハロ酢酸の挙動について評価を行った。

#### 6. ハロベンゾキノロン

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

また、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。

さらに、ハロベンゾキノロン類として 2,6-dichloro-quinone-4-chloroimide (DCQC)、2,6-dichloro-1,4-benzoquinone (DCBQ)、p-quinone-4-chloroimide (QC) の細胞毒性を評価した。

#### 7. マンガンイオンが消毒副生成物に与える影響に関する調査

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

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

#### 8. 臭気を発する副生成物

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。さらに、この

際に生じる臭気物質と考えられる 1-hexen-3-one について生成特性や処理性の評価を行った。

#### 9. 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と事業者から提供されたデータをもとに基づき検討した。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%以下等の緩い関係等も有用であると判断して解析を行った。

#### 10. シアン化合物

これまでに霞ヶ浦浄水場に設置した実証実験プラントのオゾン処理水から比較的高濃度の塩化シアンが検出される事例が確認された。そのため、霞ヶ浦浄水場実証実験プラントに加えて、処理工程の異なる利根川浄水場について、年間を通してのシアン化合物の生成能及び生成量を把握するとともに、塩素処理やオゾン処理を行うことにより、シアン化合物が生成しやすい条件を調査した。

#### 11. 消毒副生成物の全国的な生成実態

##### 11.1 全国の浄水場における消毒副生成物の網羅的調査

現在、水道水中からは多くのグループの消毒副生成物の存在が報告され、ハロゲン化消毒副生成物については、さらに塩素化体、臭素化体等によって分類されている。このように多種多様な消毒副生成物が存在する状況において、各消毒副生成物間の関連性等の評価は、特定の地域では検討事例はあるが、海外と比べて、特に多地点で多種間の情報は少ない。また、要検討項目のハロ酢酸のうち、ブロモクロロ酢酸、ブロモジクロロ酢酸の目標値案 (いずれも 10 µg/L) が出され、最新の存在実態の把握が必要である。

本研究では、4 グループの消毒副生成物の塩素化体、臭素化体について全国調査し、グループ間の関連性、原水中の臭化物イオンとの関連性について調査した。さらに、ブロモクロロ酢酸、ブロモジクロロ酢酸を含むハロ酢酸については、消毒副生成物分科会に参加している水道事業者の調査結果も合わせてとりまとめた。

#### 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生成特性

調査項目はハロアセトアミド (HAcAms) (ク

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), ブロモクロロアセトアミド(BCAcAm), ジブロモアセトアミド(DBAcAm), トリクロロアセトアミド(TCAcAm)とした。

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℃)で一定時間(24~168h)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、1mg/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)。

## 1.2 ハロアセトアミドの長期トレンド,生成条件および処理性

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1mg/Lとし、20℃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℃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。

さらに、これまでの実態調査から、オゾン処理水から活性炭処理水のHAcAmsの処理性(除去率)は100%近いことが多かったが、低下することもみられた。この原因を調査するためバッチ実験を行った。具体的には、活性炭(新炭及び経年炭)を用いて、水温の影響や、活性炭の生物処理性の有無の影響について処理性の調査を行った。

## 2. 塩素酸に関する調査

### 2.1 塩素酸の実態調査

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

### 2.2 北千葉広域水道企業団等における塩素酸の検出状況等について

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

## 2.3 塩素酸濃度に及ぼす施設規模の影響

2016年にWHOにおいて、塩素酸の1日許容摂取量(TDI)が30µg/(kg・日)から約11µg/(kg・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。

## 3. 塩素化パラベン類に関する調査

### 3.1 測定方法の検討

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

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

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

### 3.2 長沢浄水場及び多摩川における実態調査

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

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

## 4. 浄水処理対応困難物質等に関する調査

### 4.1 3,5-ジメチルピラゾールに関する調査

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

#### 4.1.1 DMP及びDMP塩素化物の分析方法

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

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

#### 4.1.2 淀川水系における DMP の実態調査

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

#### 4.1.3 浄水フローにおける処理性実験

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

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

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

#### 4.2 浄水処理対応困難物質の処理性に関する調査

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

また、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-THB とジクロロ酢酸を生成する 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 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。

#### 5. 消毒副生成物のモニタリングと制御

##### 5.1 ハロ酢酸の制御に関する調査

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

##### 5.2 蛍光を用いた消毒副生成物の予測

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

##### 5.3 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。

##### 5.4 浄水処理における GAC 吸着池での消毒副生成物生成能の除去性調査

水温が異なる時期（水温：7 °C、18 °C、26 °C）に本市柴島浄水場の GAC 吸着池（下系 12 池、上系 14 池）から採水し、蛍光強度（Ex330 nm/Em430 nm）、色度、総トリハロメタン生成能の測定を行い、通水倍率との関係を調べた。

なお、GAC 吸着池の通水倍率は 2,600～188,900 となっており、購入仕様を満たす複数のメーカーの製品が搬入されており、原料は全て石炭系となっている。

##### 5.5 豪雨時の消毒副生成物の生成に関する調査（神奈川県企業庁）

対象試料としては、寒川浄水場の原水及び浄

水工程水を用いた。測定項目は、対象物質としてハロ酢酸9種、ハロ酢酸の生成量に影響を及ぼすと予測される関連項目としてTOC、UV (260 nm)、臭化物イオン、pH、及びハロ酢酸生成能とした。

豪雨時の寒川浄水場の浄水工程において、濁度の上昇初期、最大時付近、下がり始め、収束時等原水の濁度変化に伴い試料を採取し測定を行った。具体的には、令和3年台風16号が接近し、風雨が強まった10月1日に原水の採水を行った。濁度が上昇初期(①)、最大時付近(②)、下がり始め(③)と思われる時間に3回採水を行い、それぞれの試料に関して、測定を行った。また、2021年12月1日低気圧や前線の通過に伴い激しい雨が降ったため、原水の採水(原水④~⑧)を実施し、同様の測定を行った。

更に、採水を行った高濁度時及び平常時の工程水についても採水を行い、関連項目の測定を行った。

## 6. ハロベンゾキノロン

天然有機物に関する実験では、対象試料として国際腐植物質学会より購入したスワニー川フルボ酸(SRFA)とポニー湖フルボ酸(PLFA)を用いた。

HPLCを用いてNOM試料(130~140 mg C/L)を分画し、同時に紫外外部吸光度(UV<sub>254</sub>)を測定した。その後、各画分についてDCBQの生成能試験を行い、DCBQ前駆物質を多く含む画分を特定した。

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

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

個別物質に関する実験では、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-キノロンイミド類[p-キノロン-4-クロロキノロンイミド(QC)、3,5-ジクロロ-4-クロロキノロンイミド(DCQC)]も図1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 Cl<sub>2</sub>/L (MANは3.5 mg Cl<sub>2</sub>/L)、pH 7 (2 mM リン酸緩衝液)、20 °Cとした。4 h後の遊離残留塩素は1.2~2 mg Cl<sub>2</sub>/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-キノロ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-キノロンイミド類は、LC-MS/MS (TQD; Waters)で測定した。

細胞毒性評価はPlewaらの方法(2009)を参考にした。Chinese hamster ovary (CHO)細胞K-1株は10%のウシ胎児血清(Biosera)および1%ペニシリン・ストレプトマイシン溶液を含むHam's F12培地(Wako)にて5% CO<sub>2</sub>、37 °Cの環境で維持した。実験作用時には細胞懸濁液をカウントし、3,000 cells/100 µL/ウェルとなるように96ウェルプレート(Corning #353072)に添加した。DCQC (TCI #T0397)、DCBQ (TCI #D0344)、QC (TCI #Q0019)をジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、250 mMストックを作製した。培養培地にて希釈し、100 µLずつ96ウェルプレートに添加した。96ウェルプレートには細胞液のみのコントロールウェル、培地のみのブランクウェル、希釈系列を配置した。試験物質の揮発とウェル間のクロスマイネーションを防ぐため、AlumaSeal® 96フィルム(Merck #Z721549)でウェルをカバーした後、ロッカー式シェーカーで96ウェルプレートを振とうし、細胞培養液と試験物質希釈液の混合及び細胞播種が均一となるようにした。96ウェルプレートを5% CO<sub>2</sub>、37 °Cの環境で72時間インキュベートした。

72時間のインキュベート後、上清をアスピレートし除去した。メタノールを50 µLずつ各ウェルに加え、10分間静置し細胞固定を行った。メタノールを除去し、1%クリスタルバイオレット溶液(1 gクリスタルバイオレット(Cica #07470-30)を50 mL dH<sub>2</sub>O + 50 mLメタノールで溶解)を50 µLずつ各ウェルに加え、10分間静置した。クリスタルバイオレットは流水で洗い流し、DMSO:メタノールの3:1溶液を50 µLずつ各ウ

ェルに加え、10分間静置した後、595 nmの吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。得られた吸光度の値からブランク値を引き、コントロールウェルの吸光度に対する割合を計算した。Sigmaplot 11.0で近似曲線を求め、50%阻害値(IC50)を計算した。

#### 7. マンガンイオンが消毒副生成物に与える影響に関する調査

まず、比較的構造が単純な化学物質5種類(クエン酸、アニリン、フェノール、アスパラギン酸、安息香酸)をモデル物質として選定し、マンガンイオン(Mn<sup>2+</sup>)の有無によるHAAFPの変化を調べた。また、塩素処理過程におけるマンガンの形態を調べるために、塩素処理後のサンプルを濾過したのちに全マンガン濃度を測定した。HAAFP試験の条件は、サンプル量は10 mL、有機物濃度は3 mgC/L、塩素添加量はその10倍である30 mg/L(フェノールのみ50 mg/L)、マンガンの添加量は0, 100 µg/L、反応時間は24時間、pHは7(5 mMリン酸緩衝液)、温度は20°Cとした。反応後は、塩化アンモニウムを添加(50 mg/L)して遊離塩素を除去した。HAA濃度の測定はLC-MS/MS(4000 QTARP; AB Sciex)で行った。マンガンの濃度の測定はICP-MSで行った。

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

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

#### 8. 臭気を発する副生成物

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。

原水中の珪藻類(オーラコセイラ等)と臭気物質(1-hexen-3-one)の関係性を明らかにするとと

もに、塩素添加試験や活性炭吸着試験の調査によって、適切な浄水処理方法の確立に向けて検討を行った。両者の関係性については、原水濃度の比較とともに、オーラコセイラを単離培養した試料を用いた調査を行った。原水から1群体のオーラコセイラを単離し、培養液に入れ、一定温度・明暗条件で1ヶ月間かけて7,000群体/mLまで培養した。培養液を除き、孔径1 µmのフィルターでろ過した原水を用いて5段階に希釈した試料を作成した。各試料水に塩素注入率4 mg Cl<sub>2</sub>/Lとなるように次亜塩素酸ナトリウムを添加、2時間振とう・静置後、孔径0.45 µmのPVDFフィルターでろ過し、測定した。

原水への塩素添加実験では、オーラコセイラ300群体/mLの原水にそれぞれ1, 2, 3, 4 mgCl/Lとなるよう塩素を添加し、2時間振とう・静置後、孔径0.45 µmのPVDFフィルターでろ過し、測定した。

また、1-hexen-3-oneの活性炭除去性を確認するため、50 ng/Lの試料に、各々1, 3, 5, 10 mg/Lとなるよう活性炭を添加するとともに、接触時間も5分、15分、30分と経過させた。

#### 9. 基準項目の未規制項目としての妥当性

文献に基づく調査では、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)、ハロベンゾキノン(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。

事業体データに基づく調査では、国内の11の事業体(注:以降ではA~Kとコード化している)から情報提供を得た。これらの事業体に、過去(原則2004年以降)に測定した浄水または給水栓水中の未規制副生成物94種および関連基準項目の濃度についてデータの提供を依頼した。対象とした未規制消毒副生成物94物質のうち全ての事業体で未測定ものは55物質、すべての事業体で定量下限値未満のものは6物質、検出例があるものは33物質(1回のみ等まれな場合も含む)であった。

解析は、基本的には収集したデータから基準項目と未規制消毒副生成物の濃度を比較する散布図をもとに行った。その際、定量下限値未満のデータは定量下限値の半分の値として扱った。また、基準項目のうち、総トリハロメタン、総トリハロメタンの中で占める割合が最大であるクロロホルム、ハロ酢酸の中で占める割合が多いジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸の計4種類を比較対象をとした。逆にいえば、プロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタン、プロモホルム、クロロ酢酸、ホルムアルデヒドは除外した。

判断基準としては、以下の3つの判断基準のうちどれか1つを満たせば、基準項目と未規制副生成物の間に関係があるとして解析を進めた。基準1は相関係数が0.7以上であること、基準2は基準項目が高いグループの方が、対象とする未規制消毒副生成物の濃度も高いと統計的に示された場合(箱ひげ図の分布に差がある場合(具体的にはU検定で $p < 0.05$ ))、基準3は対象未規制物質最大値であるときに基準項目も最大値かつその対象未規制物質の最大値が基準項目濃度の低い領域ではすべてそれ未満であること、である。

なお、解析にあたっては、検出回数が0-2回のもは除外した、さらにU検定については、10セット(基準項目と対象未規制副生成物のペア)以上データがない場合には、行わなかった。

## 10. シアン化合物

霞ヶ浦浄水場実証実験プラント及び利根川浄水場の処理過程毎のシアン化合物の生成量及び有機物等の測定を行った。霞ヶ浦浄水場実証実験プラントの処理フローは、原水-生物処理\*-凝集沈殿-砂ろ過-オゾン-粒状活性炭\*-浄水(\*:次亜塩素酸ナトリウム添加)、利根川浄水場の処理フローは、原水-\*凝集沈殿-オゾン-生物活性炭-砂ろ過\*-浄水(\*:次亜塩素酸ナトリウム添加)(注:1/2は従来处理であるため浄水はオゾン処理と従来处理のブレンド)である。

また、実証実験プラントでオゾン注入率を段階的(0.7, 1.5, 3.0 mg/L)に変化させてシアン化合物の生成量及び有機物等の測定を行った。

## 11. 全国の浄水場における消毒副生成物の網羅的調査

### 11.1 網羅的調査の結果

4グループ20種の消毒副生成物と臭化物イオンを対象とした(図2)。2021年10月と2022年1月、全国21浄水場を対象に、給水栓水の消毒副生成物の調査を行った(そのうち1浄水場はハロ酢酸のみ調査)。残留塩素はアスコルビン酸ナトリウムで除去した。

トリハロメタンはPT-GC/MSで、ハロ酢酸はLC-MS/MSで、ハロアセトニトリルとハロアルデヒドは液液抽出-GCMSで、臭化物イオンはLC-MS/MSで測定した。定量下限値は、それぞれ1, 1, 0.2, 0.2, 2 µg/Lであった。

### 11.2 分科会参加事業体によるハロ酢酸の実態調査

消毒副生成物分科会に参加している10事業体において、10種のハロ酢酸の実態調査を行った。定量下限値は、1 µg/Lの場合が多かったが、一部はそれより高い濃度であった。

## 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

霞原水ではわずかにDcAcAmが検出され、沈澱処理水は、殺藻用の塩素注入によりDcAcAm, BCaAm, DBaAm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、DBaAm, BCaAm, DCaAm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 µg/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、DBaAm, BCaAm, DCaAm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、DBaAm, BCaAm, DCaAm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長期トレンド,生成条件および処理性

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<sub>4</sub>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 µg/L程度)ものの、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BCaAm, DBaAm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DCaAm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 µg/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°C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(KMnO<sub>4</sub>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(KMnO<sub>4</sub> 消費量 2.2 mg/L)、および約 50 日間使用(KMnO<sub>4</sub> 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 °C、20 °C、30 °C 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 °C のときには 10 °C 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。

HAcAms の活性炭における処理性は、新炭や経年炭の違い、温度、活性炭の生物処理性の有無で結果は異なった。新炭では温度や活性炭の生物処理性の有無によらず、いずれの成分も物理吸着により 100% 近く除去された。一方、経年炭では成分ごとに処理性が異なっており、BCAcAm、TCAcAm 及び DBAcAm はいずれも物理吸着で 100% 近く除去された。

しかし、CAcAm、BAcAm 及び DCaAm は、経年炭（3 年経過）では、BCAcAm、TCAcAm 及び DBAcAm に比べて除去率が低下し約 60~90% に留まった。ただし生物処理効果が一定程度寄与するとわかった。

経年炭経年炭（10 年経過ただし 3 年目以降毎年 20% を入れ替え）では、CAcAm、BAcAm 及び DCaAm は、同様に BAcAm、TCAcAm 及び DBAcAm に比べ除去率が低下し約 70~90% に留まった。また、温度は 10°C の場合、30°C に比べやや除去率が低下した。ただし生物処理効果はほとんど見られず物理吸着性による効果が大きいと分かった。

両者の経年炭は、実施設における HAcAms 類の処理性が同程度であったものの、仮に毒物が流入した場合、生物処理性が阻害される恐れがある。運用としては、阪神水道企業団では毎年活性炭接触槽内の 20% 量を交換補充する運用を行っており、新炭の交換補充を繰り返すことが有効であると考えられた。

## 2. 塩素酸に関する調査

### 2.1 塩素酸の実態調査

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

であった。次亜の入替え後、数日で水質基準超過は解消された。

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

### 2.2 北千葉広域水道企業団等における塩素酸の検出状況等について

#### 2.2.1 企業団における塩素酸の検出状況

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

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

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

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



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

### 2.2.2 企業団構成団体給水栓における塩素酸の検出状況

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

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

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

### 2.3 塩素酸濃度に及ぼす施設規模の影響

東京都における平成 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所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。

## 3. 塩素化パラベン類に関する調査

### 3.1 測定方法の検討

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

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

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

### 3.3 長沢浄水場原配水及び多摩川における実態調査

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

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



濃度が変化している可能性も示唆された。

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

その後の継続調査では、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。

#### 4. 浄水処理対応困難物質に関する調査

##### 4.1 3,5-ジメチルピラゾールに関する調査

###### 4.1.1 DMP 及び DMP 塩素化物の分析方法

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

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

###### 4.1.2 淀川水系における DMP の実態調査

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

###### 4.1.3 浄水フローにおける処理性実験

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

カラムを用いた急速砂ろ過処理の処理性の調

査では、DMP が処理されなかった。砂層に生息する生物に処理が依存している可能性が示唆された。

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

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

Chloro-DMP 及び Bromo-DMP の臭気閾値調査をした結果、Chloro-DMP は 40µg/L、Bromo-DMP は 10 µg/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 µg/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-O<sub>3</sub>/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。

#### 4.2 浄水処理対応困難物質に関する処理性調査

1,3,5-THB及びAAの残存率は、オゾン処理単独で0%となった。また、アセトンジカルボン酸の残存率は、オゾン処理において約50%であったが、後段のGAC処理を行うことで0%となった。

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

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。

#### 5. 消毒副生成物のモニタリングと制御

##### 5.1 ハロ酢酸の制御に関する調査

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

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

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

##### 5.2 消毒副生成物のモニタリングと制御

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。さらに、このモデルを簡略化し1つの蛍光成分を用いた場合でも十分な精度が得られること、HAAFPにも応用可能であることを示した。

##### 5.3 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渇水の影響もあり、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。

##### 5.4 浄水処理におけるGAC吸着池での消毒副生成物生成能の除去性調査

まず、通水倍率と蛍光強度(Ex330nm/Em430nm)について検討した。蛍光強度は通水倍率に比例して増加しており、水温が高くなるほどその増加割合は大きくなることがわかった。また、

通水倍率が大きい GAC 吸着池では、流入水よりも流出水の方が蛍光強度の値が高くなる傾向が確認されたことから、通水倍率と GAC 吸着池における蛍光強度除去率の関係を調べることにした。なお、流入水の蛍光強度に対する GAC 吸着池での蛍光強度除去量の割合を除去率と定義している。

通水倍率が小さい新炭状態であれば、除去率 90%以上と高い値を示したが、通水倍率の増加に伴い除去率は徐々に低下し、通水倍率 80,000 程度を超過すると、流入水よりも流出水の方が値は高くなり、除去率が負の値を示すようになった。また、水温が高いほど除去率の低下割合は大きくなっており、除去率が負となる通水倍率の値は小さくなった。大阪市では、各系統の GAC 吸着池が 5 年で全て入れ替わるよう、毎年数池ずつ更新する 5 年分散更新を行っている。各池の処理水が混合された集合水の処理水水質から GAC 吸着池の処理性能を求めると、単池換算で 3 年使用相当であるが、3 年使用相当の通水倍率はおおよそ 90,000 程度であることから、新炭から更新直前までの GAC が混在している GAC 吸着池においては、蛍光強度発現物質は除去されていると考えられた。

また、蛍光強度が 0~80 の範囲においては、総トリハロメタン生成能との相関関係が高くなっており、蛍光強度を把握することで浄水中の総トリハロメタン濃度を予測することができることが確かめられた。

次に色度について述べる。水温 7℃時においては、通水倍率にかかわらず色度はほぼ 0 度であったが、通水倍率が大きくなるほど、また水温が高くなるほど色度は高い値を示し、通水倍率が一定値を超過すると流入水よりも流出水の方が高くなる傾向も認められた。

これらの結果が示すように、通水倍率と蛍光強度及び色度の関係が類似していること、蛍光強度の発現物質がフルボ酸であることから、GAC 処理水の色度は GAC 処理水中に漏出したフルボ酸に起因していると推測された。

#### 5.5 豪雨時の消毒副生成物の生成に関する調査

濁度の増加に伴い、原水のハロ酢酸生成能の値が上昇していることが分かった。塩素化体の生成能が上昇しており、特に、ジクロロ酢酸 (DCAA) 及びトリクロロ酢酸 (TCAA) に関して顕著であった。濁度、TOC、ハロ酢酸生成能の値は概ね同様の増減率を示していたが TOC あたりのハロ酢酸生成能の値に大きな差はなかった。これは有機物の量が増えたため生成能の量が上昇したと考えられる。

工程水についても平常時と比較して、高濁度時は DCAA と TCAA の値が上昇する傾向があった。原水の濁度は浄水の水質に影響を与えると

考えられる。

#### 6. ハロベンゾキノロン

PLFA, SRFA のいずれも保持時間 4~16 分の画分中の DCBQ 生成能が高く、特に 8~12 分で高かった(図 3)。4~16 分の画分は UV254 の吸収を持つ画分であった。ただし、DCBQ 生成能が最も高かった画分は、UV254 が最大値となる保持時間よりも若干速く、一致はしていなかった。種類の異なる NOM について紫外外部吸光度と DCBQ 生成能との関連性は認められなかったが、同一の NOM について見ると、紫外外部の有無が前駆物質の存在と関係していることが示された。UV254 の強度は SRFA の方が高かったが DCBQ 生成能は窒素含有量の高い PLFA の方が高かった。これは、過去の報告と同様の傾向であった。

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

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

LC-Orbitrap を用いて、陽イオン交換カートリッジ通水後に減少したピークの組成について解析を行った。図 4 に、van Krevelen diagram を示す。DCBQ 前駆物質濃度が高かった画分の保持時間のみを解析対象とした。陽イオン交換カートリッジ通水後に減少 (50%以上) したピーク数のうち、含窒素芳香族のピークは 385 であった [芳香族化合物の判定は、aromatic index (AI<sub>mod</sub>)

(Baalousha ら, 2018) を使用]。これらピークの分子量は 116~541 (平均: 311) であった。炭素数の範囲は 6~38 で、C<sub>7</sub> が最も多く、C<sub>6</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub> も比較的多かった。同一組成のピークも認められたが、保持時間が異なるため、異性体と考えられた。組成について見ると、CHNO の組成が約 55%と最も割合が高く、CHNOP の組成も約 27%と高かった (図 5)。

これらピークは含窒素芳香族という点であるため、DCBQ 前駆物質候補としてみる場合には、塩素との反応性の点からの評価も必要となる。

図 6 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  $-CH_2OH$ ,  $-COOH$ ,  $-C(O)-NR$  を持つアミン類の生成率が高かった。一方,  $-OH$ ,  $-O-CH_3$ ,  $-NH-C(O)-CH_3$  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 7)。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 8 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, 塩素化ベンゾキノロン類, 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。

CHO 細胞を用いて測定した細胞毒性について, DCQC, DCBQ, QC の IC50 は, それぞれ 19.7  $\mu M$ , 22.6  $\mu M$ , 3.51  $\mu M$  であり, 細胞毒性の強さは QC >> DCQC > DCBQ の順であった。Prochazka ら (2015) は CHO AS52 株を用いて同様の方法で DCBQ の細胞毒性を測定しており, IC50 は 10.9  $\mu M$  と報告した。Du ら (2013) はヒト由来膀胱癌細胞株 T24 に DCBQ を 24 時間作用させ MTS アッセイにて得られた IC50 を 94.5  $\mu M$ , ニュートラルレッドアッセイにて得られた IC50 を 11.4  $\mu M$  と報告した。報告された IC50 は手法や細胞の違いにより差はあるが, おおむね数十  $\mu M$  のオーダーであり, 本研究においても同程度の感度での結果が得られたと考えられる。

Du ら (2013) は DCBQ と他 3 種類のハロベンゾキノロン類を飲料水中から検出し, これらの細胞毒性を求めたが, 4 種類のハロベンゾキノロン類の中で DCBQ が最も細胞毒性が高いことを報告し

た。本研究で毒性を評価した 3 種類のハロベンゾキノロン類のうち最も細胞毒性が高かったのは QC である。QC は p-芳香族アミン類の塩素処理により生成する物質であり, 塩素反応性が低いいため, 浄水中での存在が予想され, 今後より注視する必要がある。

## 7. マンガンイオンが消毒副生成物に与える影響に関する調査

図 9 に示すようにクエン酸の HAAFP がマンガニオンの添加により大きく増加していることがわかった。クエン酸以外の 4 物質については, HAAFP の変化は確認できなかった。塩素処理中のマンガニオンの形態は, クエン酸においては溶存態 (つまりイオンもしくは錯イオンとして存在), 他の 4 物質においては, 二酸化マンガンの濃度が高いことが分かった。以上の結果から, クエン酸とマンガンは錯体を形成し, その錯体生成がクエン酸の HAAFP を増加させると考えられた。

マンガニオンがクエン酸の HAAFP と塩素消費量に与える影響を, マンガンイオン濃度別に調べたところ, MCAAFP, DCAAFP, TCAAFP 共に, 1  $\mu g/L$  のマンガン濃度であっても増加が確認された (図 10)。マンガンの水質基準値である 50  $\mu g/L$  以下であっても, クエン酸の HAAFP に大きな影響を与えており, 消毒副生成物という観点からもマンガンの制御が必要となる可能性がある。

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

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

## 8. 臭気を発する副生成物

*A. granulata var. angustissiman* 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。

原水オーラコセイラ濃度と 1-hexen-3-one 濃度の間には相関がみられオーラコセイラから 1-hexen-3-one が生成されていると推測された。

また, 単離培養後のオーラコセイラを塩素処理した場合の 1-hexen-3-one と群体数には高い相

関性があり、また、次亜無添加の試料からは 1-hexen-3-one が検出されていないことから、臭気物質がオーラコセイラ由来で、塩素添加により細胞が破壊されることで検出されると推察した。

原水への塩素添加試験では、塩素注入率を上げると、破壊される群体数が増加する一方、1-hexen-3-one は減少した。ニオイ嗅ぎ装置を用いても、2 mgCl<sub>2</sub>/L までは樹脂臭を感じるものの、4 mgCl<sub>2</sub>/L 以上では感じられなかった。過剰の塩素注入により 1-hexen-3-one そのものが分解、樹脂臭が減少するものと推察した。

原水への活性炭注入の効果については、1-hexen-3-one の除去率は、活性炭注入率、接触時間に依存した（最大 90%）。長沢浄水場では、従来、接触時間が 5 分程度であったものが、活性炭接触池を設けたことで 30 分に増加しており、活性炭注入はより効果的であることがわかった。

なお、令和 3 年 4 月中旬に発生した臭気障害について、珪藻類スケルトネマ・サブサルサムからも塩素添加により 1-hexen-3-one が生成することを別途確認した。

## 9. 基準項目の未規制項目としての妥当性

文献調査の結果、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になると考えられた。

次に事業体データの解析結果について述べる。図 11 に定義した関係性があったものの例を示す。図 11 (a) は基準 1, 2 を満たしている例である（一部プロットが重複している点に注意）。図 11 (b) はジクロロアセトニトリルの濃度が高い場合に必ず総トリハロメタン濃度が高く、基準 3 を満たしている例である。図 11 (c) は基準 2, 3 を満たしている、つまりばらつきはあるものの最大値は対応し、かつ総トリハロメタンが高いときに対象未規制物質の濃度が高い傾向にある場合の例である。図 11 (d) は基準 1, 3 を満たす例で概ね比例関係にみなせるケースである。図 11 (e) 基準 2, 3 を満たしている例である。図 11 (f) は、ばらつきが大きいのが全体的な傾向として、総トリハロメタンが高めのときに抱水クロラールも高い傾向にあり、基準 2 に該当する例である。

図 11 では、関係があった例を示したが、基準 1~3 を満たさない例も当然あった。ただし、基準を満たさない例の多くは、測定回数が少ない場合、検出下限付近の濃度しか検出されない場合であった。

次に、各事業体（配水系統、地点別）について、対象とした基準項目のいずれか一つと未規制副生成物に関係が認められた場合、その未規制消毒副生成物については、関係性が期待できると

判断した。さらに、対象とした 11 事業体のどこか一つでも、関係性があれば、その未規制副生成物については、基準項目と関係性があると評価した。この評価は、水源や、処理条件の違いを無視して、ある未規制副生成物について関係性を期待できる可能性があるかという評価になる。そのまとめを表 2 に示す。この表には一定程度検出があった物質のみをあげているが、可能性としては、多くの物質について、トリハロメタンやハロ酢酸は、未規制副生成物のマーカーとなりうるといえる。この評価は、関係性がなかった事業体の結果を無視していることになるが、関係性があった事業体の方が検出濃度が総じて高い傾向にあり、水質管理上この手法はある程度期待できるものと考えられた。

## 10. シアン化合物

まず、実態調査について述べる。オゾン処理では季節変動はなく霞ヶ浦浄水場実証実験プラント、利根川浄水場ともにシアン化合物が生成された。

原水の TOC は霞ヶ浦浄水場実証実験プラントでは 3.0~3.4 mg/L、利根川浄水場では 1.2~2.4 mg/L であり、霞ヶ浦浄水場実証実験プラントでは TOC が恒常的に高くシアン化合物の生成もされていることから有機物とシアン化合物の関係性があることが示唆された。

霞ヶ浦浄水場実証実験プラントにおいては砂ろ過で塩化シアンが生成され、その後のオゾン処理でもシアン化合物が最大で 0.0043 mg/L 検出されているが、その後の粒状活性炭処理では不検出であり、活性炭処理を行うことで除去されていると考えられる。利根川浄水場においてもオゾン処理でシアン化合物が生成されているがその後の生物活性炭処理では不検出であった。

霞ヶ浦浄水場実験プラントにおけるオゾン注入率とシアン化合物濃度の関係を検討した結果、オゾン注入率が高くなると、オゾン処理水でのシアン化合物が増加する傾向であった。最大濃度は基準値の 8 割程度（合算値 0.0079 mg/L）であった。一部の条件を除いてオゾン単独とオゾン/AOP の違いによるシアン化合物生成量に大きな差はなく、上述のオゾン処理による生成量調査と同様に GAC 以降の処理においては、シアン化合物は不検出であった。

## 11. 全国の浄水場における消毒副生成物の網羅的調査

### 11.1 網羅的調査の結果

図 12 に、各浄水場における 4 グループの消毒副生成物それぞれの合計濃度の分布を示す。10 月の場合、合計濃度はトリハロメタン、トリハロ酢酸、トリハロアルデヒド、ジハロ酢酸、ジハロアセトニトリルの順であった（ハロ酢酸は、

ジハロ酢酸, トリハロ酢酸に分類)。1月の場合, トリハロメタン, トリハロ酢酸, ジハロ酢酸, トリハロアルデヒド, ジハロアセトニトリルの順であった(図省略)。また, 10月の方が1月よりも濃度は高かった。目標値案が示されたブロモクロロ酢酸, ブロモジクロロ酢酸について見ると, ブロモクロロ酢酸について10月は21浄水場中18浄水場から検出され, 1月は20浄水場から検出された。最高値はそれぞれ5.7, 3.5 µg/Lであった。ブロモジクロロ酢酸は, 10, 1月でそれぞれ20, 21浄水場から検出され, 最高値は5.4, 4.2 µg/Lであった。

消毒副生成物濃度の関連性を見たところ, 塩素化消毒副生成物であるクロロホルムは, トリクロロ酢酸や抱水クロラールといった他の塩素化消毒副生成物と関連していることが示された(図13)(10, 1月の結果を合わせて評価)。また, 各グループ間の bromine incorporation factor (BIF) の関連性を見たところ, BIF 同士の関連性は確認された(図14)。さらに, BIF は原水中の臭化物イオンとの関連性があることも示された(図15)。

## 11.2 分科会参加事業体によるハロ酢酸の実態調査

ハロ酢酸の調査地点数はハロ酢酸によって異なり, 72~86地点であった。9種中ブロモ酢酸, トリブロモ酢酸を除く6種類が1試料以上から検出された。トリクロロ酢酸, ジクロロ酢酸の検出試料数が最も高かった。最高濃度もこれら2種が高かった。

目標値案が示されたブロモクロロ酢酸はジクロロ酢酸よりは検出率は低かったが77中25地点から検出され最大値は4.0 µg/Lであった。同様に, ブロモジクロロ酢酸は75中29地点から検出され最大値は5.7 µg/Lであった。(a), (b)の結果のいずれも, ブロモクロロ酢酸は目標値案(10 µg/L)の40%超, ブロモジクロロ酢酸は目標値案(10 µg/L)の50%超で検出されていた。

## 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 °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。
- 浄水では, 水温および塩素注入率が高い夏季に HAcAms の生成が増す傾向であった。また, 総 THMs(浄水)と同様の生成傾向であった。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。

- 活性炭による処理について, 毎年20%の交換補充を行うことにより, 10年にわたり HAcAms の一定の除去性を維持する効果があると認められた。
- 塩素酸の水質基準超過事例について調査した。原因は, 貯蔵槽への継ぎ足し方式の補充による, 次亜の劣化であった。
- 浄水や給水栓における塩素酸の検出状況等を確認した結果, WHO の新しい毒性評価に基づき試算される仮想指標値 0.2 mg/L を夏季に頻繁に超えている地点が数箇所あり, 温調設備のない次亜塩留槽やアンモニア態窒素濃度等が高く次亜塩注入量が多い原水がその原因と推察された。
- 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。
- パラベン類及びその塩素化物の分析方法を確立し, 長沢浄水場及び多摩川流域において実態調査を行った結果, 長沢浄水場における塩素化パラベン類は未検出であった。また, 多摩川における実態調査から, パラベン類と下水処理水との関係が示唆された。
- 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。
- 淀川水系周辺における実態調査により, DMP 及び DMP 塩素化物が検出された。DMP の処理法として, 塩素添加前のオゾン処理と GAC 処理の有効性を示した。
- 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。
- 1,3,5-トリヒドロキシベンゼン, アセチルアセトン及びアセトンジカルボン酸について, 溶存オゾンが検出される条件であれば, オゾン処理及び GAC 処理において対応が可能である。
- 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。

- ジクロロ酢酸については、給水末端における低濃度(減少)期間が見られた。この期間におけるジクロロ酢酸濃度の低下は遊離残塩濃度の低下に伴い発生したと考えられる。
- THMとHAA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。
- 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。
- GAC処理水中の蛍光強度の経年変化を測定することで、消毒副生成物生成能の除去性を調査したところ、GAC吸着池の通水倍率に比例して処理水中の蛍光強度は増加し、水温が高くなるほどその増加割合は大きいこと、蛍光強度(Ex 330 nm/Em 430 nm)は総トリハロメタン生成能との相関が高く、前駆物質の存在量を把握する指標として有用であることを示した。
- 豪雨時の消毒副生成物濃度の上昇を確認した。
- PLFAとSRFAをHPLCで分画して各画分中のDCBQ生成能を見たところ、いずれのNOMも、DCBQ生成能が高い画分はUV<sub>254</sub>の吸収を持つ画分であった。一方、UV<sub>254</sub>が低いPLFAの方がDCBQ前駆物質を多く含むことが示された。また、PLFAの前駆物質には芳香族アミン類が寄与していることが明らかとなった。
- p-芳香族アミン類から比較的高濃度でQCが生成していることを示した。
- ハロベンゾキノン類について、CHO細胞を用いた細胞毒性評価の実験系を確立し、IC<sub>50</sub>から得られる細胞毒性の強さは、QC >> DCQC > DCBQであることを示した。
- マンガンイオンはクエン酸およびクエン酸と類似の化学構造を持つアコニット酸のHAAFPを増加させることが示された。
- 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。またこの物質が1-hexen-3-oneであることがわかった。活性炭処理により最大90%除去できることを示した。珪藻類スケルトネマ・サブサルサムでも

塩素処理で1-hexen-3-oneが放出または生成されることを示した。

- 全国調査では、10月では、トリハロメタン、トリハロ酢酸、トリハロアルデヒド、ジハロ酢酸、ジハロアセトニトリルの順に濃度は高かった。1月では、トリハロメタン、トリハロ酢酸、ジハロ酢酸、トリハロアルデヒド、ジハロアセトニトリルの順に濃度は高かった。
- 塩素化の消毒副生成物濃度は関連性があり、また、消毒副生成物間のBIF関連性が認められた。さらに、原水の臭化物イオン濃度が高い場合に消毒副生成物のBIFも高い傾向にあった。
- 目標値案が示されたブロモクロロ酢酸、ブロモジクロロ酢酸の検出率は、全国調査の方が消毒副生成物分科会より高かった。最高値はいずれの調査でも、それぞれ目標値案の40%超、50%超であった。
- 未規制消毒副生成物の濃度と総トリハロメタン等基準項目の「緩い関係性」について、国内水道事業体の測定データを用いて解析を行った。その結果、検出例がある多くの物質について関係性があるケースが認められ、現行の基準項目がある程度未規制消毒副生成物の目安(マーカー)となる可能性が示された。
- オゾン注入率とシアン化合物濃度の関係については、夏期・冬期ともにオゾン注入率が高くなると、オゾン処理水でのシアン化合物が増加する傾向であり夏期の最大で0.0079 mg/L(基準値の8割程度)検出されているが、GAC以降の処理においては、シアン化合物は不検出であった。

## F. 参考文献

- 中井喬彦, 小坂浩司, 浅見真理, 秋葉道宏. LC-MS/MS法による水道水中の2,6-ジクロロ-1,4-ベンゾキノン(2,6-DCBQ)の測定法検討と実態調査. 水環境学会誌, 2015, 38, 67-73.
- 菱田祐太, 森智裕, 河内智彦, 小坂浩司, 浅見真理, 秋葉道宏. 粉末活性炭処理によるハロベンゾキノン類生成能の低減効果. 平成28年度全国会議(水道研究発表会)講演集, 2016, 710-711.
- Baalousha, M., Afshinnia, K., Guo, L. Natural organic matter composition determines the molecular nature of silver nanomaterial-NOM corona. Environ. Sci.: Nano, 2018, 5, 868-881.
- 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.
- Du, H, Li, J, Moe, B, McGuigan, C F, Shen, S, Li, X-F, 2013. Cytotoxicity and oxidative damage



- induced by halobenzoquinones to T24 bladder cancer cells. *Environ. Sci. Technol.* 47:2823-2830.
- 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.
- Patriarca C., Bergquist J., Sjöberg P.J.R., Tranvik L., Hawkes J.A. Online HPLC-ESI-HRMS Method for the Analysis and Comparison of Different Dissolved Organic Matter Samples. *Environ. Sci. Technol.* 2018, 52, 2091-2099.
- Plewa, M J, Wagner, E D, 2009. Mammalian cell cytotoxicity and genotoxicity of disinfection by-products. *Water Research Foundation: Denver, CO.*
- Prochazka, E, Escher, B I, Plewa, M J, Leusch, F D, 2015. In vitro cytotoxicity and adaptive stress responses to selected haloacetic acid and halobenzoquinone water disinfection byproducts. *Chem. Res. Toxicol.* 28:2059-2068.
- 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*, 2022, 44(2), 208-216.
2. 学会発表
- 1) 鈴木知美, 仲門拓磨, 倉田拓郎, 向井恵, 小坂浩司, 秋葉道宏. 塩素処理による NOM からの 2,6-ジクロロ-p-ベンゾキノン (DCBQ) の生成特性と前駆物質の特性解析. 第 54 回日本水環境学会年会講演集. 2020, 50.
  - 2) 鈴木知美, 越後信哉, 小坂浩司, 秋葉道宏. LC-MS/MS によるシアヌル酸の高感度分析, 令和元年度全国会議 (水道研究発表会) 講演集. 2019, 776-777.
  - 3) Nakai T., Kosaka K., Asami M., Akiba M. Removal of halobenzoquinone precursors during ozone/biological activated carbon process. *IWA Specialist Conference on Natural Organic Matter in Water 2019*. 2019, C-4-4.
  - 4) Tada Y., Okuta E., Cordero J.A., Kosaka K., Echigo S., He K., Funaoka H., Kurata A., Itoh S. Characterization of trichloroacetic acid precursors originated from raphidophytes using HPLC fractionation. *IWA Specialist Conference on Natural Organic Matter in Water 2019*. 2019, D-6-3.
  - 5) 多田悠人, J.A. Cordero, 越後信哉, 伊藤禎彦. 塩素処理における共存マンガニイオンのハロ酢酸生成能への影響, 第 54 回日本水環境学会年会講演集. 2020, 52.
  - 6) 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 文献調査による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 (Type1, 線形関係等強い関係性, Type 2, 弱い関係性)

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	

表2 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

未規制副生成物	関係性	関係性のある基準項目
モノブromo酢酸	あり	総トリハロメタン, クロロホルム, ジクロロ酢酸, トリクロロ酢酸
ジブromo酢酸	あり	総トリハロメタン, クロロホルム, ジクロロ酢酸, トリクロロ酢酸
ブromoクロロ酢酸	あり	総トリハロメタン, クロロホルム, ジクロロ酢酸, トリクロロ酢酸
ブromoジクロロ酢酸	あり	総トリハロメタン, クロロホルム, ジクロロ酢酸, トリクロロ酢酸
ジブromoクロロ酢酸	あり	総トリハロメタン
抱水クロラール	あり	総トリハロメタン, クロロホルム, ジクロロ酢酸, トリクロロ酢酸
ジクロロアセトアミド	あり	総トリハロメタン, クロロホルム
ブromoクロロアセトアミド	あり	総トリハロメタン
トリクロロニトロメタン	なし	
クロロアセトニトリル	なし	
ブromoアセトニトリル	なし	
ジクロロアセトニトリル	あり	総トリハロメタン, クロロホルム, ジクロロ酢酸, トリクロロ酢酸
ブromoクロロアセトニトリル	あり	総トリハロメタン, クロロホルム, ジクロロ酢酸, トリクロロ酢酸
トリクロロアセトニトリル	あり	ジクロロ酢酸
ジブromoアセトニトリル	あり	総トリハロメタン, ジクロロ酢酸
塩化シアン	あり	ジクロロ酢酸
アセトアルデヒド	あり	ジクロロ酢酸, トリクロロ酢酸

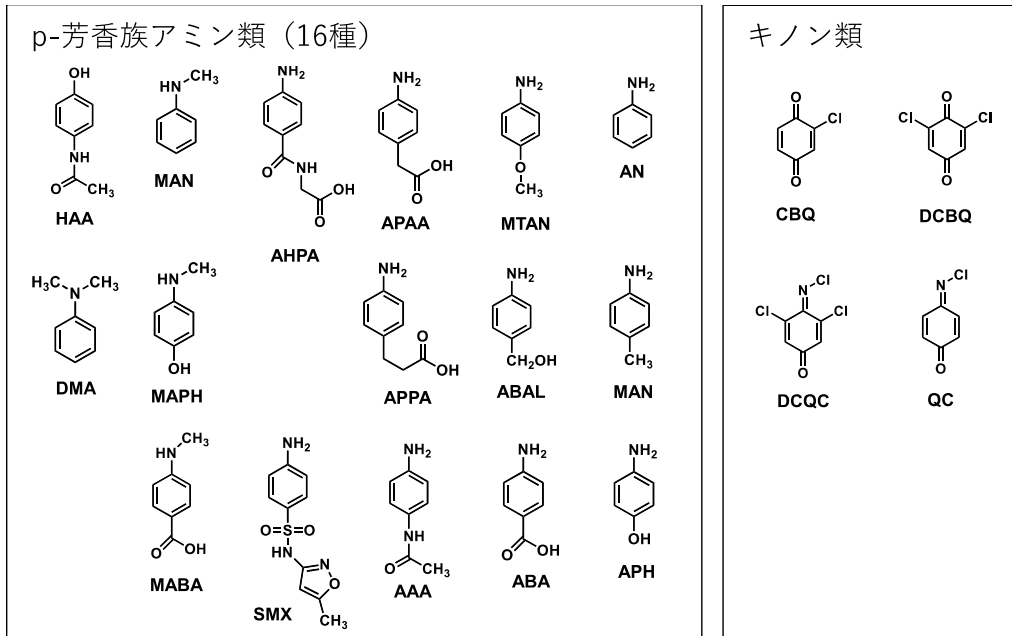


図1 ハロベンズキノン類に関する研究の対象物質

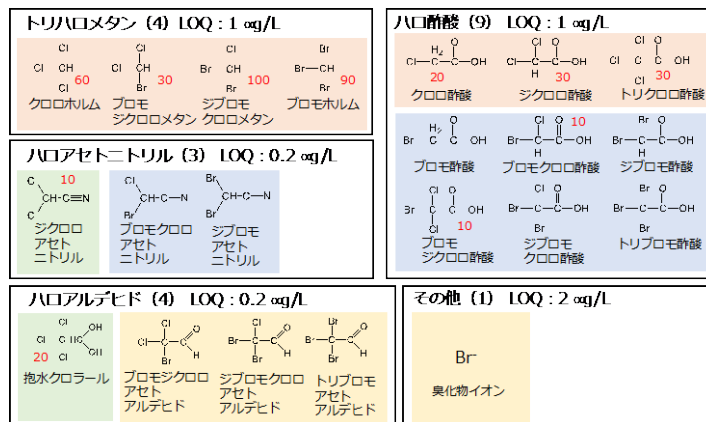


図2 網羅的全国調査の対象物質

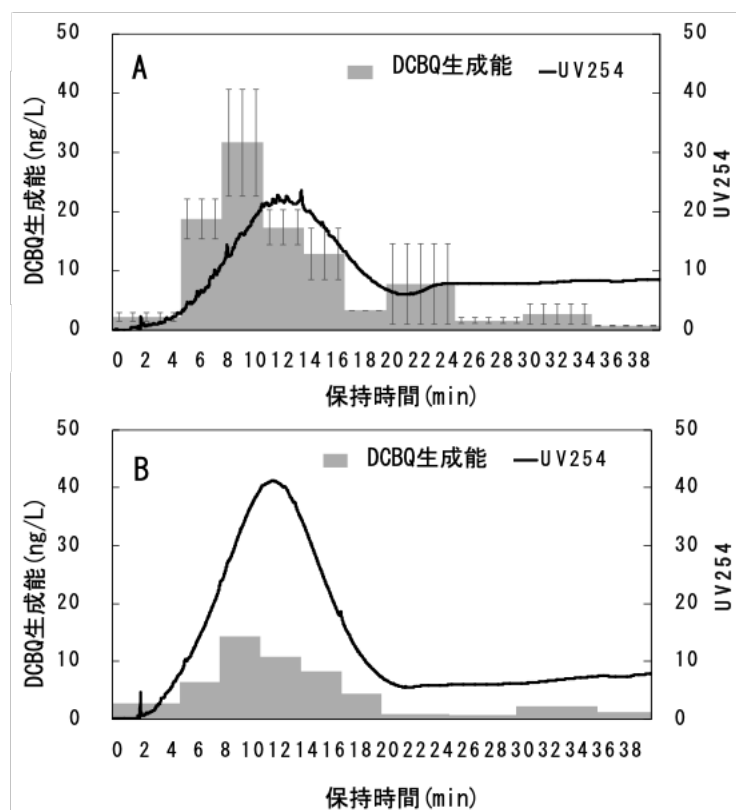


図 3 NOM 試料の  $UV_{254}$  クロマトグラムと各画分の塩素処理後の DCBQ 生成能 (A:PLFA、B:SRFA)

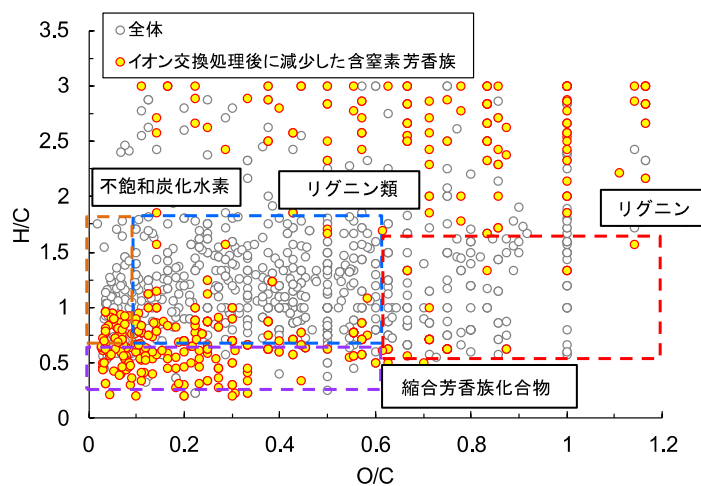


図 4 陽イオン交換カートリッジ通水前後の PLFA の van Krevelen diagram [リグニン ( $O/C=0.1\sim0.6$ 、 $H/C=0.6\sim1.7$ 、 $Almod < 0.67$ )、タンニン ( $O/C=0.6\sim1.2$ 、 $H/C=0.5\sim1.5$ 、 $Almod < 0.67$ )、不飽和炭化水素 ( $O/C=0\sim0.1$ 、 $H/C=0.7\sim1.5$ )、縮合芳香族化合物 (Patriarca ら, 2019)]

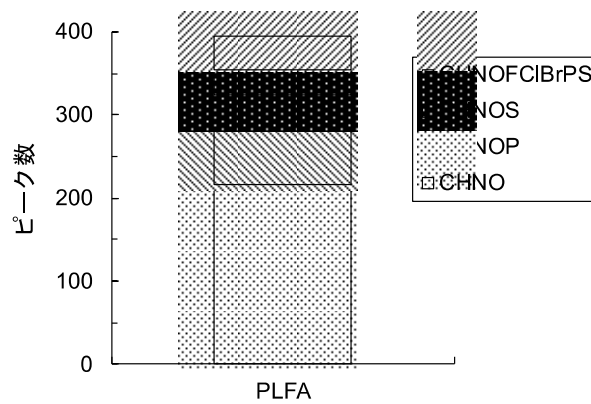


図5 PLFA 試料を陽イオン交換カートリッジ通水後に減少したピークのうち、含窒素芳香族の推定組成式の分布

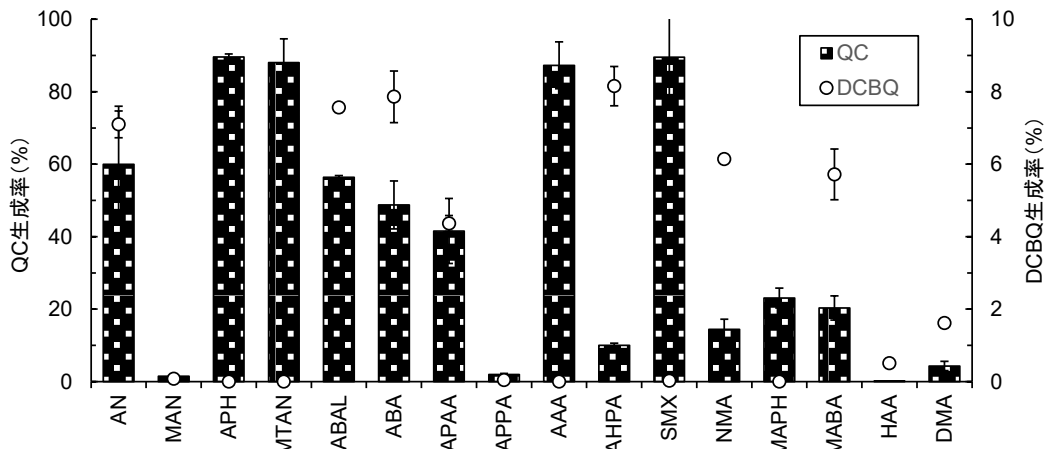


図6 p-芳香族アミン類の塩素処理による DCBQ、QC の生成率

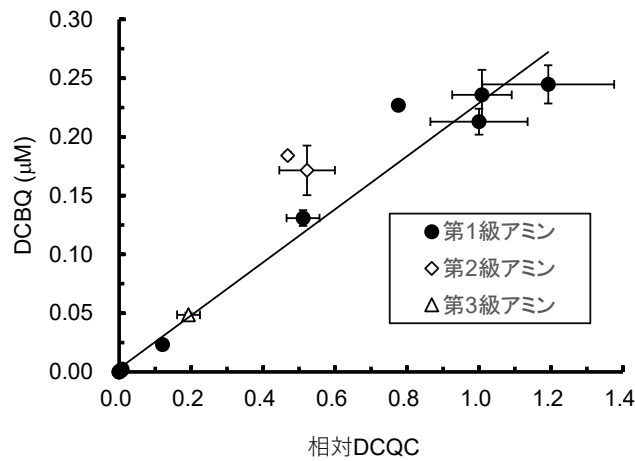


図7 DCQC 生成と DCBQ 生成との関係

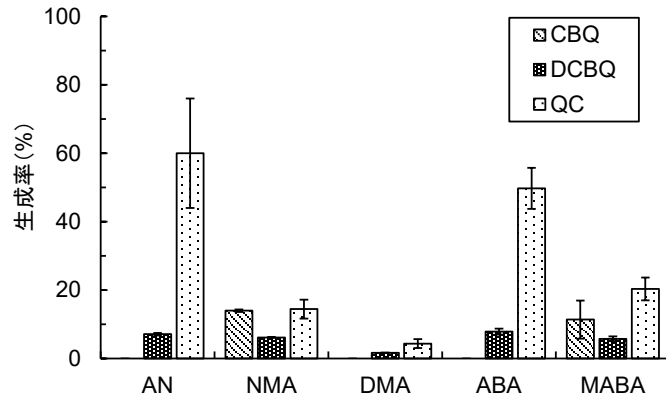


図8 第1~3級アミンのDCBQ、CBQ、QC生成率の比較

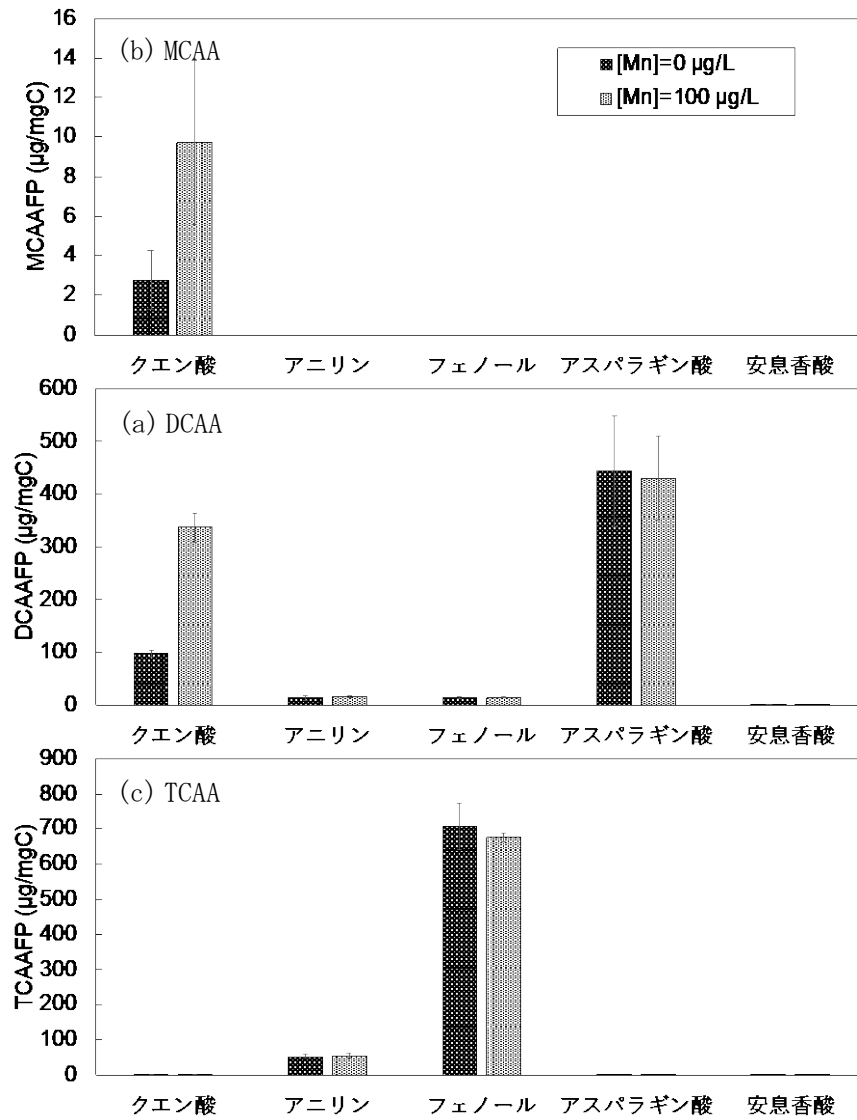


図9 共存マンガンイオンによる各物質のHAAFPの変化

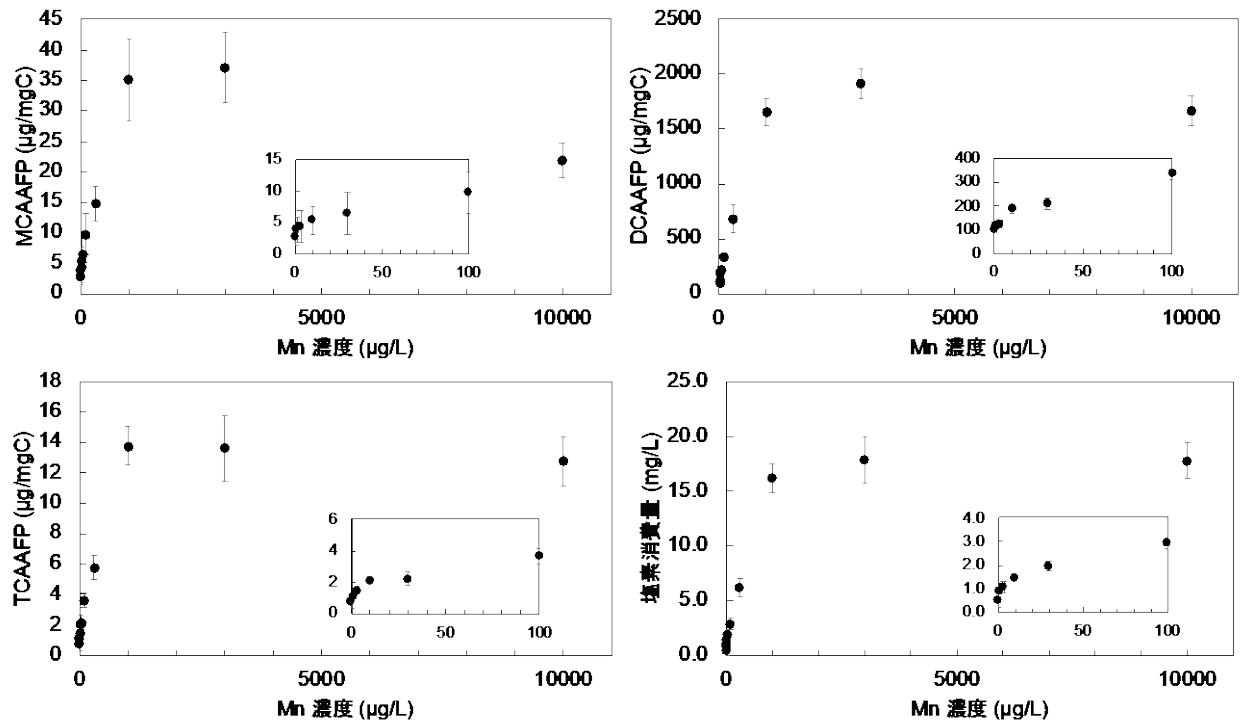


図 10 マンガンイオン濃度を変化させたときにおけるクエン酸の HAAFP と塩素消費量

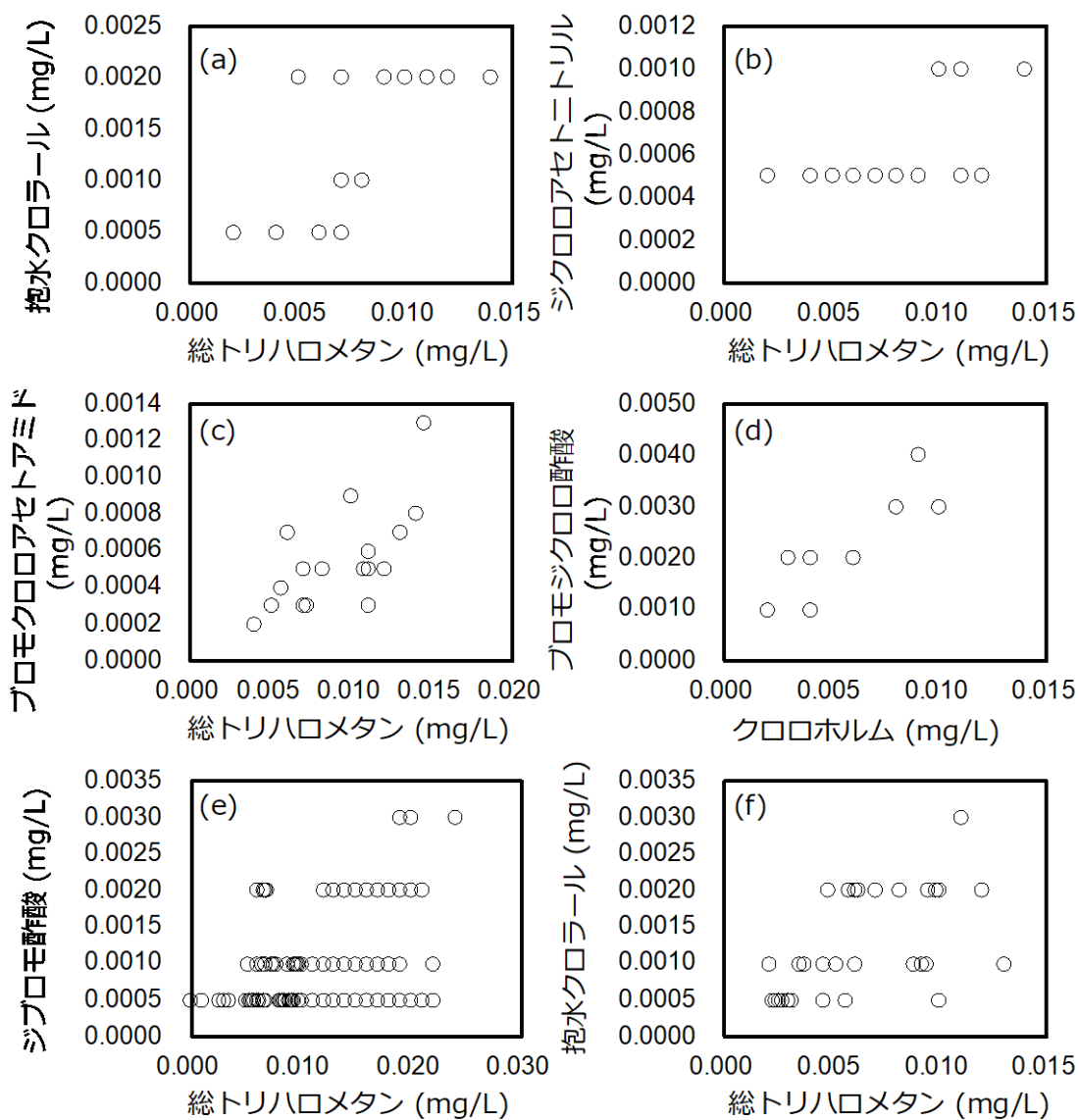


図 11 確認された関係性の例 ((a), (b)C 事業体-1, (c)D 事業体-2, (d)F 事業体, (e) H 事業体-1, (f) I 事業体)

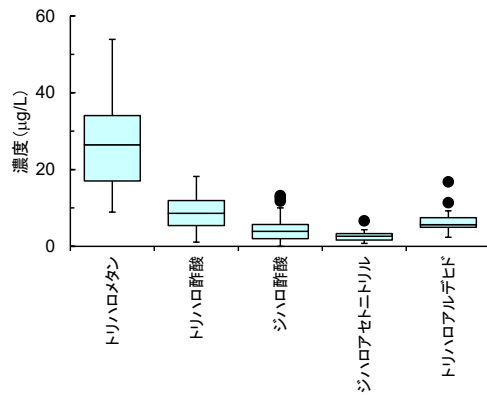


図 12 各消毒副生成物グループの合計濃度の分布（2021年10月）

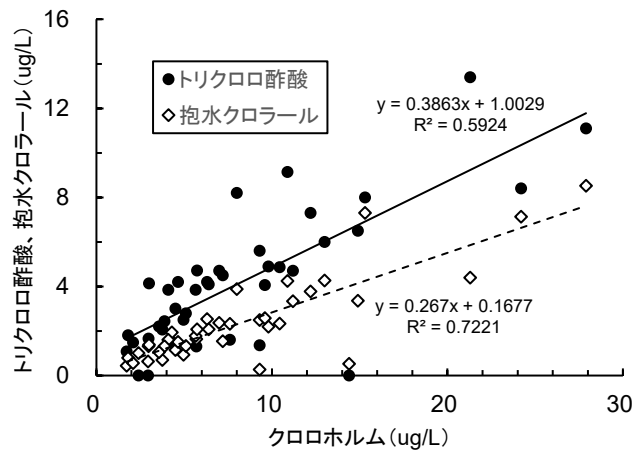


図 13 クロロホルムとトリクロロ酢酸、抱水クロラール濃度の関連性

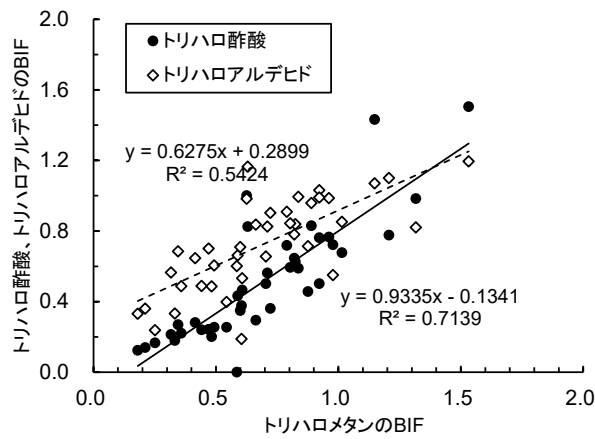


図 14 トリハロメタンのBIFとトリハロ酢酸、トリハロアルデヒドのBIFの関係



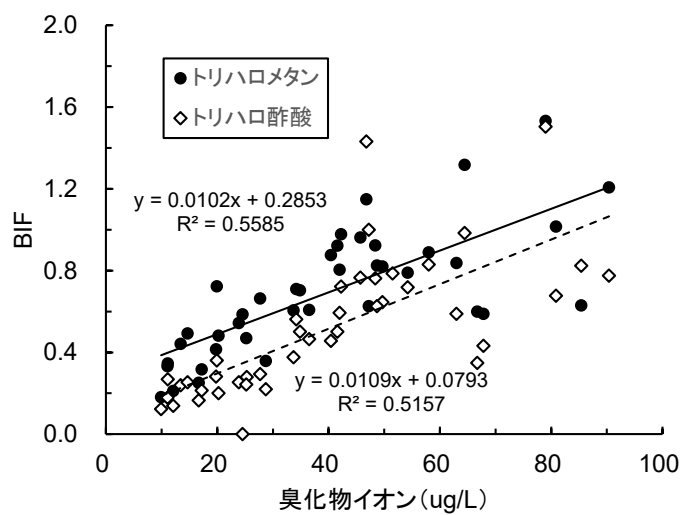


図 15 原水の臭化物イオンとトリハロメタン, トリハロ酢酸の BIF の関係



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」  
令和元～三年度 分担研究報告書

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	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
	松下 拓	北海道大学大学院工学研究院
研究協力者	今井美江	東京都水道局
	大瀬俊之	東京都水道局
	清宮佳幸	千葉県企業局
	庭山秀一	新潟市水道局

研究要旨

全揮発性窒素化合物（TPN）の測定法の最適化を試みたのち、その手法を用いて新潟市の2つの浄水場にて TPN と臭気強度の関係を調べたところ、TPN が低い場合は臭気強度が 70 を超えるような高い臭気が観察されることはなく、TPN をカルキ臭の管理に用いることができる可能性が示された。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、合計で 26 の異なる臭気が感知された。GC/MS ライブラリーサーチと標準品を用いた GC/O を組み合わせることにより、用いたほとんどの塩素処理水で感知された 2 つの臭気のうち、一方の原因物質はベンズアルデヒドであると推察され、この物質のカルキ臭への寄与が示唆された。珪藻類が多く含まれる原水が塩素処理を受けることにより生成される異臭原因物質の検出を GC/O により試みたところ、トリオキサンやベンズアルデヒドである可能性が示唆された。30 種の対象物質のカルキ臭生成能を調べたところ、第一級アミンが、第二、三級アミンより臭気（TON）生成能が高いことがわかった。また、多くの物質は、トリクロラミンが主なカルキ臭原因物質であるが、8 物質については、トリクロラミン以外の物質が主なカルキ臭原因物質であると考えられた。同様に、多くの物質では、TPN にはトリクロラミンが主に寄与していたが、一部の物質については、臭気強度の強い含窒素化合物、臭気強度の低い含窒素化合物が TPN に寄与していることが示された。一級アミンのほとんどはジクロロ体へと変化し、三級アミンからは、*N,N*-ジクロロ-*N*-メチルアミンとみられる物質の生成が確認された。二段階塩素処理は、アンモニア由来のトリクロラミンと TON を低減したが、アミン類（シクロヘキシルアミン、アラニン、プロリン）由来のものに対しては低減しなかった。Br が共存すると、アンモニア、3 種のアミン類のいずれもトリクロラミンの生成が低下したが、TON が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の生成が推察された。Br 共存下にて二段階塩素処理を行うと、アンモニア由来のトリクロラミンと TON が低減された。千葉県企業局の各浄水場浄水に含ま

れるアミン類を誘導体化 GC/MS 法により分析したところ、メチルアミン、エチルアミン・ジメチルアミンが検出されたが、これらのカルキ臭への寄与は限定的であると推察された。シクロヘキシルアミンはオゾン-活性炭処理にて 70%~程度の除去に留まったのに対し、それと塩素の反応で生成される臭気物質である *N,N*-ジクロロシクロヘキシルアミンは、粉末活性炭、あるいはオゾン処理でほぼ完全に除去できた。よって、水源水質事故により原水のシクロヘキシルアミン濃度が高くなった場合には、前塩素注入により *N,N*-ジクロロシクロヘキシルアミンへ変換したのちに、高度浄水処理を行うことが効果的であると考えられた。アンケート調査により、水道事業体では、臭気と臭気強度のいずれも塩素臭以外の臭気を対象としていたが、臭気の場合は残留塩素を消去せずに、臭気強度の場合は消去していると事業体と消去していない事業体があることが分かった。文献調査により、カルキ臭原因物質やカルキ臭前駆物質の低減策として、活性炭、オゾン、紫外線、イオン交換が検討され、原因物質と前駆物質の両方に有効な場合、一方に有効な場合があった。一部のカルキ臭原因物質は、塩素処理条件の変更によっても低減可能であった。

## A. 研究目的

### 1. TPN（揮発性窒素化合物）測定条件についての検討と実態調査（新潟市水道局）

新潟市は、国が定める水質基準等より厳しい独自の安全性とおいしさの基準である管理目標値を設定し、より安全でおいしい水道水の供給に努めている。臭気管理において、不快原因の一つであるカルキ臭の監視指標として何が有効か検討を行っている。カルキ臭原因物質として全揮発性窒素化合物（以下 TPN: Total Purgeable Nitrogen）があることから、カルキ臭原因物質としてトリクロラミンを作成し、それを用いて TPN を測定するための装置「TPN 計」の測定条件を検討した。その後、実際の試料（水道水）を用いて、TPN と臭気強度（残留塩素含む TON : 以下 TON と略す）の関係について調査を行ったので報告する。

### 2. GC/olfactometry による塩素処理由来の臭気原因物質の推定（北海道大学）

これまでの検討で、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。本研究では原点に立ち返り、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。

### 3. 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。

#### 4. 含窒素化合物の塩素処理によるカルキ臭生成特性と生成物に関する検討（京都大学, 保健医療科学院）

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、トリクロラミンは、水道水中の存在実態とカルキ臭への寄与について評価が行われ、カルキ臭に寄与していることが示されたが、その他の原因物質のカルキ臭生成特性についての調査例は少ない。ところで、川口（2015）は、カルキ臭原因物質が還元されやすく、特に含窒素化合物で構成されるという特性を元に、サンプルより気相に揮発するカルキ臭原因物質を TPN として測定し、カルキ臭を客観的かつ定量的に評価できる可能性があることを報告したが、種々の窒素化合物に対する TPN の有効性については明らかとなっていない。本研究では、多種の窒素化合物を対象に、カルキ臭生成特性について、臭気強度（TON）、TPN、トリクロラミンの視点から評価した。また、アミンを塩素処理した場合のカルキ臭原因物質の特定を行うために、塩素処理によってトリクロラミン以外の生成物がカルキ臭に影響を与えていると報告されたアミンに対し塩素処理を行い、未同定カルキ臭原因物質の構造推定を行った。

#### 5. 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）

アンモニア由来のトリクロラミン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<sup>-</sup>）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。本研究では、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、および Br<sup>-</sup>の共存影響について、臭気強度（TON）、TPN、トリクロラミンの視点から評価した。

#### 6. 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。本研究で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。

#### 7. 臭気物質の浄水処理性に関する調査（東京都水道局）

塩素処理により生成する臭気物質およびその前駆物質等について、粉末活性炭処理と高度浄水処理（オゾン処理+生物活性炭処理）での処理性を調査した。

#### 8. 臭気検査法についてのアンケートとカルキ臭についての文献調査（保健医療科学院・京都大学）

カルキ臭原因物質となる物質は多種多様であるため、官能試験による評価が必要となる。官能試験の方法は、告示法や通知

法、上水試験方法で記載されているが、告示法では、臭気の評価に塩素臭を除くと記載されており、水質検査において、塩素臭とそれ以外の臭気がどのように区別されているか実態はよくわかっていない。水道水のカルキ臭の低減には、カルキ臭原因物質やその前駆物質の浄水プロセスでの除去が求められ、いくつかの単位プロセスでの処理が検討されている。これら技術を実際に適用するにあたり、最新の情報が集約されていれば非常に有用である。本研究では、臭気に関連する検査について、水道事業者がどのような条件で検査しているか調査した。また、カルキ臭対応集として、文献調査により、カルキ臭原因物質や前駆物質の分析方法、低減方法について整理した。

## B. 研究方法

### 1. TPN 測定条件の検討と実態調査

#### 1.1 TPN 測定条件の検討

実験室で調整したトリクロラミン標準液を用いて、 $N_2$ ガス流量、 $N_2$ ガスパージ時間および試料量が、TPNの測定精度に与える影響を調べた。

#### 1.2 新潟市における TPN の実態調査

##### 1.2.1 TPN と臭気強度の関係（調査 1）

中性トリクロラミンを作成し、TPNと臭気強度の関係を調べた。また、新潟市のAおよびM配水を試料として TPN と臭気強度の関係について調査した。

##### 1.2.2 TPN, 三点比較法による臭気強度, トリクロラミン濃度の関係（調査 2）

中性トリクロラミンを作成し、トリクロラミンと TPN、トリクロラミンと臭気強度（三点比較法）、TPNと臭気強度（三点比較法）の関係について確認を行った。またA

配水、M配水を試料として TPN と臭気強度（三点比較法）、トリクロラミンと臭気強度（三点比較法）、トリクロラミンと TPN の関係について調査を実施した。

##### 1.2.3 TPN, 三点比較法による臭気強度, トリクロラミン濃度の関係（調査 3）

中性トリクロラミンを作成し、トリクロラミンと TPN、TPN と臭気強度（三点比較法）の関係について確認を行った。また、A および M 配水を試料として TPN と臭気強度（三点比較法）、トリクロラミンと TPN の関係について調査を実施した。

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

### 2.1 水道原水の濃縮と塩素処理

全国8か所の浄水場(A~H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 pH7 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-Cl<sub>2</sub>/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 のガラス製セパラブル容器に移し、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。

### 2.2 GC/Olfactometry による臭気成分の分析

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  $\mu$ m, 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)。

### 2.3 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 にて臭気を感じた 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。

### 2.4 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。

### 3. 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。

### 4. 含窒素化合物の塩素処理によるカルキ臭生成特性と生成物に関する検討

#### 4.1 カルキ臭生成特性

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

対象物質濃度は 5  $\mu$ M とし、塩素処理実験を行った。実験条件は、反応時間が 24 h、24 h 後の遊離残留塩素が  $1.0 \pm 0.2$  mg Cl<sub>2</sub>/L、pH が 7 (5 mM リン酸緩衝液)、水温が 20  $^{\circ}$ C とした。反応後、臭気強度、TPN、トリクロロアミン濃度を測定した。塩素処理後の臭気強度をカルキ臭生成能とした。

#### 4.2 アミン類の塩素処理生成物に関する検討

対象物質として、メチルアミン、エチルアミン、シクロヘキシルアミン、グアニジン、*N*-メチルピペリジン、ピペラジン、3,5-

ジメチルピラゾール、*N,N*-ジメチルアニリンを用いた。また、比較対象としてアンモニウムイオン（塩化アンモニウム水溶液）の塩素化実験も行った。

実験は、塩素処理実験、通常の塩素処理条件で生成物が確認できなかった物質に対する高濃度塩素処理実験、生成物の還元性に関する実験、生成物を DPD 法により結合塩素として検出する実験の 4 項目から構成される。以下に各項について順に述べる。

### (1) 塩素処理実験

フラスコにリン酸緩衝液（最終濃度 5 mM, pH 約 7）を加え、各対象物質の最終濃度が 5  $\mu$ M になるように添加した後、24 時間後残留塩素濃度が  $1.0 \pm 0.2$  mg-Cl<sub>2</sub>/L となるように次亜塩素酸ナトリウムを加え 24 時間暗所で静置した。この試料を HS-GC/MS 法による生成物のスキャン分析に供した。

### (2) 高濃度塩素処理実験

上記の塩素処理実験において特異なピークが得られなかったシクロヘキシルアミン、グアニジン、3,5-ジメチルピラゾール、*N*-メチルピペリジンの 4 物質を対象に、フラスコにリン酸緩衝液（pH 約 7）の最終濃度が 50 mM、対象物質の最終濃度が 50  $\mu$ M になるように加え、24 時間暗所で静置後に遊離残留塩素濃度が 1~3 mg-Cl<sub>2</sub>/L となるように次亜塩素酸ナトリウムを添加した。この試料についても 24 時間静置後に GC/MS を用いて生成物の探索を行った。

### (3) 生成物の還元性に関する実験

上述の塩素処理実験と高濃度塩素処理実験で作成し 24 時間静置した試料、それぞれ添加した次亜塩素酸ナトリウム濃度 1 mg-Cl<sub>2</sub>/L に対し 20 mg/L となるようにアスコルビン酸ナトリウムを加え、数分静置後

に HS-GC/MS 法により、生成物のシグナルが消失するか確認を行った。

### (4) 遊離残留塩素濃度および結合塩素濃度 いずれも DPD 法を用いた。

## 5. 二段階塩素処理によるカルキ臭の低減効果

### 5.1 含窒素化合物由来のカルキ臭に対する二段階塩素処理の低減効果

#### 5.1.1 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。

対象物質濃度は 5  $\mu$ M とし、二段階塩素処理を行った。図 1 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<sub>2</sub>/L（「BP+0.1」）、0.5 mg Cl<sub>2</sub>/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<sub>2</sub>/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<sub>2</sub>/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  $1.0 \pm 0.2$  mg Cl<sub>2</sub>/L となるように調製した。これら試料について、TON、TPN、NCl<sub>3</sub> を測定し生成能とした。



## 5.2 二段階塩素処理によるアミン類の塩素処理生成物の制御

フラスコにリン酸緩衝液 (pH 約 7) の最終濃度が 5 mM になるように加え、各対象物質 (メチルアミン、エチルアミン、ピペラジン、*N,N*-ジメチルアニリンを選定) の最終濃度が 5  $\mu$ M になるように添加し、30 分後残留遊離塩素濃度が 0.05 から 0.3 mg-Cl<sub>2</sub>/L となるように次亜塩素酸ナトリウムを加え 4 時間暗所で静置した。さらに 4 時間静置後に 20 時間後残留塩素濃度が 1.0 $\pm$ 0.3 mg-Cl<sub>2</sub>/L となるように次亜塩素酸ナトリウムを加え 20 時間暗所で静置した。合計 24 時間静置後に GC/MS により測定した。生成量の比較にあたっては GC/MS のピーク結果から特定の質量電荷比 (*m/z*) を抽出し、その面積を求めることで生成量を算出した。たとえば、トリクロラミンの生成量を算出したい場合は、定量イオンである 51 $\pm$ 0.3 と内部標準溶液の定量イオンである 100 $\pm$ 0.3 をそれぞれ抽出し、それぞれのピーク面積を求める。この面積の比によって生成量の指標を得ることができる。また、抽出する質量電荷費によっては複数のピークが得られる場合があるため、特定の質量電荷費を抽出する前の生成物のピークとそこから抽出したピークの保持時間が一致しているかに注意して面積を求めた。

## 6. 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ンクロリドにより誘導体化して、GC/MS により分析した (表 1,2)。

## 7. 臭気物質の浄水処理性に関する調査

### 7.1 調査対象物質

本調査では、塩素との接触により溶剤臭

を発生するフェノール類 (2-クロロフェノール, 4-クロロフェノール, 2-ブロモフェノール, 4-ブロモフェノール, 2,4-ジクロロフェノール, 2,6-ジクロロフェノール, 2,4-ジブロモフェノール, 2,6-ジブロモフェノール, 2,4,6-トリクロロフェノール, 2,4,6-トリブロモフェノール)、玉ねぎ様の臭気を発生するシクロヘキシルアミン (1 級アミン:*N,N*-ジクロロシクロヘキシルアミン)、カビ臭を発生するトリハロゲン化アニソール類 (2,4,6-トリクロロアニソール, 2,4,6-トリブロモアニソール) を対象とした。

## 7.2 調査方法

### 7.2.1 粉末活性炭処理

東京都水道局浄水場の沈殿水に調査物質を添加した後、ジャーテストを行い、粉末活性炭注入率 5、10、25、50 及び 100 mg/L での処理性を確認した。なお、*N,N*-ジクロロシクロヘキシルアミンは標準品が入手できなかったため、実験室で調製して用いた。

### 7.2.2 高度浄水処理

東京都水道局浄水場の沈殿水に各物質を添加し、小型高度浄水処理装置によりオゾン処理及び生物活性炭 (BAC) 処理を行った。BAC 処理は新炭と経年炭 (4 年使用炭) の 2 タイプで実施した。

## 8. 臭気検査法についてのアンケートとカルキ臭についての文献調査

### 8.1 臭気および臭気強度の検査方法に関するアンケート結果

19 水道事業体を対象に、エクセルファイルで作成した、臭気と臭気強度の検査方法等に関する 13 項目のアンケート調査票をメールで送付し、その結果を集計した。

### 8.2 カルキ臭の対応集

カルキ臭への対応策として、カルキ臭原因物質とその前駆物質の、分析法と低減策について、文献調査等により整理した。

## C. 研究結果と考察

### 1. TPN 測定条件の検討と実態調査

#### 1.1 TPN 測定条件の検討

検討の結果、試料量を 500 mL、N<sub>2</sub> ガス流速を 200 mL/min、N<sub>2</sub> ガスパージ時間を 15 min と設定することで、TPN を精度良く測定できることが分かった。

#### 1.2 新潟市における TPN の実態調査

##### 1.2.1 TPN と臭気強度の関係（調査 1）

調整したトリクロラミン溶液（図中のトリクロラミン添加）では、TPN と臭気強度の間に高い相関があった（図 2）。また、TPN 値がトリクロラミン添加付近にある場合や、一方で TPN が低くても TON の値が高い場合や、逆に TPN が高くても TON が低い場合なども確認できた。

##### 1.2.2 TPN, 三点比較法による臭気強度, トリクロラミン濃度との関係（調査 2, 3）

図 3 に新潟市の水道水における TPN と臭気強度の関係を、図 4 にトリクロラミン濃度と臭気強度の関係を、図 5 にトリクロラミン濃度と TPN の関係を示す。

TPN と臭気強度の相関図（図 3）より、多くのプロットが直線付近にあることから、トリクロラミンが主なカルキ臭原因物質であると考えられた。また、A 配水では TPN は低いながら TON が高いプロット、M 配水では TPN は高く TON も高いプロットが確認されたが、いずれも浄水場でも、TPN が低い場合は（A 浄水場では TPN < 0.004 mg/L 程度、M 浄水場では TPN < 0.006 mg/L 程度）、臭気強度が 70 を超えるような高い臭気が観察されることはなかった。すなわち、TPN をカ

ルキ臭の管理に用いることができる可能性が示された。

トリクロラミン濃度と TPN の関係図（図 5）では、調査 2 では、直線（トリクロラミン水溶液における関係）よりやや下にプロットが集まるが、調査 3 では直線付近にプロットされ、それより大きく上にあるものは確認できなかった。すなわち、TPN の中にトリクロラミン以外の含窒素化合物の存在は、今回の調査では確認できなかった。TPN 生成量が低いが臭気強度が高い臭気物質（直線より上にプロットされる）は、含窒素化合物以外の物質の可能性が示された。

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

#### 2.1 GC/O によるカルキ臭に大きく寄与する臭気の特特定

表 3 に、A~H 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。

## 2.2 カルキ臭に大きく寄与する臭気成分の同定

まず、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 (図なし)。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6に結果を示す。あるパネル (パネル#1) は、塩素処理試料にて臭気#17 を感知したものの (パネル#1, ●)、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 (△)。他のパネルについても、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。

次に、臭気#10 について、臭気の原因となる物質の推定を試みた。臭気#10 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、ベンズアルデヒドが候補物質として

挙げられた。そこで、ベンズアルデヒドの標準品を、GC/O と同じメソッドにて GC/MS に導入したところ、ベンズアルデヒド標準品のマススペクトルと GC 保持時間が、臭気#10 の当該ピークと一致した (図なし)。すなわち、臭気#10 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ベンズアルデヒド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#10 が、塩素処理試料中に存在するベンズアルデヒド由来であるか否かを判断するため、ベンズアルデヒド標準品を GC/O に供した。図7に結果を示す。パネル#1 は、2回の GC/O による官能試験のいずれにおいても、塩素処理試料から臭気#10 を感知した。一方、3段階に希釈したベンズアルデヒド標準品のうち、塩素処理試料の1/10程度の面積値 (すなわち濃度) になるように調整したものでは臭気を感知しなかったが、塩素処理試料と同程度になるように調整したものと、その10倍になるように調整したものからは臭気を感知しており、塩素処理試料との間の臭気感知に矛盾がなかった。パネル#1 以外のいずれもパネルも、塩素処理試料中の濃度より高い濃度で調整したベンズアルデヒド標準品の臭気を感知できており、臭気感知に矛盾がなかった。これらのことは、臭気#10 の原因物質がベンズアルデヒドであり、塩素処理試料中に存在する程度の濃度でベンズアルデヒドは臭気を発することを意味する。すなわち、塩素処理試料により生成されたベンズアルデヒドは、塩素処理試料の有するカルキ臭に寄与したと判断された。

## 3. 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3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検出されたため、これらの物質が臭気へ寄与している可能性が示唆された。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時間を確認する予定である。

#### 4. 含窒素化合物の塩素処理によるカルキ臭生成特性と生成物に関する検討

##### 4.1 カルキ臭生成特性

###### 4.1.1 カルキ臭生成能

図 9 に、各対象物質のカルキ臭生成能を示す。カルキ臭生成能の範囲は 20～400 TON であり、物質によって大きく異なった。アンモニアは主なカルキ臭前駆物質として知られているが、その臭気強度は 170 TON であった。アンモニアより臭気強度が高い物質として、8 物質（メチルアミン、エチルアミン、シクロヘキシルアミン、グアニジン、ピペラジン、3,5-ジメチルピラゾール、*N*-メチルピペリジン、*N,N*-ジメチルア

ニリン）が認められた。これらは第一～三級アミンであった。すなわち、グループによらず高い臭気を持つ物質があることが示された。

化学構造的に近い基本的な第一級、第二級、第三級アミンであるメチルアミン、エチルアミン、ジメチルアミノ、ジエチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミンについてカルキ臭生成能を比較した（図 10）。第一級アミンであるメチルアミン、エチルアミンはカルキ臭生成能（TON）が最も高く、第二級アミンであるジメチルアミン、ジエチルアミン及び第三級アミンであるトリメチルアミン、トリエチルアミンは臭気強度（TON）が 100 未満と比較的低かった。トリクロラミン生成能は 30  $\mu\text{g Cl}_2/\text{L}$  程度でほぼ変わらなかった。TPN は、15～25  $\mu\text{g N/L}$  と違いが認められたが、カルキ臭生成能との相関は無かった。以上の結果から、構造が比較的簡単かつ分子量が小さい第一級アルキルアミンの方が、第二級と第三級アミンよりも塩素との置換反応が容易に進み、カルキ臭に大きく寄与すると推測された。

##### 4.1.2 カルキ臭生成能、トリクロラミン生成能、TPN 生成能の関係

図 11 に対象物質のトリクロラミン生成能とカルキ臭生成能の関係を示す。図中、アンモニアと原点を結ぶ直線を赤線で引いた。これは、アンモニアに由来する主なカルキ臭原因物質がトリクロラミンで、このとき水道水を用いた実態調査で、TPN は臭気強度（TON）の指標として有効であったためである。

図より、直線付近と直線の大きく上にある 2 つのグループに分かれていることがわかる。直線付近にある物質は、トリクロラミンが主なカルキ臭原因物質であり、また、直線より上部にある物質については、トリ

クロラミン生成能が低くても臭気強度が高いことから、トリクロラミン以外の物質が主なカルキ臭原因物であると考えられた。直線の上部にプロットされる物質のうち、特に臭気強度 (TON) が高かった物質はメチルアミン、エチルアミン、シクロヘキシルアミン、グアニジン、ピペラジン、3,5-ジメチルピラゾール、*N*-メチルピペリジン、*N,N*-ジメチルアニリンの計 8 物質であった。また、直線より大きく下にはプロット点が存在していなかった。この結果よりトリクロラミン生成能が高いがカルキ臭生成能が低い物質が存在する可能性が低いと考えられた。

図 12 に対象物質の TPN とカルキ臭生成能の関係を示す。図 11 と同様に、アンモニアと原点を結ぶ直線を赤線で引いた。図より、対象物質は、直線付近、直線より上部、直線より下部に分類されることがわかる。図 11 の結果も考慮すると、直線付近の物質の場合、TPN の多くはトリクロラミンによるものと考えられた。直線の上部、および下部の物質については、TPN の値はそれぞれトリクロラミン以外の臭気を持つ揮発性窒素化合物による寄与、および臭気強度が低い揮発性窒素化合物による寄与が考えられた。TPN を臭気強度 (TON) の監視指標として用いる場合、直線の上にある物質が突発的に原水に混入した場合には、トリクロラミンから想定される TPN の増加以上に臭気強度 (TON) が増加するため、注意を要すると推察された。

## 4.2 アミン類の塩素処理生成物に関する検討

### 4.2.1 塩素処理および高濃度塩素処理試料の GC/MS による塩素処理生成物の構造推定

以下の解析では、アンモニウムイオンの塩素処理試料 (すなわちトリクロラミン)

やブランク試料では検出されないピークを各アミン類に由来する生成物と判断した。

メチルアミンを塩素処理した際のトータルイオンクロマトグラムを図 13 に示す。保持時間 0.6 分付近にメチルアミンに特異なピーク A が確認できる。このピーク A の質量電荷比の分布図と主要な質量電荷比における検出器のシグナル強度を図 14 にまとめる。マスペクトル解析から、ピーク A の生成物は DCMA であると推測した。また、還元後のクロマトグラムにおいてピーク A が確認できなかったため、ピーク A の生成物は還元性をもつ物質であることもわかった。

一級アミンであるエチルアミンについても同様に *N,N*-ジクロロ-*N*-エチルアミンが生成すると推定された。このピークも還元剤の添加により消失した。

一級アミンであるシクロヘキシルアミンを塩素処理した際のトータルイオンクロマトグラムでは、トリクロラミンのピークと異なるピークを確認することができなかった。このため、塩素処理前のシクロヘキシルアミンの濃度を 10 倍にし、GC/MS の設定最高温度を 60 °C から 200 °C へと引き上げ、再度クロマトグラムを確認した。このクロマトグラムから、保持時間 4.5 分付近と 4.8 分付近の 2 か所で特異なピークが 2 つ確認できた。後者のピークは *m/z* の構成から *N,N*-ジクロロ-シクロヘキシルアミンであると推測された。また、なお還元剤との接触によりこれら 2 つのピークは消失した。

二級アミンであるピペラジンを塩素処理した際のトータルイオンクロマトグラム上には保持時間 6 分付近で特異なピークが確認でき、*m/z*=98, 100 から、塩素原子の存在が示唆されるが構造の推定には至らなかった。なおこのピークも還元剤の添加

により消失した。

*N*-メチルピペリジンについては高濃度条件にて塩素処理を行った。得られたクロマトグラムから特異なピーク B と C を、還元剤を添加した場合のクロマトグラムから特異なピーク D をそれぞれ確認した。ピーク B はメチルアミンのピーク A と同様、保持時間 0.6 分付近で確認された。また、ピーク A, B の *m/z* の分布をそれぞれ比較すると、どちらも *m/z*=98, 99, 100, 101, 102, 103 が確認でき、それぞれのシグナル強度の比も類似している。また二つに共通して *m/z*=62, 63, 64 のピークを確認することができる。このことから、*N*-メチルピペリジンからも DCMA が生成していると考えられる。また、同じ生成物であれば生成物のピーク面積と内部標準溶液のピーク面積の比を考えることで生成量の比較をすることができる。メチルアミンと比較すると *N*-メチルピペリジンから生成される DCMA の生成量は約 8%であった。ピーク C は保持時間 3 分付近で確認できる。*m/z*=118 を確認することができたが、塩素の同位体を示唆するピークが確認できないため、塩素原子を含まない物質であると推測できるが、造推定には至らなかった。ピーク D は還元されないこととマススペクトルから、クロロホルムと推定された。

三級アミンである *N,N*-ジメチルアニリンを塩素処理した場合も、マススペクトルからメチルアミンや *N*-メチルピペリジンと同様にメチルジクロロアミンが生成していると判断された。メチルアミンと比較すると、*N,N*-ジメチルアニリンから生成される DCMA の生成量は約 15%であった。

3,5-ジメチルピラゾールについては濃度を 10 倍にして塩素処理を行った。得られたクロマトグラムから特異なピークを確認した。*m/z*=164, 166, 168 のシグナルが確認でき、これは 3,5-ジメチルピラゾールの

水素原子が二つの塩素原子に置換してできる物質の分子量と一致した。

以上の結果から、一級アミンであるメチルアミン、エチルアミン、シクロヘキシルアミンの主要生成物のうちの一つはそれぞれ、アミノ基の水素が塩素に置換したジクロロ体であると推測した。塩素処理を行った場合にトリクロロアミン濃度に比較して臭気強度が大きくなる物質から生成した生成物であること、窒素化合物であり、還元性があり、揮発性があることから、このジクロロ体はカルキ臭原因物質である可能性が高い。また、一級アミンであるメチルアミンだけでなく、三級アミンである *N*-メチルアミンおよび *N,N*-ジメチルアミンからもメチルジクロロアミンが生成していることが確認できた。なお、*N*-メチルピペリジン、*N,N*-ジメチルアニリン、3,5-ジメチルピラゾールから、クロロホルムと推測できる還元性のない生成物が生成していた。

#### 4.2.2 DPD 法による生成物の評価

DPD 法による結合塩素としての測定結果を表 4 に示す。左の遊離塩素濃度は DPD 吸光度法で求めたものであり、右の遊離塩素濃度は結合塩素濃度を求める際に算出したもので、単位はどちらも mg-Cl<sub>2</sub>/L である。メチルアミン、エチルアミン、シクロヘキシルアミン、ピペラジンにおいて、ジクロラミンとして検出される濃度が著しく大きいことがわかった。塩素処理実験、高濃度塩素処理実験、一級アミンであるメチルアミン、エチルアミン、シクロヘキシルアミンの三物質からジクロロ体が生成していると推測したが、もしこれらの推測が正しければ、一級アミンを塩素処理した試料のジクロラミン (NHCl<sub>2</sub>) 濃度が高いことが予想される。モル濃度換算するとメチルアミンから 11 μM、エチルアミンからは

7.5  $\mu\text{M}$ 、シクロヘキシルアミンからは 4.9  $\mu\text{M}$  のジクロロアミンが生成しており、各物質の初期濃度が 5  $\mu\text{M}$  であることを考えるとオーダーが一致しておりほとんどがジクロロ体に変化していると考えられる。以上よりメチルアミン、エチルアミン、シクロヘキシルアミンを塩素処理することで生成する生成物はジクロロ体であり、各物質のほとんどがジクロロ体へと変化していることから、カルキ臭の原因がこれらのジクロロ体である可能性が高い。

## 5. 二段階塩素処理によるカルキ臭の低減効果

### 5.1 含窒素化合物由来のカルキ臭に対する二段階塩素処理の低減効果

#### 5.1.1 二段階塩素処理によるカルキ臭低減効果

図 15 に、二段階塩素処理によるアンモニア由来の TON、TPN、トリクロロアミンの低減効果を示す。「BP+0.1」では、一段階塩素処理よりトリクロロアミン生成能は低下し、二段階塩素処理による低減効果が認められた。これは、トリクロロアミンの中間体となるジクロロアミン ( $\text{NHCl}_2$ ) が加水分解されたためと考えられる。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トリクロロアミン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、ジクロロアミンの加水分解よりも、トリクロロアミンへの生成反応が進んだためと考えられた。

図 16 に、二段階塩素処理による 3 種のアミン類由来の TON、TPN、トリクロロアミンの低減効果を示す。図 15 の結果を踏まえて、「BP+0.1」と一段階塩素処理を比較した。トリクロロアミンは、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。アミン類からトリクロロアミンが生成する場合、*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 ではトリクロロアミン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、プロリンはトリクロロアミン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、トリクロロアミン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、トリクロロアミン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。

#### 5.1.2 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 17 にアンモニアの一段階塩素処理による TON、TPN、トリクロロアミンへの  $\text{Br}^-$  の共存影響を示す。 $\text{Br}^-$  濃度の増加にともなって、トリクロロアミン濃度は低下した。一方、TON は  $\text{Br}^-$  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  $\text{Br}^-$  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、 $\text{Br}^-$  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 18 にアミン類の一段階塩素処理による TON、TPN、トリクロロアミンへの  $\text{Br}^-$  の共存影響を示す。 $\text{Br}^-$  濃度は 100  $\mu\text{g/L}$  とした。いずれの物質の場合も、 $\text{Br}^-$  の共存により、トリクロロアミン濃度は低下した。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、トリクロラミン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 19 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、トリクロラミンの低減効果を示す。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、 $\text{NCl}_3$ 、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。

## 5.2 二段階塩素処理によるアミン類の塩素処理生成物の制御

アンモニア、メチルアミン、エチルアミン、ピペラジン、*N,N*-ジメチルアニリンの 5 物質を対象に、通常の塩素処理をした場合と、二段階塩素処理をした場合のトリクロラミンおよび各生成物の生成量の変化についてまとめたものを表 5 に示す。メチルアミンを塩素処理した際に生成したトリクロラミン生成量を基準を 100 として、各トリクロラミン生成量を計算している。アンモニア、メチルアミン、エチルアミン、ピペラジン、*N,N*-ジメチルアニリンそれぞれから生成したトリクロラミンに対して、二段階塩素処理による減少効果が有効であり対象化合物によらずトリクロラミンに対して有効であることが確認できた。一方、4.2.1 で述べた DCMA 等ジクロロ体には効果がない場合が多かった。

## 6. 原水中に含まれるアミン類の GC/MS 法による測定

### 6.1 分析条件の確認

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った。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った。

*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 20 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。

## 6.2 原水・浄水に含まれるアミン類の GC/MS 法による測定

### 6.2.1 GC/MS によるアミン類の測定結果

千葉県企業局の各浄水場の浄水（ちば野菊の里浄水場、栗山浄水場、柏井浄水場西側、柏井浄水場東側、北総浄水場、福増浄水場の 6 浄水）を対象に、2021 年 12 月 ~ 2022 年 3 月までの間に 4 回アミン類を測定したところ、メチルアミン、エチルアミン・ジメチルアミンについて各浄水から検出された。測定結果の平均を表 6 に示す。

いずれの浄水からも、メチルアミンと、ジメチルアミン・エチルアミンが定量下限値以上の濃度にて検出された。しかしながら、アミン類は塩素との反応性が高いことから、塩素処理後の浄水にこれらのアミン類が存在するとは考えにくい。これらのアミン類が浄水中で検出された理由として、以下の 2 つの可能性を想像している。(1) こ



これらのアミン類は、塩素処理により塩素が付加された塩素化アミン類へと変換されたが、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換され、その変換されたアミン類が誘導体化され、GC/MS 測定にて検出された。(2) 誘導体化の工程で、塩素化アミン類も、元アミン類と同様に誘導体化され、GC/MS 測定にて検出された。いずれにしても、これらのアミン類が浄水中に存在するのではなく、塩素化アミン類へと変換された形で存在していると考えている。

各浄水場の浄水は、水源が異なることや、処理方法が異なることから、少なくとも千葉県企業局においては、浄水中に塩素化アミン類が普遍的に存在していると考えられ、その前駆体であるアミン類が原水中に存在していると想像された。小坂ら(2021)の報告に基づき、これらのアミン類由来の臭気強度(塩素処理後の臭気生成ポテンシャル)を算定すると、メチルアミン(全データ平均で0.7 µg/L)が1.5、エチルアミン・ジメチルアミン(全データ平均で2.0 µg/L)はエチルアミンとすると3.6、ジメチルアミンとすると0.2と計算された。すなわち、これらのアミン類は存在するものの、浄水臭気への寄与は限定的であると判断された。

同様に、各アミン類濃度を臭気強度が等価になるアンモニア濃度として換算すると、メチルアミンが1.4 µg/L、エチルアミン・ジメチルアミンはエチルアミンとすると4.7 µg/L、ジメチルアミンとすると0.3 µg/Lとなった。千葉県企業局の原水中のアンモニア濃度(2020年度平均)は、江戸川で50 µg/L、利根川で80 µg/L、印旛沼で60 µg/L、高滝ダムで70 µg/Lであることから、アミン類の浄水臭気強度への寄与はアンモニアに比べると低いと考えられた。

## 7. 臭気物質の浄水処理性に関する調査

### 7.1 フェノール類

粉末活性炭処理の結果を図21に、高度浄水処理の結果を図22に示す。フェノール、クロロフェノール及びブロモフェノールのいずれにおいても、粉末活性炭、高度浄水処理共に処理性は良好であった。粉末活性炭処理では注入率25 mg/Lでどの物質も、概ね100%除去された。また、フェノールよりもクロロフェノール、ブロモフェノールの方が若干除去性が高い傾向があった。高度浄水処理では、全ての物質がオゾン処理で100%除去された。

#### 7.2.1 級アミン(シクロヘキシルアミン)

粉末活性炭処理の結果を図23、高度浄水処理の結果を図24に示す。臭気前駆物質であるシクロヘキシルアミンは粉末活性炭処理では殆ど除去できなかった。一方、高度浄水処理でもオゾン処理では殆ど除去されなかったが、新炭及び経年炭では7割以上除去された。臭気物質である*N,N*-ジクロロシクロヘキシルアミンは前駆物質よりも処理性が良く、粉末活性炭処理では注入率25 mg/Lで100%除去された。また、高度浄水処理においても、オゾン処理で100%除去された。*N,N*-ジクロロシクロヘキシルアミンは1~5 µg/L程度でも臭気を感じるため、水源水質事故の際、原水のシクロヘキシルアミン濃度が10 µg/L以上となった場合は、高度浄水処理を行う場合でも、前塩素注入により*N,N*-ジクロロシクロヘキシルアミンへ変換し、処理を行う方が効果的と考えられた。

#### 7.3 その他(トリハロゲン化アニソール類)

トリクロロアニソール及びトリクロロアニソールは食品科学分野においては代表的なかび臭原因物質であり、木材の防腐剤等で使用される2,4,6-トリクロロフェノ

ールや 2,4,6-トリブロモフェノールにかび等の微生物が作用することで生成する。これらは塩素処理により生成する物質ではないが、今回、併せて調査を実施した。結果を図 25 及び図 26 に示す。トリクロロアニソールの処理性は良好で、粉末活性炭処理では注入率 5 mg/L でほぼ 100%除去可能であった。また、高度浄水処理ではオゾン処理では 5 割程度しか除去できなかったが、新炭及び経年炭処理後は水温に関わらずほぼ 100%除去された。

## 8. 臭気検査法についてのアンケートとカルキ臭についての文献調査

### 8.1 臭気および臭気強度の検査方法に関するアンケート結果

#### 8.1.1 臭気の検査方法 (表 7~9)

調査により、無臭味水として、多くの事業体は市販の超純水製造装置を用いているが、一部の事業体では活性炭カラムを作成し、通水後の水を用いていた。加温温度は、加温温度範囲において、固定の温度を設定しておらず、個々の検査員に任せているところが 40%弱であった。また、臭気の異常は残留塩素を消去せずに行っているところが多く、普段と異なっているかで判断していると考えられた。また、残留塩素の消去の有無で比較しているところや異常があると考えられた際に残留塩素を消去しているところもあった。

#### 8.1.2 臭気強度 (TON) の検査方法について (表 10~12)

臭気強度については、加温温度は臭気の評価と同じであった。その強度は、塩素臭以外を対象としているが、残留塩素を消去してから評価しているところと、消去せずに評価しているところがあった。後者の場合、検査員の経験により塩素臭以外の臭気強度を評価していた。また、消去している

ときとしていないときがある場合は、塩素臭の強度による場合と、普段と異なる臭気があった場合のみ残留塩素を消去している場合があった。

残留塩素は、ほとんどの場合、アスコルビン酸ナトリウムで消去していたが、亜硫酸ナトリウムを用いているところもあった。

## 8.2 カルキ臭の対応集

前項で示したように、臭気に係る検査方法、特に臭気強度はほとんどの場合、残留塩素を消去して評価されている。すなわち、残留塩素消去剤で消去される臭気は対象外となっていることがわかる。このことから、カルキ臭原因物質は、残留塩素消去剤によって消去されるかどうかで分類することは重要な要素であると言える（さらに、どの残留塩素消去剤で消去されるかについても注意を要する）。なお、上記のクロロフェノール類、アルデヒド類、ハロアセトニトリル類は、主要な残留塩素消去剤である、アスコルビン酸ナトリウムの添加により分解されないことは知られている。

文献調査により、一部のカルキ臭原因物質は質量分析計、比色法等により分析可能であり、また、TPN といった総合指標も提案されていることがわかった。また、カルキ臭原因物質やカルキ臭前駆物質の低減策として、活性炭処理、オゾン処理、紫外線処理、イオン交換処理が検討され、原因物質と前駆物質の両方に有効な場合、一方に有効な場合があった。一部のカルキ臭原因物質は、塩素処理条件の変更によっても低減可能であった。

## D. 結論

1. TPN を精度良く定量する手法を構築した。その手法を用いて、新潟市の 2

つの浄水場にて TPN と臭気強度の関係を調べたところ、TPN が低い場合は、臭気強度が 70 を超えるような高い臭気が観察されることはなく、TPN をカルキ臭の管理に用いることができる可能性が示された。

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がベンズアルデヒドである可能性が高いと推察された。
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、トリオキサシヤンやベンズアルデヒドが確認された。
4. 30 種の対象物質のカルキ臭生成能は 20~400 TON で物質によって異なった。対象とした窒素化合物全体のカルキ臭生成特性は、分類したグループ以外に支配する因子があると考えられたが、アルキルアミンについては、第一級アミンが第二、三級アミンより臭気 (TON) 生成能が高いことがわかった。トリクロラミン生成能とカルキ臭生成能の関係を見たところ、対象物質の多くは、トリクロラミンが主なカルキ臭原因物質であるが、8 物質については、トリクロラミン以外の物質が主なカルキ臭原因物質であると考えられた。TPN とカルキ臭生成能の関係から、多くの物質の場合、TPN に寄与する主な物質はトリクロラミンであるが、一部の物質については、臭気強度の強い含窒素化合物、臭気強度の低い含窒素化合物が TPN に寄与していることが

示された。一級アミンであるメチルアミン、エチルアミン、シクロヘキシルアミンのほとんどがジクロロ体へと変化していることがわかった。物質のほとんどがジクロロ体へと変化していることから、これらのジクロロ体がカルキ臭原因物質である可能性が高い。三級アミンである *N*-メチルピペリジンと *N,N*-ジメチルアニリンそれぞれを塩素処理した生成物から、DCMA とみられる物質の生成を確認した。生成量はメチルアミンに比較して少ないものの、三級アミンからジクロロ体の生成を確認できたことは、三級アミンと塩素の反応経路を解明するための手がかりになると期待される。

5. アンモニアを対象とした場合、二段階塩素処理により、トリクロラミン、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トリクロラミン、TON の低減効果は認められなかった。Br<sup>-</sup>が共存する場合、アンモニア、3 種のアミン類のいずれもトリクロラミンの生成は低下した。Br<sup>-</sup>濃度が 100 µg/L の場合、TON は Br<sup>-</sup>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合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<sup>-</sup>濃度が 200 µg/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<sup>-</sup>濃度が 100、200 µg/L のいずれでも、Br<sup>-</sup>共存下における二段階塩素処理による TON、トリクロラミンの低減効果は示された。また、今回対象とした窒素化合物については、トリクロラミン生成量の低減に対して二段階塩素処理が

有効であることが確認できた。また、メチルアミン、エチルアミン、*N,N*-ジメチルアニリンそれぞれを塩素処理した際に生成されるジクロロ体の生成量の低減に対しては、二段階塩素処理の効果が小さいことがわかった。

6. 千葉県企業局の各浄水場浄水に含まれるアミン類を誘導體化 GC/MS 法により分析したところ、メチルアミン、エチルアミン・ジメチルアミンが検出された。検出されたアミン類は、水源、処理方法によらず各浄水場の浄水から検出されたことから、千葉県企業局においては浄水中にアミン類が普遍的に存在していると考えられた。これらのアミン類由来の臭気強度を推定したところ、メチルアミンは 1.5 程度であり、エチルアミン・ジメチルアミンは、臭気強度への寄与がエチルアミンであれば 3.6、ジメチルアミンであれば 0.2 であると見積もられ、浄水臭気への寄与は限定的であると判断された。
7. 臭気物質の浄水処理性を室内実験で調べたところ、フェノール類とトリハロゲン化アニソール類は、オゾン-活性炭処理によりほぼ完全な除去が期待できたのに対し、臭気前駆物質であるシクロヘキシルアミンは 70%~程度の除去に留まった。一方、シクロヘキシルアミンから塩素との反応で生成される臭気物質である *N,N*-ジクロロシクロヘキシルアミンは、粉末活性炭、あるいはオゾン処理でほぼ完全に除去できた。よって、水源水質事故により、原水のシクロヘキシルアミン濃度が高くなった場合には、高度浄水処理を行う場合でも、前塩素注入により *N,N*-ジクロロシクロヘキシルアミンへ変換し、処理を行うことが効果的であ

ると考えられた。

8. アンケート調査により、水道事業者では、臭気と臭気強度のいずれも塩素臭以外の臭気を対象としていたが、臭気の場合は残留塩素を消去せずに、臭気強度の場合は消去していると事業者と消去していない事業者があった。臭気強度について、残留塩素を消去していない事業者では、臭気の場合と同様に検査員の経験を基に評価が行われていた。一方、残留塩素を消去している事業者では、臭気強度の評価に際し、塩素臭の影響は無いと考えられるが、塩素処理によって生成した臭気のうち、用いた還元剤によって消失されない臭気があった場合には臭気強度に含まれていると推察された。また、文献調査により、カルキ臭原因物質の分析法やその低減策について整理できた。

## E. 参考文献

- Matsushita, T., Sakuma, M., Tazawa, S., Hatase, T., Shirasaki, N. and Matsui, Y. (2017) Use of gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry and a conventional flask test to identify off-flavor compounds generated from phenylalanine during chlorination of drinking water, *Water Research*, **125**, 332–340.
- Zhang, H., Ren, S., Yu, J. and Yang, M. (2012) Occurrence of selected aliphatic amines in source water of major cities in China, *Journal of Environmental Science*, **24**(11), 1885–1890.
- 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.  
小坂浩司, 施昊, 松本創, 越後信哉, 伊藤禎彦 (2021) 塩素処理による含窒素化合物由来のカルキ臭生成特性, *土木学会論文集 G (環境)*, **77** (7), III\_261–III\_268.  
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.

## F. 健康危機情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) 小坂浩司, 施昊, 松本創, 越後信哉, 伊藤禎彦 (2021) 塩素処理による含窒素化合物由来のカルキ臭生成特性, *土木学会論文集 G (環境)*, **58**, III\_261–III\_268.

## 2. 学会発表

- 1) 施昊, 松本創, 川口佳彦, 小坂浩司, 越後信哉, 伊藤禎彦 (2019) 窒素化合物のカルキ臭生成特性および臭化物イオンの共存影響の調査, 令和元年度全国会議 (水道研究発表会) 講演集, 842–843.
- 2) 小坂浩司, 施昊, 松本創, 川口佳彦, 越後信哉, 伊藤禎彦 (2019) 窒素化合物由来のカルキ臭原因物質の生成特性, *環境衛生工学研究*, **33**(3), 97–99.
- 3) 林寛之, 池永健太郎, 松下拓, 松井佳彦, 白崎伸隆 (2020) GC-O を用いたカルキ臭原因物質の分離・回収と Orbitrap 質量分析計を用いた構造推定, 第 54 回日本水環境学会年会, 年会優秀発表特別賞 (クリタ特別賞).
- 4) 池永健太郎, 松下拓, 松井佳彦, 白崎伸隆 (2021) GC-MS-O を用いた浄水カルキ臭原因物質の推定, 第 55 回日本水環境学会年会.

## 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

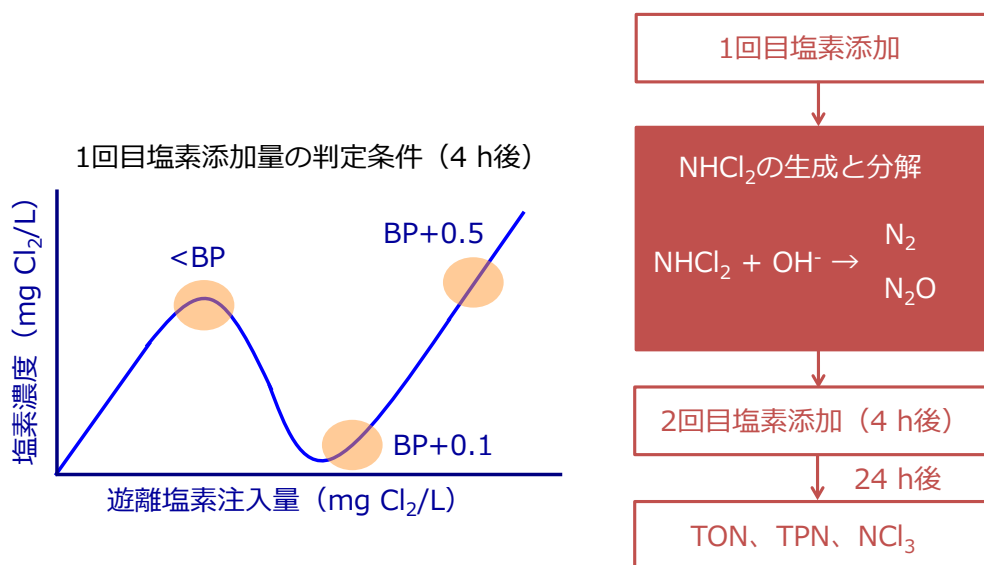


図 1. 二段階塩素処理の概念図

表 1. 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

表 2. 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
- ※ 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いため、昨年度と同様に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）として評価した。

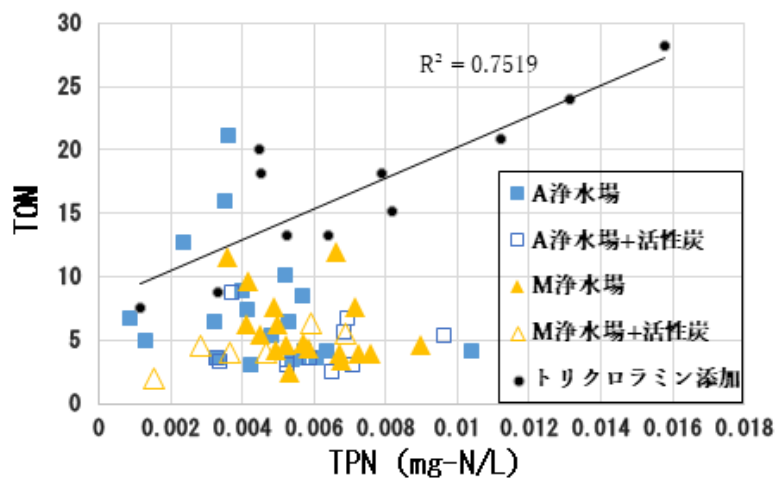


図 2.A 配水における TPN と臭気強度 (TON) の関係 (調査 1)

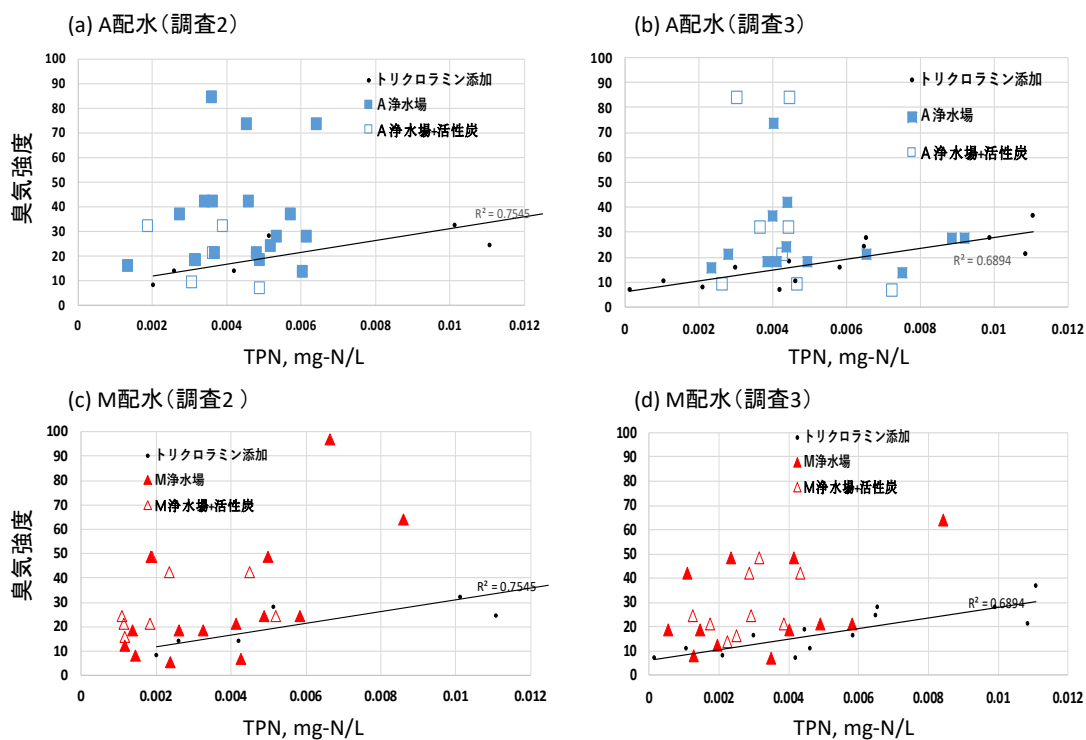


図 3. TPN と臭気強度の関係

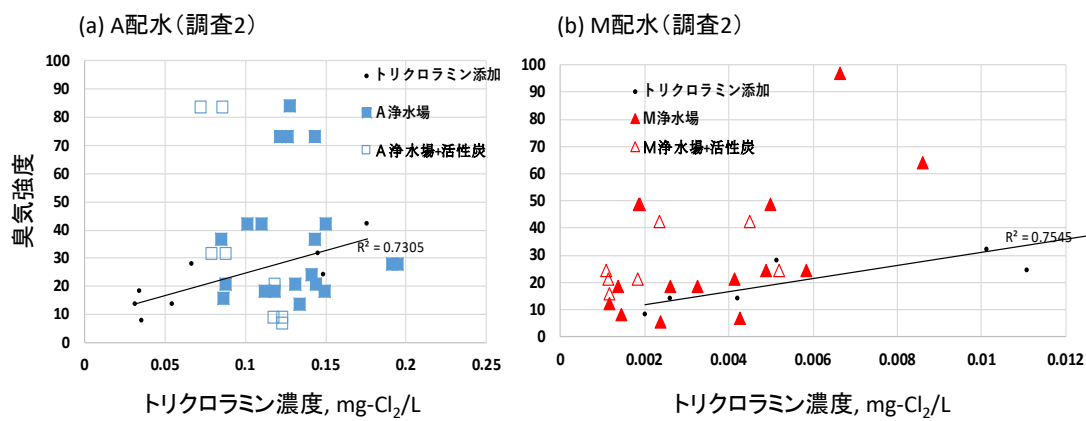


図 4. トリクロロミン濃度と臭気強度の関係



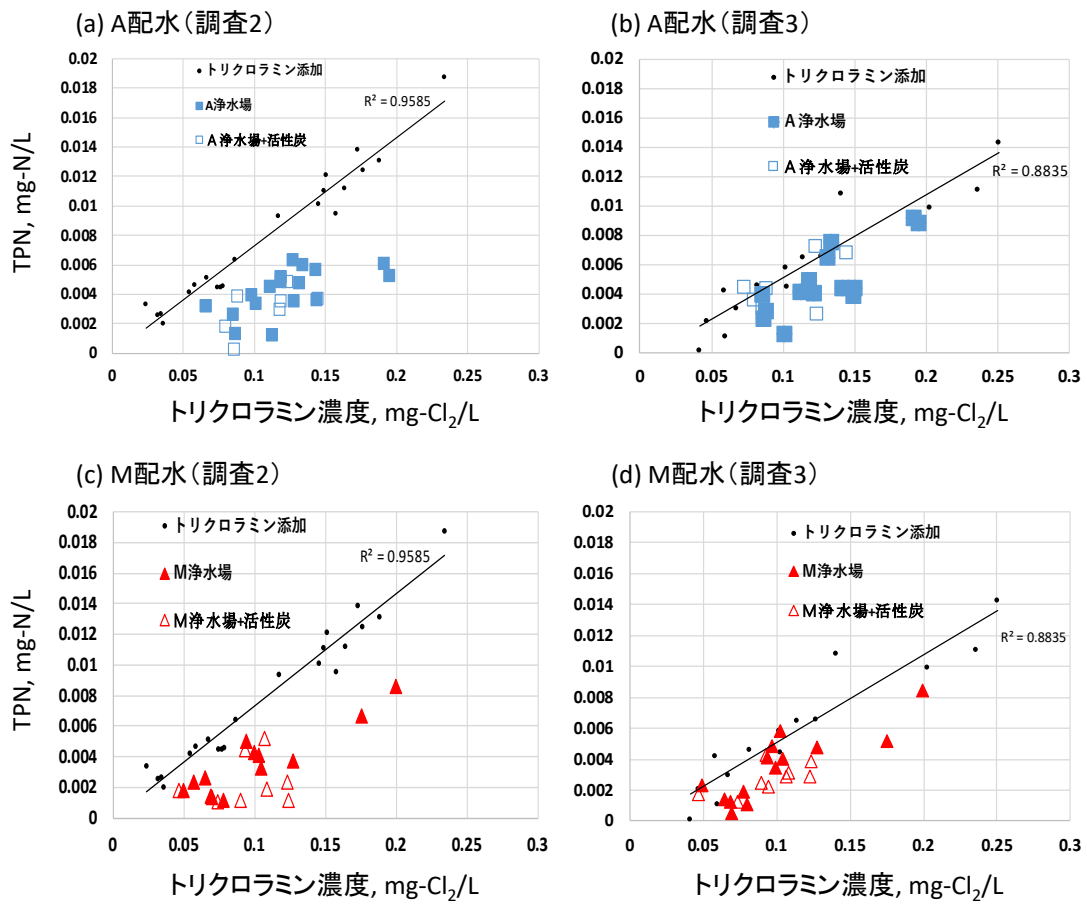


図5. トリクロロミン濃度と臭気強度の関係

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	B	C	D	E	F	G	H	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

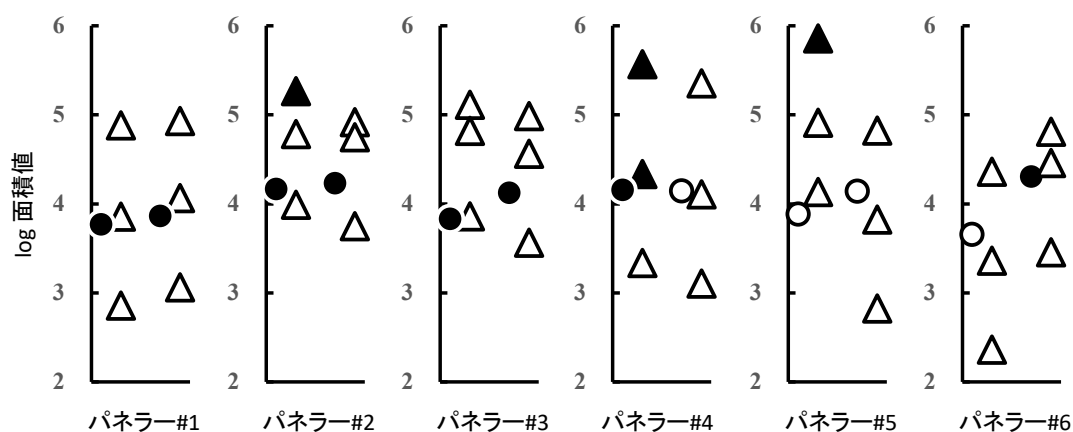


図 6. 臭気#17 (GC 保持時間 13.2~13.3 min) とデカナール標準品との臭気感知の比較 塩素処理試料 臭気感知あり● なし○, 標準品 臭気感知あり▲ なし△

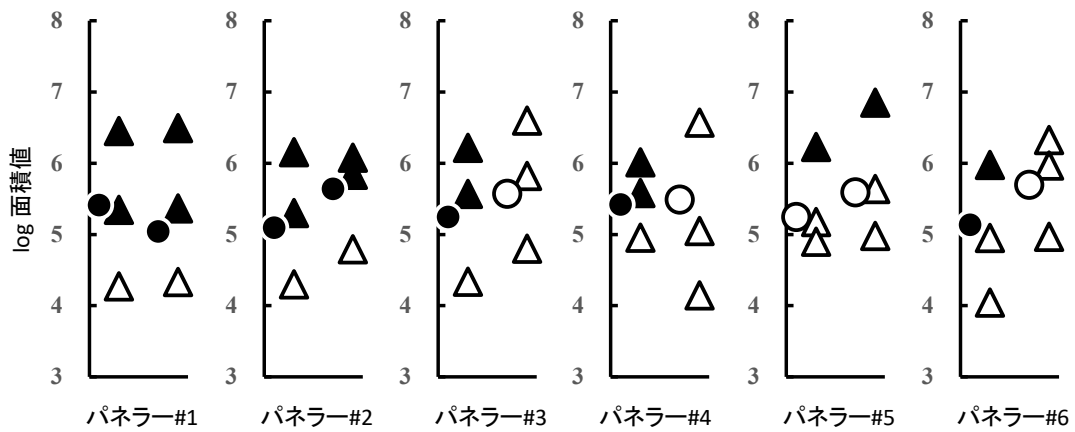


図 7. 臭気#10 (GC 保持時間 9.2~9.5 min) とベンズアルデヒド標準品との臭気感知の比較  
 塩素処理試料 臭気感知あり● なし○, 標準品 臭気感知あり▲ なし△

表 3. 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

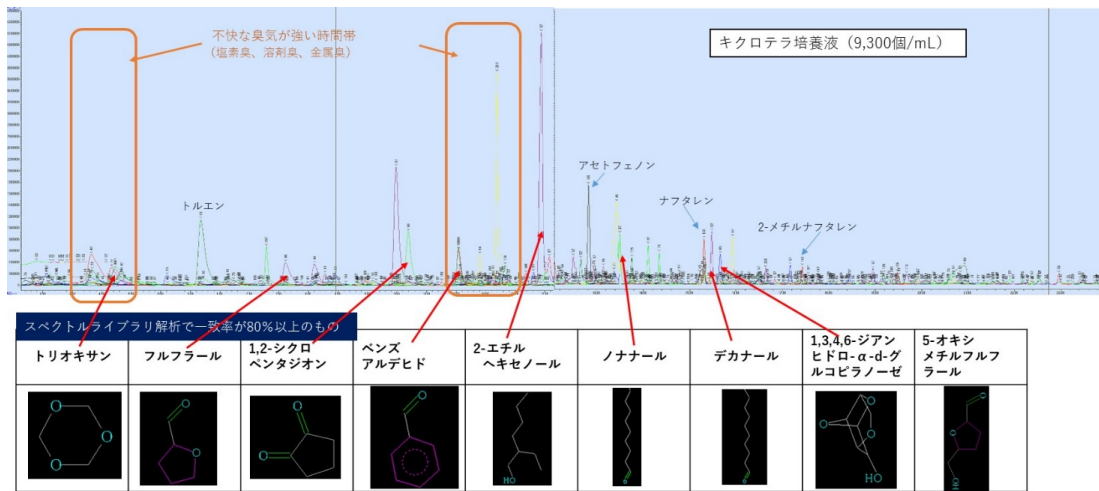


図 8. 珪藻類 (キクロテラ) 培養液のにおい嗅ぎ-GC/MS による測定結果 (次亜塩素酸ナトリウム添加した検体)

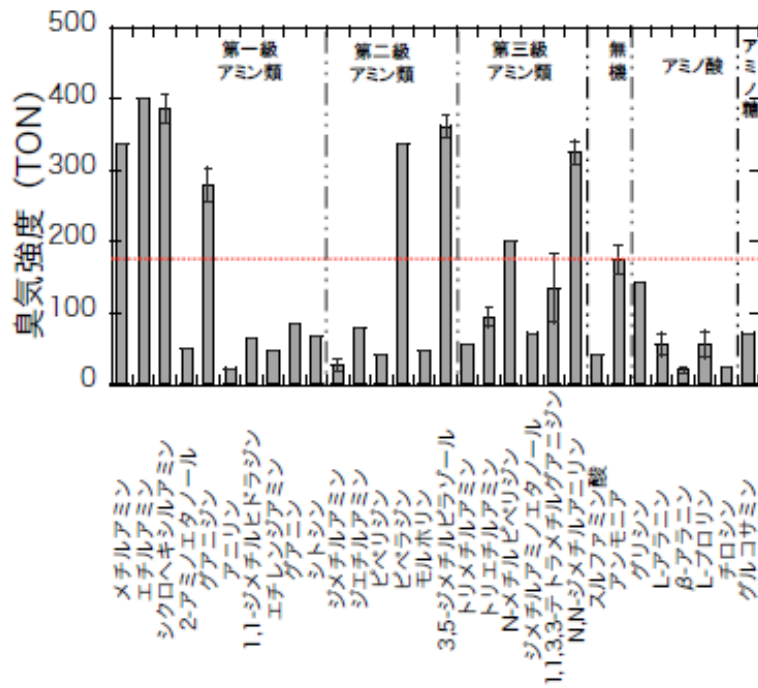


図 9. 対象物質のカルキ臭生成能 (赤線: アンモニアのカルキ臭生成能)

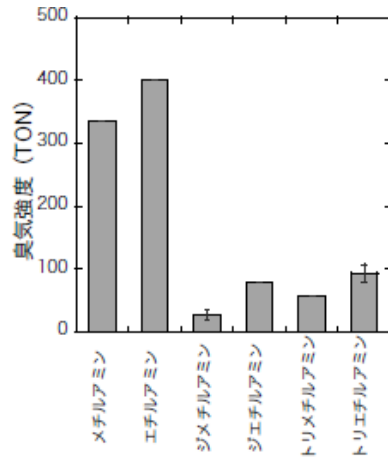


図 10. 第一級、第二級、第三級アルキルアミンのカルキ臭生成能の比較

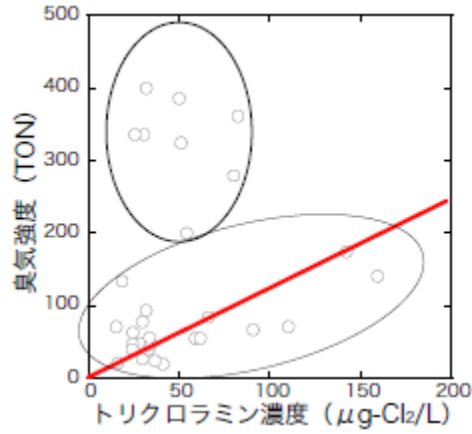


図 11. 対象物質のトリクロラミン生成能とカルキ臭生成能の関係 (赤線: アンモニアにおける関係式)

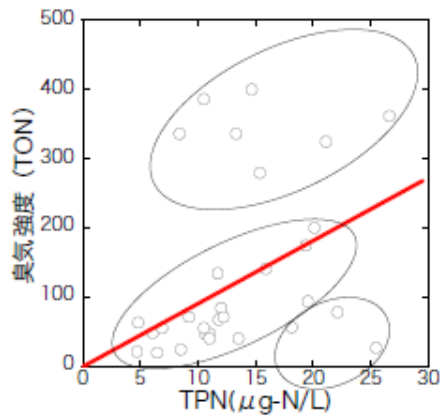


図 12. 対象物質の TPN とカルキ臭生成能の関係 (赤線: アンモニアにおける関係式)

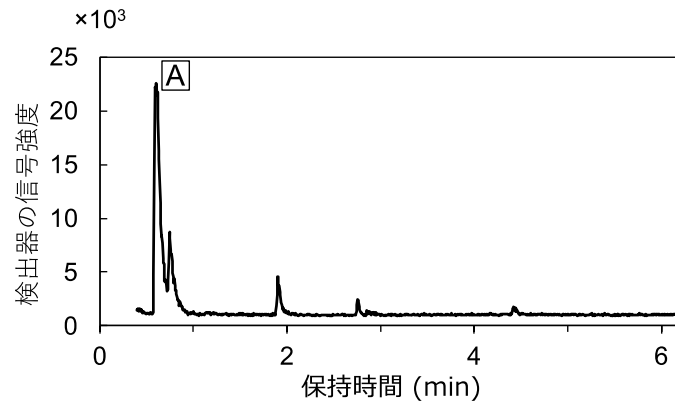


図 13. メチルアミンの塩素処理生成物トータルイオンクロマトグラム

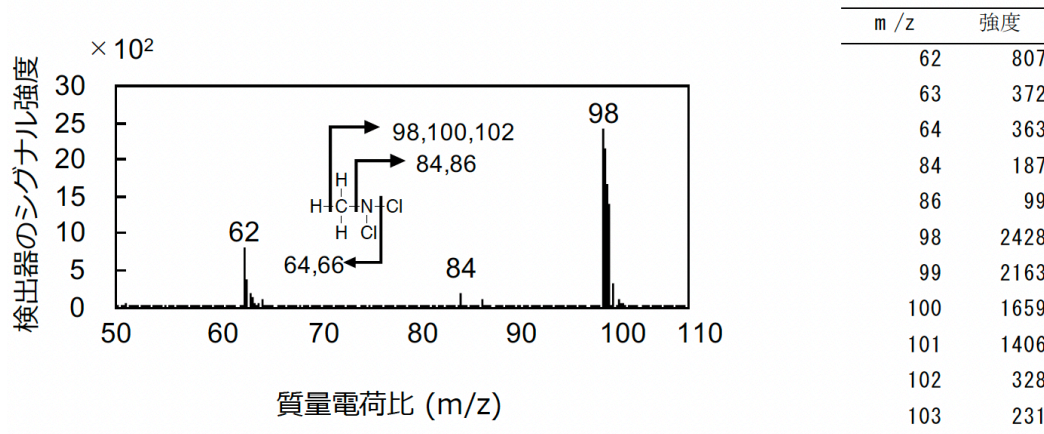


図 14. ピーク A のマススペクトルと主要な質量電荷比におけるシグナル強度

表 4. 反応後の結合塩素濃度

	遊離塩素	遊離塩素	モノクロラミン	ジクロラミン	
	吸光(mg-Cl <sub>2</sub> /L)	滴定(mg-Cl <sub>2</sub> /L)	滴定(mg-Cl <sub>2</sub> /L)	滴定(mg-Cl <sub>2</sub> /L)	
アンモニウムイオン		1.1	0.96	0.03	0.12
メチルアミン		0.9	0.81	0.05	0.75
エチルアミン		0.9	0.76	0.03	0.53
シクロヘキシルアミン		1.0	0.88	0.03	0.35
ピペラジン		1.1	0.94	0.13	0.84
グアニジン		1.1	0.95	0.02	0.09
N-メチルピペラジン		1.2	1.11	0.12	0.04
N,N-ジメチルアニリン		1.1	1.13	0.09	0.16
3,5-ジメチルピラゾール		1.1	1.15	0.26	0.06

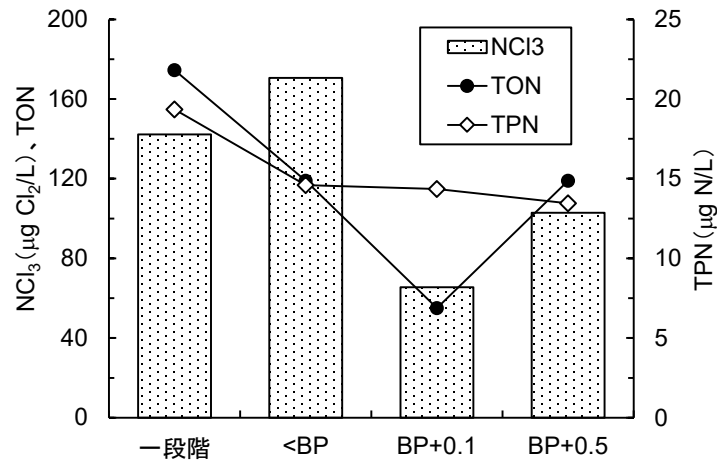


図 15. 段階塩素処理によるアンモニアの NCl<sub>3</sub> 生成能、カルキ臭生成能、TPN 生成能の抑制効果

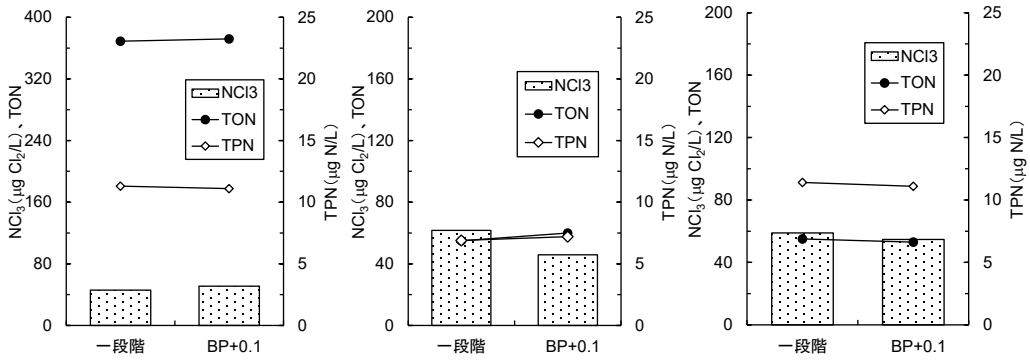


図 16. 二段階塩素処理による対象物質の NCl<sub>3</sub> 生成能、カルキ臭生成能、TPN 生成能の抑制効果 (左: シクロヘキシルアミン、中: アラニン、右: プロリン)

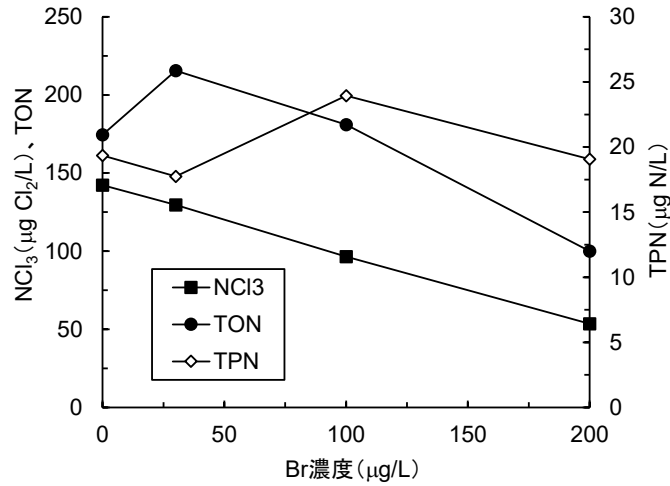


図 17. アンモニアのトリクロロアミン生成能、カルキ臭生成能、TPN 生成能への Br の共存 (100 μg/L) 影響

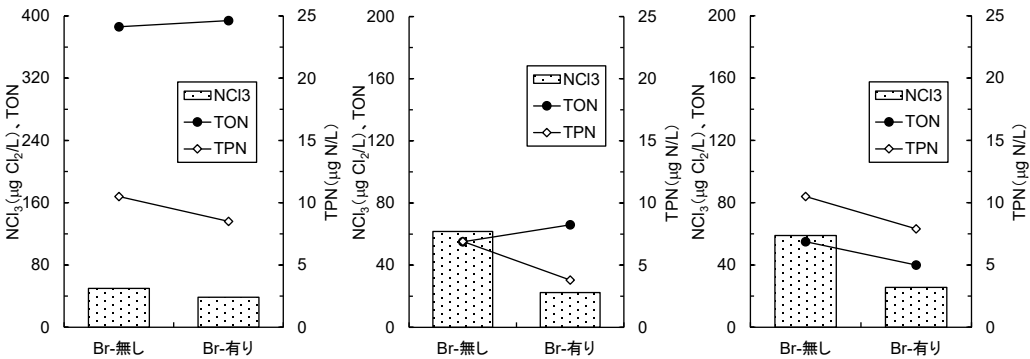


図 18. 対象物質のトリクロロアミン生成能、カルキ臭生成能、TPN 生成能への Br の共存 (100 μg/L) 影響 (左: シクロヘキシルアミン、中: アラニン、右: プロリン)



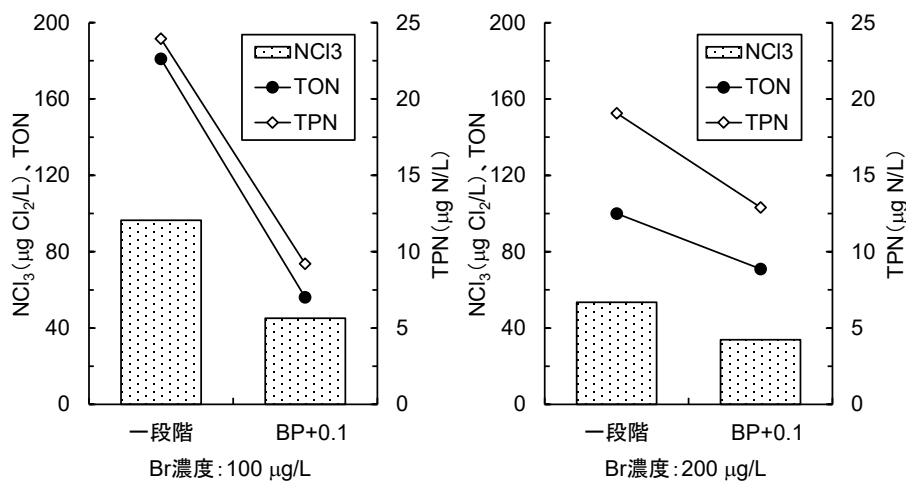


図 19. Br 共存下（左：100 µg/L、右：200 µg/L）での二段階塩素処理によるアンモニアのトリクロロミン生成能、カルキ臭生成能、TPN 生成能の抑制効果

表 5. 二段階塩素処理によるアミン類の塩素処理生成物の変化

		NCl <sub>3</sub> 生成量 (m/z=51 ± 0.4)	
アンモニア	通常塩素処理	100	
	2段階塩素処理	51.4	
(m/z=98 ± 0.4)生成量			
メチルアミン	通常塩素処理	70.3	100
	2段階塩素処理	9.6	98.5
(m/z=51 ± 0.4)生成量			
エチルアミン	通常塩素処理	59.0	100
	2段階塩素処理	2.2	79.9
(m/z=98 ± 0.4)生成量			
ピペラジン	通常塩素処理	55.0	100
	2段階塩素処理	12.4	46.4
(m/z=98 ± 0.4)生成量			
N,N-ジメチルアニリン	通常塩素処理	10.4	100
	2段階塩素処理	0	89.8

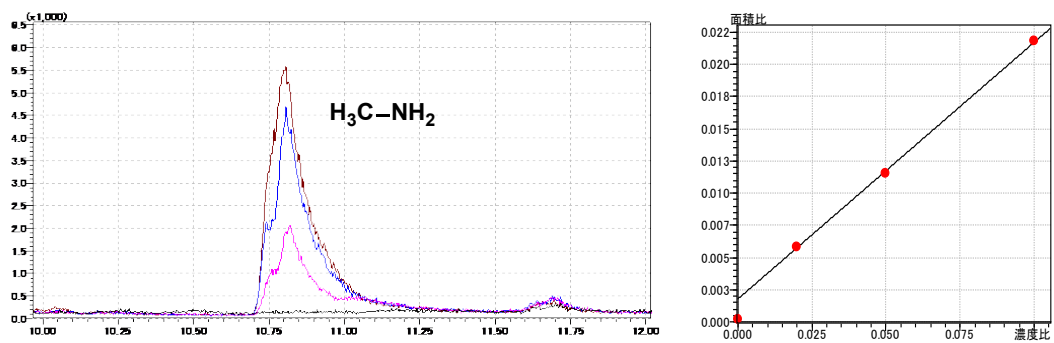


図 20. メチルアミン標準液のクロマトグラムと検量線 (0.0, 0.2, 0.5, 1.0  $\mu\text{g/L}$  のクロマトグラムを重ねた)

表 6. 各浄水場の水源・処理方法と浄水中アミン類の検出状況

単位  $\mu\text{g/L}$

	野菊	栗山	柏井東側	柏井西側	北総	福増
水源	江戸川		印旛沼	利根川		高滝ダム
処理法	高度	通常	高度	通常	通常	高度
メチルアミン	0.7	0.9	0.7	0.8	0.9	0.4
エチルアミン・ジメチルアミン	2.5	2	1.6	2.1	2.3	1.6

※ 記載のないアミン類はいずれも定量下限値 (0.2  $\mu\text{g/L}$ ) 未満

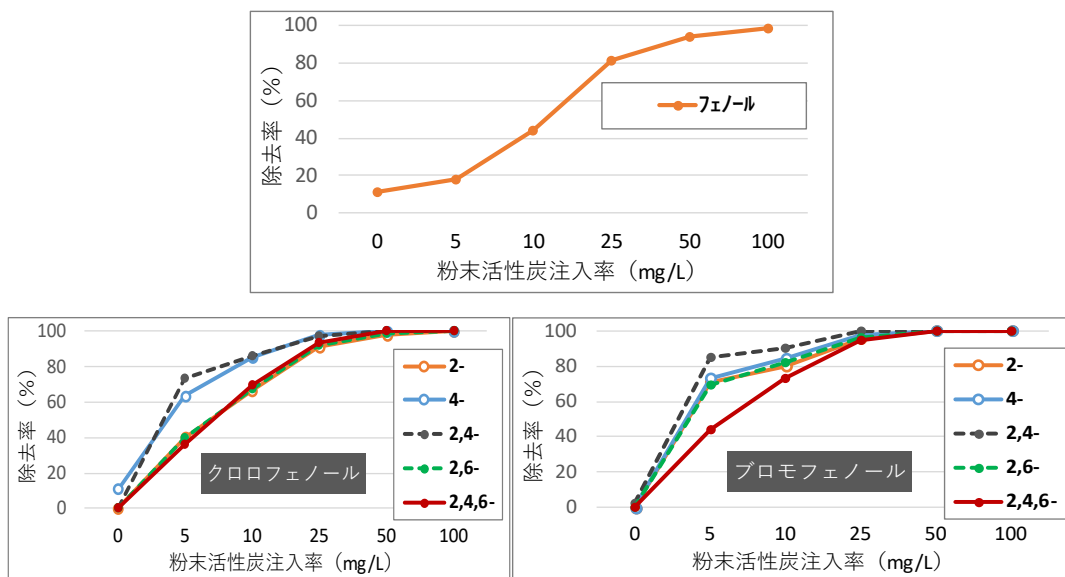


図 21. 粉末活性炭処理によるフェノール類の除去率

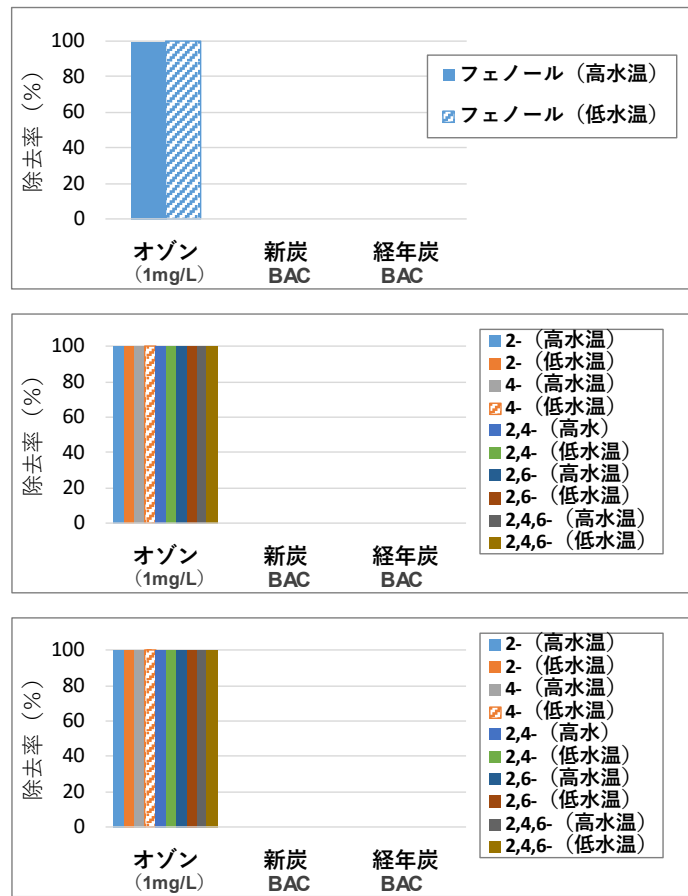


図 22. 高度浄水処理によるフェノール類の除去率（なお、いずれの物質もオゾン処理で完全に除去されたため、BAC 処理での除去率は評価できなかった）

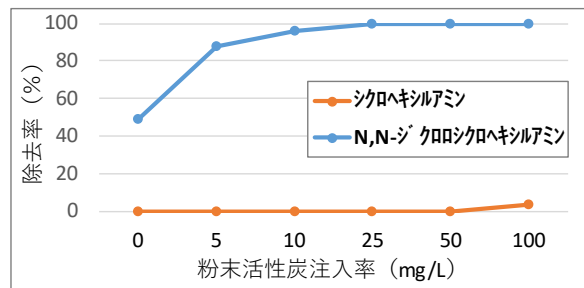


図 23. 粉末活性炭処理による 1 級アミン類の除去率

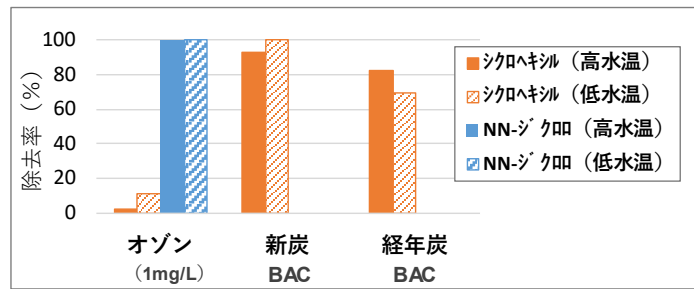


図 24. 高度浄水処理による 1 級アミン類の除去率

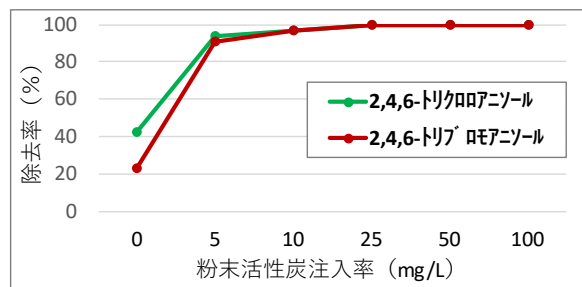


図 25. 粉末活性炭処理によるトリハロゲン化アニソール類の除去率

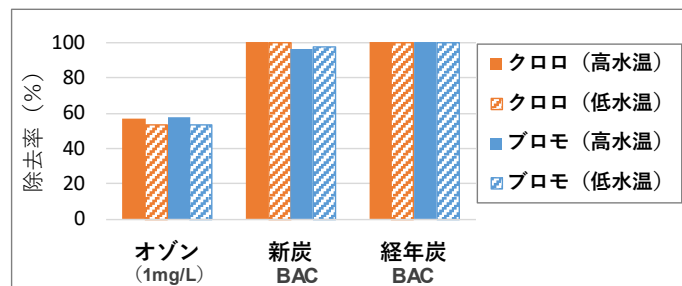


図 26. 高度浄水処理によるトリハロゲン化アニソール類の除去率

表 7. 臭気の検査で無臭味水として、何を用いていますか

超純水	11
超純水+活性炭	3
超純水+沸騰・冷却	1
水道水+活性炭カラム (浄水器含)	4

表 8. 臭気の検査での加温温度は何度ですか

40～50 °C	7
45 °C	5
47 °C	1
48 °C	1
50 °C	5

表 9. 臭気の検査で塩素臭以外の臭気を、どのように判別して評価していますか

経験（残塩消去剤添加比較無し）	10
経験（残塩消去剤添加比較有り）	5
経験（必要に応じて残塩消去剤添加比較有り）	4

表 10. 臭気強度の検査で残留塩素は消去していますか

常にしている	10
している場合としていない場合がある	4
していない	5

表 11. 臭気強度の検査で残留塩素を常に消去している場合、残留塩素の消去剤は何を用いていますか

アスコルビン酸ナトリウム	13
残塩 1 mg に対して 0.01～0.02 g	5
100～200 mg/L	2
20～50 mg/L	2
数 mg/L	3
数かけら/100 mL	1
亜硫酸ナトリウム	1
100～200 mg/L	1

表 12. 臭気強度の検査で残留塩素を消去する場合としない場合があるとき、その判断は、どのように行っていますか

カルキ臭の強弱	2
カルキ臭以外の臭気の有無	1
検査員の経験	1



令和1～3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	小野 敦	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・客員研究員
研究協力者	長谷川 隆一	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・客員研究員
研究協力者	江馬 眞	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・客員研究員
研究協力者	山口 治子	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・協力研究員
研究協力者	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	馬野高昭	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
研究協力者	大畑 秀雄	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

水源から浄水・給配水に至るまでに多種多様に存在する微量化学物質等の水質リスクを明らかにし、適切に管理するための評価手法を検討することを目的とし、以下の通り研究を行った。

1. 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曝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曝露が発生することがある。令和元年度には経口経路以外の間接曝露を考慮したベンゼンの水道水質基準のリスク評価を行った結果、ベンゼンの揮発経由の吸入曝露や経皮曝露を想定すると、保守的な評価では水質基準値は現行の値の半分程度が妥当であると示唆された。令和2年度には、間接曝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もおこなった。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超過の曝露シナリオは7%と低かったが、今後より精緻な曝露評価が期待される。
2. 令和元年度に、水道水質汚染が生じた際に参考とすべき水道水中濃度[参照値(mg/L)]の算出として、水道水質基準として管理されている無機化学物質6項目について評価を行った。短期間曝露を対象としたsaRfDを用いて亜急性参照値を算出した結果、3項目(カドミウム、セレン、水銀)については生涯曝露を対象とした基準値に対し3～10倍以上高い値として設定できた。しかしながら、ヒ素、鉛及び六価クロムについては、亜急性参照値は基準値と同値とすることが妥当であった。これらの項目については、一時的な水質汚染時の迅速な対応に有用であると考えられた。
3. 令和2年度には、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。その結果、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romokloro酢酸、及びブromozikloro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romokloro酢酸及びブromozikloro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。

4. 国内外で関心の高い有害物質として、パーフルオロオクタン酸 (PFOA) 及びパーフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) の毒性情報の整理を行った。令和元年度収集した4機関の評価状況では、PFOA 及び PFOS のキーエンドポイントは動物試験の発生毒性とする一定の傾向がみられる一方、疫学による肝臓影響をキーエンドポイントとして評価している評価機関があった。収集した情報は次年度以降の評価値導出のために有用な情報となると考えられた。令和2年度には、生理学的薬物動態 (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。令和3年度は、PFOS 及び PFOA の目標値の試算を行った。PFOS はラット2世代試験をキースタディとし、NOAEL : 0.1 mg/kg/day を参照用量導出の POD (Point of Departure) とした。PFOA は発生毒性試験をキースタディとし、LOAEL : 1 mg/kg/day を参照用量導出の POD とした。POD における平均内部曝露量を、PBPK モデルを用いて計算した結果、参照用量は、PFOS :  $2.0 \times 10^{-5}$  mg/kg/day ~  $6.3 \times 10^{-5}$  mg/kg/day、PFOA :  $2.8 \times 10^{-6}$  mg/kg/day ~  $8.4 \times 10^{-5}$  mg/kg/day となった。現状で得られるヒトの半減期の値を用いて水道水中の目標値を試算すると PFOS : 50~158 ng/L、PFOA : 7~210 ng/L となった。我々の研究結果により PFOS 及び PFOA の現在の暫定目標値 (PFOS と PFOA 合わせて 50 ng/L) を含む範囲の目標値となること示されたが、今後半減期や疫学情報などのヒトにおける知見が集積される事によって、より精度の高い目標値の算出が可能となると考えられた。



## A. 研究目的

水源から浄水・給配水に至るまでに多種多様に存在する微量化学物質等の水質リスクを明らかにし、適切に管理するための評価手法を検討することを目的とし、以下の項目について研究を行った。

1. 揮発性を考慮したベンゼン、ジクロロメタン、四塩化炭素の水道水質基準値の評価
2. 水道汚染物質の亜急性評価値に関する研究
3. 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
4. 関心の高い物質(PFOA 及び PFOS)の毒性情報整理と目標値の導出

それぞれの項目に対する背景と研究目的の詳細は以下の通りである。

1. 揮発性を考慮したベンゼン、ジクロロメタン、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曝露を想定し、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曝露が発生することがある<sup>1, 2, 3)</sup>。多くの場合、間接曝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、間接曝露を含めた曝露量の分布を評価する必要がある。Niizuma et al.<sup>4)</sup>、2013はクロロホルムについて、Akiyama et al.<sup>5)</sup>、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.<sup>6)</sup>、2019はホルムアルデヒドについてリスク評価を行っている。

令和元年度では、ベンゼンについて検討を行った。ベンゼンは経口、吸入、経皮のどの経路で曝露しても全身に行き渡ること<sup>4)</sup>、骨髄の造血系に作用し白血病を引き起こすことが分かっている<sup>5, 6)</sup>。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、経皮経路の曝露量も合算することが妥当と考えられる。本研究では、曝露量を飲水当量によって表し、その確率分布を算出することで水道水由来のベンゼンのリスクを明らかにし、現行の水道水質基準値の妥当性を評価することを目的とした。

令和2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物質は経皮曝露による毒性発現は確認されていないものの、吸入・経口曝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<sup>7, 8)</sup>、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<sup>7, 8)</sup>。

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、経皮経路の曝露量も合算することが妥当と考えられる。

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潜在曝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. 汚染物質の亜急性評価値に関する研究

日本国内の水道の水質管理区分は、水道水質基準(51項目)、水質管理目標設定項目(26項目)、要検討項目(47項目)に分類され、水道汚染物質に関する基準値や目標値が設定されている。それらの値は、生涯曝露を想定して設定されているものであることから、一時的な基準値・目標値超過がヒトの健康にどのような影響を及ぼすか、事故時の汚染物質濃度や推測される曝露期間などを考慮して毒性情報を評価していく必要がある。そこで、我々は、米国環境保護庁(Environmental Protection Agency: EPA)によって設定された健康に関する勧告値(Health advisory: HA)及びHuman Health Benchmarks for Pesticides(HHBP)の設定方法や根拠について調査を行ってきた。平成27年度から平成30年度までには、日本の水質基準項目から19項目及び水質管理目標設定項目から9項目、要検討項目から15項目について、亜急性評価値[Subacute Reference Dose; saRfD (mg/kg/day)]を算出した。また、saRfDを用いて、短期的な水道水質汚染が生じた際に参考とすべき水道水中濃度[参照値 (mg/L)]の算出も行ってきた。令和元年度は、水道水質基準項目のうち、無機化学物質の6項目についてsaRfDの算出及び参照値の算出を試みた。

3. 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。そこで、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。

#### 4. 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高いことで、パーフルオロオクタン酸 (PFOA) 及びパーフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) の国内での関心が高まっている。このような国内の状況を鑑み、令和元年度は 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、種間及び性別に対し数桁の違いがあると推定されている。こうした体内動態の違いは、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、平均血清濃度及び消失速度、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。令和 2 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った。令和 3 年度は PFOS 及び PFOA の毒性情報を整理し、PBPK モデルを用いた評価値の導出方法の適用について検討を行った。

### B. 研究方法

#### 1. 揮発性を考慮したベンゼン、ジクロロメタン、四塩化炭素の水道水質基準値の評価

##### ベンゼン

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

##### 1) 経路別曝露量

水道水由来の経路別潜在曝露量は、

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

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

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

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

$$C_a = C_w \times K_d \quad (4)$$

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

##### 2) 体内有効作用量

ベンゼンの毒性について文献調査を行った結果、体内に取り込んだベンゼンのうち、毒性に寄与するのは肝臓での代謝を経てヒドロキノンとして骨髄に到達した分だと考えられた<sup>9)</sup>。ベンゼン曝露時の、曝露量に対する骨髄内のヒドロキノン濃度の面積値を作用率として定義した。このとき、作用率は各経路によって異なる。作用率を用いると、総作用量  $ED_{\text{total}}$  [ $\mu\text{g}/\text{day}$ ] は、

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

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

##### 3) 飲水当量

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

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

で表される。

ここで、式 1~6 を連立させ、辺々から  $C_w$  を消去し、

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

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

##### 1-1. 気液相濃度比 $K'_d$

実家庭における  $K'_d$  の分布が報告されているクロロホルム<sup>10)</sup>の揮発性とベンゼンの揮発性を実験的に比較することにより、実家庭のベンゼンの非定常分配係数の値を推定した。実験は以下のと

おり行った。密閉された 10 L の袋の内部にベンゼン(10 ~ 60 µg/L)とクロロホルム(10 ~ 80 µg/L)の混合水溶液を注入し、浴室環境を再現するために 40 ° C の温浴槽にて加温を行った。また一部のサンプルには、シャワーの使用を再現するための振とうを行った。その後、水中濃度は公定法<sup>11)</sup>に従い P&T-GC/MS 法によって測定した。空气中濃度は公定法<sup>12)</sup>に従い、活性炭が充填された捕集管を用いた固体吸着-溶媒抽出-GC/MS 法によって測定した。全てのサンプルで、総気液接触時間は 23 ~ 43 分であった。この時、各サンプルにおいて、ベンゼンとクロロホルムは全く同じ物理的条件下で気液接触していたため、 $K'_d$  値を直接比較することができた。

#### 1-2. 作用率 R

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

#### 1-3. モンテカルロシミュレーション

式 7 のパラメータの分布を、2-1、2-2 およびアンケート結果<sup>13)</sup>や体重との相関と体重分布<sup>14)</sup>によって得た。これらの分布を基に、モンテカルロシミュレーションを行い飲水当量の分布を計算した。

### ジクロロメタン及び四塩化炭素

#### 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 [µg/L]、 $I_w$ : 飲水量 [L/day]、 $K'_d$ : 非定常分配係数 [(µg/m<sup>3</sup>)/(µg/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<sup>2</sup>]、 $K_p$ : 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])<sup>1, 2, 3, 4)</sup>。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<sup>3</sup>]、 $C_a$ : 気相中濃度 [µg/m<sup>3</sup>]、 $K$ : 物質移動係数 [m/s]、 $A$ : 気液接触面積 [m<sup>2</sup>]、 $C_w$ : 水中濃度 [µg/m<sup>3</sup>]、 $R$ : 気体定数 [L·Pa/mol·K]、 $T$ : 温度 [K]、 $H$ : ヘンリー定数 [L·Pa/mol·K])<sup>15)</sup>。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、

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

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 ( $\beta$ : 物理的要因による係数 [-]、 $D_1$ : 水中拡散係数 [m<sup>2</sup>/s]、 $D_a$ : 気中拡散係数 [m<sup>2</sup>/s];<sup>16)</sup>)。  $\beta$  は気液相の物理的状态によって変化する値であり、物理的条件によってのみ決定され、物質種によって変化しない値である<sup>16)</sup>。(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<sup>17, 18)</sup>、WL 法<sup>18, 19)</sup>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。

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。

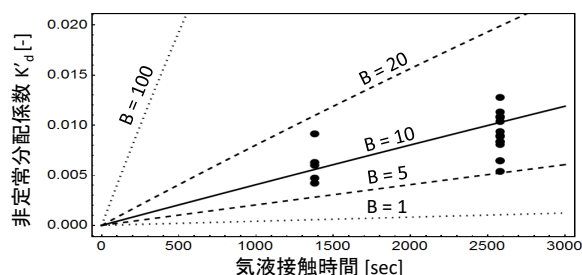


図1 物理的条件の係数  $B$  を変化させた際の  $K'_d$  と気液接触時間  $t$  の相関と実測値（プロット：松井，2020）の関係。  $B=10$  程度が最も実測値に近い

表1 式(5)による揮発性物質の非定常分配係数  $K'_d$  予測値，実測値およびヘンリー定数のクロロホルムに対する比。ヘンリー定数がクロロホルムに近い物質は予測値が実測値に近い

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 $K'_d$ 値
ジブロモクロロメタン	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	-

## 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<sup>20)</sup>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。

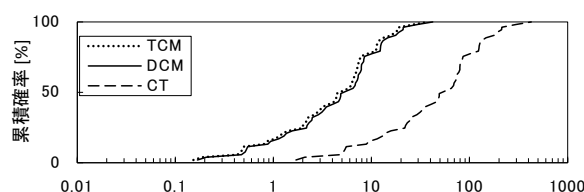


図2 実家庭浴室におけるジクロロメタン(DCM)と四塩化炭素(CT)非定常分配係数の分布。それぞれクロロホルムの分布を1.09, 11.1倍して推定

1-2-2. 潜在曝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曝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<sup>21)</sup>や体重との相関と体重分布<sup>22)</sup>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. 水道汚染物質の亜急性評価値に関する研究

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

saRfDは、ヒトがおおよそ1か月間曝露した場合を想定し、ガイドライン試験相当の亜急性毒性試験から無毒性量(NOEL)を求め、不確実係数(UF)を適用してsaRfDを求めた。UFは、種差10、個人差10の他、NOELが求められない場合や重篤性のある毒性影響などは適宜追加のUFを適用した。次に6項目に関するsaRfDを用いて、短期的な水道水質汚染が生じた際に参考とすべき参照値(mg/L)の算出を試みた。なお、参照値は、HAやHHBPの考え方に習い、割当率を100%とし、それぞれの項目について成人と小児を対象とした2つの値を算出した。成人の体重は50kg、飲水量は2L/dayとし、小児の体重は10kg、飲水量は1L/dayとした。

## 3. 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 BMD<sub>L10</sub> 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<sup>-5</sup> リスクによる VSD (実質安全量、Virtually Safe Dose) (POD/10000) 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: 1000 [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。

4. 国内外で関心の高い物質の毒性情報整理  
令和元年度は関心の高い物質として PFOA 及び PFOS を選定し、国際的な評価 (米国環境保護庁: US-EPA、有害物質疾病登録局: ATSDR、オーストラリア・ニュージーランド食品安全局: FSANZ、欧州食品安全機関: EFSA) について情報を収集し毒性評価の整理を行った。令和 2 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。令和 3 年度は、目標値の算出を試みるため、まず PFOS 及び PFOA の経口曝露による毒性情報についてキースタディ候補の選定を行った。動物試験の毒性情報は国内外の評価書を情報源とし、亜慢性毒性、慢性毒性、生殖発生毒性 (発達神経毒性を含む)、免疫毒性のエンドポイントで整理し各エンドポイントのキースタディとなりうる情報を抽出した。一方、疫学情報は EFSA (2018、2020) の評価で用量

反応解析を行った情報を整理した。PFOS 及び PFOA 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、内部曝露量が外部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。本研究では、腎臓の再吸収を考慮した Andersen ら (2006) 及び Wambaugh ら (2013) の PBPK モデルを用いて、動物を用いた反復投与毒性試験の投与期間中における平均血中濃度の予測を行った (図 3)。シミュレーション解析は Phoenix WinNonlin8.3 を用いた。

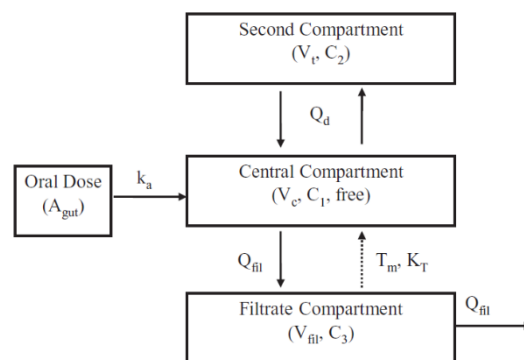


図 3 : 動物を用いた PBPK モデル  
Wambaugh ら. (2013) Toxicol Sci 136(2), 308 より

- Q<sub>fil</sub>: ろ液コンパートメントを通る流れ
- C<sub>1</sub>: 中央コンパートメントの化学物質濃度
- C<sub>2</sub>: セカンドコンパートメントの化学物質濃度
- C<sub>3</sub>: ろ液コンパートメントの化学物質濃度
- V<sub>c</sub>: 中央コンパートメントの分布容積
- V<sub>t</sub>: セカンドコンパートメントの分布容積
- V<sub>fil</sub>: ろ液コンパートメントの分布容積
- Free: 中央コンパートメント内の遊離画分
- Q<sub>d</sub>: 中央コンパートメントとセカンドコンパートメントの間の流れ
- 再吸収プロセス (ミカエルメンテン動力学)
- T<sub>m</sub>: 最大速度
- K<sub>T</sub>: 最大速度 1/2 の時の濃度

後述キースタディの動物種 (ラット及びマウス) のパラメータの値は Wambaugh ら (2013) の値を用いた。

一方ヒトのモデルについては、Loccisano ら

(2011)を用いた(図4)。このモデルの基本的なコンセプトは Andersen ら (2006) 及び Wambaugh ら (2013) と同じで、腎臓による再吸収を考慮したモデルに Fat と Skin を追加したものである。

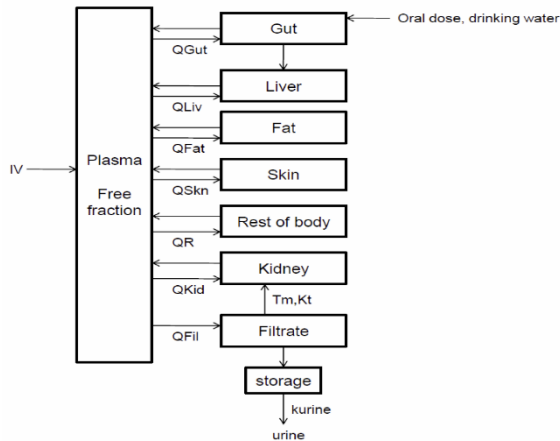


図4：ヒトのPBPKモデル  
Loccisano ら(2011) RTP 59; 157-175 より

パラメータは Loccisano ら(2011)の文献値を用いたが、ヒトの体重は 70 kg ではなく 50 kg とした。

毒物学的エンドポイントが化学物質の内部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。ヒト等価量は以下の方法で計算した。

PFOA 及び PFOS が一次反応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：

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

Vd : Volume of distribution (分布容積)  
t<sub>1/2</sub>: 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。分布容積は、Thompson ら (2010) の値(PFOA:0.17 L/kg bw ; PFOS : 0.23 L/kg bw) を用いた。PFOS 及び PFOA のヒトの半減期は文献値を用いた。

ヒト等価量は一次反応式による濃度変化を仮定し、次式で算出した：  
ヒト等価量 = 平均血中濃度 (mg/L) x CL (L/kg bw/day)

不確実係数 (UF) は個体差 10、種差として 3 (動態については PBPK モデルを用いているため) を原則として用いた。LOAEL の使用、DB 不足、重篤な影響などについては、追加の UF を検討した。

### C. 研究結果及び考察

#### 1. 揮発性を考慮したベンゼン、ジクロロメタン、四塩化炭素の水道水質基準値の評価

##### ベンゼン

1-1. 非定常分配係数 K'<sub>d</sub> 値の測定結果  
ベンゼンとクロロホルムの K'<sub>d</sub> の実験結果を図5にプロットした。2物質の K'<sub>d</sub> はそれぞれ実験条件によって変化した。ベンゼンの K'<sub>d</sub> はクロロホルムの K'<sub>d</sub> の 0.92 倍であることが分かった。ベンゼンとクロロホルムの物性値を比較すると(表2)、非定常時の揮発性に関する水中・気中拡散係数や、非定常時の液相から気相への移動割合を示す移行係数<sup>23)</sup>は同程度であり、非定常環境における揮発量に大差がなかったことが妥当であることが分かった。この結果より、実家庭でのクロロホルムの K'<sub>d</sub> 分布を 0.92 倍することで、実家庭におけるベンゼンの K'<sub>d</sub> 分布を推定した(図6)。

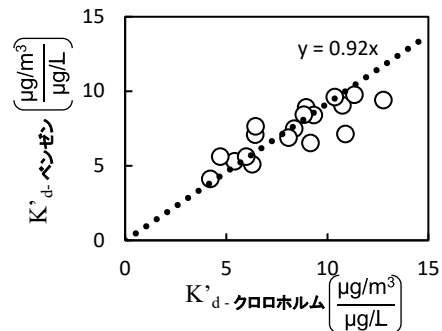


図5 ベンゼンとクロロホルムの K<sub>d</sub> の比較

表2 ベンゼンとクロロホルムの物性値の比較

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



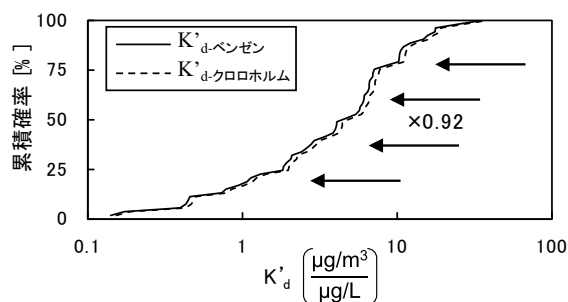


図6 クロロホルムとベンゼンの  $K_d$  の分布

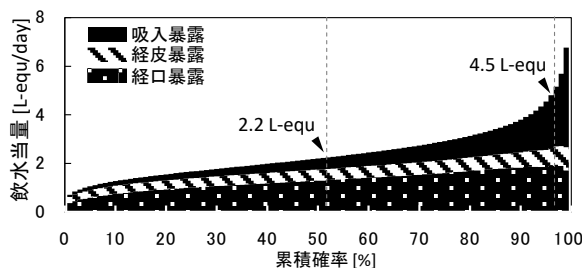


図7 飲水当量分布の計算結果

### 1-2. 作用率計算結果

経路ごとの作用率の算出結果を表3に示す。濃度や曝露時間などの条件は、作用率に影響を及ぼさなかった。同一潜在用量で比較すると、吸入曝露と経皮曝露はそれぞれ経口曝露の55%、50%程度しか骨髄内のヒドロキノン濃度を上昇させないことが分かった。

表3 3経路の作用率算出結果

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

### 1-3. モンテカルロシミュレーション

飲水当量の分布は図7のようになった。分布の50、95%ile値はそれぞれ2.2、4.5 L-equ/dayであった。95%以上を極端なケースとし、95%ile値を最大可能曝露量とすれば、その値は、現行の水道水質基準を算出する際に用いられた2 L/dayの直接飲水量の2倍程度であった。また、飲水当量への曝露経路ごとの寄与を見ると、間接曝露分の寄与率は、50%ile値では40%程度であるのに対し95%ile値では60%に増加していることが分かった。これらのことから、高曝露側を想定し基準値を策定する際には、間接曝露の影響を考慮する必要があることが分かった。また、現行のベンゼンの水道水質基準値10 μg/Lは直接飲水量2 L/dayに基づいて算出しているため、揮発経由の吸入曝露や水との接触による経皮曝露が多い場合のリスクを過小評価していると考えられた。このような間接曝露が多い場合、飲水当量はおよそ4 L-equ/dayであることから、安全側を考えれば、水質基準値は現行の値の半分の5 μg/L程度が妥当であることが示唆された。

## ジクロロメタンと四塩化炭素

1-1. 経路ごとの作用率の算出結果を表4に示す。濃度や曝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曝露と経皮曝露は経口曝露に対して共に46%程度しか、四塩化炭素では吸入曝露と経皮曝露のそれぞれが経口曝露に対して55%、56%程度しか肝臓に作用しないことが分かった。

表4 ジクロロメタンと四塩化炭素の経路別潜在曝露量に対する作用量に割合

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

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8-Aのようになった。分布の50、95%ile値はそれぞれ0.78、1.7 μg/kg/dayであった。水道水質基準の策定に用いられたTDIが6 μg/kg/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8-Bのようになった。分布の50、95%ileは0.20、0.84 μg/kg/dayであった。基準値策定時のTDI 0.71 μg/kg/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曝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。

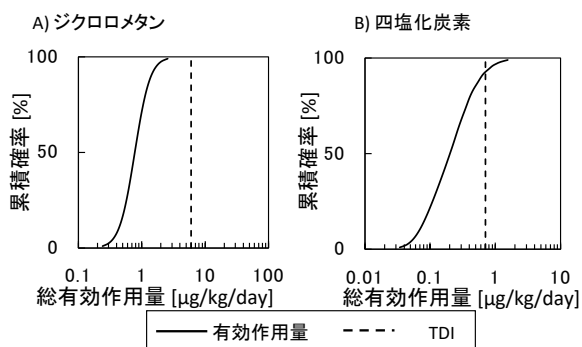


図 8 ジクロロメタンと四塩化炭素の総有効作用量分布（実線）と TDI（破線：ジクロロメタン 6  $\mu\text{g}/(\text{kg day})$ 、四塩化炭素 0.71  $\mu\text{g}/(\text{kg day})$ ）

## 2. 水道汚染物質の亜急性評価値に関する研究

算出した 6 項目の saRfD と、それらの値を TDI (Tolerable Daily Intake: 耐容一日摂取量) 等と比較した結果を表 5 に、亜急性参照値を表 6 に示した。各項目の saRfD 設定根拠及び亜急性参照値導出方法を以下に示す。

### ① カドミウム及びその化合物

カドミウムの長期曝露による健康影響として近位尿細管機能障害の因果関係が報告されている。我が国の食品安全委員会によると、疫学調査結果から、7  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{week}$  程度のカドミウム曝露を受けた住民に非汚染地域の住民と比較して過剰な近位尿細管機能障害が認められなかった知見が得られている。この 7  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{week}$  を耐容週間摂取量 (PTWI) としたとき、体重 50kg の人が 1 日当たり 2L の飲料水を飲むと仮定して、割当率を 10% で算出した結果、日本の水道水の基準値は 0.003 mg/L と設定された。本基準値は人の疫学データを用いた値であり、かつ耐容週間摂取量であるため亜急性参照値を求める候補としても最も適している毒性試験情報であると考えられた。従って、PTWI を 1 日当たり摂取量に換算した 1  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  を saRfD とし、割当率を 100%、成人及び小児の体重と飲水量を適用し参照値の算出を行った。大人の亜急性参照値は 0.03 mg/L、小児の亜急性参照値は 0.01 mg/L となり基準値 (0.003 mg/L) の約 3 倍の値と算出された。

### ② 水銀及びその化合物

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

一方我が国の食品安全委員会の水銀の評価で

は、NTP (1993) で行われた F344 ラットの 2 年間慢性毒性試験 (発がん性試験) における雄での前胃扁平上皮乳頭腫及び甲状腺癌から発がん性に対する NOAEL を 1.9 mg/kg/day とし、UF (不確実係数): 1000 を適用し TDI を 1.9  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  と算定している。更に、非発がん影響としては NTP (1993) で行われた F344 ラットの亜急性毒性試験 (6 か月間強制経口投与試験) における腎重量の増加の LOAEL: 0.23 mg/kg/day を POD (Point of Departure) とし TDI を 0.7  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  (UF=300:LOAEL と期間で 3) としている。一方、JECFA は本試験の腎重量の増加に対し BMD 方を適用し BMDL10 を 0.11 mg (塩化水銀) /kg/day としている。この値を水銀に換算すると 0.06 mg/kg/day となる。JECFA はこの値を POD とし UF100 を適用し PTWI を 4  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  としている。本評価では JECFA が推定した BMDL10 が亜急性影響を評価するために最も適切な POD であると判断した。従って 0.06 mg/kg/day に UF100 を適用した結果、saRfD は 0.6  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  と算出された。割当率を 100%、成人及び小児の体重と飲水量を適用し参照値の算出を行った結果、大人の亜急性参照値は 0.02 mg/L、小児の亜急性参照値は 0.01 mg/L となり基準値 (0.0005 mg/L) の約 12 倍の値と算出された。

### ③ セレン及びその化合物

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

### ④ 鉛及びその化合物

鉛の水道水質基準値は、平成 4 年の評価では「日本人の血液中の鉛濃度・曝露量は、世界的に見ても低いレベルにあることを考慮して、0.05mg/L 以下。なお、鉛毒性の蓄積性を考慮して長期目標値を 0.01mg/L と設定し、おおむね 10 年



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

#### ⑤ ヒ素及びその化合物

ヒ素の水道水質基準値は平成4年に検出限界値である0.001 mg/Lと定められており、その後の見直しの際にも「発がん性に基づくヒ素のTDIまたは実質安全量(VSD)はもとより、それに基づいた飲料水中のヒ素濃度の確実性の高い健康指針値を導き出すことは現時点ではできない。」として、「ヒ素発がん性に関するリスクアセスメント関連のかなり不確実さと飲料水からのヒ素除去の実際的な困難さからみて、従来からの基準値が維持されている。

我が国の食品安全委員会の評価によると無機ヒ素曝露による非発がん影響として、ヒ素で汚染された飲料水を長期間摂取した地域における疫学調査では、皮膚病変、発達神経影響及び生殖・発生影響が、飲料水中無機ヒ素濃度依存的に認められている。また、人で発がん影響(肺癌、膀胱

癌等)も認められている。しかし、発がん曝露量における閾値の有無について判断できる状況にないと結論している。さらに、有害性の定量的評価において、ヒ素で汚染された飲料水を長期間摂取した疫学調査により飲料水中濃度に食事から摂取する量を加味して算定した無機ヒ素のNOAEL(又はLOAEL)又はBMDLの値は、皮膚病変でLOAEL 4.3~5.2 µg/kg 体重/日及びBMDL05 4.0~4.2 µg/kg 体重/日、神経系(IQ低下)への影響でNOAEL 3.0~4.1 µg/kg 体重/日、生殖・発生への影響でNOAEL 8.8~11.1 µg/kg 体重/日、肺癌でNOAEL 4.1~4.9 µg/kg 体重/日並びに膀胱癌でNOAEL 5.0~12.1 µg/kg 体重/日及びBMDL01 9.7~13.5 µg/kg 体重/日であった。そして「日本人で、通常の生活を送っている場合の推定無機ヒ素摂取量は、数種の陰膳調査による平均値で0.130~0.674 µg/kg 体重/日であり、食品安全委員会(2013)の行った調査では平均値0.315 µg/kg 体重/日」とし、「本評価で算定したNOAEL又はBMDLの値と、推定無機ヒ素摂取量にはそれぞれに不確実性があると考えられるが、両者はかけ離れたものではない。そのため、日本人における一部の高曝露者では今回算定したNOAEL又はBMDLを超える無機ヒ素を摂取している可能性がある。」と評価している。つまり、食品安全委員会では許容摂取量もユニットリスクも設定されていないことや、曝露とPODとのマージンがほとんどない状況では、健康影響に基づいた基準値の設定はもとより、亜急性参照値を定めることも現時点では適切ではないと考えられる。従って、亜急性参照値は基準値と同値(0.001 mg/L)とすることが妥当であると考えられた。

#### ⑥ 六価クロム化合物

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

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

Wistar ラット(雄、各群15匹)に重クロム

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

SDラットの雄、各群24匹及び雌、各群48匹に重クロム酸カリウム(VI)を0、15、50、100又は400 ppm(雄100 ppm=2.1、400 ppm=8.4 mg Cr(VI)/kg/day、雌100 ppm=2.5、400 ppm=9.8 mg Cr(VI)/kg/day)を9週間混餌投与した試験で、400 ppm群でMCV及びMCHの減少が認められたことからNOAELは2.1 mg/kg/dayと判断された。

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

F344/Nラット(雌雄、各群10匹)に重クロム酸ナトリウム二水和物(VI)を0、62.5、125、250、500又は1000 mg/L(雄0、1.7、3.1、5.9、11.1又は20.9 mg Cr(VI)/kg/day、雌0、1.7、3.5、6.3、11.5又は21.3 mg Cr(VI)/kg/day)で14週間飲水投与した試験において、62.5 mg/L以上で、雄ヘマトクリット、ヘモグロビン及びMCVの減少、血小板増加、雌MCH減少が最低用量で認められた。本試験のLOAELは1.7 mg/kg/dayとなった。

上記5試験の中で最も低い用量で毒性が認められた試験はF344/Nラットの14週間飲水投与試験であった。本試験のLOAEL1.7 mg/kg/dayをPODとしてUF1000(LOAEL使用で追加のUF10)を適用し、saRfDは0.0017 mg/kg/dayと算出された。この値はTDIの約1.5倍に相当する。saRfDに対し割当率を100%、成人及び小児の体重と飲水量を適用し参照値の算出を行った結果、大人の亜急性参照値は0.04 mg/L、小児の亜急性参照値は0.02 mg/Lとなり基準値(0.02 mg/L)と同値と算出された。六価クロム化合物基準値導出に用いられた割当率が60%と高かったため、TDIの1.5倍のsaRfDが得られたにも関わらず、最終的な亜急性参照値は基準値と同値として算出された。

水道水は都市機能や公衆衛生の維持に不可欠であり、給水停止については、自然災害等で汚染物質濃度が一時的に基準値を超えた場合でも、その濃度や推測される曝露期間等を考慮して慎重に対応する必要がある。本研究では、このような一時的な水質汚染の際に参考すべき値として成

人及び小児を対象とした参照値を設定した。日本の水質基準項目のうち無機化学物質の6項目について亜急性参照値の算出を試みた。カドミウム及びその化合物、セレン及びその化合物の2項目については、基準値の約3-4倍の亜急性参照値が得られた。更に、基準値が検出限界値に設定されている水銀については、ラット6か月間強制経口投与試験で認められた腎重量増加をもとに亜急性参照値を算出した結果、基準値の12倍となった。これらの項目については、一時的に飲料水中濃度が基準値を超えた場合でも、本研究で提案する参照値を超えない濃度であれば健康影響の懸念は低いと考えられるため、給水停止の措置は必要ないと判断することが可能となる。一方、ヒ素及びその化合物、鉛及びその化合物、六価クロム化合物については、基準値と亜急性参照値が同値となった。これらの項目については、迅速な対応が必要であると考えられる。

## 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、プロモクロロ酢酸、及びプロモ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7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の手順を以下に示す。

### 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、1410 mg/m<sup>3</sup>) 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LOAELは6.25 ppm(14.1 mg/m<sup>3</sup>)を曝露状況で補正し、経口曝露に換算するとLOAELは4.2 mg/kg/dayと算出されている。この値をPODとし、UF1000(種差、個人差、LOAEL)を適用した結果、評価値は4.2×10<sup>-3</sup> mg/kg/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、1000 ppm(0、90、450、2250 mg/m<sup>3</sup>)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/m<sup>3</sup>)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UF1000(種差・個人差・LOAEL)を適用し、評価値は2.7×10<sup>-2</sup> 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テ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<sup>-6</sup> (μg/m<sup>3</sup>)<sup>-1</sup>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<sup>-5</sup>リスク)を、2.5×10<sup>-3</sup> mg/m<sup>3</sup>(1 μg/kg/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 μg/kg/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 μg/kg/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 μg/kg/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BMDL<sub>10</sub>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<sup>-3</sup> 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  $1.3 \times 10^{-2}$  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BMDL<sub>10</sub>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BMDL<sub>10</sub>を用いてVSD( $10^{-5}$ に相当)を  $2.1 \times 10^{-4}$  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 µg/kg/dayとなっている。本評価ではこのVSD値を用い、体重50kg、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、1000、5000 µl/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、1000 µl/L以上の群で用量に依存した摂水量の減少、5000 µl/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、2000、10000 µl/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10000 µl/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 µl/L以上の群で口腔の扁平上皮がん、10000 µl/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、2000、10000 µl/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、10000 µl/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、2000 µl/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、1000、5000 µl/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、5000 µl/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。吸入曝露露については、ラット及びマウスに0、176、704、2、113 mg/m<sup>3</sup>を104週間(6時間/日、5日/週)吸入させた結果、2113 mg/m<sup>3</sup>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<sup>3</sup>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<sup>3</sup>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2113 mg/m<sup>3</sup>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<sup>3</sup>(曝露状況での補正:31 mg/m<sup>3</sup>)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号番号: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、1000、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1000 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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 BMDL<sub>10</sub> 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、UF1000（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<sub>10<sup>-5</sup></sub> 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 1000 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 1000 mg/L で、雄の腎重量が 1000 mg/L で有意に増加した。雌雄 1000 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 1000 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 1000 mg/L 群及び雌の全群で有意であった。雌雄の 500 又は 1000 mg/L 群において、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 1000 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、1000 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 500 mg / L 以上及び雌の 1000 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 1000 mg / L 群の雄に好酸球細胞の有意な増加が認められ、雌の 1000 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 1000 mg / L 群で有意に増加した。

雌雄マウス各 50 匹に、0、250、500、1000 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 1000 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 1000 mg / L 群において好酸

球性病巣、雄の 1000 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 1000 mg / L 群の雄で有意に増加し、骨髄過形成が 1000 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、1000 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。腓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 1000 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。雄の全曝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<sub>10</sub> (3.27 mg/kg/day) が最も適切な POD と判断された。VSD (10<sup>-5</sup> リスク) は 3.27 × 10<sup>-4</sup> 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 (LOEL = 15 mg/kg/day) が最も感受性の高い影響であるが、UF1000 (種差・個体差・LOEL) を適用した値 (1.5 × 10<sup>-2</sup> mg/kg/day) は 3.27 × 10<sup>-4</sup> 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 1000 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 1000 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 1000 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 1000 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 1000 mg/L 群で有意に増加し、雄の腎臓の絶対重量が 1000 mg/L 群で有意に減少した。雌の肝臓では 1000 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 1000 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 1000 mg/L 群で試験期間中認められ、雌では 1 年目のみ 1000 mg/L 群で認められた。雌の 500 および 1000 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 1000 mg / L 群で過形成が有意に増加した。雄の 1000 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 匹のマウスにブロモジクロロ酢酸を 0、250、500 及び 1000 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 1000 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、1000 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曝露群で認められ、1000 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、1000 mg / L 群で精液減少、500 および 1000 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 1000 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、1000 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 1000 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、1000mg / 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、1000 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 1000 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 1000 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 1000 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 1000 mg / L の雄、およびすべ

ての曝露群の雌で有意に増加した。雄のハーダ一腺では、500 および 1000 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。1000mg / 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。

プ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<sub>10</sub> (2.83 mg/kg/day) が最も適切な POD と判断された。VSD (10<sup>-5</sup> リスク) は 2.83×10<sup>-4</sup> 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 (LOEL = 17 mg/kg/day) が最も感受性の高い影響であるが、UF1000 (種差・個体差・LOEL) を適用した値 (1.7×10<sup>-2</sup> mg/kg/day) は 2.83×10<sup>-4</sup> 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。ブロモクロロ酢酸及びブロモジクロロ酢酸は消毒副生成成分であり、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。

#### 4. 関心の高い物質の毒性情報整理

令和元年度は、国内で関心の高い物質であるPFOA及びPFOSに関する国外の評価機関（米国環境保護庁：US-EPA、有害物質疾病登録局：ATSDR、オーストラリア・ニュージーランド食品安全局：FSANZ、欧州食品安全機関：EFSA）における評価手法について調査した。表8及び表9にPFOA及びPFOSの各評価機関の評価値導出方法についての概要を示した。

##### ① US-EPAの評価

###### PFOA キースタディ

CD-1 マウスに、PFOA アンモニウム塩（直鎖：98.9%、分岐異性体：1.1%）を0、1、3、5、10、20、40 mg/kg/dayの用量でGD1-GD17まで強制経口投与しGD18で剖検又はGD1-GD19まで強制経口投与し出産させた結果、1 mg/kg/day以上の群の母動物で肝臓の肥大がみられた。40 mg/kg/day群の全母体で胚吸収、20 mg/kg/day群で母体の体重増加が有意に低下し、胎児の生存率も優位に低下した。また、5、10、20 mg/kg/day群の出生児生存率の有意な低下が認められた。児の体重は3 mg/kg/day以上で有意に低値であった。最低用量の1 mg/kg/dayの群に児の骨化数減少（雌雄）と性成熟促進（雄）が認められた。（Lauら、2006）。

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

###### PFOS キースタディ

Cr1:CD(SD)ラットに、PFOS カリウム塩（純度86.9%、C4-7のPFAS：8.4%）を0、0.1、0.4、

1.6、3.2 mg/kg/dayで強制経口投与した2世代試験で、1.6 mg/kg/day以上で児の死亡が認められ、F2の成績は0-0.4 mg/kg/day群からしか得られなかった。親動物の一般毒性のNOAELはF0で0.1 mg/kg/day、F1で0.4 mg/kg/dayであり、生殖能に対するNOAELは一般毒性のNOAELよりも高い値であった。一方、F1の1.6 mg/kg/day群に児の成長遅延（耳介開展、開眼、立ち直り反応）が認められ、開眼の遅れは0.4 mg/kg/day群でも有意に認められた。F2の授乳期には0.4 mg/kg/day群で児に有意な体重減少が認められた（Luebkerら、2005a）。なお、PFOSの生殖発生毒性に対する用量反応を確認するために本試験の後に0、0.4、0.8、1.0、1.2、1.6、2.0 mg/kg/dayの用量で生殖発生毒性試験が実施されたが、児の体重は全投与群で有意に低く児の体重減少について用量依存性・再現性が確認されている（Luebkerら、2005b）。

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

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

##### ②ATSDR(Draft)の評価

###### PFOAのキースタディ

妊娠 C57BL/6/Bk1 マウスの妊娠初日から妊娠期間中に渡ってPFOAカリウム塩（96%）を0又は0.3 mg/kg/dayで混餌投与し、児が5-8週齢時の発達神経毒性影響を調べた結果、0.3 mg/kg/day投与群の雄の運動量が有意に増加した（Onishchenkoら、2011）。また、同様の試験



方法で投与した妊娠マウスの児(雌)について13又は17月齢で骨を調べた結果、大腿骨及び脛骨の形態学的な変化が認められ、骨のミネラル密度は低下していた(Koskelaら、2016)。

ATSDRは上記2試験の投与量0.3 mg/kg/dayをLOAELとして評価した。マウスのPFOA平均血清濃度は推定AUCと投与期間(21日)を用いて8.29 µg/mLと推定された。HEDは1-コンパートメントモデルを用い、0.000821 mg/kg/dayと算出された。この値をPODとしUF300(個人差:10、種差:3、LOAEL使用:10)を適用し $3 \times 10^{-6}$  mg/kg/day (3 ng/kg/day)を暫定MRLとした。

#### PFOSのキースタディ

ラット2世代試験(Luebkerら、2005a)  
EPAのキースタディ参照

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

#### ③FSANZの評価

##### PFOAのキースタディ

マウス発生毒性試験(Lauら、2006)EPAのキースタディ参照

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

10%を用いて560 ng/Lとされた。

##### PFOSのキースタディ

ラット2世代試験(Luebkerら、2005a)  
EPAのキースタディ参照

FSANZはLuebkerら(2005a)のラットの2世代試験で0.4 mg/kg/dayで母体及び児の体重増加減少がみとめられたことを根拠とし、本試験のNOAELを0.1 mg/kg/dayと判断して評価した。PFOSの推定AUC及び投与期間(84日)から計算した結果、NOAEL:0.1 mg/kg/dayの平均血清濃度は7.14 mg/Lと推定された。US-EPAと同じCL:0.000081 L/kg bw/dayを用いてHED(0.0006 mg/kg/day)を算出しPODとした。TDIはPODにUF30(個人差:10、種差:3)を適用し、0.00002 mg/kg/day (20 ng/kg/day)と算出された。水道の基準値は体重70 kg、節水量2L/day、割当率10%を用いて70 ng/Lとされた。

#### ④EFSAの評価

##### PFOAのキースタディ

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

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

### PFOS のキースタディ

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

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

上述の通り PFOA 及び PFOS の国際評価として US-EPA、FSANZ、ATSDR、EFSA の 4 機関の評価状況について調査した結果、PFOA については動物試験の発生毒性影響をキースタディとした評価と人疫学調査による総コレステロール値増加に対する影響をキースタディとした評価があった。US-EPA と FSANZ は同じ発生毒性試験 (Lau ら、2006) をキースタディとしたが、US-EPA は最低用量 (1 mg/kg/day) で認められた骨化遅延や思春期早発影響を毒性影響と判断 (LOAEL) したのに対し、FSANZ は用量相関がないことから毒性影響として採用せず NOAEL を (1 mg/kg/day) としたことから、LOAEL 使用の UF10 の適用の有無により両者の評価値は約 10 倍の差があった。一方、ATSDR は US-EPA 及び FSANZ とは異なる発生毒性試験 (2 試験: Onishchenko ら、2011; Koskela ら、2016) をキースタディとした。これらの試験は対照群に対し 1 投与群 (0.3 mg/kg/day) しか設定されていないため用量反応評価のためには、情報が限定的である。投与群で児の発達神経毒性、又は骨形態学的変化とミネラル密度低下が認められたため LOAEL 使用の UF10 も適用され、評価値相当の値は US-EPA よりさらに一桁低い値となった。上記 3 機関が動物の発生毒性影響をキースタディとしたのに対し、EFSA はヒトの疫学研究による総コレステロール値の増加をエンドポイントとして BMDL5 の PFOA 血中濃度を元に評価値の導

出を起こった。

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

令和元年度収集した 4 機関の評価状況から、PFOA 及び PFOS のキーエンドポイントは動物試験の発生毒性とする一定の傾向がみられる一方、人疫学による肝臓影響について懸念を抱いている評価機関がある事も分かった。また、不確実性を保守的に評価することによって、同じ試験結果をキーとしていながら、評価値に幅がある事が示された。収集した情報は次年度以降の評価値導出のために有用な情報となると考えられた。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内部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、

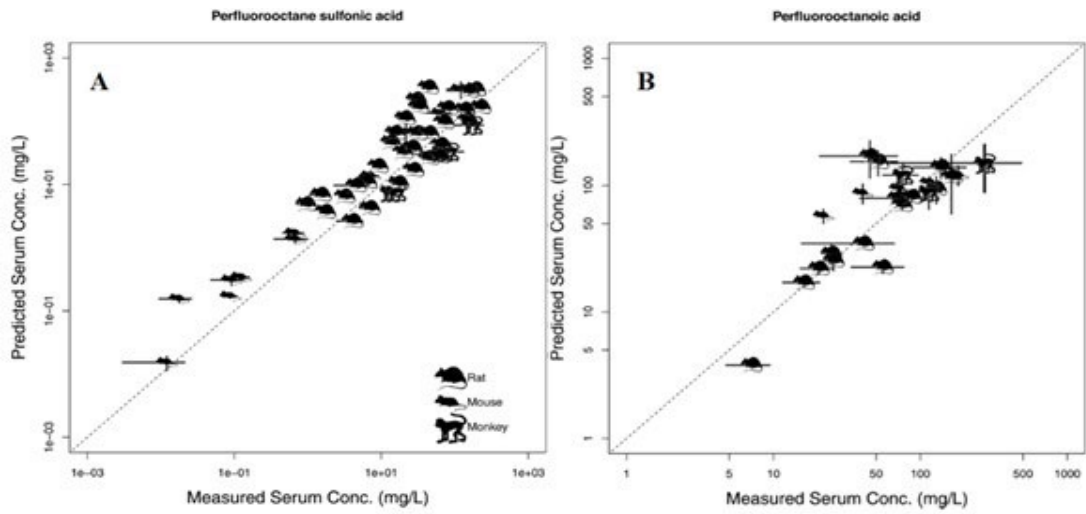


図9 in vivo 毒性試験における実測血漿中濃度（横軸）と PK モデルによる推定血漿中濃度の関係 A:PFOS ; B:PFOA(wambaugh et al., 2013 より)

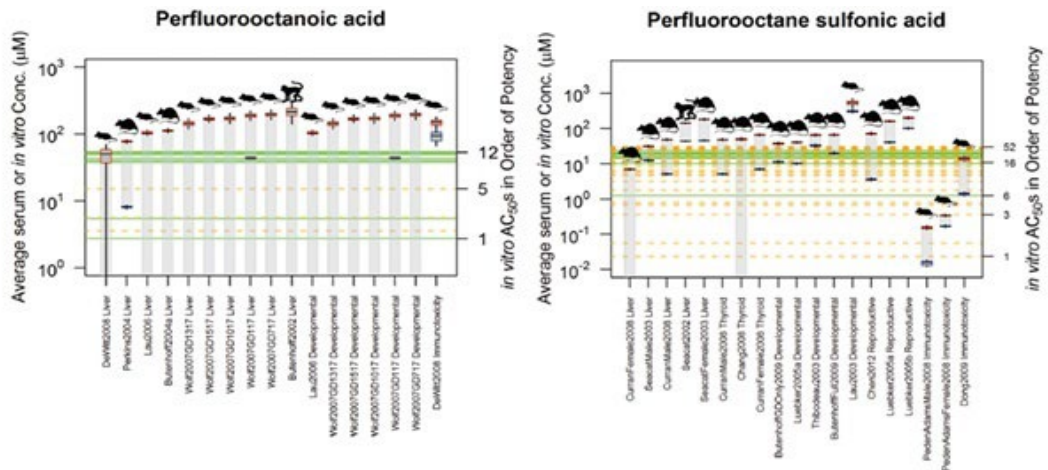


図10 PFOA、PFOS それぞれについて、各先行研究結果から PK モデルによって推定された LOEL-NOEL のボックスプロットと、各物質で in vitro 試験から得られた AC50 値（緑の実線は cellular 試験；オレンジの点線は cell-free 試験を示す）(wambaugh et al., 2013 より)

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に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9)、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10)。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、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:

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

Vd: 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、職業曝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。

令和3年度は目標値導出に向けて、まずキースタディの選定を行った。

## PFOS

動物実験によるキースタディ候補を表10に、ヒトの疫学によるキースタディ候補を表11に示した。

動物試験の毒性情報は、亜慢性毒性、慢性毒性、生殖発生毒性（発達神経毒性を含む）、及び28日間経口投与による免疫毒性試験のエンドポイントから候補を選定した。

ラット及びサルを用いた経口、混餌、飲水投与による複数の亜慢性毒性試験では、投与による影響は主に肝臓で認められた。肝絶対及び比重量増加、血液尿素窒素増加、血清コレステロール値低下、血清T4値低下等が所見として認められ、亜慢性毒性試験で得られた最小NOAELはラットを用いた90日間飲水投与試験における0.09 mg/kg/day (EFSA, 2018による換算値)であった (Yu ら、2009)。

ラットの2年間混餌投与試験においては、血液尿素窒素増加、小葉中心性肝細胞肥大等が認められ、NOAELは0.024 mg/kg/dayであった。最高投与量の雌雄では肝細胞腺腫の有意な増加、雌では肝細胞腺腫/癌の有意な増加が認められたが、休薬期間終了時には対照群に比較して有意な差は検出されなかった (Butenhoff ら、2012)。ラット肝臓における増殖性病変増加は、核内受容体 (PPAR $\alpha$ 、CAR) の活性化によるメカニズムと考えられている (Elcombe ら、2012) ため、ヒトへの外挿性の観点でキースタディとして採用しないこととした。

ラットを用いた2世代繁殖試験では、親動物及び児動物のNOAELは0.1 mg/kg/dayと設定され、投与の影響として親では体重増加抑制及び摂餌量減少、児動物では低体重が認められた。母動物で妊娠期間の延長が認められたことから繁殖毒性のNOAELは0.4 mg/kg/dayと設定された (Luebker ら、2012)。マウスを用いた複数の発生毒性試験 (発達神経毒性試験を含む) では、母動物では肝臓重量増加が認められ、母動物の最小NOAELは1 mg/kg/dayと設定された (Yahia ら、2008)。胎児では低体重及び生

存率低下のほか、口蓋裂、胸骨欠損、二分脊椎、矮小児、波状肋骨、指骨の骨化遅延が認められ、最低投与量で胸骨欠損が認められたため、NOAELは得られずLOAELが1 mg/kg/dayであった (Yahia ら、2008)。また、発達神経毒性で認められた投与による影響は、新生児の自発運動量増加及び馴化低下でNOAELは0.3 mg/kg/dayが得られた (Butenhoff ら、2009)。

マウスを用いた28日間経口投与試験 (0、0.166、1.66、3.31、16.6、33.1、166  $\mu$ g/kg/day) においては、体重変化や臓器重量変化等の明らかな毒性変化は認められなかったが、雌雄でSRBC抗原刺激によるIgM抗体産生の抑制等の免疫反応の低下が認められ、NOAELは、0.000166 mg/kg/dayであった (Peden-Adams ら、2008)。

ヒトの疫学調査は多数実施されているが、EFSAではヒトへの重大な影響として、心血管系への将来的なリスクとなりうる血清コレステロール値増加、肝細胞への影響の指標となるALT値増加、免疫系への影響の指標としてワクチン接種後の抗体反応の低下及び新生児体重の減少をキースタディ候補とした (EFSA, 2018)。

血清コレステロール値増加と血清中PFOS及びPFOA濃度には相関があることが示された (Steenland ら、2009、Nelson ら、2010、Eikson ら、2013)。動物ではPFOS曝露後にコレステロール値の増加ではなく、減少が認められ、核内受容体 (PPAR $\alpha$ 、CAR) の活性化がメカニズムとして考えられている。一般的には血清コレステロール値増加と心血管系疾患との因果関係は知られているが、PFOS/PFOA曝露と心血管系疾患の疫学研究は非常に少ない上に血清中PFOS濃度と心血管系疾患に関連性が認められていない。ALTへの影響については、血清PFOA濃度とALT値増加に正の相関は認められた一方、PFOS濃度とALT値増加については一定の傾向は認められなかった (Gallo ら、2012)。免疫系への影響に関する疫学調査は少ないが、妊娠期間の母親の血清PFOS濃度あるいは5歳児の血清PFOS濃度と抗体濃度との間には負の相関が認められ、大人よりも小児における影響の方が大きいという結果であった (Grandjean ら、2012) が、曝露状況については不明な点が多い。新生児体重に関しては、血清PFOS濃度との間には負の相関が認められた (Whitworth ら、2012) が、新生児体重の減少の程度は臨床的に意味のある差とは考えら

れなかった。具体的には、喫煙女性から生まれた新生児と非喫煙女性から生まれた新生児体重の差ほど大きいものではなかった。したがって、現時点において疫学調査の結果から適切なキースタディを選定することは困難と考えられた。

PFOS 曝露による免疫反応の低下は、動物実験及びヒトの疫学研究において認められ、Peden-Adams らの実験結果から得られた NOAEL は、動物実験から得られた NOAEL の中でも最も低値であった。しかし、動物実験においては低用量領域での投与による影響についての知見がほとんどないため、キースタディとしては選択せず、Luebker ら (2012) の 2 世代混餌投与試験における NOAEL (0.1 mg/kg/day) を POD (Point of Departure) とし、母動物の平均血清中 PFOS 濃度を PBPK モデルで解析した。なお、90 日間飲水投与試験における NOAEL : 0.09 mg/kg/day (Yu ら, 2009) については、原著に摂水量の情報がなく飲水投与からの PFOS 摂取量(mg/kg/day)の換算が煩雑であり、NOAEL (0.1 mg/kg/day)とほとんど変わらない数値であることから、試験デザインがより明確に示されている Luebker ら (2012) をキースタディとして選定した。

#### PFOA

動物実験によるキースタディ候補を表 12 に、人の疫学によるキースタディ候補を表 13 に示した。動物試験の毒性情報は、亜慢性毒性、慢性毒性、生殖発生毒性(発達神経毒性を含む)、免疫毒性のエンドポイントから候補を選定した。

まず、亜急性毒性としてはラットの 90 日間混餌投与試験において、肝臓パルミトイル CoA オキシダーゼ活性の増加、肝臓の相対重量の増加、肝細胞肥大と壊死が認められ、NOAEL : 0.06 mg/kg b/day が得られている (Perkins ら, 2004)。

慢性毒性影響としては、ラットの 2 年間混餌投与試験において、肝臓重量の増加及び肝臓組織の病変が認められ、NOAEL : 1.3 mg/kg bw/day が得られている (Sibinski, 1987; Mann 及び Frame, 2004)。

生殖発生毒性試験としては、3 つの候補試験があった。

妊娠 C57BL/6/Bk1 マウスの妊娠初日から妊娠期間中に渡って PFOA カリウム塩(96%)を 0

又は 0.3 mg/kg/day で混餌投与し、児が 5-8 週齢時の発達神経毒性影響を調べた結果、0.3 mg/kg/day 投与群の雄の運動量が有意に増加した (Onishchenko ら, 2011)。また、同様の試験方法で投与した妊娠マウスの児(雌)について 13 又は 17 月齢で骨を調べた結果、大腿骨及び脛骨の形態学的な変化が認められ、骨のミネラル密度は低下していた (Koskela ら, 2016)。

CD-1 マウスに、PFOA アンモニウム塩(直鎖 : 98.9%、分岐異性体 : 1.1%)を 0、1、3、5、10、20、40 mg/kg/day の用量で GD1-GD17 まで強制経口投与し GD18 で剖検又は GD1-GD19 まで強制経口投与し出産させた結果、1 mg/kg/day 以上の群の母動物で肝臓の肥大がみられた。40 mg/kg/day 群の全母体で胚吸収、20 mg/kg/day 群で母体の体重増加が有意に低下し、胎児の生存率も有意に低下した。また、5、10、20 mg/kg/day 群の出生児生存率の有意な低下が認められた。児の体重は 3 mg/kg/day 以上で有意に低値であった。最低用量の 1 mg/kg/day の群に児の骨化数減少(雌雄)と性成熟促進(雄)が認められた。(Lau ら, 2006)。

免疫に関するキースタディとしては、マウスに 29 日間強制経口投与した試験で免疫パラメータの低下が認められ、NOAEL : 1 mg/kg bw/day が得られている (Loveless ら, 2008)

ヒトの疫学のキースタディ候補は、EFSA (2018) で BMD 法による用量-反応関係の評価を実施した (i) 血清総コレステロールの増加、(ii) ALT 値の増加、(iii) 出生体重の減少とした。

総コレステロールへの影響については、米国の C8 health project での 18 歳以上の住民 46,294 人を対象とした横断的研究において、高コレステロールのオッズ比は、PFOA の四分位値の増加に伴って、1.00、1.21 (95%信頼区間 (CI) : 1.12~、1.31)、1.33 (95% CI : 1.23~、1.43) 及び 1.40 (95% CI : 1.29~、1.51) と増加を示した (Steenland ら, 2009)。デンマークでの一般中年層 753 人 (男性 663 人、女性 90 人) を対象とした横断研究においても総コレステロールは、PFOA と有意な正の相関を示し、四分位範囲あたり 4.4 mg/dL (95%CI : 1.1~7.8) 高い値を示した (Eriksen ら, 2013)。

ALT への影響については、米国の C8 health project のうち成人 47,092 人を対象とした横断研究において ALT 値に PFOA 濃度との間に正の相関がみられた (Gallo ら, 2012)。



出生時体重への影響については、デンマークの妊娠女性1,400人におけるPFOA濃度と出生時体重が逆相関を示し（調整 $\beta = -10.63$  g ; 95%CI信頼区間：-20.79～から-0.47 g）。ノルウェーの901人の母子コホート研究では、調整後の出生時体重 z スコアは PFOA 濃度と逆相関を示した（ $\beta = -0.21$  (95%CI: -0.45～, 0.04)）（Whitworth ら., (2012a)）。

EFSA (2020) では上記について再評価を行い、総コレステロール及びALTについては因果関係が明らかでないとした。出生時体重の減少については、最近の研究で因果関係が強化されているが、潜在的な長期的影響は不明であるとしている。なお、EFSA (2020) では、ワクチンに対する抗体反応の低下によって示される免疫系への影響について、因果関係が強固であると考えられるとし、PFOA、PFNA、PFHxS、PFOSの血清レベルの合計値と、母乳で育てられた1歳児の血清中のジフテリアに対する抗体価との間の逆相関に基づいて4種のPFASの合計について、TWIを設定している。

ヒトの疫学の情報日々更新されており現時点においてヒトの知見をキースタディに選定することは困難と考えられた。従って本研究では動物実験による試験結果からキースタディを選定した。PFOAの肝臓に対する影響は90日試験でNOAEL : 0.06 mg/kg/day、2年間の試験でNOAEL : 1.3 mg/kg/day が得られている。水道水の汚染による生涯曝露の影響を検討するにあたって、2年間の長期曝露試験がよりふさわしい試験と考えられたため、肝臓に対する長期曝露のNOAELは1.3 mg/kg/dayとした。一方、生殖発生毒性試験としては、妊娠期間の投与で最低用量の1 mg/kg/dayで児に対する影響が認められていることから、LOAELとして1 mg/kg/dayが得られている（Lauら、2006）。最も低いPODが得られた本試験をPFOAのキースタディとした。

## ②PBPKモデルの構築

### PFOS

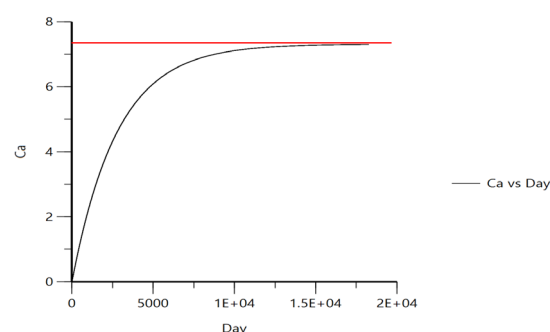
PFOSのキースタディ（Luebkerら2005）の投与日数である84日間の投与に対するPFOSの血中濃度を前述のPBPKモデルで解析した結果、最終日のラット血中濃度は表14の通り計算された。

表14 ラット血中濃度予測結果（84日投与）

投与量	解析結果(mg/L)
0.1 mg/kg/day	13.88951
0.4 mg/kg/day	55.5571
1.6 mg/kg/day	222.2133
3.2 mg/kg/day	444.3864

PODであるNOAEL : 0.1 mg/kg/day投与の84日間の平均血中濃度は7.3 mg/Lと推定された。

ヒトのPBPKモデルを用い、定常状態の血中濃度が7.3 mg/Lとなる外部曝露量を推定した結果（図11）は、約0.0325 mg/dayであり、体重（50 kg）あたりでは0.00065 ( $6.5 \times 10^{-4}$ ) mg/kg/dayであった。



50年のシミュレーション結果

図11 :Loccisano ら(2011)のヒトPBPKモデルを用いたPFOSの解析結果

### PFOA

PFOAのキースタディ（Lauら、2006）の投与日数である17日間の投与に対するPFOAの血中濃度を解析した結果、最終日のマウス血中濃度は表15の通り計算された。

表15 マウス血中濃度予測結果（17日投与）

投与量	解析結果(mg/L)
1 mg/kg/day	63.144232
3 mg/kg/day	147.14598
5 mg/kg/day	178.29629
10 mg/kg/day	202.76985
20 mg/kg/day	220.49693
40 mg/kg/day	238.41527

PODであるLOAEL : 1 mg/kg/day投与の17日間の平均血中濃度は38.9 mg/Lと推定された。

ヒトのPBPKモデルを用い、定常状態の血中濃度が38.9 mg/Lとなる外部曝露量を推定した結果（図12）は、約0.193 mg/dayであり、体重

(50 kg) あたりでは  $0.00385$  ( $3.9 \times 10^{-3}$ ) mg/kg/day であった。

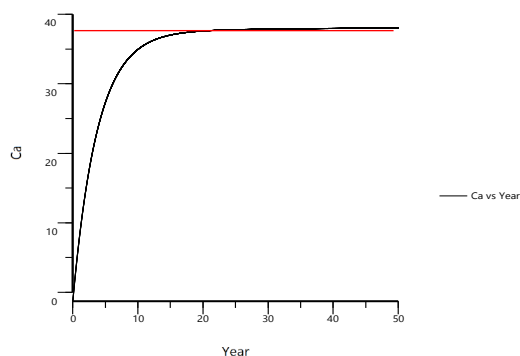


図 12 :Loccisano ら (2011) のヒト PBPK モデルを用いた PFOA の解析結果

#### ① 水道水中の目標値試算

##### PFOS

ヒト等価量は以下の式で算出するため、使用する半減期 ( $t_{1/2}$ ) の値によって値が異なる：

平均血中濃度  $\times$  分布容積  $\times$  ( $\ln 2 \div t_{1/2}$ )。

PFOS のヒト半減期については、職業曝露による Olsen ら (2007) の 5.4 年という情報がある。Loccisano ら (2011) はヒトの PBPK モデルを構築する際に半減期 5.4 年を用いて解析し、実データとのフィッティングは良好であるとしている。しかし、近年、一般集団の飲料水曝露を対象とした半減期の情報としては、1.7 年～3.4 年というより短い推定結果が得られている。特に Xu ら (2020) の推定では、職域の飲料水を通して PFAS を高曝露した集団に対し、飲料水曝露を停止した後の血中濃度追跡調査から半減期を推定し、さらに背景曝露を考慮した上で、直鎖 PFOS の半減期を 1.7 年としている。背景曝露量を考慮した推定結果であることから、この値が PFOS のヒト半減期を示すより適切な値である可能性がある。それぞれの半減期に対しヒト等価量及び参照用量を算出した結果は表 16 の通りであった。

表 16 ヒト等価量及び参照容量算出結果 (PFOS)

情報源	半減期 (年)	ヒト等価量 (mg/kg/day)	参照用量 (mg/kg/day)
Olsen ら (2007) 職業曝露	5.4	$5.9 \times 10^{-4}$	$2.0 \times 10^{-5}$
Li ら (2018) 一般集団	3.4	$9.4 \times 10^{-4}$	$3.1 \times 10^{-5}$
Worley ら (2017) 一般集団	3.3	$9.7 \times 10^{-4}$	$3.2 \times 10^{-5}$
Xu ら (2020) 職域曝露	1.7	$1.9 \times 10^{-3}$	$6.3 \times 10^{-5}$

Olsen ら (2007) 職業曝露	5.4	$5.9 \times 10^{-4}$	$2.0 \times 10^{-5}$
Li ら (2018) 一般集団	3.4	$9.4 \times 10^{-4}$	$3.1 \times 10^{-5}$
Worley ら (2017) 一般集団	3.3	$9.7 \times 10^{-4}$	$3.2 \times 10^{-5}$
Xu ら (2020) 職域曝露	1.7	$1.9 \times 10^{-3}$	$6.3 \times 10^{-5}$

これらのヒト等価量 ( $5.9 \times 10^{-4}$  mg/kg/day から  $1.9 \times 10^{-3}$  mg/kg/day) は、ヒト PBPK モデルで得られた  $6.5 \times 10^{-4}$  mg/kg/day とほぼ同等程度から若干高い値となった。UF : 30 (個体差 : 10、種差 : 3) を適用した時の参照用量は  $2.0 \times 10^{-5}$  mg/kg/day ~  $6.3 \times 10^{-5}$  mg/kg/day と算出された。これらの値の下限は PFOS の暫定目標値案を検討した際に用いた TDI ( $20$  ng/kg/day) と同値であり、現在の暫定目標値 [TDI (ng/kg/day)  $\times$  体重  $\times$  水道水の割当率 / 一日当たり摂水量 (L/day) =  $20 \times 50 \times 0.1/2 = 50$  (ng/L)] を支持する結果となった。なお、Xu ら (2020) の半減期を用いた場合の目標値は、 $[63 \times 50 \times 0.1/2 = 157.5$  (ng/L)] となる。しかしながら、近年ヒトの疫学調査から、より低い濃度による毒性影響の報告もあることから、ヒトの疫学情報を加味して目標値の妥当性を今後検討していく必要があると考えられた。また、用いる半減期に応じて計算結果が異なることから、ヒトの半減期についてより正確な情報が得られることにより、より精度の高い目標値の導出が可能となることが示唆された。

##### PFOA

PFOA のヒトの半減期については多くの推定値が報告されており、0.5 年～14.9 年という結果が得られている。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。Loccisano ら (2011) は、ヒトの PBPK モデルを構築する際に上述 2 つの半減期で比較検討を行っており、3.8 年で推定すると血中濃度が過大評価になるとしている。最も高い半減期を推定している Yeung ら (2013ab) は、調査対象者に PFOA や PFOA の前駆物質の曝露が別にあったのではないかと論じている。一方、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 0.5 年と推定されている (Mikkonen ら., 2020)。Xu ら (2020)によれば、職域の飲料水を通して PFAS を高曝露した集団に対し、背景曝露量を考慮して推定すると PFOA の半減期は 1.5 年になるとの報告もある。背景曝露量を考慮していることから、1.5 年が PFOA のヒト半減期を示すより適切な値である可能性がある。代表的な半減期に対し、それぞれのヒト等価量及び参照用量を算出した結果は表 17 の通りであった。

表 17 ヒト等価量及び参照容量算出結果 (PFOA)

情報源	半減期 (年)	ヒト等価量 (mg/kg/day)	参照用量 (mg/kg/day)
Yeung ら (2013ab) 一般集団	14.9	$8.4 \times 10^{-4}$	$2.8 \times 10^{-6}$
Olsen ら (2007) 職業曝露	3.8	$3.3 \times 10^{-3}$	$1.1 \times 10^{-5}$
Bartell ら (2010) 一般集団	2.3	$5.5 \times 10^{-3}$	$1.8 \times 10^{-5}$
Xu ら (2020) 職域曝露	1.5	$8.4 \times 10^{-3}$	$2.8 \times 10^{-5}$
Dourson(2021) 臨床データ Elcombe ら (2013)	0.5	$2.5 \times 10^{-2}$	$8.4 \times 10^{-5}$

ヒト等価量は使用する半減期のデータによって  $8.4 \times 10^{-4} \sim 2.5 \times 10^{-2} \text{ mg/kg/day}$  と算出され、約 30 倍の差があった。UF : 300 (個体差 : 10、種差 : 3、LOAEL の使用 : 10) を適用した時の参照用量は  $2.8 \times 10^{-6} \text{ mg/kg/day} \sim 8.4 \times 10^{-5} \text{ mg/kg/day}$  と算出された。PFOA の暫定目標値案を検討した際に用いた TDI ( $20 \text{ ng/kg/day}$ ) は、Bartell ら (2010) の半減期を用いて算出しており、我々の計算結果もほぼ同値 ( $18 \text{ ng/kg/day}$ ) となった。一般集団による飲料水摂取による曝露からの推定という点において Bartell ら (2010) の半減期を採用することは適切であると考えられた (我々の解析結果を用いた時、目標値は  $18 \times 50 \times 0.1/2 = 45 \text{ (ng/L)}$ )。一方、背景曝露を考慮した Xu ら (2020) の半減期を採用すると、若干高い参照用量が得られることになり、目標値は、 $[28 \times 50 \times 0.1/2 = 70 \text{ (ng/L)}]$ となる。いずれにしても現行の暫定目標値を概ね支持する結果となった。しかしながら、PFOA と同様に

ヒトの疫学情報を加味して目標値の妥当性を今後検討していく必要があると考えられ、またヒトの半減期についてより正確な情報が得られることにより、より精度の高い目標値の導出が可能となることが示唆された。

#### D. 引用文献

##### 揮発性を考慮したベンゼン、ジクロロメタン、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) USEPA, 2002. *Toxicological review of benzene*
- (5) Rinsky, 1989. *Environ. Health perspectives*, 82, 189-192
- (6) WHO, 2003. *Benzene in drinking water*
- (7) USEPA、 2010. *Toxicological review of carbon tetrachloride*;
- (8) USEPA、 2011. *Toxicological review of dichloromethane*;
- (9) McHale et al., 2012. *Carcinogenesis*, 33(2), 240-252
- (10) 伊藤ら, 2010. 飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究
- (11) 厚労省, 2003. 水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法
- (12) 環境省, 2018. 大気汚染物質測定方法マニュアル
- (13) Ohno et al., 2018. *J. Water and Health*, 16(4), 562-573
- (14) 総務省, 2018. 日本の統計
- (15) McKone and Knezovich、 1991. *J. Air Waste Manage. Assoc.*、 41、 832-837.
- (16) McKone、 1987. *Environ. Sci. Technol.*、 21(12)、 1194-1201;
- (17) Hayduk and Laudie、 1974. *AIChE. J.*、 20(3)、 611-615;
- (18) Tucker and Nelken、 1990. *Diffusion coefficients in air and water*;
- (19) Wilke and Lee、 1955. *Ind. Eng. Chem. Res.*、

47(6)、1253-1257;

(20) 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;

(21) Ohno *et al.*、2018. *J. Water and Health*、16(4)、562-573;

(22) 総務省、2018. 日本の統計

(23) McKone, 1987. *Environ. Sci. Technol.* 21, 1194-1201

### 関心の高い物質(PFOA 及び PFOS)の毒性情報整理と目標値の導出

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

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.

Dourson M, Gadagbui B. The Dilemma of perfluorooctanoate (PFOA) human half-life. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2021 Nov;126:105025.

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

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>.

FSANZ : Hazard assessment report – Perfluorooctane Sulfonate (PFOS)、Perfluorooctanoic Acid (PFOA)、Perfluorohexane Sulfonate (PFHxS)  
<https://www1.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/2200FE086D480353CA2580C900>

817CDC/\$File/6.sd1-Hazard-assessment-report.pdf

Li Y, Fletcher T, Mucs D, Scott K, Lindh CH, Tallving P, Jakobsson K. Half-lives of PFOS, PFHxS and PFOA after end of exposure to contaminated drinking water. *Occup Environ Med.* 2018 Jan;75(1):46-51.

Loccisano AE, Campbell JL Jr, Andersen ME, Clewell HJ 3rd. Evaluation and prediction of pharmacokinetics of PFOA and PFOS in the monkey and human using a PBPK model. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2011 Feb;59(1):157-75.

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.

Worley RR, Moore SM, Tierney BC, Ye X, Calafat AM, Campbell S, Woudneh MB, Fisher J. Per- and polyfluoroalkyl substances in human serum and

urine samples from a residentially exposed community. Environ Int. 2017 Sep;106:135-143.

Xu Y, Fletcher T, Pineda D, Lindh CH, Nilsson C, Glynn A, Vogs C, Norström K, Lilja K, Jakobsson K, Li Y. 2020. Serum Half-Lives for Short- and Long-Chain Perfluoroalkyl Acids after Ceasing Exposure from Drinking Water Contaminated by Firefighting Foam. Environ Health Perspect. 28:7

Yeung LWY, Robinson SJ, Koschorreck J, Mabury SA, 2013b. Part II. A Temporal Study of PFOS and Its Precursors in Human Plasma from Two German Cities in 1982– 2009. Environmental science & technology 47, 3875–3882.

Yeung LWY., Robinson SJ, Koschorreck J, Mabury SA, 2013a. Part I. A 8.. Environ. Sci. Technol. 47, 3865–3874.

食品安全委員会：リスク評価書  
(<https://www.fsc.go.jp/hyouka/>)

米国 EPA：Drinking Water Health Advisories for PFOA and PFOS (<https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/drinking-water-health-advisories-pfoa-and-pfos>)

## F. 結論

### 1. 揮発性を考慮したベンゼン、ジクロロメタン、四塩化炭素の水道水質基準値の評価

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

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 超過の曝露シナリオは7%と低かったが、今後より精緻な曝露評価が期待される。

### 2. 水道汚染物質の亜急性評価値に関する研究

亜急性評価値に関する研究では、水道水質基準項目のうち無機化合物 6 項目短期間曝露を対象とした saRfD を用いて亜急性参照値を算出した結果、3 項目（カドミウム、セレン、水銀）については生涯曝露を対象とした基準値に対し 3～10 倍以上高い値として設定できた。一方、ヒ素、鉛及び六価クロムについては、亜急性参照値は基準値と同値とし、最終的に 6 項目について、短期的な水道水質汚染が生じた際に参考とすべき参

照値 (mg/L) を提案することができた。これらの値は汚染物質濃度が一時的に基準値を超えた際の、緊急的な判断材料として非常に有用であると考えられる。

### 3. 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。

### 4. 関心の高い物質(PFOA 及び PFOS)の毒性情報整理と目標値の導出

令和元年度には、国内外で関心の高い有害物質として、PFOA 及び PFOS のついて最近の国際評価について情報を収集した。収集した毒性情報は評価値導出のために有用な情報となると考えられた。

令和2年度には、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。

令和3年度には水道水中の目標値試算を行った。PFOS 及び PFOA の POD (PFOS : 0.1 mg/kg/day 及び PFOA : 1 mg/kg/day) に対する内部曝露量をヒト等価量に換算した結果、使用するヒトの半減期の値に応じて、PFOS :  $5.9 \times 10^{-4}$  mg/kg/day  $\sim 1.9 \times 10^{-3}$  mg/kg/day 及び PFOA :  $8.4 \times 10^{-4}$  mg/kg/day  $\sim 2.5 \times 10^{-2}$  mg/kg/day となっ

た。これらの値を用いて参照用量を計算すると PFOS:  $2.0 \times 10^{-5}$  mg/kg/day ~  $6.3 \times 10^{-5}$  mg/kg/day、PFOA:  $2.8 \times 10^{-6}$  mg/kg/day ~  $8.4 \times 10^{-5}$  mg/kg/day となった。現状で得られるヒトの半減期の値を用いて水道水中の目標値を試算すると PFOS: 50~158 ng/L、PFOA: 7~210 ng/L となり、我々の研究結果により PFOS 及び PFOA の現在の暫定目標値を含む範囲の目標値となることが示された。しかしながら、今後半減期や疫学情報などのヒトにおける知見が集積される事によって、より精度の高い目標値の算出が可能となると考えられた。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
該当なし

2. 学会発表

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

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

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）

松本真理子、村田康允、広瀬望、重田善之、磯貴子、広瀬明彦：水道水要検討項目「酢酸ビニル」の有害性評価 第48回日本毒性学会学術年会（2021年、7月）

村田康允、重田善之、磯貴子、広瀬望、松本真理子、広瀬明彦：水道水要検討項目「ブロモジクロロ酢酸」の有害性評価 第48回日本毒性学会学術年会（2021年、7月）

Mariko Matsumoto, Yasumasa Murata, Nozomu Hirose, Yoshiyuki Shigeta, Takako Iso, Akihiko Hirose: Hazard assessment of disinfection by-products, bromo chloroacetic acid and bromo dichloroacetic acid, in drinking water 56<sup>th</sup> EUROTOX（2021年、9月）

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

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

表6 成人及び小児の亜急性参照値及び目標値との比較

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

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

\*基準値導出に用いられた割当率：60%

表7 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 <sub>10</sub>	2.13	-	VSD $10^{-5}$	$2.13 \times 10^{-4}$	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 <sub>10</sub>	230	1000	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 <sub>10</sub>	3.27	-	VSD $10^{-5}$	$3.27 \times 10^{-4}$	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 <sub>10</sub>	2.83	-	VSD $10^{-5}$	$2.83 \times 10^{-4}$	0.01

表 8 PFOA の国際評価概要

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

表 9 PFOSの国際評価概要

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



表 10 PFOS 動物試験のキースタディ候補

試験デザイン	動物種	NOAEL・LOAEL (mg/kg/day)		毒性所見 (LOAEL)	文献
28 日間混餌投与	ラット	NOAEL	0.37	肝比重量増加	Seacat et al.,2003
28 日間経口投与	ラット	NOAEL	0.14	肝絶対及び比重量増加、血清 T4 値減少	Cuuran et al.,2008
14 週間混餌投与	ラット	NOAEL	0.34	肝絶対及び比重量増加、血清コレステロール値減少 (雄)、血液尿素窒素増加	Seacat et al.,2003
90 日間飲水投与	ラット	NOAEL	0.09	肝絶対及び比重量増加、血清 T4 値減少	Yu et al.,2009
182 日間カプセル経口投与試験	サル	NOAEL	0.15	体重増加抑制 (雄) 肝絶対及び比重量増加、斑状肝 (mottled livers?) 血清 T3 値減少、血清コレステロール値減少	Seacat et al.,2002
2 年間混餌投与	ラット	NOAEL	0.024	血液尿素窒素増加、小葉中心性肝細胞肥大	Butenhoff et al.,2012
2 世代混餌投与	ラット	NOAEL	親 : 0.1 繁殖 0.4 児 : 0.1	親 : 脱毛、体重増加抑制及び摂餌量減少 繁殖 : 妊娠期間延長 児 : 低体重	Luebker et al.,2005
妊娠 1-17/18 日経口投与	マウス	NOAEL LOAEL	母 : 1 胎児 : 1	母 : 肝絶対重量増加 胎児 : 胸骨欠損	Yahia et al.,2008
妊娠 1-14/18 日経口投与	マウス	NOAEL	母 : 13 胎児 : 13	母 : 肝臓重量増加 胎児 : 口蓋裂	Era et al., 2009
妊娠期間～哺乳期経口投与	ラット	NOAEL	児 : 0.1-0.3	自発運動増加及び馴化低下	Butenhoff et al.,2009
28 日間経口投与	マウス	NOAEL	0.000166	抗体反応低下	Peden-Adams et al., 2008

表 11 PFOS 疫学研究のキースタディ候補  
BMD 法による用量-反応関係の評価結果 (EFSA (2018) の引用)

ヒト影響 (エンドポイント)	BMD <sub>5</sub> (ng/mL)	BMDL <sub>5</sub> (ng/mL)	集団のサイズ (コホート)	文献
総コレステロール	27	25	46,294 (C8 health project)	Steenland et al. (2009)
	31	22	753 (Danish cohort, 1996–2002)	Eriksen et al. (2013)
	31	21	860 (NHANES)	Nelson et al. (2010)
小児におけるワクチン接種後の抗体反応	11.6	10.5	431 (Faroese birth cohort 1997–2002)	Grandjean et al.(2012)
出生時体重	36	21	901 (Norwegian mother and child cohort)	Whitworth et al. (2012)

表 12 PFOA 動物試験のキースタディ候補

試験デザイン	動物種	NOAEL・LOAEL (mg/kg/day)		毒性所見	文献
90 日間混餌投与	ラット	NOAEL	0.06	肝臓パルミトイル CoA オキシダーゼ活性の増加、肝臓の相対重量の増加、肝細胞肥大と壊死	Perkins et al., 2004
2 年間混餌投与	ラット	NOAEL	1.3	肝臓重量の増加及び肝臓組織の病変	Sibinski, 1987; Mann and Frame, 2004
妊娠 1 日-17 日 強制経口投与	マウス	LOAEL	1	発育障害(骨化)	Lau et al., 2006
妊娠期間 混餌投与 (一用量試験)	マウス	LOAEL	0.3	仔(雄)で自発運動の増加	Onishchenko et al., 2011
妊娠期間 混餌投与 (一用量試験)	マウス	LOAEL	0.3	大腿骨及び脛骨の形態学的な変化、骨ミネラル密度低下	Koskela et al., 2016
29 日強制経口投与	マウス	NOAEL	1	免疫パラメータの低下	Loveless et al., 2008

表 13 PFOA 疫学研究のキースタディ候補  
BMD 法による用量-反応関係の評価結果 (EFSA (2018) の引用)

ヒト影響 (エンドポイント)	BMD <sub>5</sub> (ng/mL)	BMDL <sub>5</sub> (ng/mL)	集団のサイズ (コホート)	文献
総コレステロール	12 (b)	9.4 (b)	46,294 (C8 health project)	Steenland et al. (2009)
	12.4	9.2	753 (Danish cohort, 1996–2002)	Eriksen et al. (2013)
アラニントランス フェラーゼ(a)	80	21	47,092 (C8 health project)	Gallo et al. (2012)
出生時体重	14.5	10.6	1,400 (Danish national birth cohort 1996–2002)	Fei et al. (2007)
	4.4	4.0	901 (Norwegian mother and child cohort)	Whitworth et al. (2012a)

(a): BMD<sub>3</sub>、BMDL<sub>3</sub>を適用

## 令和元年-3 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 生活衛生化学部
	土屋裕子	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部
	吉田 仁	地独) 大阪健康安全基盤研究所 衛生化学部
	安達史恵	地独) 大阪健康安全基盤研究所 衛生化学部
	小池真生子	地独) 大阪健康安全基盤研究所 衛生化学部
	長谷川有紀	地独) 大阪健康安全基盤研究所 衛生化学部
	鈴木俊也	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	木下輝昭	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	小杉有希	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	飯田春香	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	山崎貴子	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	渡邊喜美代	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	栗田 翔	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	小田智子	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	坂田 脩	埼玉県衛生研究所
	渡邊弘樹	埼玉県衛生研究所
	今井浩一	埼玉県衛生研究所
	清野弘孝	埼玉県衛生研究所
	橋本博之	千葉県衛生研究所
	豊崎 緑	千葉県衛生研究所
	神力絢子	千葉県衛生研究所
	上村 仁	神奈川県衛生研究所 理化学部
	仲野富美	神奈川県衛生研究所 理化学部
	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
	坂本晃子	佐賀県衛生薬業センター
	北原健一	佐賀県衛生薬業センター
	門上希和夫	北九州市立大学 環境技術研究所
	寺中郁夫	埼玉県水質管理センター
	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 技術検査部

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

## 研究要旨

水質分析法に関する研究として、水質分析をより簡便・迅速かつ高精度に分析できる新規分析法を開発するとともに、平常時および異常発生時の簡便かつ網羅的な水質スクリーニングを行うことができる分析手法について検討した。また、これらの分析法の妥当性評価を行うとともに、水道事業者、地方衛生・環境研究所および保健所に普及させることで、水質検査に関わる機関の分析技術の向上と水質監視体制の強化を図ることを目的とした。令和元年～3年度は、主として以下の研究を実施した。

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

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) を用いて農薬スクリーニング分析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。

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、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。

GC/MS ターゲットスクリーニング分析用の検量線データベースをメーカーが異なる 2 台の装置で合計 7 回作成し、各農薬の検量線の傾きや、それらの検量線から得られる定量値を相互に比較した。各農薬の検量線の傾きを比較した結果、いずれの装置でも各農薬と保持時間が最も近い内標を用いて作成した検量線が、複数回の測定で最も再現性が良かった。また、装置の移設前後および移設後に繰り返し測定して作成した検量線を比較した結果、移設後に繰り返し測定して作成した検量線の方が良好な再現性が得られたことから、検出感度等の装置状態を一定に保つことで、良好な定量精度が得られることが分かった。各農薬の検量線の定量下限における定量値を比較した結果、同一の装置で作成した検量線データベースを用いた場合は、ほとんどの農薬が 5 倍以内の定量誤差で測定できることが分かった。これらの結果から、水道水に含まれる農薬を広く検索し、検出農薬の目標値の超過を評価す

るための手法として、GC/MS ターゲットスクリーニング分析法は有用と考えられた。定量誤差の要因として装置感度の変化が考えられたことから、ターゲットスクリーニング分析法を水道水試料に適用する際には、検量線データベース作成時と同様に良好な装置感度を保つことが重要であると考えられた。

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。このことより、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。

LC-QTOFMS を用いたスクリーニング分析法の実試料による定量精度の評価を行った。その結果、スクリーニング分析法で実試料から同定された 74 種の農薬類の約 86% が 0.50 以上～2.00 以内の濃度比で分析可能であることがわかった。したがって、LC-QTOFMS を用いたスクリーニング分析法は検査対象とする農薬の選定や検出オーダーの把握に非常に役立つことがわかった。ただし、定量誤差が大きかった農薬類も存在したことから、これらの農薬類については引き続きの改良とその結果の取り扱いに注意が必要である。

揮発性有機化合物（VOC）25 成分を対象に、ヘリウム代替キャリアーガスとして窒素を用いた揮発性有機化合物の分析条件について検討した結果、ヘリウムガスと比べて全体的に数倍の感度低下が見られたものの、水質基準項目に含まれる VOC については、水質基準の 1/10 の定量下限を確保し、妥当性評価ガイドラインに示されている真度・併行精度の目標を満たした。

## A. 研究目的

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

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<sup>1)</sup>、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る、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。

これまでに我々は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大きくなく、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<sup>2-4)</sup>。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。

ターゲットスクリーニング分析では、データベース登録に用いた装置と試料の分析に用いる装置が異なる場合、分析対象物質と内部標準物質(内標)との感度比の違い等によって定量誤差が生じる。また、同一装置であっても使用に伴う汚れの蓄積等による装置状態の変化によってマススペクトルや検量線の傾きが変化することから、データベース登録時と分析時の装置状態の違いによって定量誤差が生じる可能性がある。そこで本報では、前報と同じ2台の装置で同一の標準品およびGC/MS分析条件を用いて、2017年から2021年にかけて検量線データベースを何回か作成し、検量線の傾きや定量値にどの程度の差が見られるかを評価した。

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、モニターイオン、保持時間および検量線情報からなる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水道原水、浄水および河川水の実試料への適用を試み、その有用性について検証を行った。さらに、定量精度を向上させるためにデータベースに登録された検量点の再構築を実施し、LC-QTOFMS による農薬類スクリーニング法の定量精度を実試料により評価した。

また、近年、GC/MS のキャリアーガスおよびページ・トラップ (PT) のページガスに用いるヘリウムガスの供給不足による価格の高騰や出荷の制限が続いており、入手が困難になっている。従来、GC/MS のキャリアーガスとしてはヘリウムが最適であると言われていることから、ヘリウムガスの使用が一般的であったが、上記の理由によりヘリウムの使用量削減のニーズが高まっている。水質基準項目の中で、揮発性有機化合物 (VOC) 14 成分と、カビ臭物質 (ジェオスミンおよび 2-MIB) については、GC/MS による検査方法のみが告示法として示されているため、特にこれらの 2 項目に関しては、ヘリウムガスの使用量を削減して GC/MS により検査を行うことが求められている。以上の背景から、ヘリウム代替キャリアーガスとして窒素を用いた揮発性有機化合物の分析条件について検討した。

## B. 研究方法

### 1. 陰イオン類の LC/MS/MS 分析法の開発

#### 1. 1. 対象物質

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

#### 1. 2. 分析条件の検討

本検査法は、採水した水道水を前処理せずに LC/MS(MS) に導入して陰イオン類を測定する。水道水には塩化物や硫酸イオン等が検査対象物質と比べて高濃度に含まれている場

合があるため、検査対象物質とこれらの陰イオン類が適切に分離できないと、イオン化阻害により精度よく測定できない可能性がある。そこで本検査法では、陰イオン交換モードと逆相モードの両方の特性を持つミックスモードカラムを用いて、各陰イオン類を分離する条件を検討した (表 1, 図 1)。

### 1. 3. バリデーション試験の実施

バリデーション参加機関は、国立衛研が作成した SOP に従い、各機関が採水した水道水を EDA あるいはチオ硫酸ナトリウムで脱塩素処理した後、塩素酸、硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、亜塩素酸、過塩素酸、臭素酸をそれぞれ基準値・目標値および基準値・目標値の 1/10 となるように標準液を添加して、表 1 の測定条件を参考に設定した最適条件で測定した (硝酸のみ基準値 (10 mg/L) が他の陰イオンと比べて高いため、基準値の 1/100 と 1/10 で試験した)。試験は 5 併行で実施し、水道水に含まれる他の陰イオン類 (塩化物および硫酸イオン) とのピーク分離を確認するとともに、各物質、各添加濃度の真度および併行精度を評価した。

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

### 2. 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

#### 2. 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。

## 2. 2. 分析法

### 2. 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  $\mu$ 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  $\mu$ L をバイアルに採り、ジクロロメタン 900  $\mu$ 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  $\mu$ L をバイアルに採り、ジクロロメタン 900  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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。

### 2. 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- $d_{10}$ 、9-ブロモアントラセンおよびクリセン- $d_{12}$  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  $\mu$ 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 2 に示す。

### 2. 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 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。

## 3. GC-MS スクリーニング分析法のバリデーション試験

### 3. 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 (図 2)。

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。

### 3. 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。

### 3. 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。

## 4. GC/MS ターゲットスクリーニング分析法による水道水中農薬の定量精度の評価

### 4. 1. 対象物質

これまでと同様に、水道水質検査の対象としてリストアップされている対象農薬リスト掲載農薬類（114種）、要検討農薬類（17種）、その他農薬類（86種）および除外農薬類（19種）に加え、これらの農薬の異性体・オキソン体等23種を加えた合計259農薬のうち、GC/MSでイオン化でき、標準品が入手可能であった172農薬を本研究の対象とした。また、内標として、前報と同様にアントラセン-d10、9-ブロモアントラセン、クリセン-d12の3物質を用いた。これら3種類の内標は、厚生労働省から通知されている農薬のGC/MS一斉分析法である別添方法5に使用が記載されているため、通知法にしたがって前処理を行なった試料にGC/MSスクリーニング分析法が適用できるようにした。

### 4. 2. 標準物質・試薬

各農薬の標準品は残留農薬試験用（富士フィルム和光純薬）を用い、内標の標準品は水質試験用の3種混合内部標準液（各100µg/mLジクロロメタン溶液、富士フィルム和光純薬）を用いた。ジクロロメタンは残留農薬・PCB試験用（富士フィルム和光純薬）を、精製水はミリ-Q SP standard（Merck）で水道水を精製したものを使用した。

### 4. 3. 検量線標準試料の調製

各農薬の標準品10mgを秤量して別々の10

mLメスフラスコに採り、ジクロロメタンで定容して各農薬の標準原液（1000mg/L）を調製した。この100µLを同一の10mLメスフラスコに採り、ジクロロメタンで定容して農薬混合標準液（各農薬10mg/L）を調製した。この一定量をGC/MS測定用バイアルに段階的に採り、内標とジクロロメタンを添加して各農薬濃度が0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1、2mg/Lの8段階、各内標濃度がいずれも0.1mg/Lの検量線標準試料を調製した。

### 4. 4. 検量線データベースの作成

検量線標準試料のGC/MS分析にあたっては、前年度で確立した分析条件（表4）を使用した。この条件は門上らの研究を参考として各温度条件等を設定したものであり、GCカラムは水質検査で汎用的に使用されているDB-5ms（30m×0.25mm×0.25µm, Agilent）を用い、カラムオープンの昇温は、著者らのこれまでの農薬分析例を基に、分析時間を30分以内に抑えつつ、分析対象とした農薬のピーク形状が概ね良好で、各ピークが適度に分離できる条件を設定した。

上記の分析条件を用いて、GC/MS-QP2010 Plus（島津製作所）およびJMS-Q1050GC（日本電子）の2台の装置でそれぞれ検量線標準試料を分析し、各農薬の検量線データベースを構築した。分析の直前にそれぞれの装置でオートチューニングを行い、低濃度の検量線標準試料から順番に分析した。1回の検量線データベースの作成につき、各濃度の検量線標準試料は3回繰り返し分析した。定量イオンは前年度に決定したのを用い、各農薬の定量イオンのピーク面積と3種類の内部標準物質それぞれの定量イオンのピーク面積との比の平均値を用いた内部標準法により検量線を作成した。各農薬の検量線の濃度範囲は、測定した検量線標準試料のうち十分なSN比でピークが確認された最低濃度を検量線の下限とし、各検量点の真度が50%～200%の範囲内に収まる最高濃度を検量線の上限として設定した。

前年度と同様に、異性体が存在する農薬については下記のように検量線を作成した。標準品が異性体混合物であるため各異性体の濃度が明確ではない、あるいは異性体のピークが完全には分離しなかったインダノファン、

フェリムゾン, 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, プロパルギット (BPPS) は, 各異性体のピーク面積を合計して各農薬で1本の検量線を作成した。一方, 各異性体の濃度が明確な標準品を使用し, ピークが分離した  $\alpha$ -エンドスルファン,  $\beta$ -エンドスルファン, オリサストロビン, (5Z)-オリサストロビン, (E)-ジメチルビンホス, (Z)-ジメチルビンホス, (E)-ピリミノバックメチル, (Z)-ピリミノバックメチル, *cis*-ペルメトリン, *trans*-ペルメトリンは, 異性体毎に検量線を作成した。

検量線は 2017 年にそれぞれの装置で作成し, GCMS-QP2010Plus では 2018 年に 1 回, JMS-Q1050GC では 2018 年に 2 回と 2019 年と 2021 年にそれぞれ 1 回, 同一の手法により検量線データベースを作成した (表 5)。なお, 2018 年に研究所の移転に伴う装置の移設があり, 2018 年以降に作成した検量線データベースは装置の移設後に分析したものである。移設時には装置の保守 (オーバーホール) を行い, イオン源やレンズ系の洗浄を行った。また, JMS-Q1050GC では 2019 年のデータベース作成前にも同様の保守を行った。GC の注入口ライナーは吸着に最も影響する部分であるため, 両装置とも不活性処理されたガラス製のウール入り注入口ライナーを使用し, 毎回, 新品に交換して分析を行った。なお, 検量線データベースの作成期間を通じて, 両装置データベース作成以外には水道原水・水道水試料 (年間で最大約 200 試料) の分析のみに使用し, マトリックスの多い試料や高濃度の農薬試料の分析等には使用していない。作成した検量線データの解析にあたっては, 全農薬について 3 種類いずれかの 1 つの内標を用いて検量線を作成した場合と, 農薬毎に保持時間あるいは  $m/z$  が最も近い内標で検量線を作成した場合の 5 通りの検量線を比較した。

#### 4. 5. 解析方法

作成した検量線データベースの定量誤差を評価するために, 以下の 2 種類の解析を適用した。最初に, 各農薬の検量線の傾きをデータベース間で相互に比較した。試料のクロマト

グラムから得られた各農薬のピーク面積比が検量線の切片と比べて十分に大きな値であれば, 検量線の傾きによって定量値が決まるため, 検量線の傾きを比較することで, その検量線から得られる定量値を比較できると考えられる。一方, 得られたピーク面積比が小さい場合は, 検量線の切片の値も定量値に影響を与えるため, 検量線の傾きを比較するだけでは定量精度の評価として不十分である。そこで次に, 各農薬について, 比較する検量線の下限濃度の最大値に相当するピーク面積比が得られた場合に, 各検量線から得られる定量値を相互に比較した (図 3)。

### 5. 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

#### 5. 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 216 種の農薬類を選定した。そのうち殺菌剤が 44 種, 殺虫剤が 68 種, 除草剤が 73 種, 代謝産物が 25 種およびその他が 6 種であった。

また, データベースへの追加および再構築時は対象農薬リスト掲載農薬類 86 種, 要検討農薬類 11 種, その他農薬類 69 種, 除外農薬類 10 種, 農薬類の代謝産物 22 種, 構造異性体 1 種および水道水質分野において厚生労働省がリストアップしていない農薬類 18 種の計 217 物質を測定対象物質とした。そのうち, 殺虫剤 74 種, 殺菌剤 37 種, 除草剤 77 種, 植物成長調整剤 6 種, 代謝産物 22 種および異性体 1 種であった。

#### 5. 2. 分析法

##### 5. 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 Chemicias 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- $d_6$  (CDN Isotopoe Inc.), Methomyl- $d_3$  (林純薬), Carbendazim- $d_4$  (CDN Isotopoe Inc.), Primidicarb- $d_6$  (シグマアルドリッチ), Imazalil- $d_5$  (林純薬)

および Ethofenprox-d<sub>5</sub> (林純薬) を使用した。メタノールを用いて Carbendazim-d<sub>4</sub> 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。

### 5. 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。

データベースへの追加および再構築用の標準溶液として, 混合標準液, 標準原液および混合内部標準液をメタノールに混合し, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 ng/mL に調製したものを使用した。

### 5. 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 6 に示す。

### 5. 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。

### 5. 4. 前処理方法

試料の前処理方法は Kadokami らの方法に従った<sup>9)</sup>。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。

### 5. 5. データベースの構築

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  $[M+NH_4]^+$  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。

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。

検量線は機器分析用試料中の量として 0.1, 1, 10, 100, 1000 ng と公比 10 で作成した。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。

### 5. 6. データ解析

実試料の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<sup>9)</sup>。

### 5. 7. データベースへの農薬類の追加と検量線情報の再構築

スクリーニング法の定量精度向上を目的に、データベースにおける検量線情報の再構築を行った。

機器分析用試料中の量として 0.1, 1, 10, 100, 1000 ng と公比 10 で作成していた検量線作成用の標準液を 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 ng と公比 2~2.5 に変更して再測定を実施した。

次に、各成分においてピークが検出された最小濃度から 1 次式で整理し、各標準液を検量線により定量した量が調製量の 80~120% 以内に収まる範囲で検量線を作成した。各成分の直線性範囲により複数の検量線を作成し、検量線情報をデータベースに再登録した。

本分析法における定量下限値は、検量線の最小量から濃縮倍率を除いて算出した。

## 6. 実試料を用いた LC-QTOFMS による農薬類スクリーニングの定量精度の評価

### 6. 1. 試料

実試料として、2021 年 6 月から 9 月にかけて、川崎市上下水道局、横須賀市上下水道局、大阪市水道局、千葉県薬剤師会検査センター、三重県環境保全事業団、岐阜県公衆衛生検査センター、熊本県立大学、東京都健康安全研究センター、佐賀県衛生薬業センター、神奈川県衛生研究所、千葉県衛生研究所、埼玉県衛生研究所および大阪健康安全基盤研究所、の計 13 機関により採水された河川水試料 106 検体を本研究に使用した。試料はガラス製容器に採水し、冷蔵して大阪健康安全基盤研究所に送付した。

### 6. 2. 前処理方法

前処理方法は 5. 4. と同様に行った。

### 6. 3. ターゲットスクリーニング分析法の評価

標準溶液 (0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 ng) と実試料を LC-QTOFMS を用いて 5. 2. 3. の条件で測定した。

得られたデータと再構築したデータベースを用いて実試料における農薬類 217 種の同定および定量を実施した。定量の際は、検出された量が検量線の範囲内に収まるようにデータベース内の検量線を選択した。ただし、定量値がデータベース内の検量線の上限を超過した場合は、外挿にて算出した。

また、データベースにより同定された農薬類においては、測定用試料と同時に測定した標準溶液により作成した検量線を用いて再定量を行った。標準溶液による再定量の際、検出された量が検量線の範囲に収まるように 4 点以上の検量点で作成した検量線を用いて定量した。ただし、定量値が標準溶液の上限を超過した場合は、定量値を外挿にて算出した。

データベースを用いたスクリーニング分析法による定量値 ( $C_{DB}$ ) の定量精度の検証を以下の様に実施した。実試料 106 地点のうち、2 地点以上から検出された農薬類においては、横軸に検量線による定量値 ( $C_{CC}$ )、縦軸に  $C_{DB}$  にプロットした散布図を作成し、最小二乗法により傾き (回帰係数) を求め、 $C_{DB}$  の  $C_{CC}$  に対する定量精度を評価した。回帰係数の値は、 $C_{CC}$  が 1 増加したときに  $C_{DB}$  がどれだけの割合で変化するかを示す。すなわち、回帰係数は濃度比とすることができ、回帰係数が 1 に近いほど  $C_{DB}$  は  $C_{CC}$  に類似した値を示すと評価した。1 地点から検出された農薬類においては、 $C_{CC}$  に対する  $C_{DB}$  の比を算出した。この比が 1 に近いほど  $C_{DB}$  が  $C_{CC}$  に対して濃度比が小さいと評価した。

## 7 ヘリウム代替キャリアーガスを用いた揮発性有機化合物の分析条件の検討

### 7. 1 対象物質

以下の 25 種類の VOC を本研究における対象物質とした。

1,1-ジクロロエチレン、ジクロロメタン、trans-1,2-ジクロロエチレン、t-ブチルメチルエーテル (MTBE)、cis-1,2-ジクロロエチレン、クロロホルム、1,1,1-トリクロロエタン、四塩

化炭素(テトラクロロメタン), ベンゼン, 1,2-ジクロロエタン, トリクロロエチレン, 1,2-ジクロロプロパン, ブロモジクロロメタン, cis-1,3-ジクロロプロペン, トルエン, trans-1,3-ジクロロプロペン, テトラクロロエチレン, ジブロモクロロメタン, o-キシレン, トリブロモメタン(ブロモホルム), 1,4-ジクロロベンゼン(p-ジクロロベンゼン), 1,4-ジオキサン, p-キシレン, m-キシレン, 1,1,2-トリクロロエタン

また, 内部標準物質として, 告示法に記載されているフルオロベンゼン, 4-ブロモフルオロベンゼン, 1,4-ジオキサン-d8 の3種類全てを用いて検討した。

## 7. 2 試薬

VOC の標準品は富士フィルム和光純薬製の揮発性有機化合物 25 種混合標準液(メタノール溶液, JCSS グレード)を使用した。内部標準物質の標準品は富士フィルム和光純薬製の p-ブロモフルオロベンゼン-フルオロベンゼン混合標準液 (各 1 mg/mL メタノール溶液, 水質試験用)および 1,4-ジオキサン-d8 標準液 (1 mg/mL メタノール溶液, 水質試験用)を使用した。器具洗浄や希釈に用いたアセトンおよびメタノールは富士フィルム和光純薬製の残留農薬・PCB 試験用を使用した。

## 7. 3 分析条件の検討

ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)に GCMS-QP2020NX (島津製作所) を用い, P&T 装置に PT7000 (ジーエルサイエンス) を用いて, 分析条件の検討を行なった。

P&T 装置のパージガスにもこれまでヘリウムを使用することが一般的であり, 国立医薬品食品衛生研究所においてもヘリウムガスを使用していたため, 最初に, パージガスを窒素に代替して分析ができるかどうかを検討した。GC-MS のキャリアーガス流量は一般的には 10~15 mL/min であるのに対し, P&T 装置のパージガス流量は分析中 40~80 mL/min と GC-MS と比べて大量にキャリアーガスを消費することから, P&T 装置のパージガスを窒素に変更することで, ヘリウムの消費量を 10%程度に削減することができる。

次に GC のキャリアーガスを窒素に変更して, 対象物質の一斉分析条件の検討を行なっ

た。キャリアーガスによって, カラムの分離性能を示す理論段高さ HETP(height equivalent of one theoretical plate)が異なることが知られており, 平均線速度に応じて HETP の値が変化する。カラムの分離性能を引き出すためには HETP になるべく小さくなる平均線速度で分析することが重要であるが, キャリアーガスによって平均線速度と HETP の関係が異なるため, 最適な分離が得られる条件を検討した。

## 7. 4 妥当性評価

確立した分析条件を用いて, 精製水および水道水を用いた添加回収試験を行い, 分析方法の妥当性を評価した。厚生労働省の妥当性評価ガイドラインによれば, 分析方法の妥当性評価は定量下限を含む 1 種類以上の添加濃度で行う必要があるが, 本研究で対象としている VOC は水道水に微量に含まれているため, 定量下限において水道水を用いた添加回収試験を行なった場合は, 水道水に含まれる濃度によって妥当性が確認できない可能性がある。上述の妥当性評価ガイドラインでは, 検査対象物が水道水の常在成分である場合等には, 以下に示すいずれかの方法により評価を行えばよいことになっている。

① 添加試料の試験結果から添加前の試料の試験結果を差し引いて評価する。この場合, 併行条件下とみなせる範囲において, それぞれ 1 個以上のデータを取得し, その試験結果の平均値を差し引く。

② 定量下限における評価は精製水又はミネラルウォーター等を用いる。ただし, この場合でも, 水道水を用いて常在成分の影響がないとみなせる濃度で妥当性を評価する必要がある。

そこで, 本研究では, 定量下限においては精製水を, 高濃度の添加試料においては水道水を用いた評価を行うこととした(上記②の方法)。また, 高濃度の添加試料においても常在成分の影響によって妥当性が確保できない場合もあるため, 必要に応じて未添加の水道水試料中に含まれる濃度を差し引いて評価を行うこととした(上記①の方法)。

精製水の添加濃度は0.1および0.2 $\mu\text{g/L}$ 、水道水の添加濃度は1および5 $\mu\text{g/L}$ とし、それぞれ各濃度につき5試料ずつ調製してPT-GC/MSにより分析し、0.1~10 $\mu\text{g/L}$ の範囲で作成した検量線を用いて定量した。

## C. 結果と考察

### 1. 陰イオン類のLC/MS/MS分析法の開発

#### 1. 1. 各機関のLC/MS/MS測定条件

バリデーション試験を実施した各機関のLC/MS/MS測定条件の概略を以下に示す。分離カラムはAcclaim Trinity P1 (Thermo Fisher Scientific)が6機関、RSpak JJ-50 2D (Shodex)とSYPRON AX-1 (ジーエルサイエンス)が3機関ずつであった。いずれの機関も、移動相の種類およびグラジエント条件はほぼ同じであった。機関GおよびSYPRON AX-1を用いた機関F, I, Jの3機関は、移動相に用いる酢酸アンモニウムの濃度をSOP (200 mM)よりも低く設定したが(40~100 mM)、測定時間に大きな違いはなかった。

#### 1. 2. LC/MS/MS(SRM)による試験結果

12機関のLC/MS/MS(SRM)測定による試験結果(真度)を表7(EDA脱塩素処理水道水)および表8(チオ硫酸ナトリウム脱塩素処理水道水)に示す。塩素酸、硝酸、臭素酸は水道水ブランク試料からもピークが検出されたため、ブランク試料のピーク面積が検量線の下限以上であれば濃度に換算した値を、下限よりも低ければピーク面積を差し引いて真度を算出した。なお、真度の目標(70~130%)を満たした項目に関しては、併行精度( $\leq 10\%$ )の目標を概ね満たしていたため、併行精度の結果は省略した。以下、各物質の試験結果について考察する。

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

ナトリウムで脱塩素処理した場合は、ほとんどの機関で真度が低い結果となった。チオ硫酸ナトリウムとの反応により、亜塩素酸が分解したものと考えられる。

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

#### 1. 3. LC/MS(SIM)による試験結果

3機関のLC/MS(SIM)測定による試験結果(真度)を表9(左：EDA脱塩素処理水道水、右：チオ硫酸ナトリウム脱塩素処理水道水)に示す。LC/MS/MS(SRM)測定と同様の傾向が得られた。

## 2. 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

### 2.1 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<sub>12</sub>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。

## 2. 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は 0.906~0.999 で、トリクロロホン (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。トリクロロホンは、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。

## 3. GC-MS スクリーニング分析法のバリデーション試験

### 3. 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いことがあった (メタアルデヒド, メタミドホス, ジクロベニル, ジクロロボス, エトリジアゾール, クロロネブ, モリ

ネート, 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 (フェニトロチオン (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 4), 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。

### 3. 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 5 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 6 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くなると考えられる。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、ピークとみならず判断基準 (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。

### 3. 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<sub>s</sub> : 対象とする未知成分の保持時間

T<sub>n</sub> : 炭素数 n の n-パラフィンの保持時間

T<sub>n+1</sub> : 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 を予測する手法について、今後、検討する予定である。

## 4. GC/MS ターゲットスクリーニング分析法による水道水中農薬の定量精度の評価

### 4. 1. 各測定における定量下限

両装置での検量線標準試料の測定における定量下限 (ピークが検出できた最低濃度) の農薬数を表 10 に示す。全体的に、GCMS-QP2010 Plus よりも JMS-Q1050GC の方が低濃度まで測定できた農薬数が多く、高感度であった。また、いずれの装置も測定毎に感度変動が見られており、2017年と2018年の装置の移設前後で比較した場合、両装置とも移設前よりも移設後の方が高感度であった。この理由として、両装置はいずれも購入から数年が経過しており、その間の継続的な使用による装置性能の劣化があったが、移設時にイオン源・レンズ系の洗浄等の大規模な保守を行ったことにより、装置性能が回復したと考えられた。さらに、JMS-Q1050GC では、2019年にも同様の保守を行ったことにより感度はさらに上昇し、2019年と2021年の測定においては、ほとんどの農薬が 0.05 mg/L 以下まで測定できた。

GCMS-QP2010 Plus ではトリクロピル (2017) およびピレトリン (2018) が 2 mg/L 以上でしか検出されなかったため、これら 2 農薬を除いた 170 農薬の検量線を比較対象とした。JMS-Q1050GC ではトリクロピル、ヒドロキシイソキサゾール、ベンスリド (SAP) の 3 農薬が複数回の測定で 2 mg/L 以上の濃度でしか検出されなかったため、これら 3 農薬を除いた 169 農薬の検量線を比較対象とした。

各農薬の検量線の定量下限から、固相抽出による 500 倍濃縮を考慮して検水中の定量下限を算出し、それぞれの農薬の目標値を比較した場合、2017年の GCMS-QP2010 Plus による測定では 136 農薬、同年の JMS-Q1050GC による測定では 129 農薬が目標値の 1/100 以下まで測定できることになる。2018年以降、両装置の感度はさらに向上しており、最も感度が良かった 2019年の JMS-Q1050GC による測定では、156 農薬が目標値の 1/100 まで測定できる。以上のことから、いずれの測定においても、大部分の農薬に関してはターゲットスクリーニング分析を行うのに十分な感度が得られたと考えられる。

### 4. 2. 検量線の傾きの比較

GCMS-QP2010 Plus と JMS-Q1050GC の各装置で 2017年と2018年の移設前後に作成し



た検量線の傾きを比較した(図7および図8)。両年の検量線の傾きが等しい農薬は各図において $y=x$ の線上にプロットされるため、両年の検量線の傾きが近い農薬が多いほど、プロットの傾きは1に近く、相関係数( $r$ )あるいは決定係数( $r^2$ )が高くなる。

GCMS-QP2010 Plusでは、9-プロモアントラセン、各農薬と保持時間が最も近い内標、または各農薬と $m/z$ が最も近い内標を用いた場合の方が、アントラセン- $d_{10}$ あるいはクリセン- $d_{12}$ を内標に用いた場合に比べて、プロットの傾きが1に近く、高い相関(決定係数)が見られた(図7)。

一方、JMS-Q1050GCでは、アントラセン- $d_{10}$ 、各農薬と保持時間が最も近い内標、または各農薬と $m/z$ が最も近い内標を用いた場合の方が、9-プロモアントラセンあるいはクリセン- $d_{12}$ を内標に用いた場合に比べて、プロットの傾きが1に近く、高い相関(決定係数)が見られた(図8)。

各装置で2017年と2018年の移設前後に作成した各農薬の検量線の傾きの差(倍率)を図7および図8に示す。GCMS-QP2010 Plusでは、いずれの内標を用いた場合も、122~144農薬(全体の72~85%)は検量線の傾きの差が2倍以内であり、167~169農薬は5倍以内であった(図9)。保持時間が最も近い内標を用いた場合、傾きの差が大きい農薬数が少なく、5倍以上10倍未満の農薬はオキサジクロメホンのみであり、傾きの差が10倍を超えた農薬はなかった。JMS-Q1050GCでは、いずれの内標を用いた場合も、122~141農薬が検量線の傾きの差が2倍以内であり、160~168農薬は5倍以内とGCMS-QP2010 Plusでの比較と同様の結果であった(図10)。測定対象農薬と保持時間が最も近い内標を用いた場合、傾きの差が5倍以上の農薬が2農薬のみと少なく、10倍を超えた農薬はトリクロロホン(DEP)のみであった。各農薬と $m/z$ が最も近い内標を用いた場合よりも、保持時間が近い内標を用いた方が、傾きの差が小さい農薬が多かった原因として、今回測定対象とした農薬の定量イオンの $m/z$ の範囲は56(アセセタミプリド)から417(フルアジナム)まで差があるのに対し、使用した3つの内標の定量イオンの $m/z$ は188(アントラセン- $d_{10}$ )から256(9-プロモアントラセン)までの狭い範囲

であったため、チューニング時の測定質量数の違いによる感度の差を補正する効果はあまりなかったと考えられる。一方、測定対象とした農薬の保持時間は5.23 min(メタアルデヒド)から28.09 min(トルフェンピラド)の範囲であるのに対して、内標の保持時間はアントラセン- $d_{10}$ が11.23 min、9-プロモアントラセンが14.94 min、クリセン- $d_{12}$ が19.44 minと約5分間隔でほぼ均等に溶出しており、試料測定中の感度変動を最もよく補正できるために再現性が高い結果となったものと考えられる。

2017年にGCMS-QP2010 PlusとJMS-Q1050GCで作成した検量線を比較した結果、傾きの差が2倍以内の農薬数は115~131農薬であり、5倍以内の農薬数は164~165農薬であった。傾きの差が2倍以内となる農薬数は、同一装置で2017年と2018年に作成した検量線を比較した場合の方が多いため、異なる装置で作成した検量線よりも、装置の移設前後であっても、同一装置で作成した検量線の方が定量精度は高いと考えられる。また、両装置において、検量線の傾きの差が大きかったオキサジクロメホンやトリクロロホン(DEP)はGCの注入口で熱分解しやすい物質であるため、測定値の再現性が悪かったものと考えられる。

両装置に共通して、各農薬と保持時間が最も近い内標に用いた検量線が、最も再現性がよい傾向が見られたことから、各農薬と保持時間が最も近い内標を用いた検量線について、装置移設後の2018年から2021年までにJMS-Q1050GCで4回作成した検量線の傾きを、前年(前回)に作成した検量線の傾きと比較した(図11)。装置の移設前後である2017年と2018年(1回目)と比較した図3の結果と比べて、いずれのプロットも傾きは1に近く、決定係数も0.97以上と非常に良好な相関関係が見られた。146~165農薬とほとんどの農薬は傾きの差が1.5倍以内であり、2019年と2021年の検量線の比較では、傾きの差が3倍を超えた農薬はなかった(図12)。2017年と2018年の移設前後のような装置状態の大きな変化がなく、適切なメンテナンスを行い定量下限等の装置状態が維持できていれば、検量線データベースを用いて定量しても概ね良好な定量精度が得られることが分かった。

ターゲットスクリーニング分析法は、同一装置でもデータベース登録時と使用時の装置状態の違いによって定量誤差が生じる可能性があるが、本研究で得られた結果は、同一の装置で異なる時期や装置状態において作成した検量線データベースを使用した場合の定量誤差の目安になると考えられる。

#### 4. 3. 定量値の比較

各農薬と保持時間が最も近い内標を用いた検量線において、各農薬の下限濃度に相当するピーク面積比が得られた場合に、各検量線から得られる定量値を相互に比較した結果を図13に示す。

GCMS-QP2010Plus では、2017年と2018年の検量線から得られる定量値の差が1.5倍以内となる農薬が100農薬あり、図7に示した同装置による検量線の傾きの比較と同様の結果であった。また、評価対象とした170農薬のうち168農薬は定量値の差が3倍以内となり、これを超えたのはオキサジクロメホン(6.9倍)とベンスリド(SAP, 5.3倍)のみであった。

JMS-Q1050GC では、2017~2021年に作成した検量線から得られる定量値の差(最大値)が1.5倍以内となる農薬は42農薬あり、図10および図12に示した同装置による結果と比べて差が大きい結果となった。この理由として、JMS-Q1050GCでは2018年の装置の移設に加えて、2019年の検量線作成の前に装置の保守を行なっており、データベースの測定期間内に装置の感度が大きく向上したことが挙げられる(表10)。評価対象とした169農薬のうち、163農薬は定量値の差(最大値)が5倍以下と大半を占め、定量値の差が10倍を越えたのはトリクロロホン(DEP, 12.0倍)のみであった。

GCMS-QP2010Plus と JMS-Q1050GC で2017~2021年に作成した全ての検量線から得られる定量値の差(最大値)は、それぞれの装置間で比較した結果と比べて大きく、差が1.5倍以下となった農薬は3農薬だけであり、2倍越3倍以下の階級が79農薬と最も多かった。評価対象とした168農薬のうち、160農薬は定量値の差(最大値)が5倍以内と大半を占め、定量値の差が10倍を越えたのはトリクロロホン(DEP, 12.0倍)のみであった。

これらの結果から、同一装置で作成した検量線データベースを用いた場合は、最も定量誤差が大きいと考えられる定量下限付近でも、分析対象としたほとんどの農薬について5倍以内の定量誤差で測定できることが分かった。他の装置で作成した検量線データベースを用いた場合、同一装置で作成した検量線データベースを用いる場合と比べて定量誤差は大きくなるものの、ほとんどの農薬について10倍以内の定量誤差で測定できることが分かった。本研究で得られた定量誤差に関する結果は、水道水質検査へのターゲットスクリーニング分析法の適用を検討する上で有用な知見であると考えられる。例えば、ある農薬について目標値の1/100付近の定量値が得られた場合、定量誤差が5倍あるいは10倍以内であれば、目標値を超過していないと評価できる。標準検査方法と同等の精度の定量値を得るためではなく、水道水に含まれる農薬を広く検索した上で目標値の超過を大まかに評価する場合には、ターゲットスクリーニング分析法は有用と考えられる。

ただし、オキサジクロメホンやトリクロロホン(DEP)等のGCの注入口で熱分解しやすい物質や、ベンスリド(SAP)等の感度が悪い物質は、検量線データベースを用いるターゲットスクリーニング分析法では他の物質と比べて定量精度が劣ることから、定量を目的としたGCMSターゲットスクリーニング分析にはあまり適していないと考えられる。

また、定量誤差の要因として装置感度の変化が考えられたことから、検量線データベースの作成にあたっては、事前に装置の状態を十分に確認して感度が良好な状態で測定を行うとともに、ターゲットスクリーニング分析を用いて実試料を測定する際にも、検量線データベース作成時と同様の装置感度を保つことが重要と考えられる。

## 5. LC-QTOFMSのデータベース構築と実試料への適用

### 5. 1. プリカーサーイオンとプロダクトイオンの決定

216種の農薬類についてIDA測定を実施したプリカーサーイオンおよびプロダクトイオンを探索した結果、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。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て設定した。

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。

## 5. 2. 検量線の作成

得られた標準液のデータを用いて検量線の作成を行った。その結果、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。

## 5. 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14~16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。このことより、LC-QTOFMS による農薬類スクリーニング分析法は水質管理に面からも有用であり、本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。

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。

## 5. 4. 経時的变化

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变化を確認した。その結果、

図17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。

## 5. 5. データベースへの農薬類の追加と再構築

追加および再構築した検量線の上限を検証したところ、203種の農薬類の上限値は1000 ng であったが、EPN オキシソン、イミダクロプリド、クロチアニジン、ジクロプロップ、(E)-ジメチルビンホス、シラフルオフエン、ダイアジノンオキシソン、チアメトキサム、トリネキサパックエチル、ニテンピラム、ピメトロジン、ピラゾリネート、(E)-ピリミノバックメチル、(Z)-ピリミノバックメチルおよびフェンチオン (MPP) オキシソンスルホンは上限値を1000 ng にした場合において直線性が低下したため、上限値を100~500 ng に設定した。

217 種の農薬類の検量線の範囲の最小量は0.05~100 ng であったため、試料量を500 mL とした本分析法の定量下限値は、0.1~200 ng/L となった。定量下限値の分布を検証したところ、定量下限値が1.0 ng/L 以下、1.0 ng/L 超~10 ng/L 以下、10 ng/L 超~100 ng/L 以下および100 ng/L 超の農薬類はそれぞれ、117、76、21 および3物質となり、約89%の農薬類の定量下限値が10 ng/L 以下となった。

また、追加した農薬類について再解析の結果、5種の農薬類が検出された(表11)。このことから、取得済みのデータを再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。

## 6. 実試料を用いた定量精度の評価

### 6. 1. 検出農薬類

実試料106検体をLC-QTOFMSで測定し、データベースを用いて農薬類の同定を実施した結果、74種の農薬類が1地点以上から検出された。

検出率が高かった上位3種の農薬類はブロマシル、アゾキシストロビンおよびブロモブチドであった。また、検出された農薬類74種の内訳は、対象農薬リスト掲載農薬類が39種、要検討農薬類等リスト外の農薬類が26種、代謝産物が4種、異性体が1種、および厚生労働省が水道水質分野でリストアップしていな

い農薬類が4種となった。本研究により対象農薬リスト掲載農薬類以外にも多種の農薬類が水道原水や河川水中に存在することが明らかになった。

## 6. 2. 定量精度の評価

検出された農薬類74種について、 $C_{CC}$ に対する $C_{DB}$ の濃度比を求め、定量精度の評価を行った。

その結果、1地点から検出された農薬類12種における $C_{DB}/C_{CC}$ の範囲は、0.51~2.98であり、約83%の農薬類が濃度比0.50~2.00の範囲に収まった(図18)。

2地点以上から検出された農薬類62種の回帰係数の分布を図19に、代表的な散布図を図20に示した。回帰係数が0.80~1.20の農薬類は21種となり、2地点以上から検出された農薬類の約34%に相当した。また、回帰係数、すなわち濃度比が0.50~2.00の農薬類は54種となり、検出された農薬類の約87%に相当した。

以上の結果より、データベースを用いたLC-QTOFMSによるスクリーニング分析法は対象とした農薬類の約86%が濃度比0.50~2.00の範囲であり、スクリーニング法としても十分な精度で定量できることがわかった。したがって、LC-QTOFMSを用いたスクリーニング分析法は検査対象とする農薬の選定や検出オーダーの把握に非常に役立つことがわかった。ただし、濃度比が大きかった農薬類についてはその原因を引き続き検討し、改良するとともに、結果の取り扱いについて注意が必要である。

## 7 ヘリウム代替キャリアーガスを用いた揮発性有機化合物の分析条件の検討

### 7. 1 分析条件の検討

検討により確立したPT-GC/MSの一斉分析条件を表12に示す。PTのページガスを窒素に変更しても、これまでと同じメソッドが使用可能であり、感度や分析精度はヘリウムの場合とほとんど変わらず、問題なく分析が可能であった。したがって、ページガスに窒素を用いることで、システム全体のヘリウム消費量の大幅な削減が可能であることが分かった。

一方、キャリアーガスを窒素に変えた場合、最適な平均線速度は18.1 cm/secであり、これ

はヘリウムガスを用いた場合の最適な平均線速度40.0 cm/secと比べて小さな値であった。また、この条件においてピーク分離に大きな違いは見られなかった(ヘリウムガスと同様、m,p-キシレンのピークは分離しなかった)が、相対的な感度はヘリウムガスと比べて数倍低下する傾向が見られた。マスキロマトグラムはヘリウムガスの場合と大差は見られず、これまで使用していたモニターイオンを用いて定量が可能であった。

### 7. 2 妥当性評価

精製水を用いた妥当性評価の結果を表13に示す。上述したようにヘリウムガスを用いた場合と比べて全体的に感度の低下が見られたが、多くの対象物質は真度(70~130%)と併行精度( $\leq 20\%$ )の目標を満たした。1,4-ジオキサンにおいてはこれまで定量下限に設定していた0.1  $\mu\text{g/L}$ の定量は不可能であったが、1,4-ジオキサンの水質基準は50  $\mu\text{g/L}$ であるため、水質基準の1/10の定量下限を確保することは可能であった。

水道水を用いた妥当性評価の結果を表14に示す。未添加の水道水から幾つかのVOCが検出されたが、クロロホルム以外は未添加の水道水試料中の対象物質濃度を差し引くことで真度および併行精度の目標を満たすことができた。クロロホルムは、未添加試料からも1  $\mu\text{g/L}$ の添加試料と同等の大きさのピークが検出されたため、1  $\mu\text{g/L}$ の添加濃度においては差し引きを行っても真度および併行精度の妥当性を目標を満たさなかったが、1  $\mu\text{g/L}$ の添加濃度においては目標を満たした。

## D. 結論

### 1. 陰イオン類のLC/MS/MS分析法の開発

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

また、12機関によるバリデーション試験の結果、塩素酸、亜塩素酸、過塩素酸については、臭素酸と同時分析が可能であることが示された。以上のことから、本分析法を塩素酸については告示法に、亜塩素酸については通知法に追加できると考えられる。ただし、これらの陰イオンの基準値・目標値は大きく異

なるため、一斉分析を行う際には、検量線の濃度範囲や注入量を、測定機器に合わせて最適化する必要がある。

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

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

## 2. 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。

なお、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) を用いたデータベースを構築に当たっては、アジレント・テクノロジー社の支援を受けて実施された。ここに謝意を表す。

## 3. 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。

## 4. GC/MS ターゲットスクリーニング分析法による水道水中農薬の定量精度の評価

水道水質検査への GC/MS ターゲットスクリーニング分析法の適用において、データベース作成時と試料測定時の装置状態の違いによる定量誤差について検証するため、水質検査の対象農薬としてリストアップされている 172 農薬を対象に、メーカーが異なる 2 台の装置 (GCMS-QP2010Plus および JMS-Q1050GC) を用いて GC/MS ターゲットスクリーニング分析用の検量線データベースを異なる時期に合計 7 回作成した。

各農薬の検量線の傾きを比較した結果、いずれの装置でも各農薬と保持時間が最も近い内標を用いて作成した検量線が、複数回の測定で最も再現性がよい結果となった。また、JMS-Q1050GC において、装置の移設前後 (2017 と 2018-1) および移設後 (2018-2, 2019, 2021) に合計 5 回測定して作成した検量線を比較した場合、移設後に繰り返し測定して作成した検量線の方が良好な再現性が得られたことから、検出感度等の装置状態を一定に保つことが、良好な定量精度を得るために重要であることが分かった。

各農薬の検量線の定量下限における定量値を比較した結果、同一の装置で作成した検量線データベースを用いた場合は、ほとんどの農薬が 5 倍以内の定量誤差で測定できることが分かった。これらの結果から、水道水に含まれる農薬を広く検索した上で検出農薬の目標値の超過を評価するための手法として、GC/MS ターゲットスクリーニング分析法は有用と考えられた。

定量誤差の要因として装置感度の変化が考えられたことから、ターゲットスクリーニング分析法を水道水試料に適用する際には、検量線データベース作成時と同様に良好な装置感度を保つことが重要である。そのため、ターゲットスクリーニング分析時の装置状態の評価方法の確立が今後の課題と考えられる。

## 5. 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った。

## 6. LC-QTOFMS による農薬類スクリーニング分析法の定量精度の評価

LC-QTOFMS を用いたスクリーニング分析法について実試料による定量精度の評価を行った。その結果、実試料から同定された 74 種の農薬類の約 86% が濃度比 0.50~2.00 で分析可能であることがわかった。LC-QTOFMS を用いたスクリーニング分析法は検査法として簡便に農薬類を測定する手段として有用であることが明らかになった。

## 7 ヘリウム代替キャリアーガスを用いた揮発性有機化合物の分析条件の検討

近年、GC/MS のキャリアーガスおよびパージ・トラップ (PT) のパージガスに用いるヘリウムガスの供給不足による価格の高騰や出荷の制限が続いており、入手が困難になっていることから、揮発性有機化合物 (VOC) 25 成分を対象に、ヘリウム代替キャリアーガスとして窒素を用いた揮発性有機化合物の分析条件について検討した。

その結果、分析条件を最適化してもヘリウムガスと比べて全体的に数倍の感度低下が見られたものの、水質基準項目に含まれる VOC については、水質基準の 1/10 の定量下限を確保し、妥当性評価ガイドラインに示されている真度・併行精度の目標を満たした。

本研究で検討した窒素以外に、水素をキャリアーガスとして用いた場合の分析条件の検討や、ヘッドスペース (HS) -GC/MS を用いた検討、カビ臭物質や水質管理目標設定項目を対象とした検討等も必要な研究であり、今後の検討課題であると考えられる。

## E. 健康危機情報

なし

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 小林憲弘, 宮本紫織, 佐藤学, 木下輝昭, 高木総吉, 岩間紀知, 粕谷智浩, 古川浩司, 堀池秀樹, 齊藤香織, 京野完, 高原玲華, 五十嵐良明. 液体クロマトグラフィータンデム質量分析による水道水中の 140 農薬の一斉分析法の妥当性評価. 水環境学会誌, 42(6), 247-258, 2019.
- 2) 小林憲弘. 水道水中の農薬分析法に関する研究動向. 水環境学会誌, 42(A)(11), 386-389, 2019.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 小林憲弘, 土屋裕子, 五十嵐良明. イプロジオンの水中での分解性と検査法の検討. 水道協会雑誌, 90(11), 11-22, 2021.
- 9) 小林憲弘, 高木総吉, 木下輝昭, 仲野富美, 古川浩司, 粕谷智浩, 松巾宗平, 寺中郁夫, 山本剛, 米久保淳, 田中誠也, 丹羽宏之, 会田祐司, 高原玲華, 齊藤香織, 五十嵐良明. 液体クロマトグラフィー質量分析による水道水中の陰イオン一斉分析法の検討と妥当性評価. 水環境学会誌, 45(2), 51-66, 2022.
- 10) 小林憲弘, 土屋裕子, 五十嵐良明. GC/MS ターゲットスクリーニング分析



法による水道水中農薬の定量精度の評価, 環境科学誌, 35(2), 88-102, 2022.

- 11) 高木総吉, 長谷川有紀, 小池真生子, 吉田 仁, 安達史恵. GC/MS ターゲットスクリーニング分析法の水道原水および浄水への適用, 環境科学誌, 35(2), 78-87, 2022.
- 12) 長谷川有紀, 小池真生子, 高木総吉, 吉田 仁, 安達史恵, 小泉義彦, 中島孝江, 竹中凜代, 山口進康. 大阪府内浄水場の水道原水および浄水中におけるイブフェンカルバゾンの存在実態, 環境科学誌, 35(2), 70-77, 2022.
- 13) 古川浩司, 橋本 真, 小林珠美, 滝埜昌彦. トリガーMRM 法を用いた四重極 LC-MS/MS による水道水中の農薬スクリーニング分析法の検討, 環境科学誌, 35(2), 34-49, 2022.
- 14) 木下輝昭, 小田智子, 山崎貴子, 栗田 翔, 鈴木俊也, 中嶋順一, 守安貴子. 固相抽出-LC/MS 法による水道水中界面活性剤の一斉分析法の検討及び妥当性評価, 環境科学誌, 35(2), 59-69, 2022.
- 15) 岩間紀知, 窪田吉洋, 中村弘揮. ダンシルクロリド誘導体化-液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析法による水道水中フェノール類の測定, 環境科学誌, 35(2), 50-58, 2022.

## 2. 学会発表

- 1) 土屋裕子, 小林憲弘, 高木総吉, 五十嵐良明, 水道水中農薬の GC/MS ターゲットスクリーニング分析法に用いる検量線の定量精度に関する検討, 第 28 回環境化学討論会 (2019.6.12 埼玉県さいたま市).
- 2) 小林憲弘, 土屋裕子, 高木総吉, 宮脇崇, 門上希和夫, 五十嵐良明. GC/MS ターゲットスクリーニング分析法を用いた水道水・水道原水中農薬の実態調査とその定量精度の検証, 第 28 回環境化学討論会 (2019.6.13 埼玉県さいたま市).
- 3) 高木総吉, 小池真生子, 長谷川有紀, 安達史恵, 吉田仁, 小林憲弘, 山口進康. 水道水質における農薬類検査法としての GC-MS ターゲットスクリーニング分析

法の有用性評価, 第 28 回環境化学討論会 (2019.6.13 埼玉県さいたま市).

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

- 12) 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.
- 13) 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.
- 14) 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.
- 15) 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.
- 16) 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.
- 17) Takagi, S., Yoshida, J., Adachi, F., Hasegawa, Y., Koizumi, Y., Nakajima, T., Taniguchi, T., Yamaguchi, N. Wide Distribution of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Raw and Drinking Water in Osaka, Japan. SETAC North America 42nd Annual Meeting (online), 2021/11/14-18.
- 18) 高木総吉, 鈴木俊也, 川元達彦, 小林浩, 西村哲治, 森田久男, 石橋融子, 川崎直人, 北村壽朗, 環境試験法, 水質試験法, ペルフルオロアルキルおよびポリフルオロアルキル化合物 (PFAS), 日本薬学会第 142 年会(オンライン開催), 2022/3/26.

#### 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 out-ow 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.



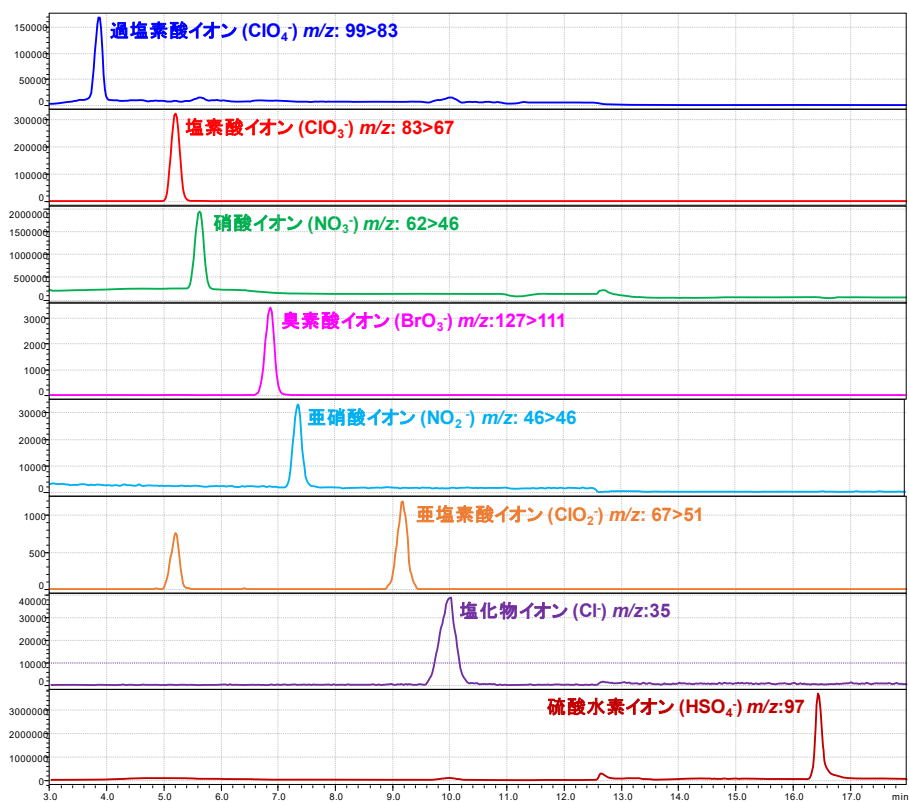


図1. 各陰イオンのLC/MS/MSクロマトグラム  
 (国立衛研の水道水に塩素酸, 亜塩素酸, 過塩素酸, 硝酸, 亜硝酸, 臭素酸を添加)

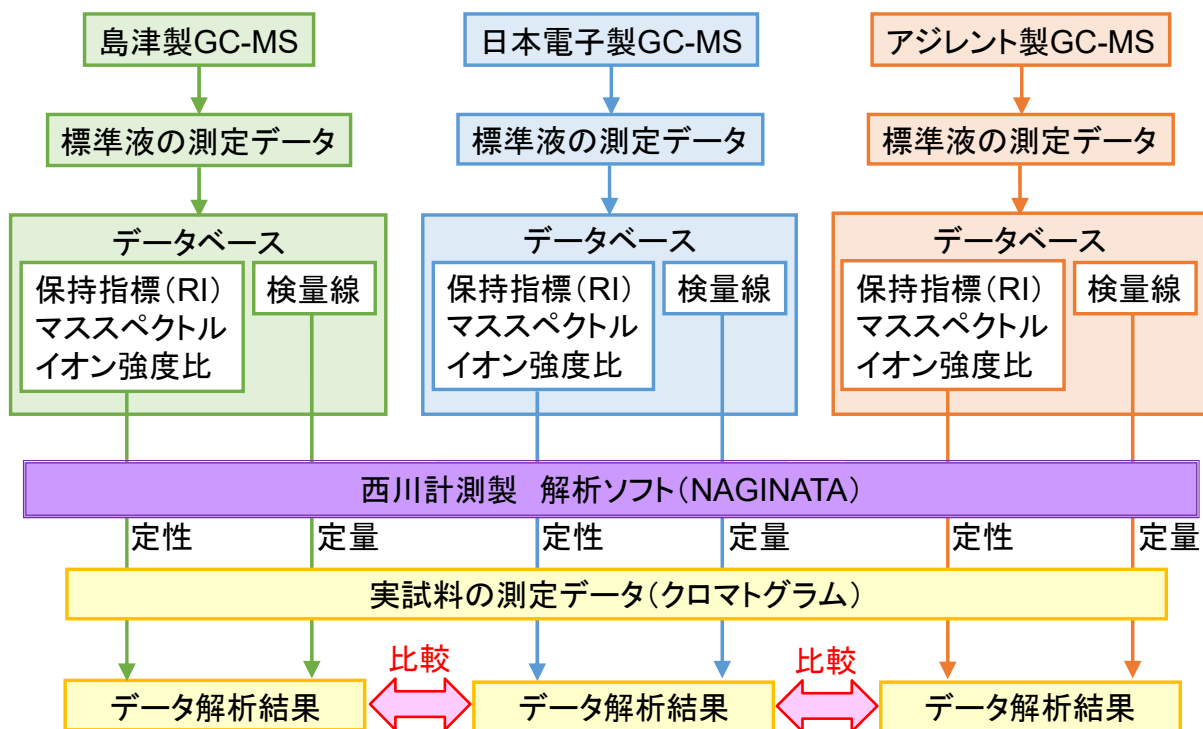


図2. バリデーション試験の概念図

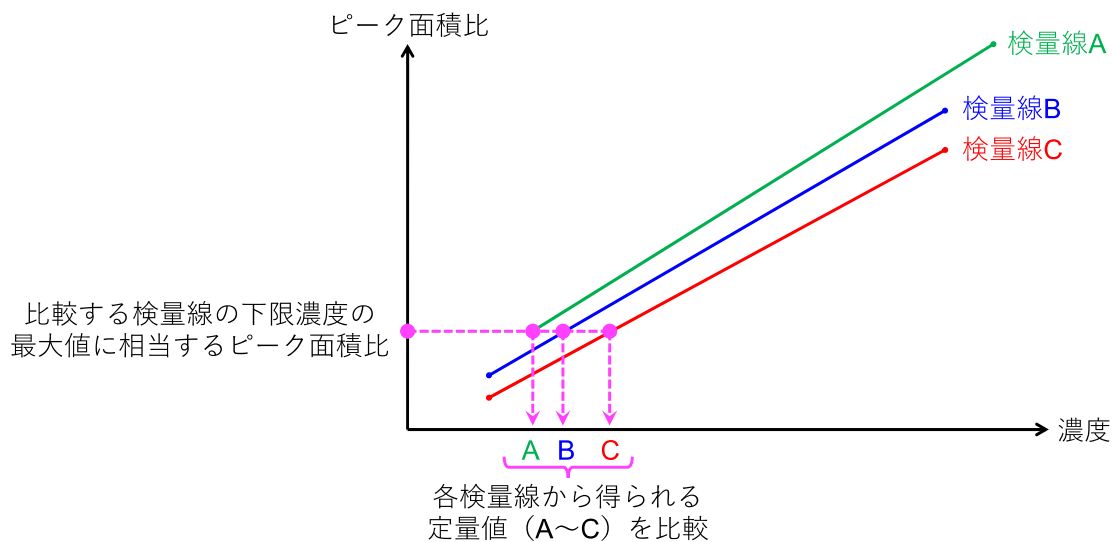


図3. 検量線の下限濃度における定量値の比較方法の概念図

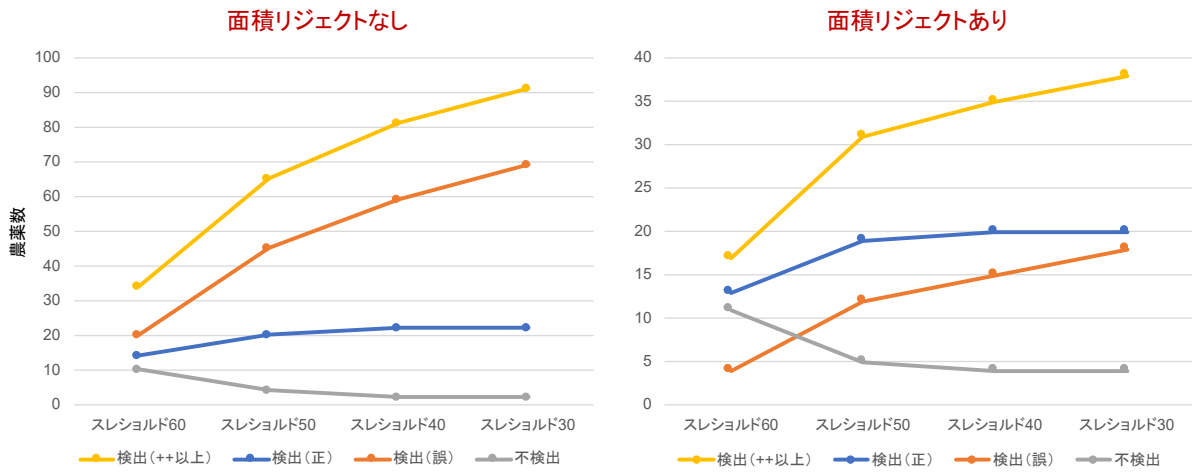


図4. 積分パラメータの検証結果

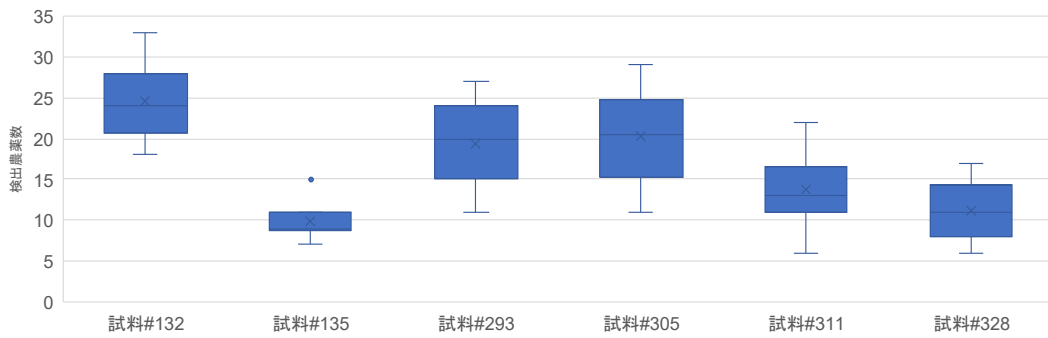


図5. 各試料中の検出農薬数

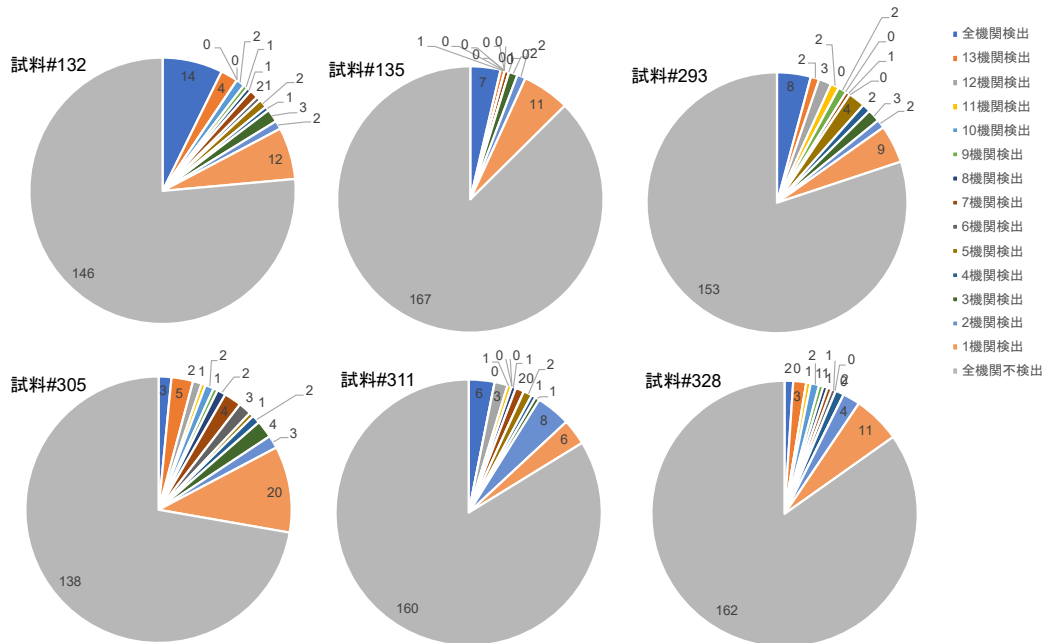


図6. 各試料における各機関の検出・不検出の判断の違い

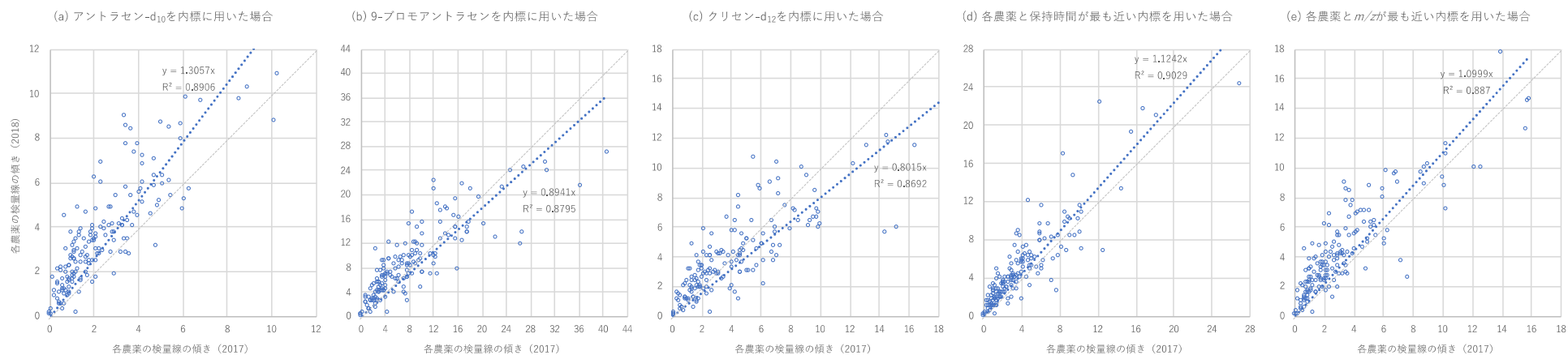


図 7. GCMS-QP2010Plus で移設前後（2017 と 2018）に作成した各農薬の検量線の傾きの比較

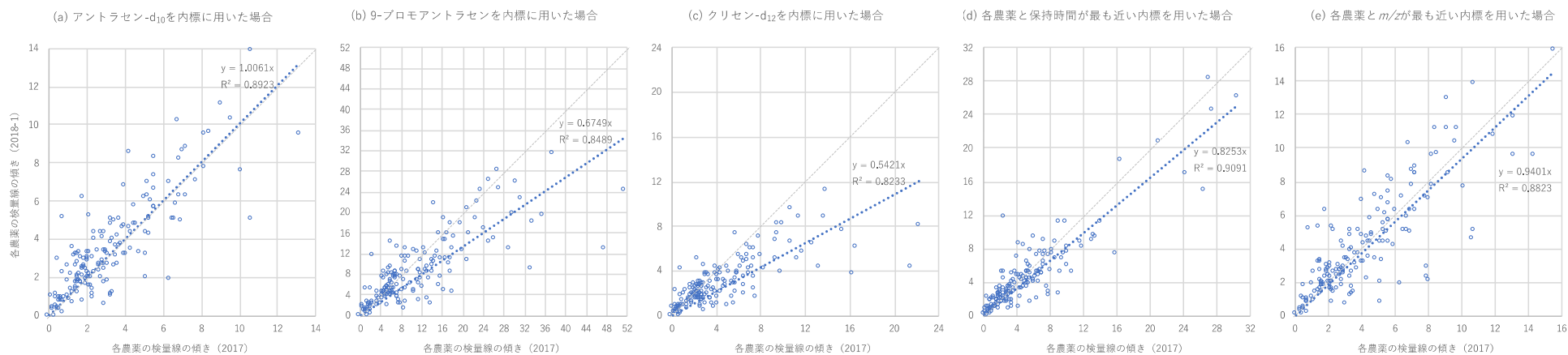


図 8. JMS-Q1050GC で移設前後（2017 と 2018-1）に作成した各農薬の検量線の傾きの比較

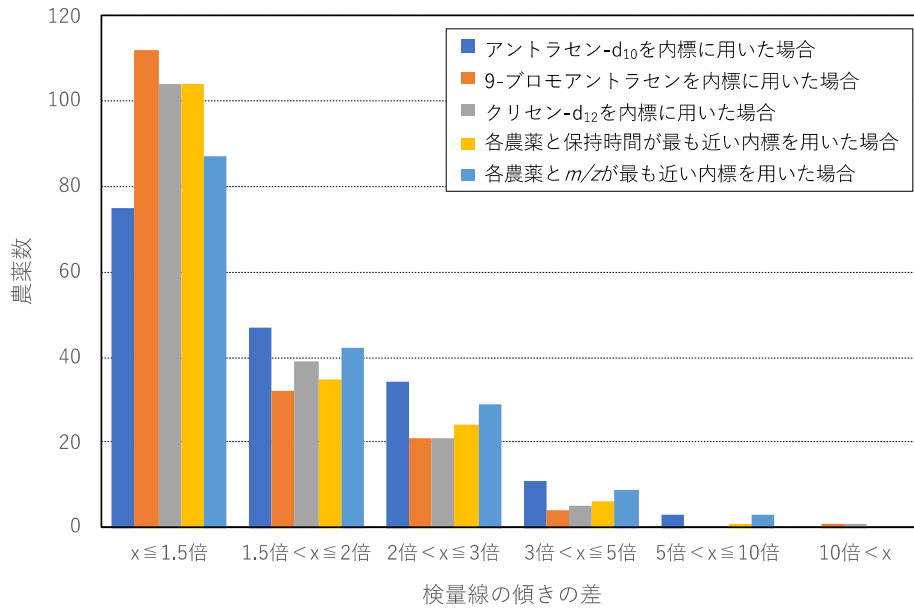


図 9. GCMS-QP2010Plus で移設前後 (2017 と 2018) に作成した各農薬の検量線の傾きの差  
2017 と 2018 の各農薬の検量線の傾きが大きい方を低い方で割った値

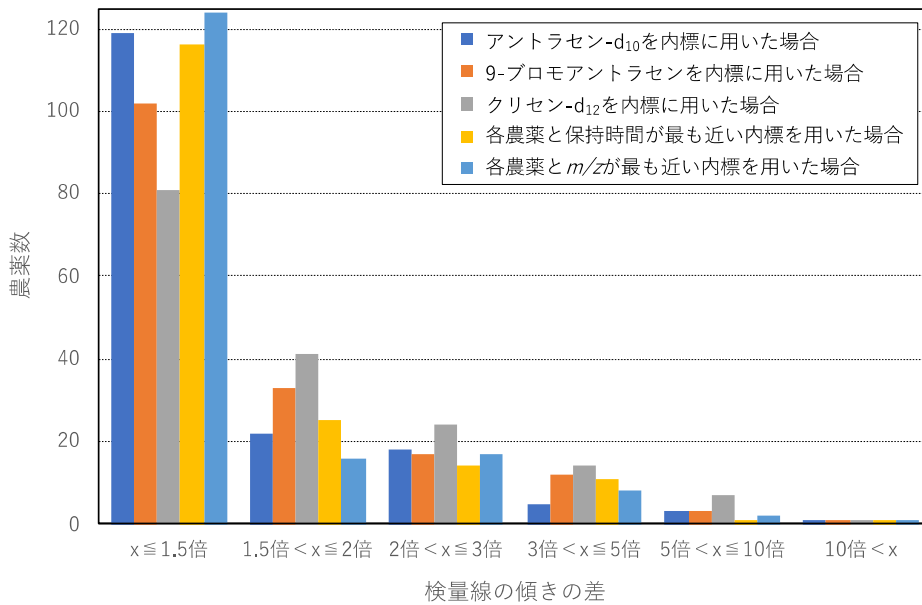


図 10. JMS-Q1050GC で移設前後 (2017 と 2018-1) に作成した各農薬の検量線の傾きの差  
2017 と 2018-1 の各農薬の検量線の傾きが大きい方を低い方で割った値

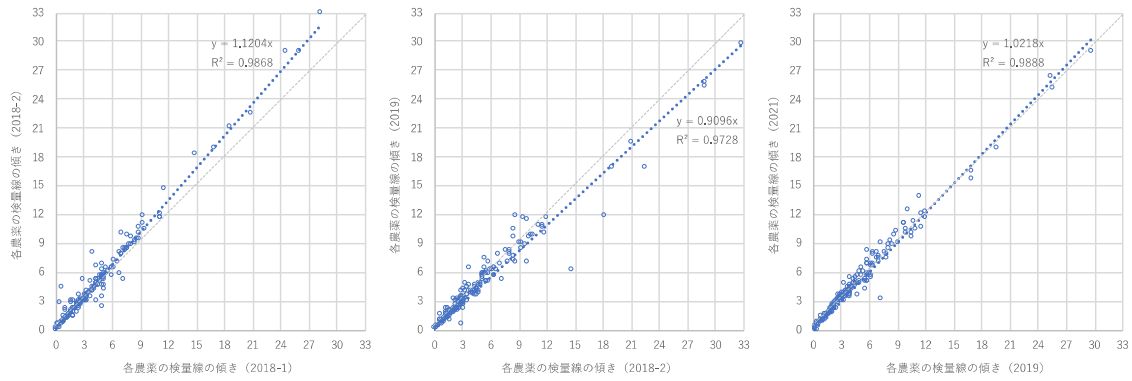


図 11. JMS-Q1050GC で移設後（2018-1～2021）に作成した各検量線の傾きの比較  
保持時間が最も近い内標を用いた各農薬の検量線の傾きについて、前回に作成した検量線の傾きと比較

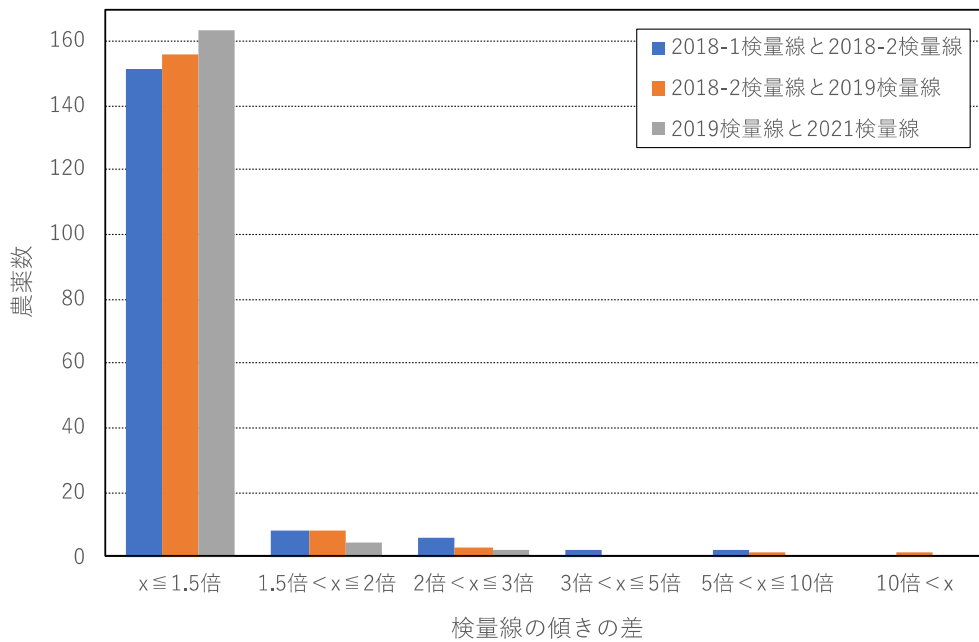


図 12. JMS-Q1050GC で移設後（2018-1～2021）に作成した各農薬の検量線の傾きの差  
保持時間が最も近い内標を用いた各農薬の検量線について、前回に作成した検量線と比較して傾きが大き値を小さい値で割った値

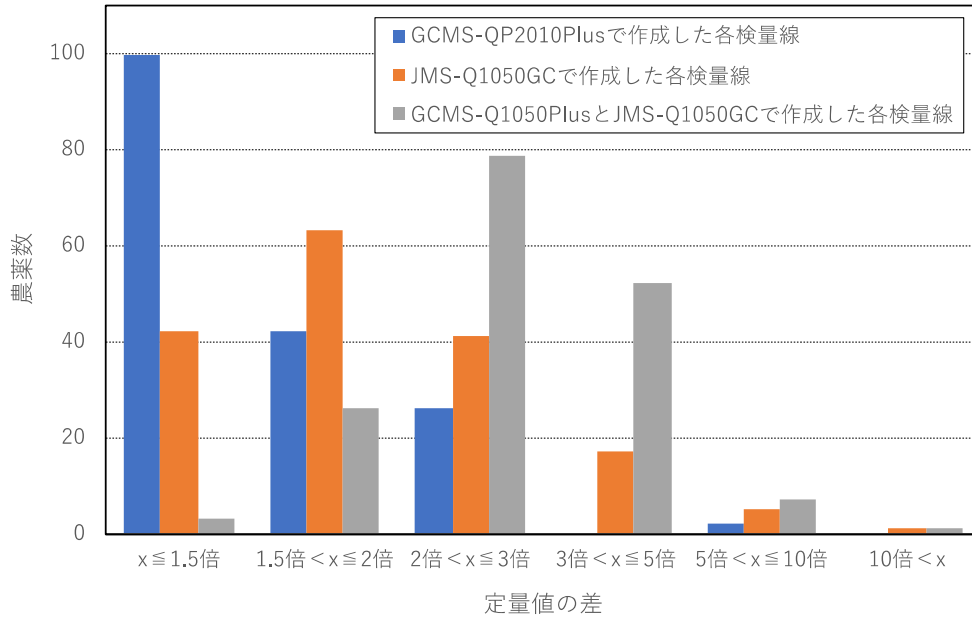


図 13. 各農薬の検量線の下限濃度における定量値の差

各農薬の検量線の下限濃度に相当するピーク面積比を基に算出した各検量線から得られる定量値の差の最大値

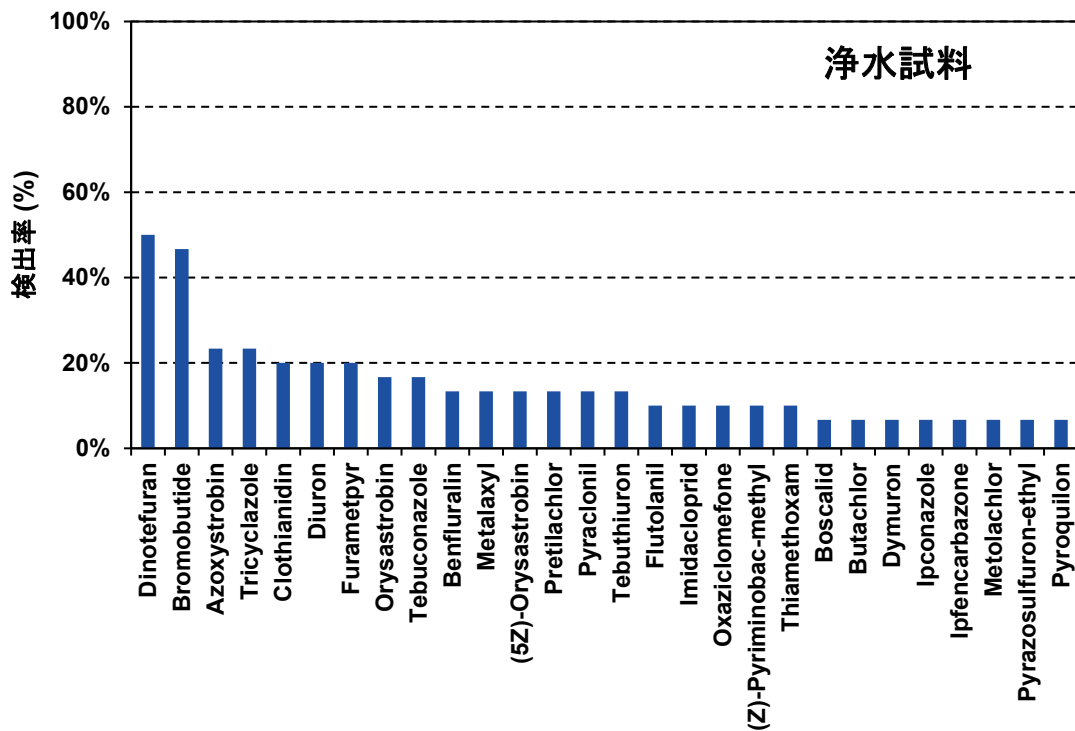


図 14. 浄水試料における検出率 (上位 28 物質)

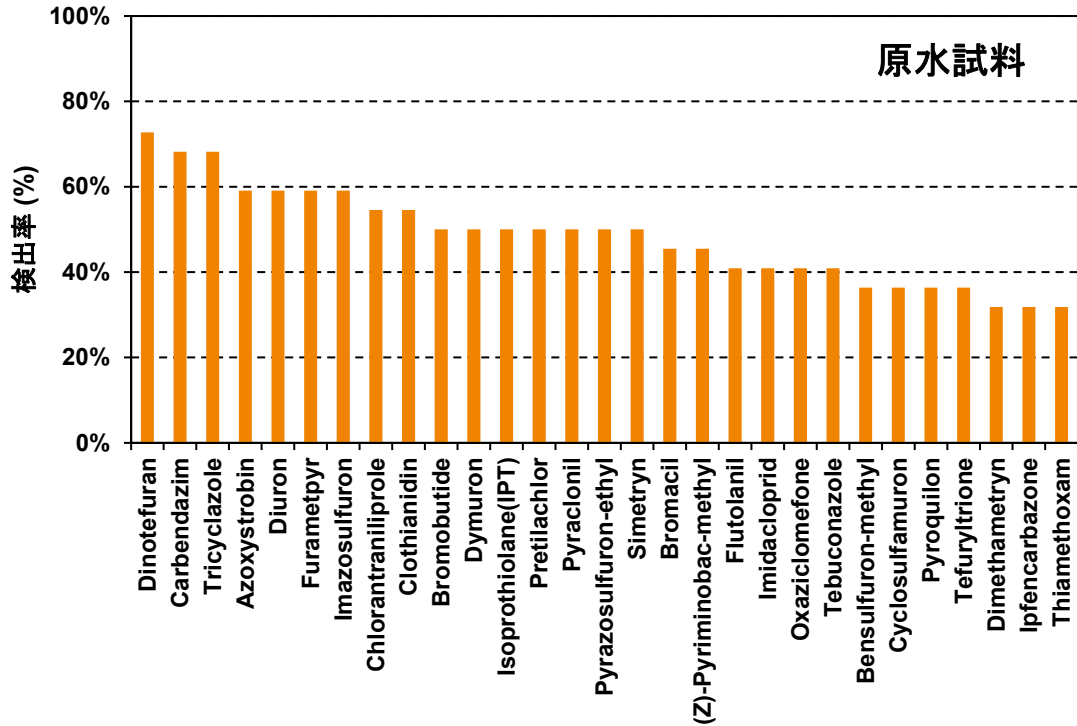


図15. 原水試料における検出率（上位29物質）

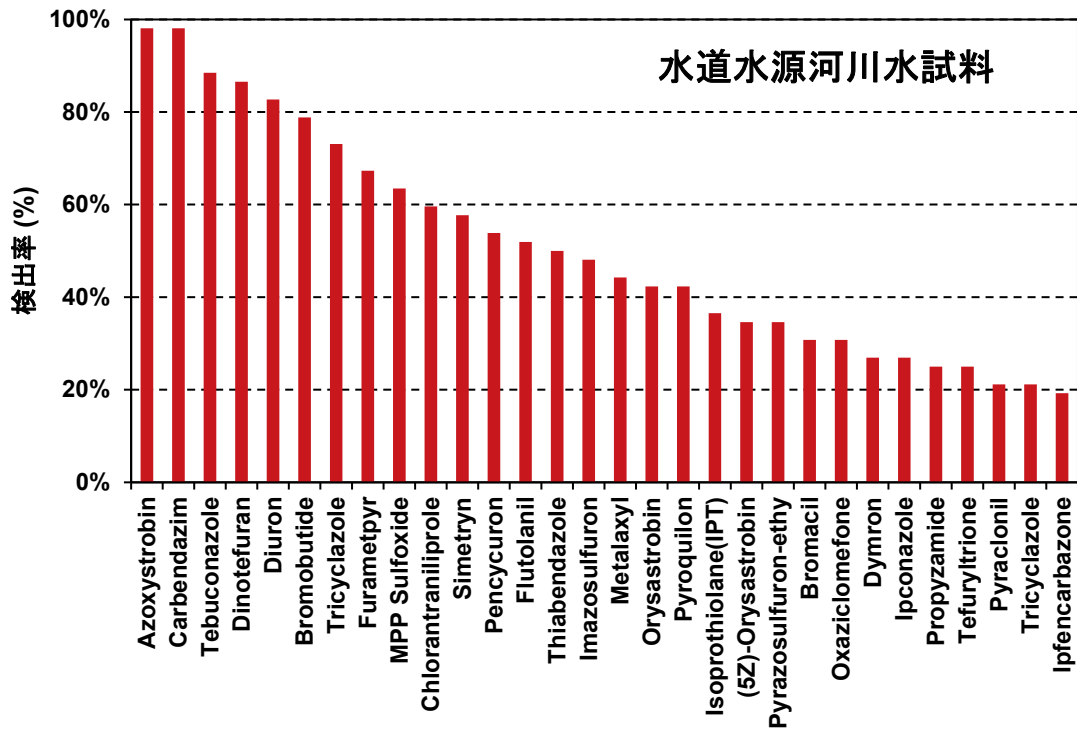


図16. 水道水源河川水試料における検出率（上位30物質）



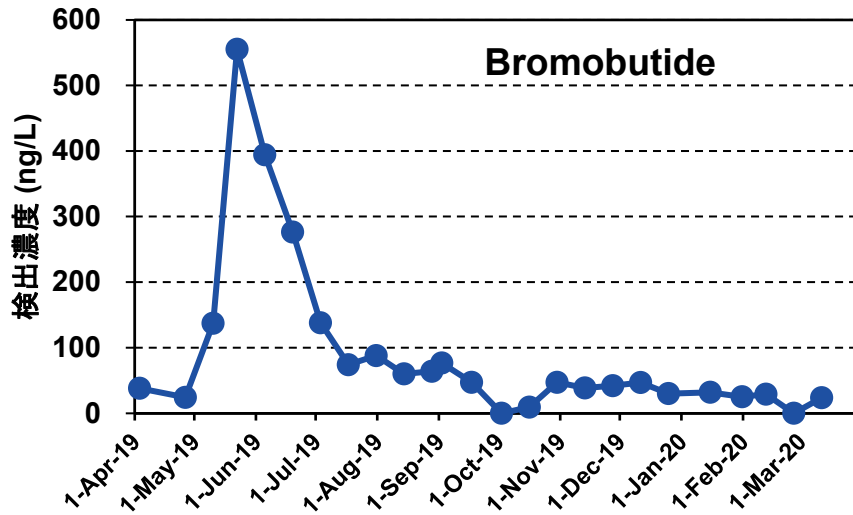


図17. ブロモブチドの経時的変化

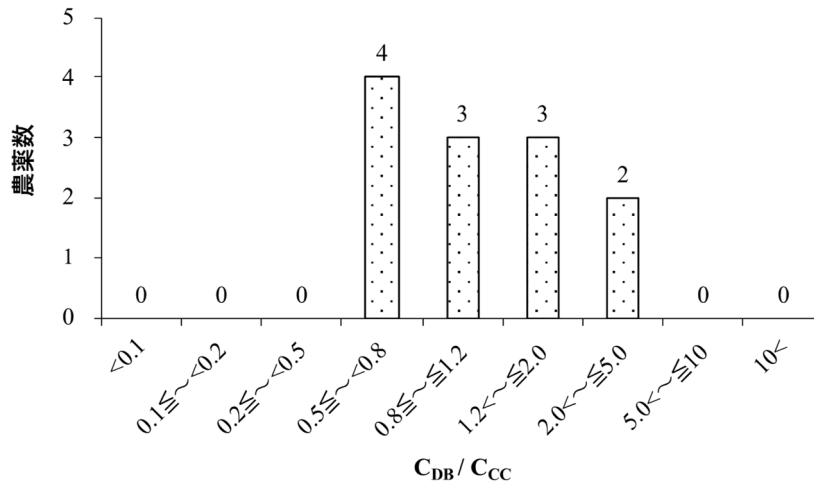


図18. 1地点から検出された農薬類の  $C_{DB}$  (データベースによる定量値) /  $C_{CC}$  (検量線による定量値) の分布

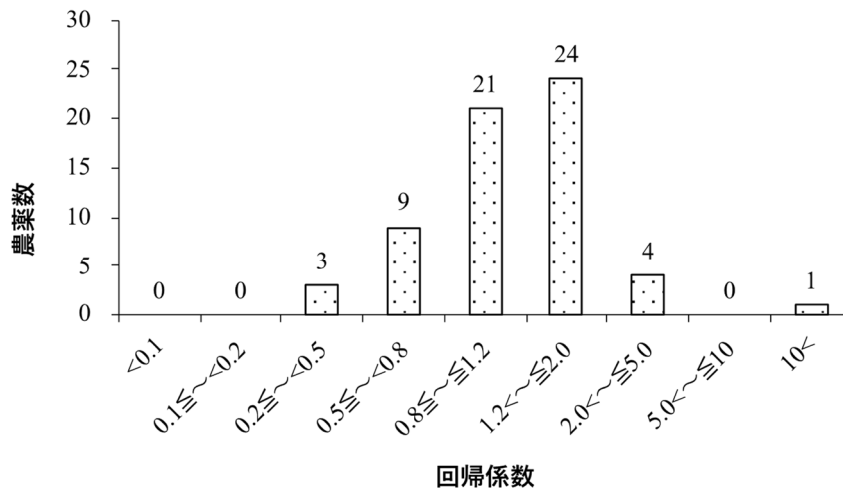


図19. 2地点以上から検出された農薬類の回帰係数の分布

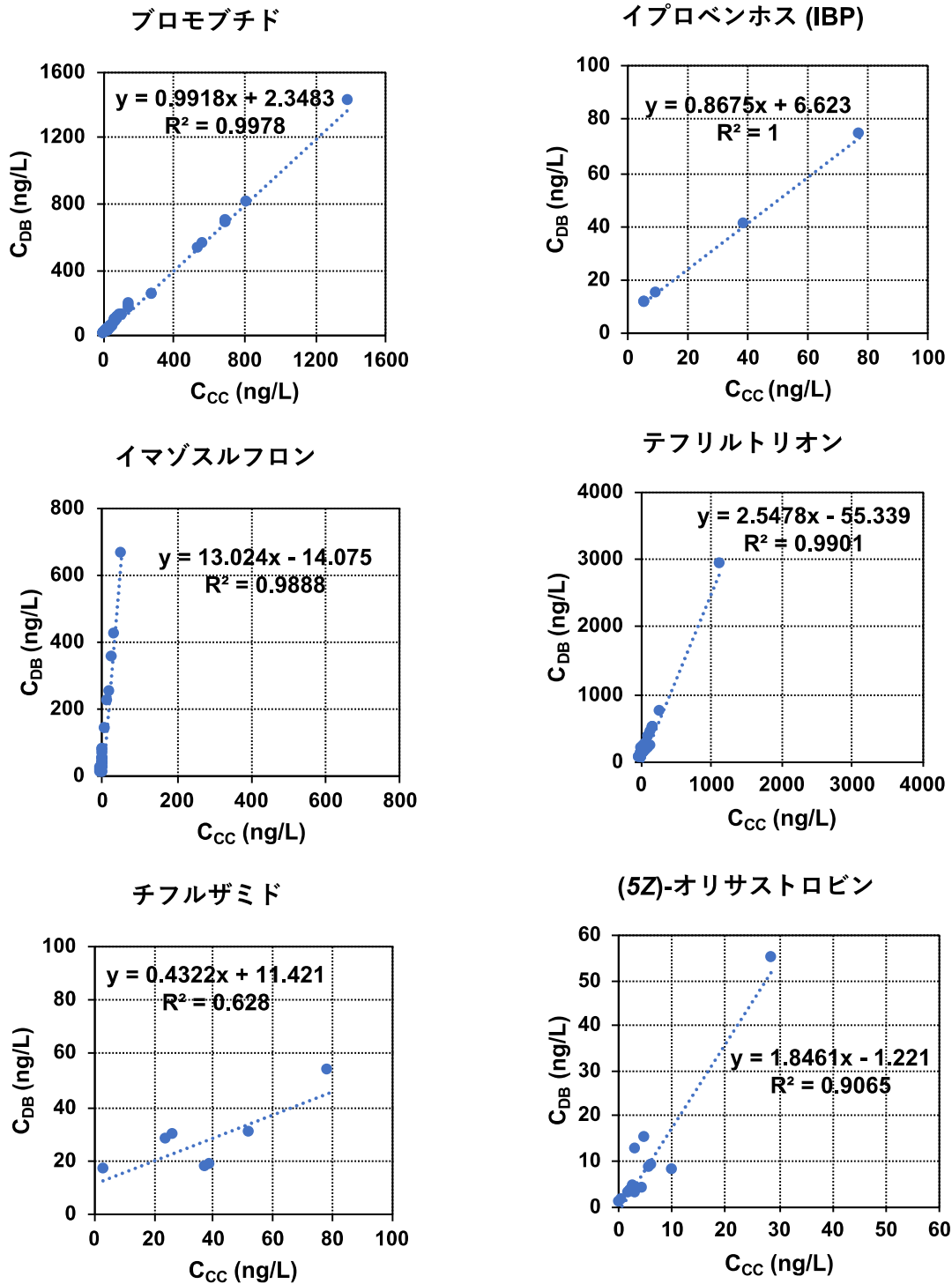


図 20. 農薬類の  $C_{CC}$  (検量線による定量値) と  $C_{DB}$  (データベースによる定量値) の関係の例 (上段; 回帰係数が 0.80~1.20 であった農薬の例, 中段; 回帰係数が大きかった農薬の例, 下段; 回帰係数が小さい, あるいは回帰関係が良好でなかった農薬の例)

表 1. 陰イオン類の LC/MS/MS 測定条件

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

表 2. 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 (バージョフ時間1 min)
	注入量	2 μL
	MS	測定モード
インターフェイス温度		280° C
イオン源温度		250° C

表 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 4. GC/MS 分析条件

装置	項目	設定
GC	注入口ライナー	GCMS-QP2010 Plus : Topaz ライナー (Restek) JMS-Q1050GC : ウルトライナーライナー (Agilent)
	試料注入法	スプリットレス (パージオフ時間 : 1 min)
	試料注入量	2 µL
	注入口温度	250°C
	カラム	DB-5ms (30 m×0.25 mm×0.25 µm, Agilent)
	カラム温度	50°C (1 min) - 20°C/min - 200°C (0 min) - 5°C/min - 300°C (1min)
	キャリアガス	He
	キャリアガス流量	40 cm/s (1.2 mL/min)
MS	イオン化法	EI
	イオン化電圧	70 eV
	測定モード	全イオンモニタリング (TIM, $m/z$ 範囲 : 40 - 500)
	インターフェイス温度	280°C
	イオン源温度	250°C

表 5. 検量線データベースの作成に用いた装置と測定時期

機種	購入年月	#	測定年月	表記	備考
GCMS-QP2010 Plus (島津製作所)	2010年4月	1	2017年8月	2017	
		2	2018年6月	2018	装置移設後の分析
JMS-Q1050GC (日本電子)	2013年2月	1	2017年8月	2017	
		2	2018年6月	2018-1	装置移設後の分析
		3	2018年9月	2018-2	
		4	2019年11月	2019	装置保守後の分析
		5	2021年3月	2021	

表6. LC-QTOFMS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 7. SRM 測定による EDA 脱塩素処理水道水の添加回収試験結果 (真度%)

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

表 8. SRM 測定によるチオ硫酸ナトリウム脱塩素処理水道水の添加回収試験結果 (真度%)

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

表 9. SIM 測定による EDA (左) およびチオ硫酸ナトリウム (右) 脱塩素処理水道水の添加回収試験結果 (真度%)

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

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

表 10. 検量線標準試料の測定における定量下限の農薬数

定量下限	GCMS-QP2010 Plus		JMS-Q1050GC				
	2017	2018	2017	2018-1	2018-2	2019	2021
0.01 mg/L	63	71	93	99	103	162	157
0.02 mg/L	62	60	23	38	43	6	10
0.05 mg/L	32	28	23	18	12	2	2
0.1 mg/L	11	9	7	5	4	0	0
0.2 mg/L	2	0	8	3	7	0	0
0.5 mg/L	1	2	9	7	1	0	0
1 mg/L	0	1	5	0	0	0	0
≥2 mg/L	1	1	4	2	2	2	3
合計	172	172	172	172	172	172	172

表 11. 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/L)	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

表 12. PT-GC/MS の分析条件

	パラメータ	設定値
PT	バージ時間	6 min
	バージ流量	40 mL/min
	サンプルヒータ	ON (60 °C)
	ドライバージ時間	1 min
	デソープ温度	220 °C
	デソープ時間	2 min
	トラップ管	AQUA TRAP 1
	サンプル量	5 mL
GC	カラム	InertCap AQUATIC (0.25 mm I.D. × 60 m, df= 1.00 μm, ジーエルサイエンス)
	カラムオープン温度	40 °C(1 min) - 5 °C/min - 100 °C - 10 °C/min - 200 °C(10 min)
	気化室温度	150 °C
	注入モード	スプリット(1:3)
	バージ流量	3.5 mL/min
	キャリアーガス	N <sub>2</sub>
	キャリアーガス流量	18.1 cm/sec
	MS	イオン化法
測定モード		SIM
インターフェイス温度		200 °C
エミッション電流		60 μA
イオン源温度		200 °C
モニターイオン		1,1-ジクロロエチレン:61, 96, 98, ジクロロメタン:49, 84, 86, MTBE:73, 57, trans-1,2-ジクロロエチレン:61, 96, 98, cis-1,2-ジクロロエチレン:61, 96, 98, クロロホルム:83, 85, 47, 1,1,1-トリクロロエタン:97, 99, 61, 四塩化炭素:117, 119, 121, 1,2-ジクロロエタン:62, 49, 64, ベンゼン:77, 78, 52, トリクロロエチレン:130, 132, 95, 1,2-ジクロロプロパン:63, 62, プロモジクロロメタン:83, 85, 47, 1,4-ジオキサン:88, 58, cis-1,3-ジクロロプロペン, 75, 77, 49, トルエン:92, 91, trans-1,3-ジクロロプロペン:75, 77, 49, 1,1,2-トリクロロエタン:97, 83, 85, テトラクロロエチレン:166, 164, 129, ジブromokロメタン:129, 127, 131, p-キシレン, m-キシレン:105, 106, 91, o-キシレン:106, 91, 105, プロモホルム:173, 171, 175, p-ジクロロベンゼン:148, 146, 111, フルオロベンゼン:96,70, 4-プロモフルオロベンゼン:96, 64, 1,4-ジオキサン-d8:95, 174, 176

表 13. 精製水を用いた妥当性評価の結果

	対象物質	添加濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	真度	併行精度 (RSD)
1	1,1-ジクロロエチレン	0.1	93%	9%
		0.2	99%	8%
2	ジクロロメタン	0.1	102%	12%
		0.2	88%	5%
3	MTBE	0.1	76%	3%
		0.2	80%	3%
4	トランス-1,2-ジクロロエチレン	0.1	92%	4%
		0.2	94%	3%
5	シス-1,2-ジクロロエチレン	0.1	103%	3%
		0.2	101%	1%
6	クロロホルム	0.1	91%	3%
		0.2	97%	2%
7	1,1,1-トリクロロエタン	0.1	123%	6%
		0.2	111%	5%
8	テトラクロロメタン	0.1	99%	9%
		0.2	101%	7%
9	1,2-ジクロロエタン	0.1	97%	3%
		0.2	102%	1%
10	ベンゼン	0.1	120%	2%
		0.2	106%	2%
11	トリクロロエチレン	0.1	71%	8%
		0.2	89%	5%
12	1,2-ジクロロプロパン	0.1	108%	2%
		0.2	103%	2%
13	プロモジクロロメタン	0.1	97%	2%
		0.2	99%	2%
14	1,4-ジオキサン	0.1	N.D.	N.D.
		0.2	109%	6%
15	シス-1,3-ジクロロプロペン	0.1	74%	2%
		0.2	78%	2%
16	トルエン	0.1	81%	4%
		0.2	85%	2%
17	トランス-1,3-ジクロロプロペン	0.1	72%	1%
		0.2	77%	3%
18	1,1,2-トリクロロエタン	0.1	103%	2%
		0.2	101%	2%
19	テトラクロロエチレン	0.1	76%	10%
		0.2	85%	7%
20	ジブromokロロメタン	0.1	94%	4%
		0.2	95%	4%
21	m,p-キシレン	0.1	71%	4%
		0.2	78%	3%
22	o-キシレン	0.1	72%	4%
		0.2	80%	2%
23	プロモホルム	0.1	87%	8%
		0.2	86%	2%
24	1,4-ジクロロベンゼン	0.1	72%	5%
		0.2	82%	3%



表 14. 水道水を用いた妥当性評価の結果

	対象物質	添加濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	真度	併行精度 (RSD)
1	1,1-ジクロロエチレン	1	97%	7%
		5	115%	6%
2	ジクロロメタン	1	83%	3%
		5	106%	5%
3	MTBE	1	97%	2%
		5	111%	2%
4	トランス-1,2-ジクロロエチレン	1	97%	4%
		5	111%	5%
5	シス-1,2-ジクロロエチレン	1	101%	2%
		5	110%	4%
6	クロロホルム	1	26%	58%
		5	94%	15%
7	1,1,1-トリクロロエタン	1	102%	5%
		5	116%	5%
8	テトラクロロメタン	1	105%	6%
		5	118%	5%
9	1,2-ジクロロエタン	1	103%	1%
		5	111%	3%
10	ベンゼン	1	100%	3%
		5	110%	4%
11	トリクロロエチレン	1	100%	3%
		5	107%	5%
12	1,2-ジクロロプロパン	1	101%	1%
		5	109%	4%
13	プロモジクロロメタン	1	85%	4%
		5	106%	6%
14	1,4-ジオキサン	1	77%	9%
		5	107%	4%
15	シス-1,3-ジクロロプロペン	1	87%	1%
		5	106%	3%
16	トルエン	1	97%	2%
		5	109%	5%
17	トランス-1,3-ジクロロプロペン	1	77%	1%
		5	104%	2%
18	1,1,2-トリクロロエタン	1	100%	2%
		5	107%	3%
19	テトラクロロエチレン	1	95%	4%
		5	104%	6%
20	ジブromokロロメタン	1	93%	7%
		5	105%	5%
21	m,p-キシレン	1	94%	2%
		5	107%	4%
22	o-キシレン	1	94%	1%
		5	106%	4%
23	プロモホルム	1	84%	5%
		5	101%	5%
24	1,4-ジクロロベンゼン	1	86%	4%
		5	99%	6%



## 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
Tsuchioka H, Izumiya S, Endo T, Wada T, Harada H, Hashimoto A.	Hydroxyapatite powder cake filtration reduces false positives associated with halophilic bacteria when evaluating Escherichia coli in seawater using Colilert-18	J Microbiol Methods	159	69-74	2019
小林憲弘	水道水中の農薬分析法に関する研究動向	水環境学会誌	42(A) (11)	386-389	2019
小林憲弘, 宮本紫織, 佐藤学, 木下輝昭, 高木総吉, 岩間紀知, 粕谷智浩, 古川浩司, 堀池秀樹, 齊藤香織, 京野完, 高原玲華, 五十嵐良明	液体クロマトグラフィータンデム質量分析による水道水中の140農薬の一斉分析法の妥当性評価	水環境学会誌	42(6)	247-258	2019
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
Kamata, M., Matsui, Y., and 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., 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	261	127743	2020

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
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
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
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
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
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
橋本温, 中本佳奈, 鈴木裕之, 土岡宏彰, 泉山信司	ハイドロキシニ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
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., 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	771	144979	2021

Matsushita, T., Kikkawa, Y., Omori, K., Matsui, Y. and Shirasaki, N.	A metabolism- coupled cell- independent acetylcholinesterase activity assay for evaluation of the effects of chlorination on diazinon toxicity	Chemical Research in Toxicology	34	2070-2078	2021
Miura, T., Takino, H., Gima, A., Haramoto, E., Akiba, M.	Recovery of nucleic acids of enteric viruses and host-specific Bacteroidales from groundwater by using an adsorption-direct extraction method	Appl Environ Microbiol.	87 (18)	e00710-21	2021
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	751	141636	2021
Tada, Y., Cordero, J.A., Echigo, S., and Itoh, S.	Effect of coexisting manganese ion on the formation of haloacetic acids during chlorination	Chemosphere	263	127862	2021
井上亘, 萩田堅一, 藤瀬大輝, 橋本温, 泉山信司	小規模下水処理場放流水の塩素抵抗性原虫調査	水道協会雑誌	90 (11)	23-27	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
小坂浩司, 施昊, 松本創, 越後信哉, 伊藤禎彦	塩素処理による含窒素化合物由来のカルキ臭生成特性	土木学会論文集 G (環境)	58	III_261-III_268	2021
小林憲弘, 土屋裕子, 五十嵐良明	イプロジオンの水中での分解性と検査法の検討	水道協会雑誌	90 (11)	11-22	2021
橋本温, 柳下真由子, 小林謙介, 泉山信司	水道水質関連調査データを用いた水源のクリプトスポリジウム等検出状況とその定量的微生物リスク評価	水道協会雑誌	90(4)	1-9	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
Nakai T., Kosaka K., Asami M. and Akiba M.	Removal of halobenzoquinone precursors during advanced water purification process	Ozone: Science & Engineering	44(2)	208-216	2022

Shirakawa, D., Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Yamashita, R., Matsumura, T. and Koriki, S.	Evaluation of reduction efficiencies of pepper mild mottle virus and human enteric viruses in full-scale drinking water treatment plants employing coagulation-sedimentation-rapid sand filtration or coagulation-microfiltration	Water Research	213	118160	2022
岩間紀知, 窪田吉洋, 中村弘揮	ダンシルクロリド誘導体化-液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析法による水道水中フェノール類の測定	環境科学誌	35(2)	50-58	2022
木下輝昭, 小田智子, 山崎貴子, 栗田 翔, 鈴木俊也, 中嶋順一, 守安貴子	固相抽出-LC/MS 法による水道水中界面活性剤の一斉分析法の検討及び妥当性評価	環境科学誌	35(2)	59-69	2022
小林憲弘, 高木総吉, 木下輝昭, 仲野富美, 古川浩司, 粕谷智浩, 松巾宗平, 寺中郁夫, 山本剛, 米久保淳, 田中誠也, 丹羽宏之, 会田祐司, 高原玲華, 齊藤香織, 五十嵐良明	液体クロマトグラフィー質量分析による水道水中の陰イオン一斉分析法の検討と妥当性評価	水環境学会誌	45(2)	51-66	2022
小林憲弘, 土屋裕子, 五十嵐良明	GC/MS ターゲットスクリーニング分析法による水道水中農薬の定量精度の評価	環境科学誌	35(2)	88-102	2022
高木総吉, 長谷川有紀, 小池真生子, 吉田 仁, 安達史恵	GC/MS ターゲットスクリーニング分析法の水道原水および浄水への適用	環境科学誌	35(2)	78-87	2022
長谷川有紀, 小池真生子, 高木総吉, 吉田 仁, 安達史恵, 小泉義彦, 中島孝江, 竹中凜代, 山口進康	大阪府内浄水場の水道原水および浄水中におけるイプフェンカルバゾンの存在実態	環境科学誌	35(2)	70-77	2022
古川浩司, 橋本真, 小林珠美, 滝埜昌彦	トリガーMRM 法を用いた四重極 LC-MS/MS による水道水中の農薬スクリーニング分析法の検討	環境科学誌	35(2)	34-49	2022