

# Ⅲ 調査研究

### Ⅲ 調査研究 目次

#### 1. 調査研究

- (1) ポリオキシエチレンアルキルエーテルの実態調査および発生源解析  
大野木卓 他 ..... 41
- (2) ポリオキシエチレンアルキルエーテルの環境負荷低減技術の検討  
大野木卓 他 ..... 46
- (3) 事業所排水の生物化学的酸素要求量（BOD）検査における光学式センサ法の特性評価  
和田理誠 他 ..... 51

#### 2. ノート

- (1) 藻類生長阻害試験と増殖ポテンシャル試験による北潟湖流入河川水の評価  
保月勇志 他 ..... 56

#### 3. 資料

- (1) 2022/23 シーズンの福井県のインフルエンザ  
小和田和誠 他 ..... 64
- (2) 令和5年度感染症流行予測調査結果（百日咳・ジフテリア・破傷風）  
坂井伸成 他 ..... 67

# ポリオキシエチレンアルキルエーテルの実態調査および発生源解析

大野木卓・川村恭平・岩井直樹・酒井忠彰

Survey of Polyoxyethylene Alkyl Ether in Rivers in Fukui Prefecture

Taku OHNOGI, Kyohei KAWAMURA, Naoki IWAI, Tadaaki SAKAI

県内の河川水におけるポリオキシエチレンアルキルエーテル（以下、「AE」という）の実態を把握するため、令和4年度に県内主要河川で環境調査を実施したところ、全地点でAEが検出され、発生源が県内に広く存在していると考えられた。また、県内のPRTR情報から想定された主要発生源（生活排水および繊維工業の工場排水）が高濃度の主要要因と考えられた。一方で、汚水処理人口普及率が高い地域で生活排水系が寄与する事例や、PRTR届出事業所がない地域での生活排水系や繊維工業の工場排水以外の排水が寄与する事例も確認された。このことから、県内河川でAEが高濃度を示す要因が、PRTR等情報に加え、詳細調査を行うことにより明らかにすることができた。

## 1. はじめに

AEは、家庭用洗剤、工業用洗剤や乳化剤等として広く使用される界面活性剤である<sup>1,2)</sup>。また、甲殻類等の水生生物への影響が懸念されることから、環境省の化学物質の環境リスク初期評価において、詳細な評価を行う候補物質とされている<sup>3)</sup>。

また、当県の公共用水域へのPRTR届出排出量（全業種(2022年)）は全国3位であり、8,165 kg/年のAEが排出されている<sup>4)</sup>。当県は繊維産業が地場産業であり、届出排出量のほとんどが繊維工業からのものである。

また、当県のPRTRの届出外推計結果(2022年)によると、家庭からの排出量(83,967 kg/年)が合計量(116,926 kg/年)の72%を占めており、当県においても家庭からの排出が主である<sup>4)</sup>。

当県の排出状況からAEは県内河川水中に存在していると想定されるが、当県における詳細な調査はこれまで行われていない。そこで、県内河川水中のAEの分布状況を把握するため、県内公共用水域常時監視地点を中心に実態調査を実施し、発生源解析を行ったので報告する。

## 2. 方法

### 2.1 測定対象物質

測定対象とするAEは、アルキル鎖の炭素数が12、オキシエチレン（以下、「EO」という）の付加モル数nが2-20のAE(19物質)とした。(C<sub>12</sub>EO<sub>2-20</sub> / 分子式: C<sub>12</sub>H<sub>26</sub>O(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>n</sub> n=2-20)

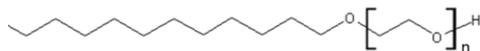


図1 AEの構造式

### 2.2 調査対象河川と調査年月

#### 2.2.1 概況調査

県内河川水中のAEの実態を把握するため、公共用水域常時監視地点から34地点(29河川)を選定し概況調査を四半期に1回実施した(調査期間 夏: 令和4年6月22~29日、秋: 令和4年9月12~27日、冬: 令和4年11

月28日~12月14日、春: 令和5年3月6~21日)。なお、採水は好天が続いている日に実施した。県内を6地域に分け、地域ごとに同一日に採水を行った。概況調査地点図を図2に、概況調査地点名を表1に示す。

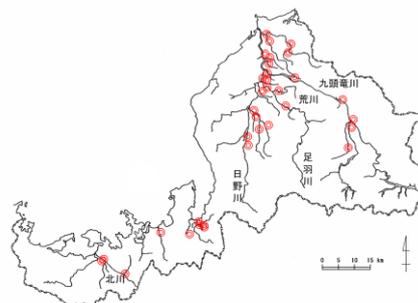


図2 概況調査地点図

表1 概況調査地点名

河川名	地点名	河川名	地点名
九頭竜川	荒鹿橋	鞍谷川	浮橋
九頭竜川	布施田橋	穴田川	榎木橋
日野川	豊橋	黒津川	水門
日野川	明治橋	笙の川	三島橋
足羽川	天神橋	木の芽川	木の芽橋
足羽川	水越橋	深川	木の芽橋
竹田川	清間橋	二夜の川	末端
竹田川	栄橋	井の口川	穴地藏橋
兵庫川	新野中橋	耳川	和田橋
真名川	土布子橋	北川	新道大橋
磯部川	安沢橋	北川	高塚橋
清滝川	新在家橋	南川	湯岡橋
赤根川	東大月橋	荒川	水門
田島川	長屋橋	狐川	狐橋
五領川	熊堂橋	馬渡川	馬渡大橋
吉野瀬川	下司橋	底喰川	西野橋
浅水川	天神橋	八ヶ川	高江橋

#### 2.2.2 追加調査

概況調査において比較的高濃度で検出された8河川で調査地点を追加して調査し、各河川における発生源の解析を行った。追加調査は冬季と春季に概況調査の日程に合わせて実施した。

## 2. 3 分析方法

### 2. 3. 1 試薬および器具

既報<sup>5)</sup>のとおり、前処理および測定には下記の試薬等を使用した。

- ・混合標準原液：ポリオキシエチレンアルキルエーテル (n=1~20) 20 種混合標準溶液 (100 µg/mL) (林純薬工業 (株))
- ・サロゲート内標準物質：n-ドデシルアルコールヘプタエトキシレート-d<sub>25</sub> (林純薬工業 (株))
- ・精製水：Milli-Q IQ 7005 で精製した精製水
- ・固相カートリッジ：Autoprep EDS-1 (昭和電工 (株))

### 2. 3. 2 前処理および測定条件

測定は既報<sup>5)</sup>の方法で LC-MS/MS 装置で行った。分析方法のフローチャートを図 3、LC-MS/MS の測定条件を表 2 に示す。本報は田原ら<sup>6)</sup>の分析方法を参考に検討し、溶出溶媒等を変更することで EO<sub>2</sub>~20 の同族体の同時分析が可能となっている。

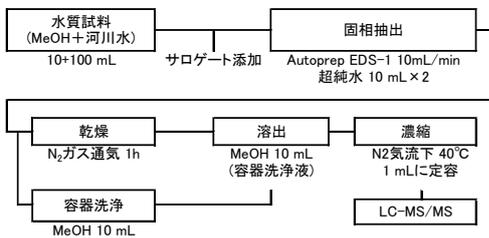


図 3 分析方法のフローチャート

表 2 LC-MS/MS の測定条件

LC装置	(株)島津製作所製 Nexera X2
カラム	InertSustain C18 HP
カラム温度	40°C
流速	0.2 mL/min
移動相	A: 酢酸アンモニウム水溶液(10 mmol/L) B: アセトニトリル
移動相比	A:B = 15 : 85
試料注入量	2.0 µL
MS装置	(株)島津製作所製 LCMS-8060
イオン化法	ESI(+)
測定モード	SRM

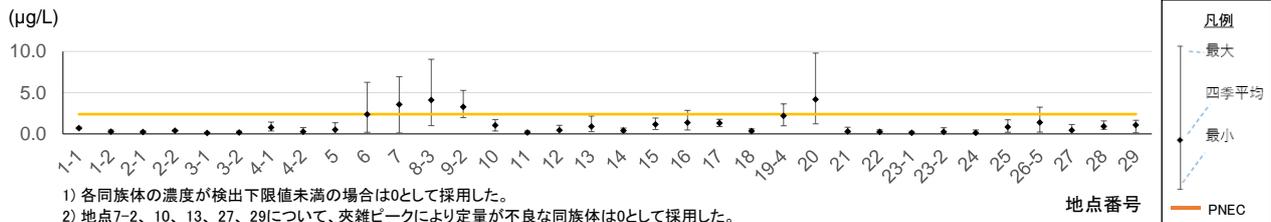
## 3. 結果と考察

### 3. 1 概況調査

#### 3. 1. 1 全調査地点の結果

概況調査の結果を図 4 に示す。この総濃度は各同族体の濃度の合計値である。なお、一部の同族体が夾雑成分により定量不良となった検体は、その同族体の濃度を 0 として算出した。

34 地点 (29 河川) において、AE の総濃度の範囲は



- 1) 各同族体の濃度が検出下限値未満の場合は 0 として採用した。
- 2) 地点 7-2、10、13、27、29 について、夾雑ピークにより定量が不良な同族体は 0 として採用した。

図 4 概況調査の結果 (各地点の AE の総濃度)

0.0042~9.8 µg/L であり、全地点全季で AE が検出され、県内に発生源が広く分布していることが推測された。

また、8 河川 (地点 6、7-2、8-3、9-2、16-3、19-4、20-3、26-5) 最高値が河川水の予測無影響濃度 (PNEC) 2.4 µg/L を超過しており、いずれも中小河川でありその流域には市街地が広く存在する特徴があった。また、季節変動については全地点で共通する傾向はみられなかった。

#### 3. 1. 2 高濃度地点のグループ分けと同族体分布

「1. はじめに」のとおり、PRTR から県内の AE の公共用水域への主要な排出源として生活排水および繊維工業の工場 (以下、「繊維工場」という) からの排水が想定される。このため、高濃度が確認された 8 河川の流域について、汚水処理人口普及率の高低および繊維工場の有無で表 3 のとおりグループ分けし、各グループの同族体分布を確認した。(図 5-1、図 5-2 および図 5-3)

表 3 のとおり、高濃度地点はグループ B およびグループ C に集中しており、このことは上記の発生源の想定と符合していた。

表 3 高濃度地点の流域特性によるグループ分け

		繊維工業工場の有無 (水質汚濁防止法 特定施設)	
		あり	なし
汚水処理人口普及率 (流域市町)	低 (90% 未満)	A 0 地点 (-)	B 3 地点 (地点 6、8-3、9-2)
	高 (90% 以上)	C 4 地点 (地点 7-2、16-3、20-3、26-5)	D 1 地点 (地点 19-4)

(1) 汚水処理人口普及率が低い地域 (グループ B) 3 地点 (地点 6、8-3、9-2)

繊維工場がなく、かつ、汚水処理人口普及率が低い流域であるグループ B は、いずれの地点も EO 鎖長が 11 を中心に 9~12 の同族体濃度が高く、EO 鎖がより短い、またはより長い同族体は低いという共通の特徴があった。また、各地点で季節により総濃度は大きく変動しているものの、その同族体濃度分布は類似していた。このように 3 地点で同族体の濃度分布が類似していることから、同種の発生源が各流域に存在している可能性が考えられる。

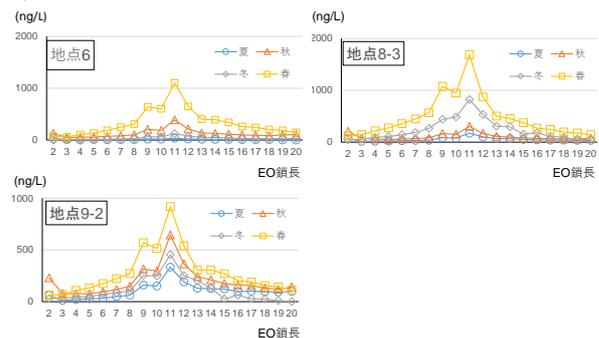
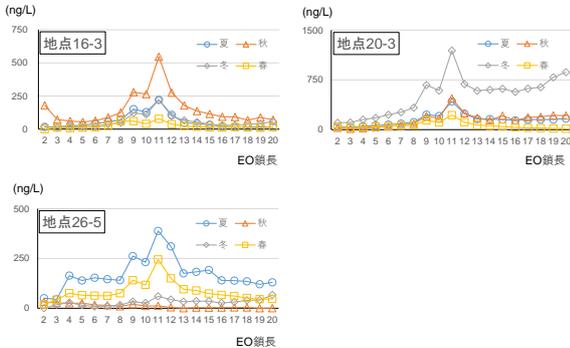


図 5-1 グループ B の同族体分布

(2) 繊維工場が立地する地域（グループC）4地点（地点7-2、16-3、20-3、26-5）

繊維工場の排水が流入し、かつ、汚水処理人口普及率が高い流域であるグループCは、グループBの地点と同様に、EO鎖長が11を中心に9～12の同族体濃度が高かった。ただグループBと異なり、EO鎖が短い、または長い同族体も比較的高い濃度の地点も確認されている。このような同族体分布の違いから、グループBと異なる発生源が各流域に存在している可能性が考えられる。



1) 地点7-2は夾雑成分により一部の同族体が定量不良であるため、同族体分布の比較対象から除外している。

図5-2 グループCの同族体分布

(3) 繊維工場がなく、かつ汚水処理人口普及率が高い地域（グループD）1地点（地点19-4）

繊維工場がなく、かつ、汚水処理人口普及率が高い流域であるグループDは、グループBの地点と同様に、EO鎖長が11を中心に9～12の同族体濃度が高かった。同族体分布がグループBと類似していることから、グループBと同種の発生源が流域に存在している可能性が考えられる。

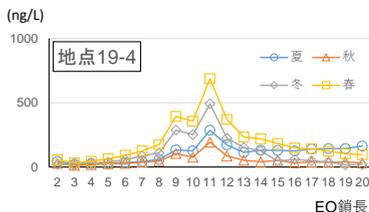


図5-3 グループDの同族体分布

### 3.2 追加調査

高濃度でAEが検出された河川の発生源について、流域特性によるグループ分けにより、生活排水と繊維工業排水の寄与が示唆されたが、より詳細に解析するため追加調査をした。その結果をグループ・地点ごとに示す。

#### 3.2.1 汚水処理人口普及率が低い地域（グループB）

汚水処理人口普及率が低い地域であるグループBの3河川（地点6、8-3、9-2の水域）の追加調査を、令和5年3月に6地点（地点6、8-1～3、9-1～2）で実施した。採水地点の概略を図6-1、AEの総濃度を図6-2、同族体比を図6-3に示す。

調査地点は、特定の固有発生源は推定できなかったため、市街地の上流（地点8-1、9-1）と中流（地点8-2、8-3）、下流（地点9-2、6）とした。

AEの総濃度は、河川上流から中流にかけて0.26 μg/L（地点8-1）から11 μg/L（地点8-2）まで大幅に上昇していた。また、その同族体比は低濃度の地点8-1を除き、す

べて同じ傾向を示していた。このことから、当該流域では同種の発生源から面的に広く排出されていると考えられる。

また、当該流域の市街地の多くは住居や店舗が占めており、この地域の汚水処理人口普及率は87.6%と、当県全体に比べ約10%低い状況にある（令和4年度末時点 国土交通省）。このことから、同河川には下水処理施設を経由しない生活排水が一定量流入していると考えられる。既往研究<sup>2)</sup>でも、低汚水処理人口普及率と高曝露濃度について、本件と同様の傾向が報告されている。

これらのことから、汚水処理人口普及率が低い当該市街地においては、生活排水が域内河川水のAEの濃度上昇に寄与していると考えられる。なお、上流側の地点9-1においても一定量のAEが検出されているが、下流側と同様の同族体比を示しており、より上流域にある住居等の生活排水の寄与が示唆される。

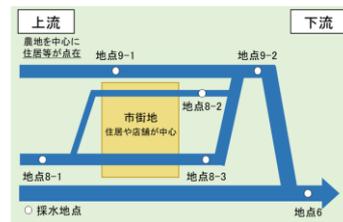


図6-1 採水地点の概略

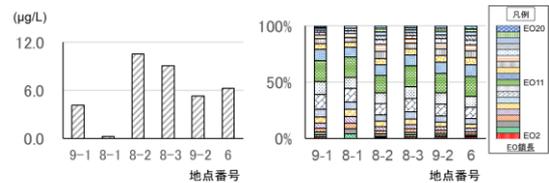


図6-2 AEの総濃度

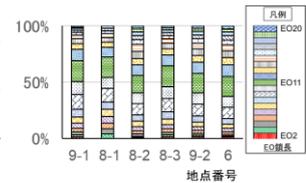


図6-3 AEの同族体比

#### 3.2.2 繊維工場が立地する地域（グループC）

繊維工場の排水が流入し、かつ、汚水処理人口普及率が高い流域であるグループCの河川（地点7-2、16-3、20-3、26-5の水域）の追加調査を、令和4年11～12月に実施した。

なお、これら河川は下水道等が整備された市街地を流下するため、家庭からの生活排水の流入は少ないと推察される。

##### (1) 概況調査地点26-5の水域

採水地点の概略を図7-1、AEの総濃度を図7-2、同族体の推移を図7-3に示す。

当該河川は下水道等が整備された市街地を流下しており、流域には繊維工場が立地しているほか、宅地、農地などが混在し、同河川に排水している繊維工場以外の事業場も存在している。

この流域特性を踏まえ、比較的排水量の大きい排水の流入地点の上下流および末端の5地点で採水を行った。

AEの総濃度は、地点26-1～2にかけてAEの総濃度が0.25 μg/Lから3.7 μg/Lまで大きく上昇しており、地点26-2の上流で放流されている繊維工場排水の寄与が大きいと考えられる。

また、より下流の事業場からの排水地点下流（地点26-4）でも総濃度が上昇しており、その排水が寄与していると考えられる。

図7-3に示した短鎖AE（EO2）、中鎖AE（EO11）および長鎖AE（EO20）の同族体別の濃度推移のとおり、

短鎖 AE は地点 26-2 で、中鎖 AE は地点 26-2、26-4 で上昇がみられ、同族体ごとに濃度推移が異なっていた。これは各地点で流入した AE の組成が異なること、繊維工場からは短鎖 AE が多い排水が、事業場からは中鎖 AE が多い生活排水由来に近い AE が排出されていると推察される。

このように同流域では下水道等整備により AE の発生源として生活排水の流入が少ない一方、繊維工場および事業場の雑排水が流入することによって、河川中の AE が高濃度を示していると考えられる。

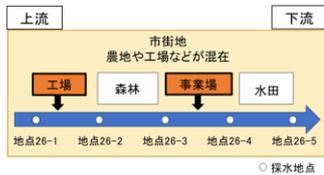


図 7-1 採水地点の概略

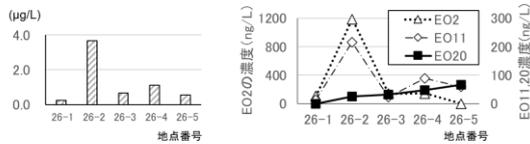


図 7-2 AE の総濃度

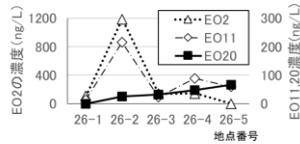


図 7-3 同族体の推移

(2) 概況調査地点 20-3 の水域

採水地点の概略を図 8-1、AE の総濃度を図 8-2、同族体比を図 8-3 に示す。

当該河川も下水道等が整備された市街地を流下しており、流域には同河川に排水する繊維工場が立地している。この流域特性を踏まえ、排水量が多い工場排水流入地点の上下流および概況調査地点の 3 地点で採水を行った。

AE の総濃度は、0.27  $\mu\text{g/L}$  から 9.8  $\mu\text{g/L}$  の範囲で大幅に変動していた。多量の工場排水の放流地点の直下 (地点 20-2) では上流 (地点 20-1) に比べ、AE の総濃度は大きく低下しており、そして、さらにその下流 (地点 20-3) において上昇していることが認められた。

このため、同河川末端で高濃度が検出される要因がこの流域内にあるものの、同繊維工場排水の寄与は小さいと考えられる。

同族体比をみると、最下流地点 20-3 の同族体比は、生活排水系 (地点 6、8-1~3、9-1~2) の調査結果に比べ、長鎖 AE の割合が高く、PRTR の届出事業所が周囲にはないが、工場排水流入点から地点 20-3 の間において生活排水以外の流入が示唆される。なお、最上流の地点 20-1 は生活排水系の同族体比となっており、同河川上流において生活排水の流入が示唆される。

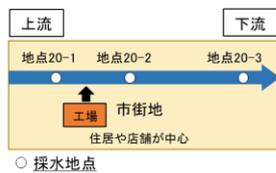


図 8-1 採水地点の概略

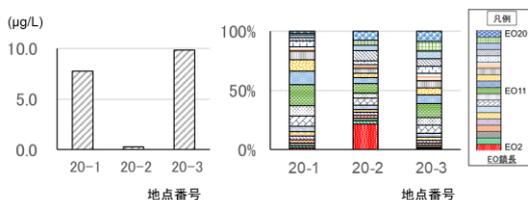


図 8-2 AE の総濃度

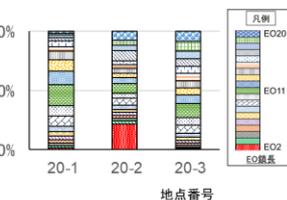


図 8-3 AE の同族体比

(3) 概況調査地点 16-3 の水域

採水地点の概略を図 9-1、AE の総濃度を図 9-2、同族体比を図 9-3 に示す。

当該河川も下水道等が整備された市街地を流下しており、流域には複数の繊維工場が立地している。ただ、下流部の繊維工場については属する工業団地の排水が下水道等処理施設により集約処理されており、同河川への排水はない。

この流域特性を踏まえ、同河川に排水する繊維工場の排水放流地点の上下流および概況調査地点の 3 地点で採水を行った。

AE の総濃度は、0.45  $\mu\text{g/L}$  から 4.7  $\mu\text{g/L}$  の範囲で大きく変動していた。(2) と同様に、多量の工場排水の放流地点の直下 (地点 16-2) は上流 (地点 16-1) に比べ、AE の総濃度は大きく低下しており、さらにその下流 (地点 16-3) において上昇していた。

このため、(2) と同じく、同河川末端で高濃度が検出される要因がこの流域内にあるものの、同繊維工場排水の寄与は小さいと考えられる。

同族体比をみると、どの地点も生活排水系と類似していることから、工場排水の流入点から地点 16-3 の間において生活排水の流入が示唆される。

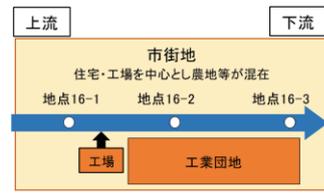


図 9-1 採水地点の概略

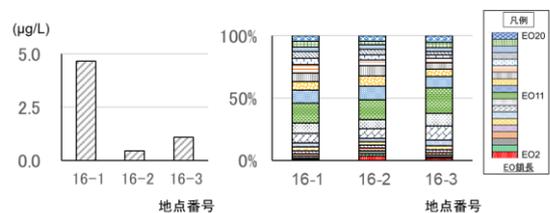


図 9-2 AE の総濃度

図 9-3 AE の同族体比

(4) 概況調査地点 7-2 の水域

採水地点の概略を図 10-1、AE の総濃度を図 10-2 に示す。

当該河川も下水道等が整備された地域を流下しており、流域には住宅地、店舗、繊維工場および農地が存在している。

繊維工場は上下流域に複数存在し、特に下流域に集積立地している。また、これら工場からの排水は同河川に放流されている。

この流域特性を踏まえ、工場が集積している地域の上下流の 2 地点で採水を行った。

同河川では一部の同族体で夾雑成分による定量不良となっているものの、当該同族体を除いた AE の総濃度は、上流 (地点 7-1) から下流 (地点 7-2) にかけて大きく上昇していることが確認できた。この上昇要因として、PRTR の届出事業所は周辺にないが、上下調査地点間の河川への排水がもっぱら周囲に集積立地する繊維工場に限られることから、その排水の寄与が大きいと考えられる。

なお、上流の地点7-1においても一定量のAEが検出されており、より上流域にも発生源が存在していることが示唆された。

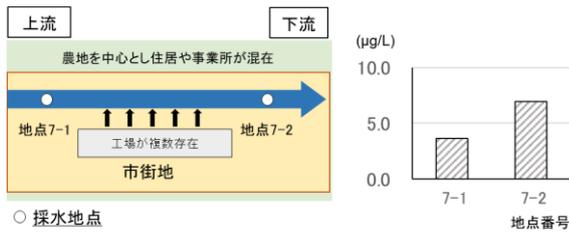


図 10-1 採水地点の概略

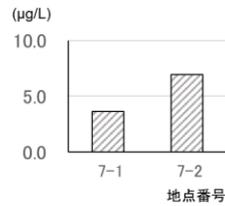


図 10-2 AEの総濃度

### 3. 2. 3 繊維工場がなく、かつ污水处理人口普及率が高い地域（グループD）

繊維工場がなく、かつ、污水处理人口普及率が高い地域であるグループDの1河川（地点19-4）について、令和4年12月に追加調査を実施した。

追加調査の採水地点の概略を図11-1、AEの総濃度を図11-2、同族体比を図11-3に示す。

当該河川は下水道等が整備されている市街地を流下しており、流域には宅地や事業場、農地などが混在している。

調査地点は、特定の固有発生源は推定できなかったため、概況調査地点と住宅地の上下流および合流する支流の末端の4地点で採水を行った。

AEの総濃度は、地点19-1～2にかけて0.36 µg/Lから2.8 µg/Lに上昇しており、さらに下流の地点19-4でも同程度の濃度（2.1 µg/L）で検出された。

地点19-1～2間での発生源からの排水流入が示唆されるが、現地調査、公害法令届出やPRTR情報からは推定できない。

同族体比をみると、地点19-2や19-4について、生活排水系の同族体比を示しており、下水道等が整備されている地域ではあるものの、生活排水の流入が疑われる。

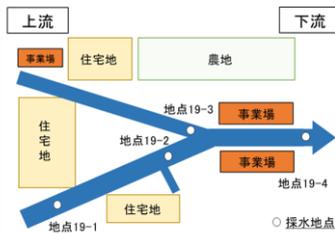


図 11-1 採水地点の概略

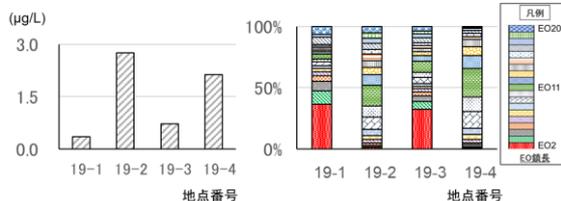


図 11-2 AEの総濃度

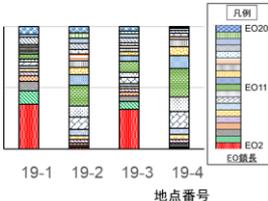


図 11-3 AEの同族体

## 4. まとめ

県内の主要河川水におけるAEの実態について環境調査を実施したところ、全地点でAEが検出されたことから、発生源が県内に広く存在していると考えられた。

この調査では8河川（8地点）でAEが高濃度で検出されたため、同河川で追加調査を行い、得られた濃度推移、

同族体分布の差異および流入排水の状況等から発生源を解析した。

その結果、県内のPRTR情報から想定された主要発生源（生活排水および繊維工場排水）が高濃度の主要要因と考えられた。一方で、生活排水由来のAEの河川への排出が抑制される污水处理人口普及率が高い地域でも生活排水由来と考えられる濃度上昇がみられた。また、PRTR届出事業所がない地域で、生活排水系や繊維工場排水以外の排水が寄与する事例も確認された。

このように、県内河川でAEが高濃度を示す要因が、PRTR等情報に加え、詳細調査を行うことにより明らかにすることができた。

## 謝辞

本研究は、文部科学省「特別電源所在県科学技術振興事業費補助金」により実施したものです。ご協力を賜りました関係者の方々に感謝申し上げます。

## 参考文献

- 1) 環境省：ポリ(オキシエチレン)＝アルキルエーテル(C=12-15)，リスクコミュニケーションのための化学物質ファクトシート 2012年版，<http://www2.env.go.jp/chemi/prtr/factsheet/factsheet.html>
- 2) 中西準子 他：詳細リスク評価書シリーズ 14 アルコールエトキシレート（洗剤），47-49，丸善，東京，2007
- 3) 環境省：化学物質の環境リスク初期評価，8，2010
- 4) 環境省：PRTRインフォメーション広場 集計結果・データを見る，<https://www.env.go.jp/chemi/prtr/result/index.html>
- 5) 大野木卓 他：ポリオキシエチレンアルキルエーテルの分析法の検討，福井県衛生環境研究センター年報，20，54-56(2021)
- 6) 田原り子 他：環境水中のポリオキシエチレンアルキルエーテル一斉分析法，Journal of Environmental Chemistry 31，9-22，2021

## ポリオキシエチレンアルキルエーテルの環境負荷低減技術の検討

大野木卓・川村恭平・岩井直樹・酒井忠彰

Investigation of Technology to Reduce Environmental Impact of Polyoxyethylene Alkyl Ethers

Taku OHNOGI, Kyohei KAWAMURA, Naoki IWAI, Tadaaki SAKAI

先報のとおり実態調査において、ポリオキシエチレンアルキルエーテル（以下、「AE」という）が県内各地の河川で広く検出され、一部では予測無影響濃度（PNEC）の超過が確認された。このため、公共用水域への AE 流入負荷低減のため、排水処理手法 4 種（UV 処理、曝気処理、オゾン処理および AOP 処理（UV/O<sub>3</sub>））の処理試験を行い、いずれの手法も排水中の AE 負荷低減に有効であることを確認した。また、優先的に排水から除去すべき同族体を選定するため、実河川水中での AE の分解性について生分解試験を実施し、いずれの同族体も 24~48 時間でほぼ全量分解することを確認した。

## 1. はじめに

AE は洗剤等として使用される界面活性剤であり、一般家庭や福井県の地場産業である繊維工業などで工業用に使用される化学物質である。AE は環境省の化学物質の環境リスク初期評価において水生生物への影響が懸念されることから、詳細な評価を行う候補物質とされている<sup>1)</sup>。

令和 4 年度に我々が実施した実態調査では、県内 8 地点で予測無影響濃度（PNEC）の超過が確認されており、水生生物への影響が少なくなるよう、水環境中の AE 濃度の低減措置の検討が必要と考えられる。

河川水中の AE 濃度を低減するためには、公共用水域への排出負荷削減が有効である。PRTR 情報<sup>2)</sup>および令和 4 年度の実態調査により、県内河川への主要な発生源として、生活排水と繊維工業系の事業場排水が確認されたことから、まず、これらの排水の河川への排出抑制が求められる。

AE の排水処理については、産総研委託調査において、活性汚泥等の下水処理で良好に除去（除去率 98%程度）されることが報告されている<sup>3)</sup>。実態調査では、県内全域の污水处理人口普及率（90%）を下回る地域を流下する河川で AE が高濃度で検出されている。これらのことから生活排水のように面的に排出される AE については、集約し下水道や農業集落排水処理施設等にて処理することが低減措置として有効であり、そのための施設整備や接続の推進が重要であると考えられる。

一方、下水道に排出されない工場・事業場排水は公共用水域への放流前に低減することが重要である。本報では、既報<sup>3)</sup>と異なる処理法 4 種（UV 処理、曝気処理、オゾン処理および AOP 処理（UV/O<sub>3</sub>））について検討した結果を報告する。

また、この検討においては、AE の同族体の中で、環境中での分解性が低いものを排水から効果的に除去できるかもポイントとなるため、検討に先立ち、令和 4 年の実態調査で AE が高濃度で検出された河川の水を用いた生分解試験を行い、同族体ごとの分解性を把握した。

## 2. 方法

## 2. 1 調査対象物質

既報<sup>4)</sup>と同様に、アルキル鎖の炭素数が 12、オキシエチレン（以下、「EO」という）の付加モル数  $n$  が 2-20 の

AE（19 物質）とした。（C<sub>12</sub>EO<sub>2-20</sub> / 分子式：C<sub>12</sub>H<sub>26</sub>O(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>n</sub>H  $n=2-20$ ）

## 2. 2 生分解試験

高濃度で検出された河川における AE の分解性を検証するため、実態調査で生活排水が主体的な河川 A と工場・事業場排水が主体的な河川 B の河川水を使用して生分解試験を実施した。

## 2. 2. 1 生分解試験の方法

生分解試験は古川ら<sup>5)</sup>の手法を参考に実施した。令和 6 年 3 月に採取した河川水 500mL を三角フラスコに注入し、試験水の AE の濃度が令和 4 年度の概況調査の最高濃度

（9.8 μg/L）の 2 倍程度になるように AE の混合標準液を添加し、容器を通気性のバイオシリコで栓をした。その後、インキュベーター内（庫内 20°C 設定、蛍光灯照明）で試験水をスターラー（500rpm）で攪拌し、24 時間ごとに 100mL を採取し分析を行った。

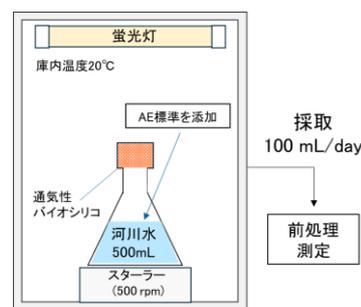


図 1 生分解試験の概略図

## 2. 2. 2 河川水の採取地点

## (1) 河川 A

河川 A は污水处理人口普及率が県全域に比べ低い地域（87.6%、令和 4 年度末時点 国土交通省）であり、実態調査から高濃度 AE が検出された主要因が生活排水であると推察した河川である。河川 A の支流には市街地帯があり、本川の上流に地点 A1、本川と支流の合流地点より下流に地点 A2 が位置している。なお、採水は令和 6 年 3 月 18 日 12 時に実施した。

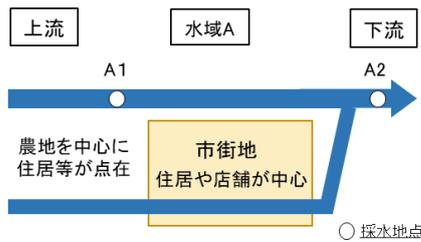


図2 調査地点の概略（河川A）

## (2) 河川 B

河川 B は汚水処理人口普及率が 98.5%（令和 4 年度末時点 国土交通省）と高い地域であり、実態調査から高濃度 AE が検出された主要因が工場・事業場排水であると推察された河川である。採水地点は上流の B1 と繊維工業系の工場や事業場の排水流入後の B2 の 2 地点で令和 6 年 3 月 18 日 9 時に実施した。

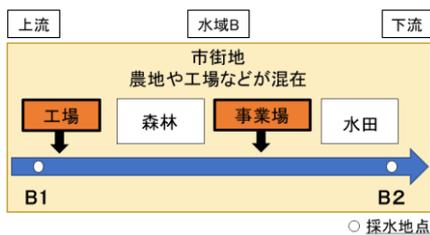


図3 調査地点の概略（河川B）

## 2. 3 排水処理技術の検討

本研究では 4 種の処理方法（UV 処理、曝気処理、オゾン処理および AOP 処理）を検討した。

### 2. 3. 1 処理方法

#### (1) 処理装置

使用した処理装置（UZON）の模式図を図 2 に示す。

（装置の概要）

装置：紫外線・オゾン流水殺菌装置（UZON）  
UZ1101GN (UP-2、UP-3) セン特殊光源(株) 製

光源：低圧水銀ランプ  
(ランプから 5 cm で 120  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ )

曝気量：3 L/min

オゾン発生量：230 mg/H (曝気量約 3~8 L/min)

※メーカーカタログ値

機能：反応槽は縦型の円筒状であり、下部からオゾンを含む空気が供給され、曝気装置で試験水が曝気される。反応槽中心の UV ランプから紫外線が照射されることで、オゾンは強力な酸化剤であるヒドロキシラジカルを発生し、対象物を分解させる。また、余剰のオゾンガスを含む空気は装置上部から排出される。

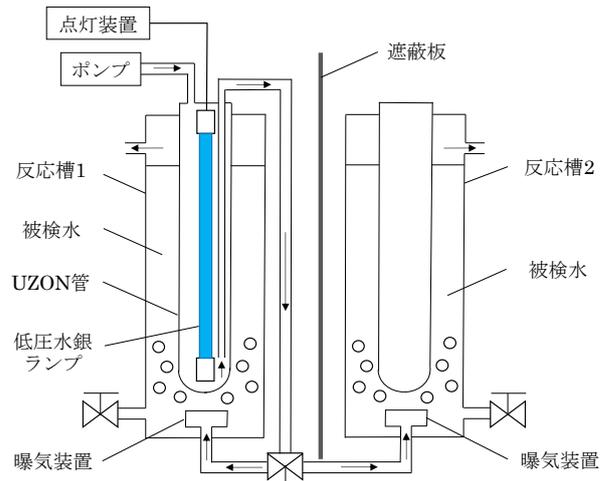


図4 装置の模式図

#### (2) 各調査対象処理の方法と条件

- UV 処理：反応槽 1 の試験水に低圧水銀ランプの UV を照射した。
- 曝気処理：反応槽 1 の試験水に室内空気をポンプで送り、曝気装置で曝気した。
- オゾン処理：低圧水銀ランプを点灯させた反応槽 1 の UZON 管に室内空気をポンプで送る。発生したオゾン遮蔽された反応槽 2 の試験水に送り、曝気装置で曝気した。
- AOP 処理：低圧水銀ランプを点灯させた反応槽 1 の UZON 管に室内空気をポンプで送り、発生したオゾン反応槽 1 の試験水に送り、曝気装置で曝気した。

※b~d の通気量は中野ら<sup>6)</sup>の手法を参考に 3 L/min に設定した。

#### (3) 試験方法

精製水 10L をポリタンクに入れ、AE の混合標準液（各 1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を 10 mL 添加し攪拌した。その後、反応槽に 4L 注入し 1 時間静置後、一部を処理前の試料として採取し、残りを処理開始時の試験水とした。試験開始から 30 分おきに採取し、150 分試験を行った。

## 2. 4 分析方法

### 2. 4. 1 試薬および器具

- 混合標準原液：ポリオキシエチレンアルキルエーテル (n=1~20) 20 種混合標準溶液 (100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) (林純薬工業(株))
- サロゲート内標準物質：n-ドデシルアルコールヘプタエトキシレート-d<sub>25</sub> (林純薬工業(株))
- 精製水：Milli-Q IQ 7005 で精製した精製水
- 固相カートリッジ：Autoprep EDS-1 (昭和電工(株))

### 2. 4. 2 前処理および測定条件

既報<sup>4)</sup>の方法で LC-MS/MS 装置を用いて測定を行った。分析方法のフローチャートを図 5、LC-MS/MS の測定条件を表 1 に示す。

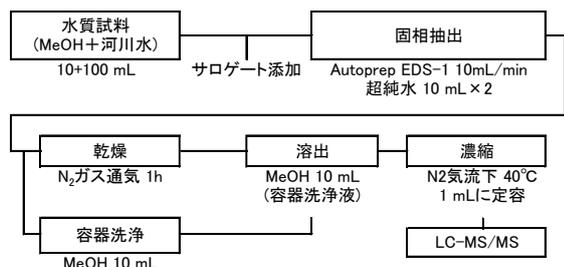


図5 分析方法のフローチャート

表1 LC-MS/MSの測定条件

LC装置	(株)島津製作所製 Nexera X2
カラム	InertSustain C18 HP
カラム温度	40°C
流速	0.2 mL/min
移動相	A: 酢酸アンモニウム水溶液(10 mmol/L) B: アセトリル
移動相比	A:B = 15 : 85
試料注入量	2.0 μL
MS装置	(株)島津製作所製 LCMS-8060
イオン化法	ESI(+)
測定モード	SRM

### 3. 結果および考察

#### 3.1 生分解試験の結果

河川A(地点A1とA2)と河川B(地点B1とB2)の河川水を使用した生分解試験を行った。AEの残存率(C/C<sub>0</sub>)を図6に示す。

河川Aと河川Bのいずれの河川水でも24~48時間でほぼ全量分解(48時間時点の総AEの残存率1~3%)し、易分解であった。

河川Aについて、24時間時点の総AEの残存率を比較した。地点A1では13%、地点A2では4%であり、上流である地点A1の方が分解性は低く、同一河川の上流と下流で分解性が異なっていた。

また、地点A1について、24時間時点でEO20の残存率は70%であり、ほかの同族体と比較して分解速度が遅く、EO鎖長により分解性が異なる傾向が見られた。

一方で、河川Bでは、上流の地点B1と下流の地点B2のいずれも24時間時点で残存率は6%であり、24時間時点では上・下流でほぼ分解性に違いが見られなかった。

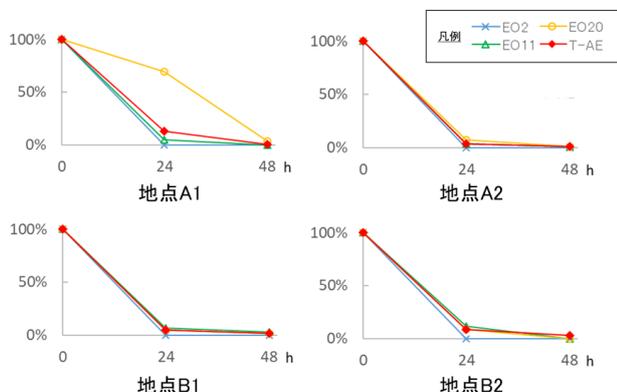


図6 生分解試験の結果(河川A、B)

#### 3.1.1 EO鎖長と分解性の関係

AEの分解メカニズムについて、直鎖型AEは好気性条件下でエーテル開裂とC鎖のω酸化が同時進行する。EOモル数が20以上の場合、あるいはC鎖に分岐がある場合、生分解性が低下することが報告されている<sup>3)</sup>。また、同文献では分解性が低下する要因について、親水性および分子サイズが大きいため、細胞壁を通じた分子の輸送システムに影響を与え、AEの生体内利用を低下させ、生分解性が低くなると考察されている。

本報の生分解試験でEO20などのEO鎖が長いAEの分解性が低い結果が得られた。その要因として、親水性および分子サイズが影響していると考えられた。

#### 3.1.2 同一河川の上・下流で分解性が異なる要因

本報の試験により、AEは河川Aの上流(地点A1)より下流(地点A2)の方が速やかに分解され、同日に同一の河川で採水した河川水であっても上流と下流で分解性が異なることが確認された。

倉田らは多摩川の上、中、下流の河川水を使用した分解試験を行い、本報と対象としているAEの同族体範囲および分析法は異なるが、上流の河川水では中・下流の河川水よりも分解が遅かったと報告している<sup>7)</sup>。また、後藤らは河川水中のアニオン界面活性剤の生分解に影響する要因として河川の温度、汚濁度、生息する微生物の種類やその量等を挙げている<sup>8)</sup>。

河川Aの2地点(地点A1とA2)の水温はいずれも同等(8~10°C)であったが、汚濁度や生息する微生物の種類やその量等の環境要因の違いが分解性に関係していると考えられる。

#### 3.1.3 分解試験の評価

河川A(地点A1とA2)と河川B(地点B1とB2)のいずれの地点でも24~48時間でほぼ全量分解(48時間残存率1~3%)し、県内の最高濃度地点(9.8 μg/L)の2倍程度の濃度でも易分解であった。

令和4年度の実態調査の際に県内の一部の河川でAEが高濃度で検出された要因として、AEが十分に分解される前に採水地点に到達したと可能性等が考えられる。対策として、流域に存在する発生源での抑制が必要であると考えられた。

#### 3.2 排水処理技術の検討

工場・事業場排水中のAEの処理方法を構築するため、4種の排水処理方法(UV処理、曝気処理、オゾン処理およびAOP処理)を検討した。

各処理試験(UV処理、曝気処理、オゾン処理、AOP処理)でのAEおよびEO2、11、20の残存率(C/C<sub>0</sub>)を図7-1~4に示す。

##### 3.2.1 UV処理

AEの残存率は測定開始から150分で5.8%まで低下しており、高い除去効果が得られた。

EO2はUV照射後30分時点で128%まで上昇し、60分時点で86%まで減少していた。このことは、UV照射により生成されたヒドロキシラジカルにより、EO鎖側から分解され短鎖化し、一時的にEO2の濃度が高くなったためと考えられる。

また、EO2以外の同族体についても、長鎖AEの方が減少速度は速く、短鎖AEの方が緩やかであった。このことから、EO鎖側からの短鎖化が進行していることが推察される。

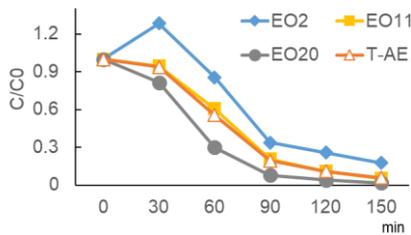


図 7-1 UV 処理試験の結果

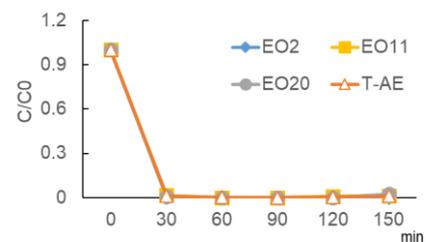


図 7-4 AOP 処理試験の結果

### 3. 2. 2 曝気処理

AE の残存率は測定開始から 60 分で 4.6% まで低下しており、高い除去効果が得られた。また、EO 鎖が短い AE の方が長い AE より速く除去されており、UV 処理とは逆の結果となった。

曝気による酸化で EO 鎖の短鎖化が進行している場合、UV 処理と同様に長鎖 AE の方が減少速度は速く、短鎖 AE の方が緩やかになると考えられる。このことから、曝気による酸化メカニズムのほかに、曝気で生じたミストに伴って AE が空気中への拡散した可能性があると考えられた。

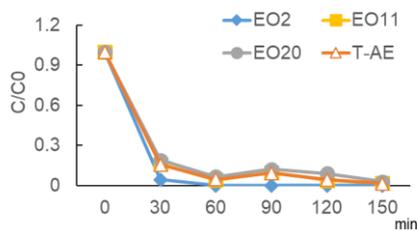


図 7-2 曝気処理試験の結果

### 3. 2. 3 オゾン処理

AE の残存率は測定開始から 60 分で 3.8% まで低下しており、高い除去効果が得られた。また、短鎖 AE の方が減少速度はわずかに速く、曝気処理と同様に短鎖 AE の方が良好に除去された。

90 分以降の濃度がほぼゼロであることから、オゾン処理ではラジカルによる除去メカニズムにより、曝気処理より除去効果が向上していると考えられる。

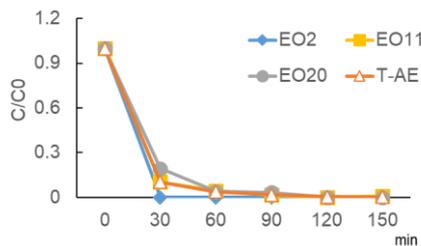


図 7-3 オゾン処理試験の結果

### 3. 2. 4 AOP 処理

AE の残存率は測定開始から 30 分で 1% まで低下しており、高い除去効果が得られた。30 分以降の濃度がほぼゼロであることから、AOP 処理ではラジカルによる除去メカニズムによる除去効果が、UV やオゾン処理よりさらに向上していると考えられる。

### 3. 2. 5 4 種の処理方法の総括

4 種の処理試験を行った結果、いずれの手法でも試験水から AE が迅速に除去され、排水中の AE の除去に適用可能であることが示唆された。ただし、本試験は工場排水のような夾雑物が含まれる複雑な排水で試験されたものではないため、排水処理に適用するには実排水を使用して検証することが必要である。

## 4. まとめ

令和 4 年度の実態調査で生活排水が主体的な河川と工場・事業場排水が主体的な河川の水を使用して生分解試験を実施した。いずれの河川でも AE は県内河川水に最高濃度地点 (9.8 µg/L) の 2 倍程度の濃度を添加しても易分解であった。このことから、県内の一部の河川で AE が高濃度で検出された要因として、十分に分解される前に採水地点に到達したと可能性等が考えられる。対策として、流域に存在する発生源での排出抑制が必要であると考えられた。

また、令和 4 年度の実態調査で明らかになった発生源 (生活排水と工場・事業場排水) について、それぞれに適する方法を検討した。まず、生活排水について、AE は下水処理で良好に除去可能であることから、今後の下水道や農業集落排水処理施設等の普及・接続を推進していくことで低減が可能と考えられた。

一方で、工場・事業場排水は公共用水域への放流前に低減することが重要であるため、排水中の AE の処理方法として各処理試験 (UV 処理、曝気処理、オゾン処理、AOP 処理) を検討した。いずれの手法でも試験水から AE が迅速に除去され、排水中の AE の除去に適用可能であることが示唆された。ただし、本試験は工場排水のような夾雑物に含まれないため、排水処理に適用するには各々の実排水による検証が必要である。

## 謝辞

本研究は、文部科学省「特別電源所在県科学技術振興事業費補助金」により実施したものです。ご協力を賜りました関係者の方々に感謝申し上げます。

## 参考文献

- 1) 環境省: ポリ(オキシエチレン) = アルキルエーテル (C=12-15), リスクコミュニケーションのための化学物質ファクトシート 2012 年版, <http://www2.env.go.jp/chemi/prtr/factsheet/factsheet.html>

- 2) 環境省：PRTR インフォメーション広場 集計結果・データを見る, <https://www.env.go.jp/chemi/prtr/result/index.html>
- 3) 中西準子 他: 詳細リスク評価書シリーズ **14** アルコールエトキシレート (洗剤), 47-49, 丸善, 東京, 2007
- 4) 大野木卓 他: ポリオキシエチレンアルキルエーテルの分析法の検討, 福井県衛生環境研究センター年報, **20**, 54-56(2021)
- 5) 古川憲治 他: River Die-Away 法により安威川における SDS の分解性の評価, 日本水処理生物学会誌 **29**, 1, 19-24, 1993
- 6) 中野仁: 促進酸化法による染色排水の脱色技術, 繊維機械学会誌 **56**, 263-271, 2003
- 7) 倉田直次 他: 多摩川河川水における非イオン界面活性剤の消失試験, 日本油化学会誌 **24**, 12, 879-881, 1975
- 8) 後藤景子 他: 河川水中でのアニオン界面活性剤の一時生分解, 日本家政学会誌, **52**, 2, 181-187, 2001

# 事業所排水の生物化学的酸素要求量 (BOD) 検査における 光学式センサ法の特性評価

和田理誠

Characterization of the Optical Dissolved Oxygen (DO) Sensor Method  
for Biochemical Oxygen Demand (BOD) in Industrial Wastewater

Risei WADA

事業所排水試料を対象とした BOD 分析の DO 測定方法について、公定法の中で最も新しい手法である光学式センサ法が、これまで採用してきたよう素滴定法の代替法として活用できるか評価することを目的として、模擬排水と実排水試料による比較試験を行った。水質の異なる模擬排水を用いた試験により、光学式センサ法は、よう素滴定法と同等の結果が得られるとともに、作業効率に優れることが確認された。また、実排水試料をよう素滴定法と光学式センサ法により測定し、得られた BOD 値を比較した結果、ほぼ同値で高い相関が確認された。これらの結果から、当センターの事業所排水分析において、光学式センサ法は、よう素滴定法を代替できる方法であると評価できた。

## 1. はじめに

生物化学的酸素要求量 (BOD) とは、水中の有機汚濁の指標であり、水試料を 20°C で 5 日間暗所保存したときに好気性微生物によって消費される溶存酸素量 (DO) から算出される水質項目である。BOD については、水質汚濁防止法をはじめ、下水道法や浄化槽法でも排水基準が規定されており、我が国では有機物の代表的な指標項目とされている。当センターでは、水質汚濁防止法に基づく、県内の事業所排水の監視を行っており、BOD が規制対象となる事業所排水は多く、測定頻度が特に高い項目である。

BOD 測定の公定法は、日本産業規格 JIS K 0102 で定められるよう素滴定法 (以下「滴定法」という)、ミラー変法、隔膜電極法および光学式センサ法 (以下「光学式」という) といった 4 種類の方法が規定されている<sup>1)</sup>。環境省が実施した令和 3 年度統一精度管理調査結果によると、それぞれの方法の利用機関数は、滴定法が 45 機関、隔膜電極法が 260 機関、光学式が 38 機関であった<sup>2)</sup>。当センターでは、これまで滴定法により BOD を測定していたが、この方法は、旧来からある分析法で高額な機器が不要であり、試料中の塩分の影響を受けない等の利点がある反面、手分析の作業が煩雑であることや、滴定操作による誤差が生じやすいこと、試薬に毒劇物を用いること等が課題とされてきた。このため、測定操作が比較的簡便な隔膜電極法が公定法に採用されると、この方法を用いる分析機関が増加したが、電極部がデリケートであり、良好な状態の維持に大変な手間がかかる問題があった。例えば、測定中に隔膜に接している部分では酸素が消費されるため、電極に接する試料水に一定の流速が必要となることや、電極の隔膜が油分による汚れの影響を受けやすく、内部液とともに定期的に交換が必要であること等、測定およびメンテナンスに細心の注意と労力が必要である。

一方、近年公定法に追加された光学式は、測定操作が

簡単で、毒劇物を使用する必要がない。測定時に酸素を消費せず、機器のメンテナンスもセンサーキャップを 1 ~ 1.5 年間隔で交換するだけで良好な状態に維持できる。

ただし、滴定法<sup>3-7)</sup>や隔膜電極法<sup>8-12)</sup>では、BOD 分析に関する様々な評価が行われているものの、光学式は比較的新しい手法であることから、詳細な文献情報がない。

以上から、本研究では当センターにおける事業所排水を対象とした BOD 分析における光学式の信頼性を評価するため、様々な水質条件で調製した模擬排水を用いて光学式の特性評価を行うとともに、実際の事業所排水試料の BOD 分析について、滴定法と光学式の比較評価を行った。

## 2. 光学式センサの原理

光学式の DO 測定は、基本的にセンサ内における蛍光強度の変化を利用する方法である。センサ内の蛍光物質は、励起光を受けると励起状態となり、その後基底状態に戻る際に蛍光を発生する。蛍光物質近傍に酸素分子が存在すると、励起状態の蛍光物質に酸素分子が衝突することで、励起エネルギーが酸素分子に奪われ、蛍光の発光強度が弱くなる。この関係は次の Stern-Volmer の式で示される。

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_{SV}[O_2]$$

$I_0$  : 参照 (無酸素) 蛍光強度

$I$  : 測定された蛍光強度

$\tau_0$  : 参照 (無酸素) 蛍光寿命

$\tau$  : 測定された蛍光寿命

$K_{SV}$  : 蛍光物質の特性である蛍光消光定数

$[O_2]$  : 酸素濃度

つまり、蛍光強度は酸素分子の濃度に反比例するため、蛍光強度の低下から DO が計測できる。

また、蛍光を利用する光学式には、蛍光強度を計測する方式の他に、新たな方式としてパルス発光による蛍光の位相のずれを利用する方法がある<sup>13)</sup>。これは Stern-Volmer の式より蛍光の減衰時間が酸素濃度に反比例することを用いるもので、蛍光の減衰時間を位相のずれにより測定し、DO を求めることができる。

### 3. 実験方法

#### 3. 1 模擬排水を用いた試験

##### 3. 1. 1 実験条件

光学式センサ法の特性を評価するため、DO、水温、塩分、色相および濁度の異なる模擬排水を調製し、滴定法と光学式で DO を比較した。

各模擬排水の調製には、JIS K 0102 21「生物化学的酸素要求量 (BOD)」<sup>1)</sup>に準じて、空気を曝気して DO を飽和させた希釈水 (以下「飽和水」という) を用いた。

光学式センサは、4010-1W IDS ProOBOD (YSI 製) を用いた。この光学式センサはパルス方式であり、センサ先端に付属したスターラーで測定時に一定の速度で試料水を攪拌できる。また、測定前に水飽和した空気により校正を行い、DO (mg/L) を測定した。

なお、測定は各模擬排水について 2 回ずつ行い、それらの平均値で評価した。DO の測定方法は JIS K 0102 32.1「よう素滴定法」<sup>1)</sup>および JIS K 0102 32.4「光学式センサ法」<sup>1)</sup>に準拠した。

##### 3. 1. 2 中低 DO での応答性について

DO の異なる模擬排水として、飽和水、飽和水に室温 (20℃) で 5 分間窒素ガスを曝気した水 (以下「中 DO 水」という) および飽和水に室温で 10 分間窒素ガスを曝気した水 (以下「低 DO 水」という) を用いた。飽和水の DO を 100% として、中 DO 水および低 DO 水中の DO の応答性を比較した。

##### 3. 1. 3 温度の影響について

BOD 測定において、5 日目の DO 測定は 20℃ で保管した試料を対象とするため、検体の温度は約 20℃ である。また、低温の検体を 20℃ で保管すると過飽和になるため、0 日目の DO 測定時にも約 20℃ にしておくことが一般的である。しかしながら、本試験では測定法の温度による影響を確認するため、温度の異なる模擬排水の DO を測定し、比較した。模擬排水は、室温で調製した飽和水を開放系のビーカーに入れ、冷蔵庫内で静置し 10℃ まで冷却したものと、温水浴内で静置し、35℃ まで加温したものをを用いた。それらを室温で放置したフラン瓶に移し入れた後に、直ちに DO を測定した。20℃ の飽和水の DO を 100% として、模擬排水の DO の割合を比較した。

##### 3. 1. 4 塩分の影響について

塩分の異なる模擬排水として、質量体積パーセント濃度が 1% および 3% となるよう飽和水に NaCl を溶解し、室温で 30 分間空気を再曝気した。飽和水 (塩分 0%) の DO を 100% として、塩分変更後の DO の割合を算出した。

なお、光学式では、水中の酸素分圧から得られる DO の飽和度%が mg/L 濃度に変換されるが、飽和 DO 値 (mg/L) が変化すると正しい DO 値 (mg/L) に変換されない。塩分は飽和 DO 値に影響するため、測定前に装置に塩分を手動入力し、飽和 DO 値の補正を行った。

##### 3. 1. 5 色相の影響について

色相の異なる模擬排水として、体積パーセント濃度 0.1% 食用色素水溶液 (東京化成工業株式会社製) の赤 104 号、緑 3 号および黄 4 号をそれぞれ体積パーセント濃度が 0.0001% となるよう別々の飽和水に添加し、室温で 30 分間空気を再曝気し、3 種の色相の飽和水を調製した。飽和水の DO を 100% として、色相変更後の DO の割合を比較した。

#### 3. 1. 6 濁度の影響について

濁度の異なる模擬排水として、ポリスチレン濁度標準液 (100 度) (関東化学株式会社製) を、1L メスフラスコに 100mL 添加し、飽和水でメスアップ後、室温で 30 分間空気を再曝気し、換算濁度 10 度としたもの (以下「低濁水」という) と、カオリン濁度標準液 (1000 度) (関東化学株式会社製) を、1L メスフラスコに 50mL 添加し、飽和水でメスアップ後、室温で 30 分間空気を再曝気し、換算濁度 50 度としたもの (以下「高濁水」という) を調製した。飽和水の DO を 100% として、模擬排水の DO の割合を比較した。

また、これらの模擬排水の浮遊物質質量 (SS) を JIS K 0102 14<sup>1)</sup>に準じて 3 回測定し、平均値を算出した。

#### 3. 2 事業所排水を用いた試験

福井県内の業種の異なる様々な事業所排水 39 検体について、BOD を滴定法と光学式で測定し、得られたそれぞれの値の相関を評価した。BOD は JIS K 0102 21<sup>1)</sup>に準拠して分析し、機種は BI-CHEM™ BOD Seed (Novozymes Biologicals, Inc. 製) を用いた。

## 4. 結果および考察

#### 4. 1 模擬排水を用いた試験

##### 4. 1. 1 中低 DO での応答性について

DO の異なる模擬排水について、滴定法および光学式で DO を測定した結果を図 1 に示した。両測定法で、飽和水、中 DO 水、低 DO 水の窒素の曝気時間順で DO が低下し、中 DO 水と低 DO 水の低下の度合いは測定法による大きな差異は見られなかった。このことから、DO の高低にかかわらず、光学式でも問題なく測定可能であると評価できた。

また、滴定法では、試薬の添加や転倒混合の操作、沈殿の沈降を待つ時間が必要であるため、1 試料あたりの測定時間はおよそ 30 分間かかるのに対し、光学式ではそのような前処理が不要であるため、数分で測定ができ、作業効率に優れていると評価できた。

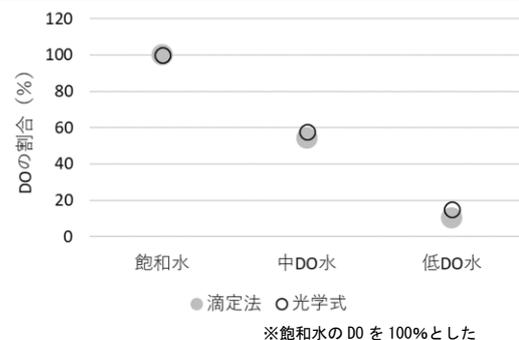


図 1 中低溶存酸素量での測定法による差異

#### 4. 1. 2 温度の影響について

温度の異なる模擬排水について、滴定法および光学式で DO を測定した結果を図 2 に示した。20℃の飽和水に対して、10℃の模擬排水では両測定法で DO が上昇しており、35℃では DO が低下していた。この傾向は、水温が低いと酸素が水中に溶解しやすく、逆に高いと水中に溶解しにくいという基本的な性質によるものであり、水温変化による飽和 DO の変化が原因と考えられる。つまり、10℃の模擬排水は飽和 DO の増加に伴い温度調整中に大気から酸素が溶解し、一方、35℃の模擬排水は飽和 DO の減少に伴い水中の溶存酸素の一部が気化したことが原因と推察される。

両測定法による測定値の違いに着目すると、35℃の飽和水の DO について、滴定法が光学式よりも 5%程度高い値を示した。この原因としては、滴定法では 35℃の模擬排水をフラン瓶に入れた際に模擬排水の熱がフラン瓶に奪われて水温が下がり、その後の試薬添加等で大気中の酸素が検水中に溶解することで、正の誤差が生じた可能性が推察された。一方で光学式では模擬排水をフラン瓶に移し替えた後、直ちに密栓され、DO 測定時も電極で検水を密封しながら測定するため、大気からの酸素の溶解が少なく、滴定法に比べて 35℃の模擬排水の DO を正確に測定できたと考えられた。したがって、測定操作中の水温変化に対しては滴定法よりも光学式の方が優位であることが示唆された。

なお、35℃と 20℃の飽和水 DO の差は 10%程度と大きいことに注視すべきである。つまり、測定作業中における水温変化は DO 測定値に及ぼす影響が大きい。同一検体の 0 日目と 5 日目の DO の消費量を計測する BOD 測定では、水温変化による DO 値の変化が BOD の測定誤差につながるため、いずれの測定方法を用いたとしても 20℃に近い水温で測定することが重要である。

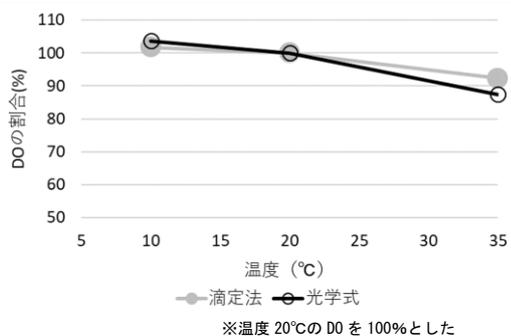


図 2 温度の違いによる DO の変化

#### 4. 1. 3 塩分の影響について

塩分の異なる模擬排水について、滴定法および光学式で DO を測定した結果を図 3 に示した。また、JIS K 0102 表 32.1<sup>1)</sup>で示されている塩分と飽和 DO との関係により算出した理論値も図 3 に併せて示した。DO は塩分の増加に伴い減少しているが、これは、ヘンリーの法則により、塩分が増加すると飽和 DO が減少することによるものである。

両測定法とも塩分の増加に伴う DO 減少に応答できていたが、光学式の方が理論値に近く、優位性があると評価できた。

#### 4. 1. 4 色相の影響について

色相の異なる模擬排水について、滴定法および光学式

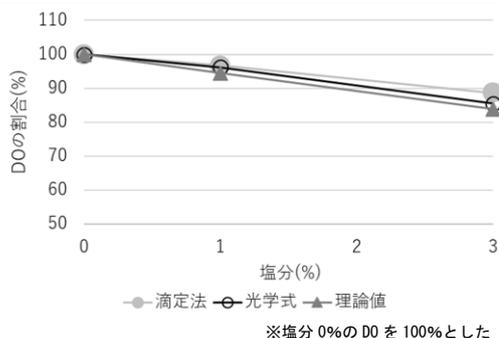


図 3 塩分の違いによる DO の変化

で DO を測定した結果を図 4 に示した。いずれの食用色素を用いた場合でも、両測定法で DO の差異は小さく、色相による影響はほとんどなかった。ただし、黄 4 号を用いた際に、滴定法の DO が僅かに高値を示した。これは、色相の変化が滴定の終点の目視判断に影響した可能性が高い。このことは、滴定法が、染色系事業所からの排水にみられる着色排水で滴定誤差が大きくなる懸念があることを示唆している。福井県では地場産業として繊維産業が盛んであり、染色整理業の事業所が多いことから光学式が優位であると評価できる。

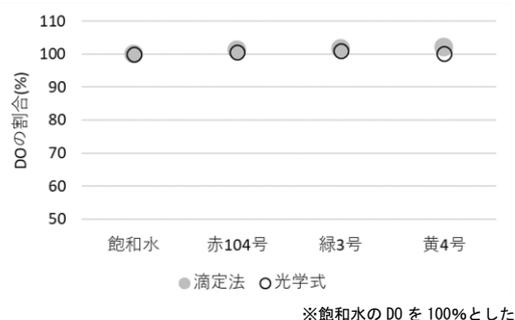


図 4 色相の違いによる DO の変化

#### 4. 1. 5 濁度の影響について

濁度の異なる模擬排水について、SS の結果を表 1 に示した。飽和水と低濁水は 1 mg/L 未満、高濁水は 14 mg/L であった。

飽和水および低濁水について、滴定法および光学式で DO を測定した結果を図 5 に示した。換算濁度 10 mg/L の低濁水については、両測定法の DO の差はほとんど見られず、濁度による影響はないことが確認できた。

次に、高濁水について、滴定法および光学式で DO を測定した結果を図 6 に示した。換算濁度 50 mg/L の高濁水についても光学式の DO は飽和水とほぼ同値を示

表 1 模擬排水の SS

試料	SS (mg/L)
飽和水	<1
低濁水	<1
高濁水	14

した。この結果により、濁度やSSは光学式のDO測定に影響を及ぼさないことが示された。

一方、滴定法においては、高濁水のDOは飽和水に比べて低値を示した。これは、高濁水の調製で用いたカオリン濁度標準液中に、ホルムアルデヒドが含まれており、滴定法で使用する試薬のよう素が還元され<sup>3)</sup>、その分の滴定量が減ることでDOの測定値が真値よりも低く計測されたためと考えられた。還元性物質を含む試料のDOを滴定法で測定する場合、JIS K 0102では、試薬の変更や補正が必要であり<sup>4)</sup>、分析操作は煩雑となる。また、本試験のようにDO測定時に還元性物質の混入に気付かない場合には、正しいDO測定が行われず、誤ったBODを計測する危険性がある。一方で、光学式では原理的に酸化剤および還元剤の影響を受けないため、この点に関しても優位性が示された。

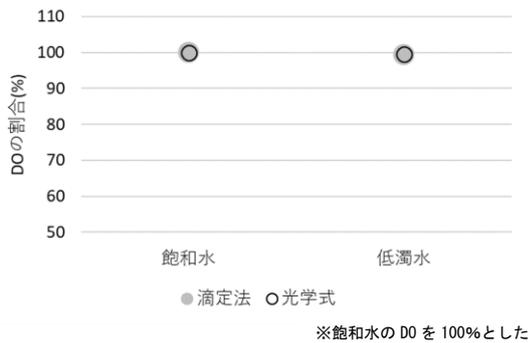


図5 濁度の違いによるDOの変化（低濁度）



図6 濁度の違いによるDOの変化（高濁度）

#### 4.2 事業所排水を用いた試験

県内の事業所排水 39 検体分について、滴定法と光学式でBOD測定を行い、その関係を図7に示した。原点を通る直線で近似したところ、傾きはほぼ1となり、かつ、相関係数は0.99となり非常に良い相関を示した。また、業種による偏りや特異性は確認されなかった。

このことから、光学式によるBOD値は、滴定法によるBOD値とほぼ同値が得られることが確認できた。

### 5. まとめ

模擬排水および事業所排水を用いて、光学式センサ法の特性の把握および滴定法による測定値と比較評価を行った。

その結果、下記のことが確認できたことから、光学式センサ法は、当センターにおける事業所排水を対象とした

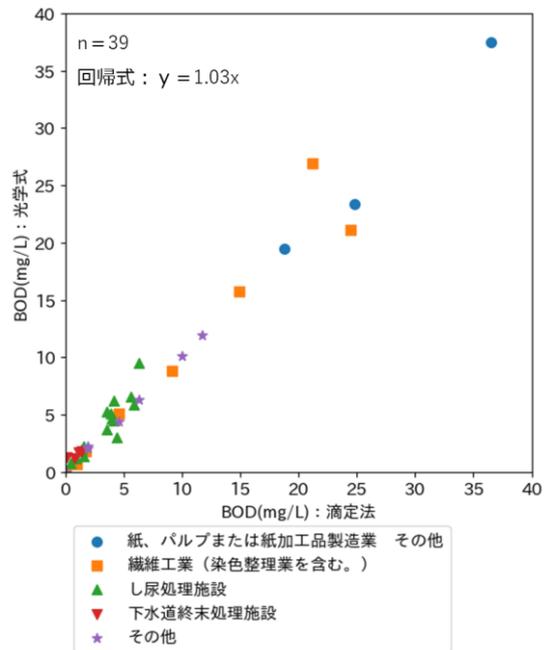


図7 滴定法と光学式によるBOD値の相関

BOD分析において、よう素滴定法を代替できる方法であると評価された。

- DO、塩分、色相および濁度の異なる模擬排水の試験から、光学式センサ法はよう素滴定法と比較して劣る点はみられず、作業効率に優れることが確認された。
- 様々な業種の実際の事業所排水を用いた試験から、光学式センサ法を用いたBOD値は、よう素滴定法の値とほぼ同値で高い相関があり、業種による偏りや特異性がないことが確認された。

### 参考文献

- 1) 日本規格協会：工場排水試験方法，JIS K 0102，(2016)
- 2) 環境省：令和3年度環境測定分析統一精度管理調査結果，(2022)
- 3) 三木和夫：BOD測定法に関する2,3の検討，島根女子短期大学紀要，8, 37-39(1970)
- 4) 早川亮太，伊藤啓子：ウィンクラー法における溶存酸素固定沈殿物の安定性について，日本環境衛生センター所報，1, 34-37(1974)
- 5) 三沢静雄，加藤繁雄：BOD測定法の検討，環境技術，10(2), 143-148 (1981)
- 6) 古塩英世，林久緒，畑憲治，桜木進：COD, BOD分析における精度及び誤差要因等に関する若干の知見，川崎市公害研究所年報，16, 27-34(1989)
- 7) 永井里央，貴島宏，尾辻裕一，宮ノ原陽子，坂元克行，長井一文：事業所排水のCODとBODの関係性について，鹿児島県環境保健センター所報，12, 100-104(2011)
- 8) 山下悟，鈴木寿一，横田秀幸，市川修三：滴定法と溶存酸素計によるBOD試験の比較検討，札幌市衛生研究所年報，7, 141-144(1980)
- 9) 田中秀穂：DOメータをBOD測定に使用する際の

問題点の検討, 大阪府公害監視センター所報, **8**, 139-150(1987)

10) 川島月夫, 赤塚正明, 稲本信隆, 目原克彦: 隔膜電極法による BOD 測定について, 鹿児島県環境センター所報, **1**, 182-183(1984)

11) 高見勝重, 小田國雄: 生物化学的酸素消費量の測

定に関する共同実験結果, 分析化学, **38**(1), T9-T14 (1989)

12) 長谷隆仁: ウィンクラー法と隔膜電極法の比較, 埼玉県環境科学国際センター報, **1**, 1-5 (2000)

13) 株式会社ティ・アンド・シー・テクニカル: 溶存酸素測定技術解説, 1-16(2022)

# 藻類生長阻害試験と増殖ポテンシャル試験による 北潟湖流入河川水の評価

保月勇志・吉舎直輝・蔦原仁平・田中宏和

Algal Growth Inhibition and Growth Potential Tests in Inflow Rivers of Lake Kitagata.

Takeshi HOZUKI, Naoki KISA, Jinpei TSUTAHARA, Hirokazu TANAKA

## 1. はじめに

北潟湖は淡水と海水が混ざる汽水湖である。汽水湖は、河川の末端に位置する地理的条件から、流域の負荷が集積しやすい水域<sup>1)</sup>であり、流域の田畑、住居、事業場等の排水中に含まれる栄養塩や化学物質等が湖に流れ込む。このため有機汚濁が進行しやすく、また、湖に棲息する生物にとっては流域からの化学物質等の影響を直接受けやすい環境である。湖水中の藻類は、特に流入水の影響を受けやすい生物であるが、有機汚濁の主要因であるとともに、一次生産者として水圏生態系の基底をなす生物であるため、そのバイオマスや種構成は、湖沼の水質や水圏生態系を左右する極めて重要な生物である。これまでの湖沼の藻類を対象とした調査では、栄養塩としての全窒素や全リン、藻類優占種やクロロフィル組成等を測定してきた。加えて、約20年前からは、水生生物を対象とした水質調査を行ってきたが、環境基準は、亜鉛、ノニルフェノール、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩(LAS)の3種、要監視項目についても2,4-ジクロロフェノール等の6種と限定されている。これらの情報から、水質が藻類へ与える影響を求めることは困難であった。このことから、著者らは、流入河川の潜在的な影響を総体として捉える試みとして、「微生物を用いた試験による湖沼環境の影響評価に関する研究」を開始した。この研究では室内実験系の生物応答試験を用い、湖内の藻類が流域負荷から受ける増殖作用や生長阻害作用を評価することで、藻類の環境中での挙動を明らかにすることを目的としている。

今回、北潟湖の主要な流入河川である観音川を対象に、年間を通した生物応答試験を実施し、併せて水質分析から藻類に影響する因子の推定を行ったので報告する。

## 2. 方法

### 2.1 試料

試料は、観音川の末端付近(図1)において、2022年4月7日、13日、21日、28日、5月6日、11日、24日、6月2日、17日、7月1日、13日、26日、8月10日、29日、9月9日、30日、10月14日、11月15日、12月1日、2023年1月17日、2月7日、3月29日に採水した。前処理として、試料を冷暗条件で実験室に持ち帰り、1 $\mu$ mガラスフィルターおよび0.22 $\mu$ mメンブレンフィルター(PVDF)でろ過したものをステンレス缶に入れ、試験に供するまで-30℃で冷凍保存した。

### 2.2 藻類生長阻害試験

藻類生長阻害試験は、前報<sup>2)</sup>の試験方法を用いた。*Microcystis aeruginosa* (NIES-102)は、国立環境研究所微生物系統保存施設から分譲を受けた。



図1 採水地点

表1 藻類生長阻害試験条件

試験生物	藍藻 <i>Microcystis aeruginosa</i> (NIES-102)
培地	OECD培地 ・OECD培地濃縮液I、III、IV(富士フィルム和光純薬(株)製) ・OECD培地濃縮液II(用時調整後フィルターろ過滅菌、FeCl <sub>3</sub> ・6H <sub>2</sub> O 64 mg/L、Na <sub>2</sub> EDTA・2H <sub>2</sub> O 100 mg/L)
温度	25℃
初期濃度	100,000 cell/mL
照明条件	明期10時間、暗期14時間
照度	20 $\mu$ photons/m <sup>2</sup> /s
振とう	50 rpm
培養容器	$\gamma$ 滅菌済みPS製6穴ウェルプレート(Corning社製)
容量	5 mL

試験は、表1の条件で実施した。まず、冷凍ろ過試料を4℃で解凍し、0.22 $\mu$ mメンブレンフィルターを用いてろ過滅菌後、0%(コントロール)、20%、40%、80%となるように3併行でセルカルチャープレートに分注した。その

後、OECD 培地を一定濃度添加し、滅菌超純水を全量が 5 mL となるように加えた。蒸発を防ぐためプレートには透明の蓋をし、周囲を透明のテープで密封した。2~3 日毎に 0.2mL ずつサンプリングし、ベックマン・コールター社製 CytoFlex により細胞数を計数した。

### 2. 3 増殖ポテンシャル試験

増殖ポテンシャル試験は、AGP 試験<sup>3)</sup>を参考に、光合成活性を指標に用いる手法を構築した。藻類種は、北潟湖から緑藻 *Chlorella* sp. を単離・無菌化したものを使用した。試験は、まず前培養液として、維持培養株を OECD 培地にて 5 日間培養し、遠心分離 (800G、30 分間) 後に上清を除き、沈殿に生理食塩水を加え懸濁した後、再度遠心分離した沈殿に少量の生理食塩水に懸濁し調製した。次に滅菌三角フラスコ (PC 製、γ 滅菌、125mL) に、ろ過滅菌した河川水試料 50mL を入れ、前培養液を初期細胞濃度が 10,000 cell/mL となるように添加し、表 2 の条件で 2 併行、7 日間培養した。

光合成活性は Walz 社の Water-PAM II により表 3 の条件で測定した。光合成活性の指標には電子伝達速度の最大値 (rETR max) を用いた。従来の AGP 試験と比較するために、27 日間培養したクロロフィル量と、光合成活性指標 (Fv/Fm、ETR 等) の経日変化とを比較し、培養 7 日目の rETR max との間に相関が確認されたことから、これを増殖ポテンシャル指標とした。

表 2 増殖ポテンシャル試験の培養条件

試験生物	緑藻 <i>Chlorella</i> sp.
温度	25°C
照明条件	明期 10 時間、暗期 14 時間
照度	20 μ photons/m <sup>2</sup> /s
振とう	50 rpm
培養容器	125mL 三角フラスコ
容量	50 mL

表 3 光合成活性の測定条件

測定機器	Water-PAM II (Waltz 社)
波長	Red light
暗条件	5 分
ETR-factor	0.84
PAR	0, 25, 45, 65, 90, 125, 190, 285, 420, 625, 820 μ mol photons m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
Light Curve Width	20 seconds

### 2. 4 水質分析

pH、塩分、電気伝導率 (EC) および酸化還元電位 (ORP) は、Xylem 社製 YSI ProDSS により測定した。

溶存有機炭素 (DOC) は、日本産業規格 JIS K 0102 22.2 に基づき、燃焼酸化-赤外線式 TOC 自動測定法を用いた。装置は、(株) 島津製作所製 TOC-VCSH を使用した。

金属は、ほう素、アルミニウム、クロム、マンガン、鉄、コバルト、ニッケル、銅、亜鉛、砒素、セレン、モリブデン、銀、カドミウム、アンチモン、バリウム、チタン、鉛を、上水試験方法および JIS K 0120 を参考に、ICP 質量分析装置 (Agilent 社製 7800) により測定した。

溶存態窒素 (DN) および溶存態リン (DP) は、連続流れ分析法 (ビーエルテック社製 QuAAtro39) により測定し

た。

ふっ化物イオン、塩化物イオン、亜硝酸態窒素、硝酸態窒素、アンモニア態窒素、臭化物イオン、磷酸態リンおよび硫酸イオンは、イオンクロマトグラフィー (東ソー (株) 製 IC-8100) により測定した。

農薬は、水道水質基準等の水質管理目標設定項目の検査方法を参考に分析した。前処理は、試料 100mL を固相カラム (GL サイエンス社製 InertSep Slim-J PLS-2(265mg)、コンディショニング: アセトニトリル 5mL→超純水 10mL) に引圧通水し、5mL のアセトニトリルで溶出後、窒素吹付けで 0.5mL 以下に濃縮し、超純水で 1mL に定容したものを測定試料とした。測定は、(株) 島津製作所製 LCMS-8050 により行った。農薬混合標準液は、富士フィルム和光純薬 (株) 製 WQ1,2,3,4,6,9 を使用した。定量は、絶対検量線法で行い、添加回収試験 (n=7、0.01 μ g/L) の回収率が 50~130%、MQL (10σ) <0.01g/L を満たす 128 種を測定対象とした。定量限界は、0.01 μ g/L とした。定性は確認イオン比およびリテンションタイムにより行った。

### 2. 5 解析

毒性影響の評価指標には、NOEC (No Observed Effect Concentration; 無影響濃度)、EC<sub>5</sub> (5%影響濃度) および TU (Toxic Unit) の 3 種を用いた。NOEC は、ダネット検定によりコントロールとの有意差 (p<0.05) がなかった濃度区の最大値とした。なお、20%濃度区においても影響が確認された試料は <20% とした。また、EC<sub>5</sub> は、統計解析ソフト R の drc パッケージを用いて、ロジスティック回帰により毒性閾値として生長速度を 5%減少させる影響濃度を求めた。TU は、EC<sub>5</sub> の逆数から算出し、TU が 10 以上の場合は 10 と表記した。なお、TU は、試料が無影響となるまでに必要な希釈倍率と考えることができる。

$$TU = \frac{1}{EC_5} \quad (\text{式 1})$$

また、金属および農薬の測定濃度を、各文献等から得られた藻類に対する無影響濃度 NOEC で除し、予測毒性値 HQ (Hazard Quotient) を求めた。

$$HQ = \frac{\text{測定濃度}}{\text{NOEC}} \quad (\text{式 2})$$

## 3 結果

### 3. 1 生長阻害試験

観音川河川水において、*Microcystis aeruginosa* を用いた生長阻害試験を行った結果を表 4 に示す。4 月および 7~9 月に採取した一部の試料で NOEC が 20%未満となる高い毒性が確認された。また、5~6 月および 10 月以降の試料では、NOEC は 20 ~ 80%以上であり弱い毒性または毒性が確認されなかった。なお、全試料における濃度毎の生長速度のグラフを図 2 に記した。

### 3. 2 水質分析

各試料の金属と農薬を除く水質分析結果を表 5 に示す。生物応答試験に使用した *Microcystis aeruginosa* は、塩分の影響を受けやすい種であるが、試料中の塩分は最大で 0.15 PSU であり、既報の *Microcystis aeruginosa* の塩分耐性閾値 (2~35PSU) よりも著しく低い値であるため生長阻害への影響は軽微<sup>4)</sup>と考えられた。また、栄養塩の濃度範囲は、亜硝酸態窒素が 0.00~0.01 mg/L、硝酸態窒素が

0.34~0.86 mg/L、アンモニア態窒素が 0.02~0.16 mg/L、  
 磷酸態磷が 0.00~0.01 mg/L であり、OECD 培地の窒素および  
 磷の含有濃度 (N:3.927mg/L、P:0.285mg/L) <sup>5)</sup> と比べて  
 低値であった。

金属濃度から HQ を算出し、時系列の積み上げ棒グラフ  
 としたものを図 3 に示す。アルミニウム、ニッケル、銅お  
 よび亜鉛の HQ は、年間を通して高値を示し、特に 4 月 21  
 日と 9 月 9 日における銅の HQ は 0.8 を超えた。また、  
 HQ の積算値 ( $\Sigma$ HQ<sub>metal</sub>) は、4 月 21 日、5 月 6 日、7  
 月 1 日、9 月 9 日、12 月 1 日で 1 を超えた。

農薬については、測定対象の 128 種のうち 24 種が検出  
 された。除草剤、殺虫剤、殺菌剤に区別した濃度合算値お  
 よび HQ の推移を図 4 に示す。除草剤は、4 月下旬からブ  
 タクロール等が検出し始め、5 月下旬にプロモブチド、ピ  
 リミノバックメチル、シメトリン、ピラクロニル等を主体  
 として高濃度を示し、7 月下旬以降は低濃度または不検出  
 であった。殺虫剤は、11 月~3 月を除き、いずれの試料に  
 おいてもジノテフランおよびクロチアニジンが低濃度  
 (0.03  $\mu$ g/L 以下) で検出された。また、5 月 24 日はプロ  
 ポスキルが 1.6  $\mu$ g/L と高濃度を示した。なお、当該農薬は  
 失効農薬に該当する。殺菌剤は、チフルザミドが年間を通  
 して低濃度 (0.2  $\mu$ g/L 以下) で検出したが、6 月 17 日は  
 メトミノストロビンが 8.9  $\mu$ g/L となり、著しく高濃度を  
 示した。

農薬の HQ は、除草剤の影響が大きいことがわかった。  
 これは、除草剤の藻類に対する毒性が強いことに起因する。  
 特に 4 月 28 日におけるブタクロールの HQ が 0.70、5 月  
 24 日におけるシメトリンの HQ が 0.51 となり高値を示し  
 た (表 6)。

表 4 生長阻害試験結果一覧

採取日	NOEC	EC <sub>5</sub>	TU
2022/4/7	20%	8%	10
4/13	<20%	12%	8.3
4/21	40%	47%	2.1
4/28	<20%	1%	10
5/6	40%	72%	1.4
5/11	$\geq$ 80%	100%	1.0
5/24	40%	71%	1.4
6/2	$\geq$ 80%	100%	1.0
6/17	$\geq$ 80%	100%	1.0
7/1	20%	10%	10
7/13	$\geq$ 80%	100%	1.0
7/26	<20%	4%	10
8/10	20%	21%	4.8
8/29	<20%	4%	10
9/9	40%	67%	1.5
9/30	<20%	12%	8.3
10/14	20%	100%	1.0
11/15	20%	100%	1.0
12/1	20%	31%	3.2
1/17	$\geq$ 80%	100%	1.0
2/7	20%	30%	3.3
3/29	40%	71%	1.4

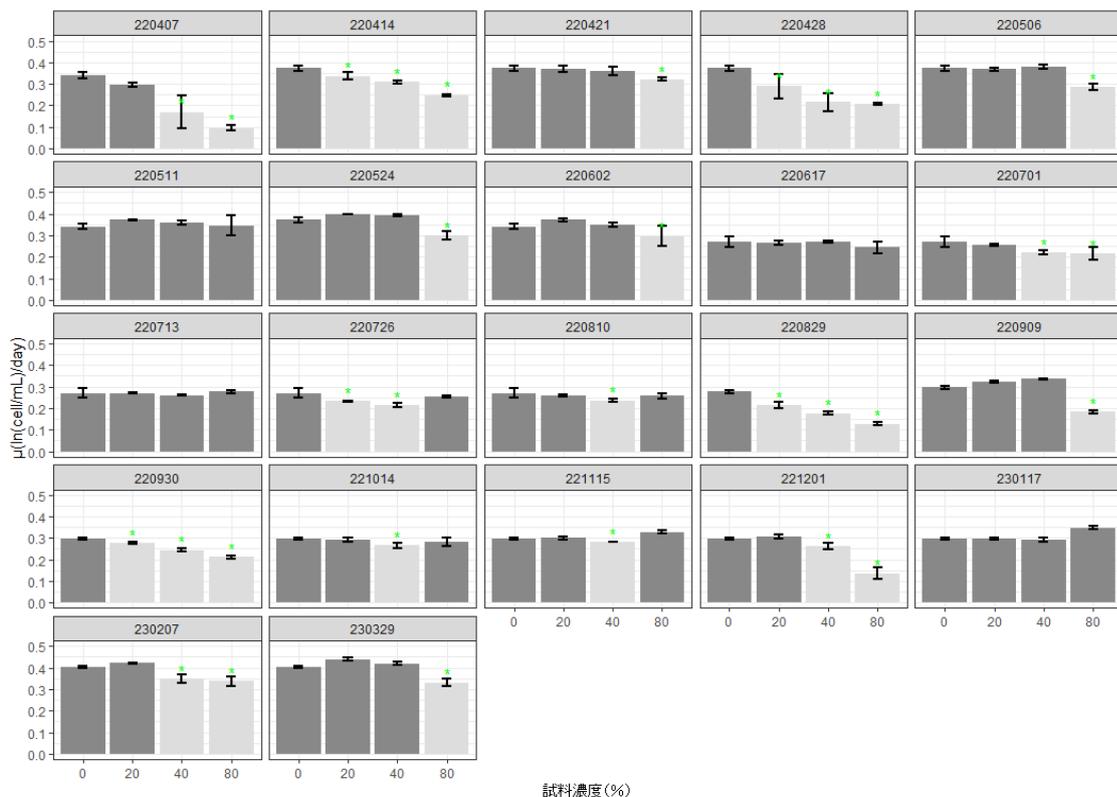


図 2 全試料における濃度毎の生長速度

アスタリスクと棒グラフの薄い色はコントロールに対して、有意差 (<0.05) が確認されたもの、エラーバーは標準偏  
 差、各表題は試料の採取年月日であり西暦下二桁 月二桁 日二桁で表示した。

表5 試料の水質情報

採取日	水温 (°C)	EC ( $\mu$ S/cm)	塩分 (PSU)	pH	ORP (mV)	DO (mg/L)	DOC (mg/L)	DN (mg/L)	NO <sub>2</sub> -N (mg/L)	NO <sub>3</sub> -N (mg/L)	NH <sub>4</sub> -N (mg/L)	DP (mg/L)	PO <sub>4</sub> -P (mg/L)
2022/4/7	13.9	121	0.07	8.4	91	12.1	1.5	0.87	0.00	0.71	0.08	0.005	0.006
2022/4/13	21.5	147	0.07	9.2	44	10.4	2.0	0.91	0.00	0.68	0.09	0.011	0.007
2022/4/21	16.5	118	0.07	8.4	56	11.0	2.2	0.79	0.00	0.62	0.05	0.011	0.007
2022/4/28	19.5	117	0.06	7.8	129	10.1	2.0	0.87	0.01	0.60	0.14	0.014	0.010
2022/5/6	22.3	110	0.05	7.4	120	9.9	2.4	0.85	0.00	0.56	0.12	0.019	0.014
2022/5/11	15.3	119	0.07	8.5	85	11.0	1.7	0.91	0.00	0.70	0.12	0.010	0.005
2022/5/24	18.2	123	0.07	7.4	140	9.3	2.5	0.80	0.00	0.49	0.11	0.023	0.009
2022/6/2	21.6	158	0.08	8.7	54	9.0	3.0	1.05	0.01	0.67	0.16	0.022	0.000
2022/6/17	21.7	137	0.07	8.3	84	9.0	2.5	0.91	0.01	0.60	0.13	0.021	0.006
2022/7/1	29.6	177	0.08	8.8	46	12.3	4.0	0.79	0.01	0.34	0.03	0.044	0.011
2022/7/13	23.6	142	0.07	8.6	30	8.4	2.5	0.91	0.01	0.64	0.09	0.022	0.008
2022/7/26	23.1	132	0.06	8.0	69	9.1	1.5	0.73	0.00	0.59	0.05	0.014	0.005
2022/8/10	24.5	138	0.06	8.0	75	8.4	1.7	0.65	0.00	0.50	0.06	0.014	0.005
2022/8/29	23.1	133	0.06	9.1	83	9.3	1.4	0.68	0.00	0.55	0.06	0.013	0.006
2022/9/9	23.5	121	0.06	8.2	155	8.3	3.2	0.77	0.00	0.50	0.04	0.035	0.013
2022/9/30	19.8	128	0.07	8.1	146	9.1	1.3	0.76	0.00	0.63	0.07	0.016	0.006
2022/10/14	18.4	114	0.06	9.0	77	9.6	1.2	0.72	0.00	0.62	0.04	0.012	0.005
2022/11/15	12.4	233	0.15	7.6	117	9.4	1.7	1.02	0.00	0.86	0.02	0.010	0.000
2022/12/1	11.8	138	0.09	8.5	100	9.9	2.6	1.05	0.00	0.86	0.03	0.032	0.000
2023/1/17	7.4	86	0.06	8.4	42	11.4	1.0	0.75	0.00	0.66	0.03	0.011	0.000
2023/2/7	7.4	80	0.06	7.7	53	11.5	1.0	0.64	0.00	0.56	0.03	0.011	0.000
2023/3/29	11.8	90	0.06	8.9	82	10.8	1.2	0.73	0.00	0.61	0.04	0.017	0.000

採取日	Na (mg/L)	Mg (mg/L)	Ca (mg/L)	K (mg/L)	F (mg/L)	Cl (mg/L)	Br (mg/L)	SO <sub>4</sub> (mg/L)
2022/4/7	14	3.2	8.1	1.3	0.03	17	0.06	11
2022/4/13	15	3.2	8.9	1.5	0.07	17	0.07	12
2022/4/21	12	2.9	7.6	1.2	0.04	16	0.05	10
2022/4/28	12	2.5	8.1	1.2	0.07	15	0.05	11
2022/5/6	11	2.3	6.6	1.1	0.11	15	0.06	9
2022/5/11	14	3.1	8.2	1.5	0.06	17	0.07	13
2022/5/24	13	3.0	9.3	1.7	0.10	16	0.06	11
2022/6/2	15	3.7	10.9	1.9	0.11	17	0.07	14
2022/6/17	13	3.3	10.2	1.6	0.09	15	0.06	12
2022/7/1	14	3.8	11.3	1.9	0.12	16	0.08	11
2022/7/13	12	3.1	10.8	1.7	0.09	13	0.06	14
2022/7/26	14	2.8	8.6	1.4	0.06	14	0.06	12
2022/8/10	15	2.8	8.0	1.4	0.05	15	0.06	14
2022/8/29	14	2.9	8.1	1.3	0.05	14	0.07	11
2022/9/9	10	2.5	8.8	2.4	0.06	11	0.05	12
2022/9/30	13	3.0	8.3	1.5	0.05	14	0.06	11
2022/10/14	13	2.8	7.7	1.4	0.04	14	0.06	11
2022/11/15	61	9.2	11.8	3.2	0.11	98	0.44	23
2022/12/1	9	2.3	8.4	1.7	0.00	12	0.05	11
2023/1/17	12	2.9	7.6	1.1	0.00	16	0.08	10
2023/2/7	11	2.4	6.6	0.9	0.00	17	0.06	9
2023/3/29	11	2.7	7.0	1.0	0.00	15	0.06	9

表6 HQが高値を示した主な農薬

採水日	農薬名	農薬種別	logPow	NOEC( $\mu$ g/L)	濃度( $\mu$ g/L)	HQ
2022/4/28	ブタクロール	除草剤	4.42(25°C)	0.49	0.33	<b>0.70</b>
5/11	ピラクロニル	除草剤	2.18(25°C)	3.0	0.45	<b>0.15</b>
5/11	フェントラザミド	除草剤	3.60(20°C)	0.49	0.078	<b>0.16</b>
5/24	シメトリン	除草剤	2.14(20°C)	<3.13	1.6	<b>0.51</b>
5/24	ピラクロニル	除草剤	2.18(25°C)	3.0	1.3	<b>0.43</b>
6/2	ピラクロニル	除草剤	2.18(25°C)	3.0	1.1	<b>0.35</b>

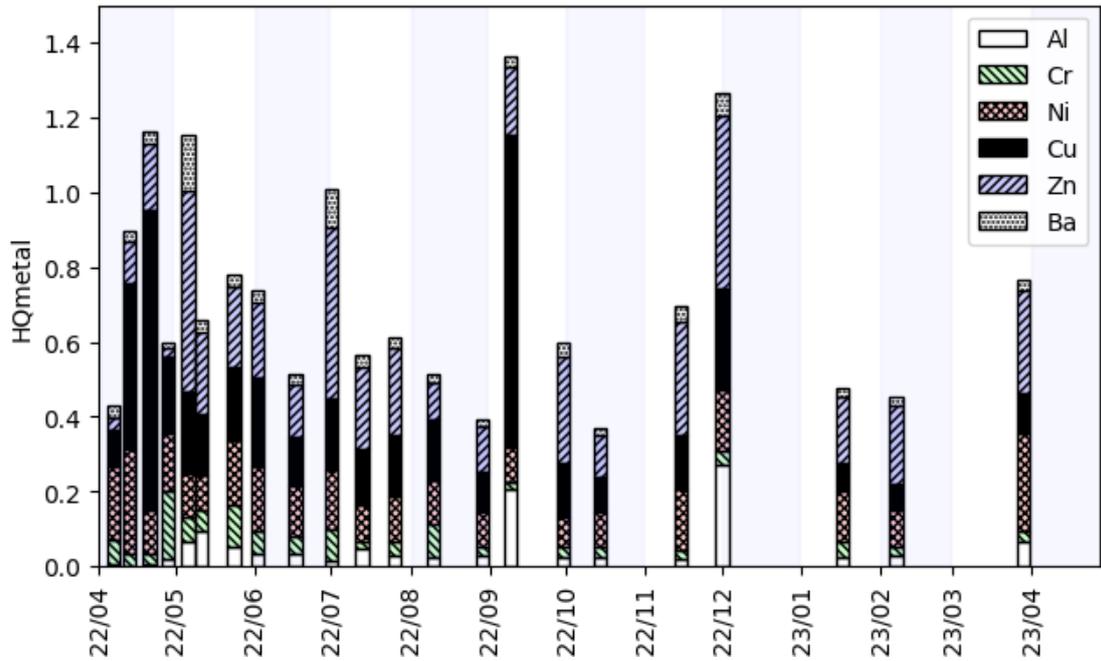


図3 HQmetalの年間推移

各金属のHQmetalのうち年間における最大値が0.1を超えるもののみを積算した。

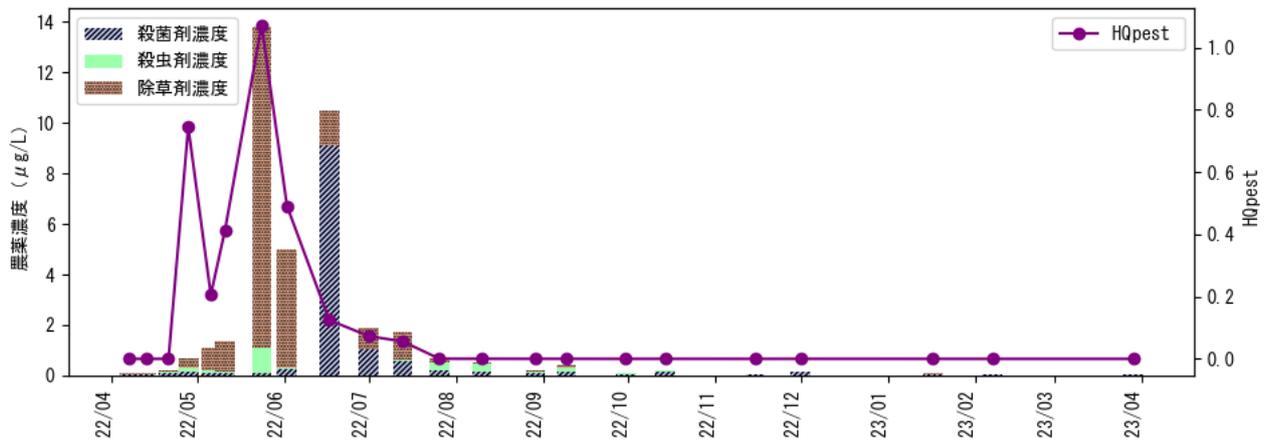


図4 農薬の剤別濃度推移とΣHQpestの年間推移

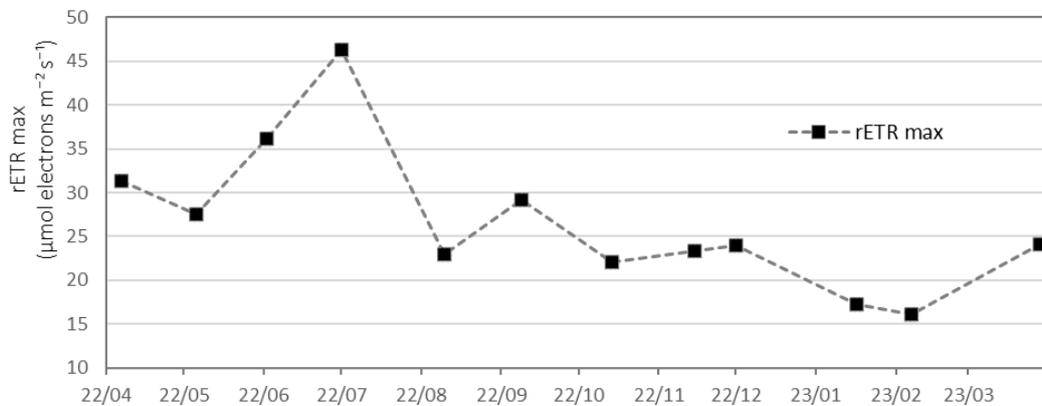


図5 増殖ポテンシャルの年間推移

### 3. 3 増殖ポテンシャル試験

今回、増殖ポテンシャルの指標として光合成活性の指標の1種である rETRmax を用いた試験系を構築した。従前の AGP 試験<sup>3)</sup>では培養期間が 30 日、試料量が 150 mL 程度必要となるが、新たに構築した試験系での培養期間は 7 日に短縮され、必要な試料量も 50 mL まで削減できた。

生長阻害試験を行った同時期に月 1 回の頻度で年間を通して観音川の増殖ポテンシャルを調査した結果を図 5 に示す。春期から夏期 (4 月~9 月) にかけて高い傾向にあり、冬季 (1 月~2 月) に低い傾向を示した。最大値は 7 月の試料 ( $46 \mu \text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) で、最小値は 2 月の試料 ( $16 \mu \text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) であった。

## 4 考察

### 4. 1 生長阻害試験

今回の調査では、一部の試料で NOEC が 20%未満となり、TU が 10 (本試験系の最大値) となった。TU の値は、試料が無影響となるまでに必要な希釈倍率と同義であることを踏まえると、一部試料については無影響になるまでに 10 倍以上の希釈が必要となる強い毒性を有していることが示唆される。

調査点付近の流域には主に水田が広がり、4 月に代掻き、5 月上旬に田植えが始まり、9 月頃に稲刈りが行われる。農業系排水には、金属や農薬が高濃度で含まれることが多いことから、この期間に水田から流出する農業系排水により TU が高値を示すと予想していた。しかし、TU が高か

ったのは 4 月、7 月、8 月であり、これは農繁期ではあるものの、代掻き等により水田からの負荷が最も大きいと考えられる 5~6 月の TU は 1.0~1.4 であり、それほど強い毒性はみられなかった。この結果から、5~6 月の河川水は、毒性を抑制する何らかの要因があることが推察された。

### 4. 2 毒性実測値 (TU) と毒性予測値 (HQ) との比較

毒性実測値 (TU) と毒性予測値の合算値 ( $\Sigma \text{HQ}$ ) の推移を図 6 に示す。 $\Sigma \text{HQ}$  が 1 を超過した試料の TU は 1.4~10 であり、実際の毒性値には幅がみられた。一方、金属の毒性予測値の合算値  $\Sigma \text{HQ}_{\text{metal}}$  の最高値は 1.5 程度であり、実際の毒性値に比べると低値であった。加えて、農薬の毒性予測値の合算値  $\Sigma \text{HQ}_{\text{pest}}$  が比較的高い 5~6 月の試料においても TU は 1~1.5 程度と低く、毒性予測値と実測値に乖離が見られた。

このため、TU に影響する因子を探ることを目的として TU と各種水質情報との相関解析を行ったところ、TU は DOC、Al、Zn、A254nm (腐植物質指標) と負の相関を持つことがわかった。また、主成分分析を行ったところ TU と上記成分が第一主成分 (データの最も大きな変動を説明する軸) に対して対照的な性質を持つことが分かった (図 7)。これらの成分は農業系排水に多く含まれる成分であり、また腐植物質は金属毒性を抑制することが知られている。以上のことから、 $\Sigma \text{HQ}_{\text{metal}}$  が高値となっても TU が低値を示したひとつの原因として、農業系排水等に含まれる腐植物質等の溶存有機物が毒性を抑制している可能性が考えられた。

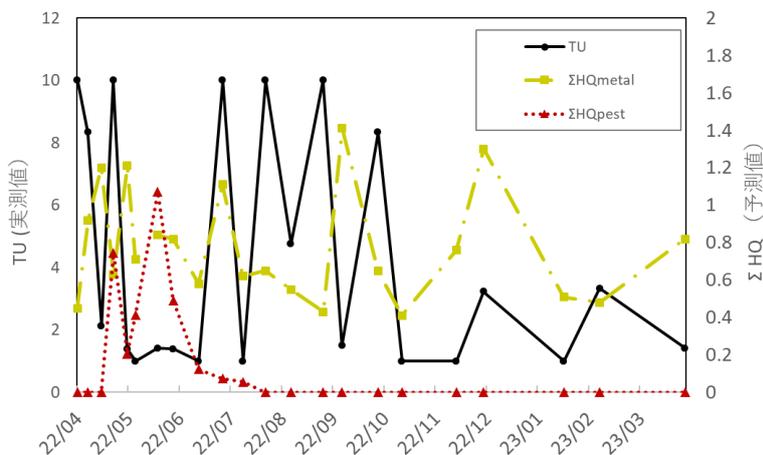


図 6 毒性実測値 (TU) と毒性予測値 ( $\Sigma \text{HQ}_{\text{metal}}$ 、 $\Sigma \text{HQ}_{\text{pest}}$ ) の推移

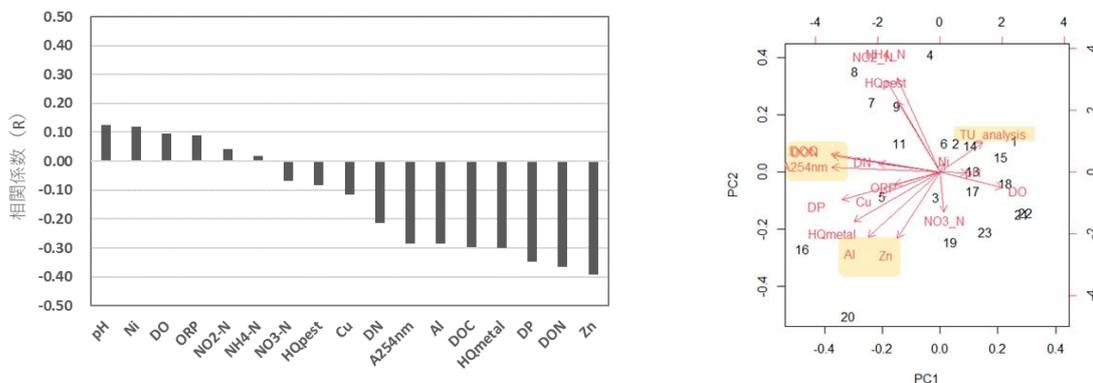


図 7 (左図) TU と各測定項目との相関係数 (R) (右図) TU と各測定項目を含めた主成分分析解析  
7 月 1 日の試料水は、ブルームが発生していたため解析からは除外している。

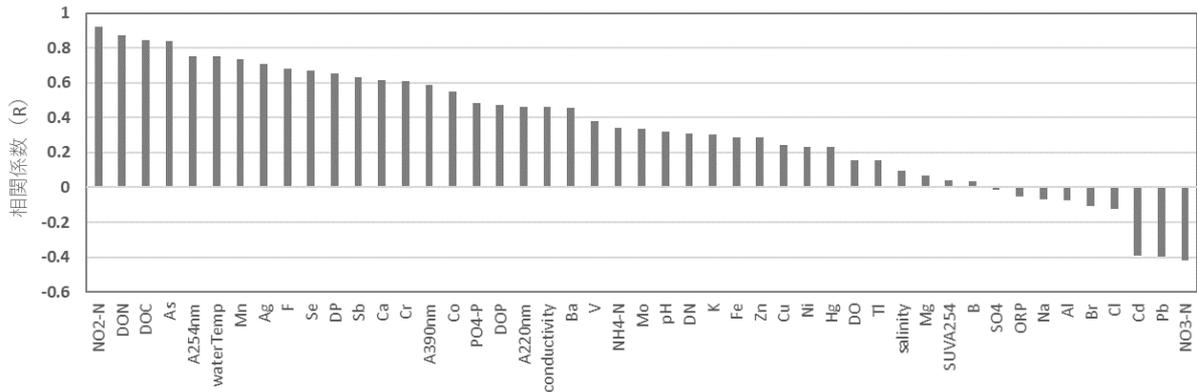


図8 増殖ポテンシャルと各水質項目との相関係数 (R)

また、今回、本報での HQ の算出において、*Microcystis aeruginosa* の毒性評価値の情報が充分でなかったため、一般的に使用される緑藻 ムレミカヅキモ (*Raphidocelis subcapitata*) の毒性評価値を用いたことにより、正確な毒性予測値の算出ができなかったことも HQ と TU の関係性を明らかにできなかった一因と考えられる。なお、ムレミカヅキモは毒性評価値の情報が豊富である利点があるものの、調査対象湖沼ではこれまで観測されていないため使用を避け、今回の毒性値評価には、過去に優占種となった種で、認知度が高く、また生長阻害試験に使用できる種として *Microcystis aeruginosa* を選定した経緯がある。

今後、毒性原因を究明するためには、事前に農薬や金属を除去した試料を用いて生長阻害試験を実施し、毒性原因を順次絞り込む影響指向型解析<sup>9)</sup>などの方法が有効と考えられる。

#### 4.3 増殖ポテンシャル

予め求めた rETRmax (7日間培養時) と TOC 濃度 (24日間培養時) との関係式 (式 3) を用い、指標に用いた rETRmax の値を TOC 濃度に換算したところ、6月~7月の観音川河川水は、TOC 換算で 30~36mg/L を増加させるポテンシャルであると計算された。

$$\text{TOC (mg/L)} = 0.6 \times \text{rETRmax} + 7.7 \quad (\text{式 3})$$

これは、過去に県内で小規模なアオコが発生した湖の TOC 7.5mg/L と比較<sup>7)</sup>しても高値であり、藻類の異常増殖を起こしうるポテンシャルを有していると考えられる。

次に増殖ポテンシャルが高値を示した要因を探るため、増殖ポテンシャルと各水質調査項目との相関を求めたところ (図 8)、正の相関が強かった項目は、亜硝酸、溶存有機物 (DON、DOC、A254nm)、砒素、水温であった。亜硝酸は藻類の生育を促す栄養塩であるが検出された濃度は低く (最大 0.01mg/L)、溶存有機物は藻類の栄養塩ではない。このため、いずれも直接的に藻類の生長を促す要因とは考えにくい。一方、これらの成分は、観音川流域の農業系排水において高濃度で検出されることが多い成分であることから<sup>8)</sup>、増殖ポテンシャルには、農業系排水の流入が関連する何らかの要因が寄与している可能性があることが推察された。また、従来から藻類の栄養塩の指標として測定してきた全窒素と全リンについて、今回の評価では溶存態窒素 (DN) および溶存態リン (DP) は共に増殖ポテンシャルとの相関が高くないことが確認された。

#### 4.4 藻類の優占種への影響

今回の試験結果では、北潟湖の河川水は 5~6 月の期間を除き、春期から夏期にかけて、毒性と増殖ポテンシャルが共に高い傾向を示した。このことは、湖内環境が流入負荷の毒性に耐性をもつ藻類種の生育に有利となり、かつ、それらの生育を促進することを意味している。つまり、限られた単一種が異常に増殖する事象 (ブルーム) が発生しやすい環境が形成されることが想定される。

藻類の優占種の変遷は、餌生物が捕食者の生態系に影響する作用 (ボトムアップ効果) により、魚類などにも影響する可能性がある。過去の報告では、米国の三角州において、珪藻類の減少と、緑藻や藍藻の増加による漁獲量の減少が示唆されている<sup>9)</sup>。今回の調査においても、北潟湖において優占種が変遷する可能性が示唆され、生態系全体にも影響が波及することも考えられる。従って、流入河川水や流域からの汚濁負荷の特徴を把握し、継続的に管理することは、湖水環境の保全において重要であると考えられる。

## 5 まとめ

本研究では生物応答試験の手法により、常時監視調査では捉えることが難しい流入河川水が湖の藻類に及ぼす潜在的な影響を捉える試みを行った。

今回の調査では、観音川河川水の TU が春期から夏期にかけての複数回にわたり 10 程度の強い毒性を示したが、金属類や農薬との関連性は確認できなかった。藻類は水圏生態系の基礎であり、一次生産者として重要な役割を果たす。そのため、藻類への毒性が強い河川水が湖に流入した場合、各藻類種の感受性の違いから種構成や藻類を捕食する生物だけでなく、生態系全体へ影響する可能性がある。今回の調査結果から、特に春期から夏期にかけての流入河川水の管理が重要であることが示唆されたが、原因物質の同定には至らなかったため、今後は毒性同定評価 (TIE) 手法など追加調査を行い、対象を絞り込む必要があると考えている。

また、増殖ポテンシャルについては春期から夏期に高値を示し、農業系排水が増殖ポテンシャルを高める何らかの要因があることが推察された。増殖ポテンシャルが高い場合、湖では藻類の異常増殖、水質悪化や酸素消費による嫌気化を誘発する可能性がある。また、春期から夏期は毒性が高かった時期でもあることから、毒性に耐性を有する生物の増殖 (ブルーム) を誘発する可能性も考えられた。

今回の試験調査では、既存の常時監視調査では捉えられなかった生物への影響を評価し、確認することができた。湖沼中の水生生物を含めた環境保全のためには、流入河川水の影響にも着目し、水生生物にも影響を与えにくい流域の管理方法の検討が必要と考えられる。

## 謝辞

本研究は、文部科学省「特別電源所在県科学技術振興事業費補助金」により実施したものです。感謝申し上げます。

## 参考文献

- 1) 環境省：日本の汽水湖 ～汽水湖の水環境の現状と保全～ (2014)
- 2) 保月勇志：藍藻 *Microcystis aeruginosa* を用いた生長阻害試験方法の構築. 福井県衛生環境研究センター所報, 21 (2023)
- 3) 福井県環境科学センター：アオコ除去技術開発事業報告書 (2001)

- 4) Yu Qiu et al : The Detrimental Effect of High Salinity on the Growth and Microcystins Contamination of *Microcystis aeruginosa*. *Water*, 14(18), 2871 (2022)
- 5) OECD : Fresh Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test, Guidelines for the Testing of Chemicals NO.201 (2006)
- 6) 渡部春奈：生物応答試験による事業場排水の複合影響評価と毒性原因物質の同定. 環境毒性学会誌, 27 (S1), S76-S92 (2024)
- 7) 保月勇志：福井県の湖沼における有機物の新たな指標による評価による評価と浄化に関する研究 (第 1 報) . 福井県衛生環境研究センター所報, 17 (2019)
- 8) 保月勇志：福井県の湖沼における有機物の新たな指標による評価による評価と浄化に関する研究 (第 3 報) -北潟湖に流入する有機物の特性評価-. 福井県衛生環境研究センター所報, 19 (2021)
- 9) Chelsea H. Lam et al : Toxicity of herbicides to cyanobacteria and phytoplankton species of the San Francisco Estuary and Sacramento-San Joaquin River Delta, California, USA. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* (2019)

# 2022/23 シーズンの福井県のインフルエンザ

小和田和誠・高橋美帆・大久保香澄・坂井伸成

Epidemiological Studies of Influenza in Fukui Prefecture in 2022/23 Season

Kazuaki KOWADA, Miho TAKAHASHI, Kasumi OKUBO, Nobushige SAKAI

## 1. はじめに

インフルエンザはインフルエンザウイルスを病原とする感染症である。インフルエンザウイルスはA、B、C、Dの4つの型がある。このうち、AおよびB型は、例年、大きな流行を引き起こしており<sup>1,2)</sup>、社会生活に与える影響は大きい。

当センターでは、県内の患者から採取された検体を用いてインフルエンザウイルスの分離、型の同定および薬剤耐性サーベイランス等の性状解析を行っている。本報では、2022/23 シーズン（以下「今シーズン」）のインフルエンザの流行状況について、これらの結果をまとめたので報告する。

## 2. 調査方法

### 2. 1 調査期間

2022年9月（第36週）から2023年8月（第35週）までの期間を対象とした。

### 2. 2 患者発生状況調査

インフルエンザ様疾患の患者発生報告数については、県内の定点医療機関（小児科および内科）から報告のあったインフルエンザ（鳥インフルエンザを除く）の患者情報について、感染症サーベイランスシステム（National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases: NESID）内の感染症発生動向調査システムの数値を用いて集計した。

インフルエンザ様疾患の集団発生については、厚生労働省の公表資料<sup>3)</sup>に基づき、集計を行った。

### 2. 3 検査材料

県内の4カ所の医療機関でインフルエンザ様疾患患者から採取された52検体（52人）を用いた。その内訳は、鼻汁28検体、咽頭拭い液22検体、鼻腔洗浄液1検体、不明1検体であった。

### 2. 4 ウイルス分離および同定

県のインフルエンザ流行期（1.0人/定点以上）に採取された24検体について、ウイルス分離を実施した。

ウイルス分離はMDCK細胞を用い、既報<sup>4)</sup>に準じて実施した。細胞変性効果を確認した検体については、培養上清を回収し、0.75%モルモット血球を用いて赤血球凝集（HA）試験を実施した。

同定および抗原解析には、国立感染症研究所から分与された抗血清（A/Victoria/1/2020（H1N1）pdm09、A/Darwin/9/2021（H3N2）、B/Phuket/3073/2013（山形系統）、B/Austria/1359417/2021（ビクトリア系統））を用いて赤血球凝集阻止（HI）試験を実施した。

### 2. 5 ウイルス遺伝子検索

十分なHA価が得られないためにHI試験を実施できない場合は、MDCK細胞の培養上清を材料とし、ウイルス分離陰性および非流行期検体の場合は臨床検体を材料として、それぞれリアルタイムRT-PCR法により遺伝子検索を実施した。ウイルスのRNA抽出は、QIAamp Viral RNA Mini Kit（QIAGEN）を用いた。リアルタイムRT-PCRは、QuantiTect Probe RT-PCR Kit（QIAGEN）を用いて行い、機器はStep One Plus Real-Time PCR System（Applied Biosystems）を使用した。

検査対象遺伝子は、国立感染症研究所の「インフルエンザ診断マニュアル」<sup>5)</sup>に準じ、A型についてはA型インフルエンザウイルス共通のM遺伝子およびAH1pdm09、AH3のHA遺伝子、B型についてはB型インフルエンザウイルス共通のNS遺伝子、B型山形系統（以下「B（山形）」）およびB型ビクトリア系統（以下「B（Vic）」）のHA遺伝子の計6種類の遺伝子を対象として検査した。

### 2. 6 薬剤耐性株サーベイランス

AH1pdm09分離株について、国立感染症研究所の「インフルエンザ診断マニュアル」<sup>5)</sup>に準じ、Allele-specific RT-PCR法を用いてオセルタミビルおよびペラミビル耐性株に特徴的なNA遺伝子上のH275Y耐性マーカー検査を実施した。

MDCK細胞の培養上清を材料とし、QuantiTect Virus Kit（QIAGEN）を用いてAllele-specific RT-PCRを行き、機器はStep One Plus Real-Time PCR System（Applied Biosystems）を使用した。

## 3. 結果および考察

### 3. 1 患者発生状況

#### 3. 1. 1 インフルエンザ様疾患患者発生報告

感染症発生動向調査における定点あたりのインフルエンザ様疾患の患者報告数を、図1（福井県：2018年第36週～2023年第35週）および図2（全国と福井県：2022年第36週～2023年第35週）に示す。

今シーズンの福井県の定点あたりの患者報告数は、2023年第1週に3.30人/定点となり流行開始指標値（1.0人/定点）に達し、コロナ禍前の2020年第11週以来の流行期に入った。2023年第3週には12.14人/定点となり、流行発生注意報の基準値（10.0人/定点）を超え、インフルエンザ注意報が発令された。第5週には35.46人/定点となり、流行発生警報の開始基準値（30.0人/定点）を超え、インフルエンザ警報が発令され、第7週には今シーズンのピーク（48.95人/定点）に達した。第11週に流行発生警報継続基準値（10.0人/定点）を下回り警報は解除され、第15週に1.0人/定点以下となり流行は終息した。

コロナ禍前の2018/19および2019/2020シーズンと比較すると、約1か月程度遅れて流行がみられた。全国と比較

較すると流行時期は同様であったが、ピーク時の定点当たり患者は多くなった。

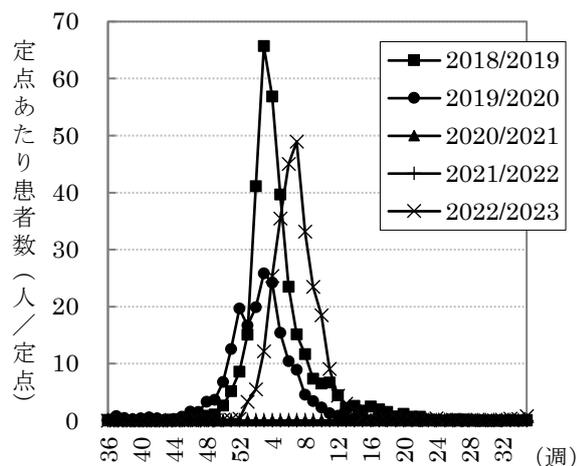


図1 インフルエンザ様疾患の患者報告数 (シーズン別)

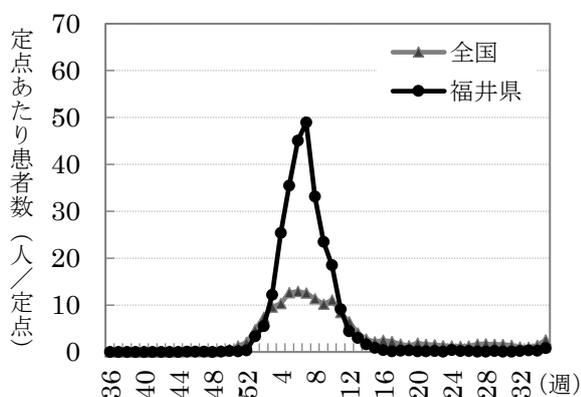


図2 インフルエンザ様疾患の患者報告数 (全国と福井県)

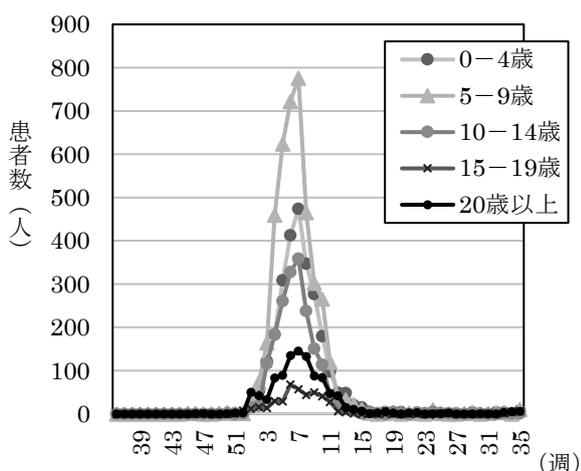


図3 年齢階層別の患者報告数 (福井県、2022/23 シーズン)

今シーズンに報告された患者 (累積 10,170 人) について、年齢階層別の患者報告数推移を図3に示す。年齢階

層別の患者数は、コロナ禍前と同様<sup>6,7)</sup>に5~9歳 (4,144人、40.7%)の患者数が最も多く、次いで0~4歳 (2,648人、26.0%)、10~14歳 (1,907人、18.8%)の順であった。各年齢階層について、いずれも第6週から第7週にかけてピークがあり、どの年齢も同様の時期に流行していたと考えられた。

### 3. 1. 2 インフルエンザ様疾患集団発生報告

インフルエンザ様疾患の集団発生状況 (施設数および患者数) を図4に示す。今シーズンは、コロナ禍前の2020年第9週以来、約3年ぶりとなる集団発生報告が2023年第2週にあった。その後は、定点当たり患者数の増加と同様に集団発生報告が増加し、第6週 (施設数: 31件、患者数: 1,106人) には患者数がピークとなった。

今シーズンの集団発生施設総数は165件、総患者数4,852人、総欠席者数4,497人であった。

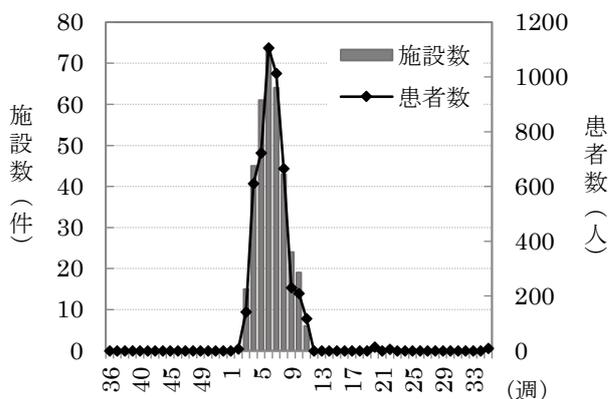


図4 インフルエンザ様疾患集団発生の状況 (施設数および患者数)

### 3. 2 病原体検出および性状把握

#### 3. 2. 1 ウイルス分離および同定

供試検体24検体から21株 (87.5%) のインフルエンザウイルスが分離された。分離株について、培養上清を用いてHA試験を実施したところ、21株中20株はHA価が8以上となり、HI試験を実施した。

HI試験の結果、19株はAH3と、1株はAH1pdm09と同定された。

#### 3. 2. 2 分離ウイルスの抗原性状

分離ウイルスの抗原性状を表1に示す。

##### (1) AH1pdm09

ワクチン株であるA/Victoria/1/2020のホモ価10240に対し、分離株のHI価は10240 (1株) であった。ホモ価の4倍以内であり、ワクチン株と抗原性が類似していた。

##### (2) AH3

ワクチン株であるA/Darwin/9/2021のホモ価2560に対し、分離株のHI価は1280 (5株) および2560 (14株) であった。全てホモ価の4倍以内であり、ワクチン株と抗原性が類似していた。

#### 3. 2. 3 ウイルス遺伝子検査

HA価が十分に上がらずHI試験を実施できなかった1株について、細胞培養上清を用いたリアルタイムRT-PCR法にてウイルス遺伝子検査をした結果、AH3であった。

分離陰性 (3検体) または非流行期 (28検体) の検体について、臨床検体を用いてウイルス遺伝子検査をした結果、AH1pdm09が2検体、AH3が5検体、B (Vic) が1検体および陰性が23検体であった。

表1 分離ウイルスの抗原性状

AH1pdm				分離数
HI 価				
A/Victoria /1/2020	A/Darwin /9/2021	B/Phuket /3073/2013	B/Austria/13 59417/2021	
10240	<10	<10	<10	1
計				1

AH3				分離数
HI 価				
A/Victoria /1/2020	A/Darwin /9/2021	B/Phuket /3073/2013	B/Austria/13 59417/2021	
<10	1280	<10	<10	6
<10	2560	<10	<10	13
PCR で同定				1
計				20
ホモ価				
10240	2560	320	1280	

### 3. 2. 4 ウイルス検出状況

検体採取週別のインフルエンザウイルスの検出状況を図5に示す。今シーズンは、AH1pdm09が3検体(5.8%)、AH3が25検体(48.1%)およびB(Vic)が1検体(1.9%)からそれぞれ検出された。B(山形)の検出は無かった。

今シーズンの主流のAH3は、2022年第47週から2023年第16週までに採取された検体から検出された。シーズンの後期には、AH1pdm09が、2023年第10、19、20週に採取された検体から、B(Vic)が2023年第24週に採取された検体からそれぞれ検出された。

コロナ禍の2020/21シーズンにはインフルエンザウイルスの検出は無く、2021/2022シーズンは、2022年第29週に1検体からAH3が検出されたのみであった。しかし、今シーズンは以前のように検出されるようになっており、シーズン後期には主流以外のウイルスも検出され始めていることから、今後は検出数増加の可能性が考えられる。

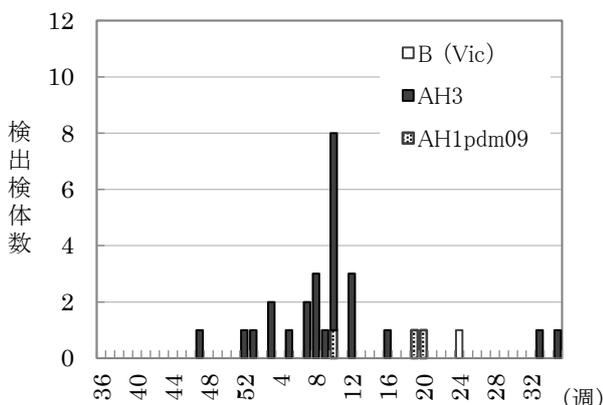


図5 検体採取週別検出状況

### 3. 2. 5 薬剤耐性サーベイランス

今シーズンに分離されたAH1pdm09 1株について薬剤耐性マーカー検査を実施したが、H275Y 耐性株は検出されなかった。

## 4. まとめ

コロナ禍によりインフルエンザの患者は著しく減少していたが、2022/23シーズンになるとコロナ禍前のように冬期に患者報告数が増加し、警報開始基準値を超過した。県内の流行のピーク時には、各年齢層で患者数が増加し、集団発生も多く見られ、定点当たり患者数は全国より多くなった。

インフルエンザウイルスの検出状況においては、AH3が主流となりシーズンを通して検出された。分離したウイルスの抗原性は、全てワクチン株と類似していた。

シーズン後期にはAH3以外のウイルスも検出され始めていることや、2019/20シーズン以来となる流行のため感受性者が増加している恐れがあることなどから、来シーズン以降も流行の懸念があるため、今後も発生動向調査が重要であると考えられる。

## 謝辞

検体採取に御協力いただきました各健康福祉センターおよび医療機関の皆様へ深謝いたします。

## 参考文献

- 1) 押谷仁: 新型インフルエンザと鳥インフルエンザ, 臨床と微生物, **41**, 55-58(2014)
- 2) 杉田繁夫: インフルエンザのウイルス学的特徴, 臨床と微生物, **44**, 3-12(2017)
- 3) 厚生労働省: インフルエンザに関する報道発表資料 2022/2023シーズン, 厚生労働省ホームページ, [https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakuseisakuni/bunya/kenkou\\_iryuu/kenkou/kekkaku-kansansen01/houdou\\_00010.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakuseisakuni/bunya/kenkou_iryuu/kenkou/kekkaku-kansansen01/houdou_00010.html)
- 4) 中村雅子 他: 2002/03シーズンの福井県のインフルエンザ, 福井県衛生環境研究センター年報, **1**, 126-131(2003)
- 5) 国立感染症研究所: インフルエンザ診断マニュアル(第4版)(2018)
- 6) 佐藤かおり 他: 2018/19シーズンの福井県のインフルエンザ, 福井県衛生環境研究センター年報, **17**, 101-103(2018)
- 7) 高橋美帆 他: 2019/20シーズンの福井県のインフルエンザ, 福井県衛生環境研究センター年報, **18**, 76-78(2020)

## 令和5年度感染症流行予測調査結果（百日咳・ジフテリア・破傷風）

坂井 伸成・田島 志保・横山 孝治・永田 暁洋

Epidemiological Surveillance of Vaccine-preventable Disease in Fukui Prefecture in 2023  
(Pertussis・Diphtheria・Tetanus)

Nobushige SAKAI Shiho TAJIMA Koji YOKOYAMA Akihiro NAGATA

## 1. はじめに

感染症流行予測調査とは、定期予防接種の対象疾病について、我が国の国民が免疫をどれくらい保有しているかを把握し、対象疾病の流行を予測するとともに、予防接種計画の資料とすることを目的とし、厚生労働省主体で行われている調査である。集団免疫の現況把握および病原体の検索等の調査を行い、かつ、各種疫学情報と併せて検討することにより、効果的な予防接種事業の運用および長期的視野に立った疾病の流行予測を行うことを目指している。

百日咳は、百日咳菌の気道感染によって引き起こされる急性呼吸器感染症で、潜伏期間は7～10日である。普通のかぜ症状が始まり、次第に咳の回数が増えて程度も激しくなり、特徴のある痙攣性の咳となる。特に新生児や乳児が罹患すると重症化するリスクが高い。当初は小児科定点把握疾患であったが、青年・成人の感染者が感染源となることが報告された。小児を対象とする定点把握では成人を含む患者の発生動向が正確に把握できないため、2018年1月1日から全数把握疾患に改められた<sup>1)</sup>。福井県では、2023年の1年間に7名の届出があった<sup>2)</sup>。新型コロナウイルス感染症が流行した2020年以降の届出数は大幅に減少した。

ジフテリアは、毒素を作るジフテリア菌により引き起こされる感染症で、潜伏期間は2～5日程度である。呼吸器ジフテリアの特徴的所見として、厚い灰白色の偽膜があり、喉頭や鼻腔に偽膜形成が広がると、気道の閉塞が引き起こされる。日本でのジフテリア患者数は、ワクチン接種の普及により激減し、1999年の報告を最後にそれ以降の届出はない<sup>3)</sup>。

破傷風は、土壌などの環境に広く分布する破傷風菌が傷口から侵入し、増殖して破傷風毒素を産生することによっておこる感染症で、潜伏期間は3～21日である。症状は、筋の痙攣や硬直である。傷口が中枢神経系に近ければ、潜伏期間が短く、より重篤な症状や合併症、死亡の可能性が高くなる傾向がある。近年、全国では年間100名程度<sup>4)</sup>、福井県では年間1名程度の届出がある<sup>2)</sup>。

3 疾患に対する予防接種については、1948年にジフテリアワクチンが開始され、その後ジフテリア・百日咳の二種混合ワクチン（DP）（1958年から）、ジフテリア・百日咳・破傷風の三種混合ワクチン（DPT）（1968年から）、不活化ポリオが追加された四種混合ワクチン（DPT-IPV）（2012年から）と切り替わり、さらに2024年4月からは、四種混合ワクチンにヒブワクチンを追加した五種混合ワクチン（DPT-IPV-Hib）の定期接種が開始された。

今回、百日咳、ジフテリアおよび破傷風に対する免疫保有の程度（抗体保有率）について、年齢、地域等の別によ

る分布を把握するための感受性調査を、福井県において実施したので報告する。なお、これらの3疾患の感受性調査は5年ごとに実施されており、令和5年度は福井県を含めて全国9自治体で実施された。

## 2. 材料および方法

## 2. 1 検体

検体は全血または血清とし、県内の3医療機関に令和5年8月～10月の期間での採取を依頼した。

検体数は、0～4歳が4検体、5～9歳が14検体、10～19歳が10検体、20～29歳が23検体、30～39歳が30検体、40～49歳が24検体、50歳以上が26検体で、合計131検体であった。（表1）

表1 年齢群別の検体数内訳

年齢群 (歳)	0～4	5～9	10～ 19	20～ 29	30～ 39	40～ 49	50 以上
検体数	4	14	10	23	30	24	26

## 2. 2 検査方法

検査は、令和5年度感染症流行予測調査実施要領<sup>5)</sup>に基づき実施した。全血として搬入された場合は、3,000rpmで10分遠心分離し、得られた血清を検査に供した。

## 2. 2. 1 百日咳

百日せき抗体EIA「生研」（デンカ（株））を用い、血清中の抗百日咳毒素抗体価（抗PT抗体価）および抗繊維状赤血球凝集抗体価（抗FHA抗体価）を酵素免疫測定法（EIA法）により測定した。

## 2. 2. 2 ジフテリア

ジフテリア毒素に高い感受性を示すVERO細胞を用いた細胞培養法により実施した。ジフテリア毒素と血清を反応させた後、細胞浮遊液を添加し、37℃で4日間培養した。残存毒素活性による細胞変性の程度を、吸光度を用いて測定した。検体の50%細胞生存希釈倍率に、標準抗毒素の50%細胞生存希釈倍率の抗毒素価を乗じ、ジフテリア抗毒素抗体価を算出した。

## 2. 2. 3 破傷風

破傷風抗体測定キット「kmb」（KMバイオロジクス（株））を用い、血清中の破傷風抗毒素抗体価を間接凝集反応法（KPA法）により測定した。また、破傷風抗体測

定キット「kmb」の製造終了に伴い開発された破傷風 EIA 「生研」(デンカ(株): 試作品)を用いた EIA 法による測定も行い、両キットによる測定結果の相関関係を確認した。

### 3. 結果

#### 3. 1 百日咳

##### 3. 1. 1 抗百日咳毒素(抗 PT)抗体

発症防御レベルとされる 10EU/mL 以上の年齢群別の抗体保有率を図 1 に示した。調査対象全体の抗体保有率は 58.0%であった。年齢群別でみると、0~4 歳では 100.0%、5~9 歳では 50.0%、10~19 歳では 20.0%、20~29 歳では 60.9%、30~39 歳では 60.0%、40~49 歳では 50.0%、50 歳以上では 73.1%であった。

予防接種歴別の抗体保有率を表 2 に示した。接種歴なしでは 58.3%、接種歴ありでは 59.3%、接種歴不明では 56.7%であった。

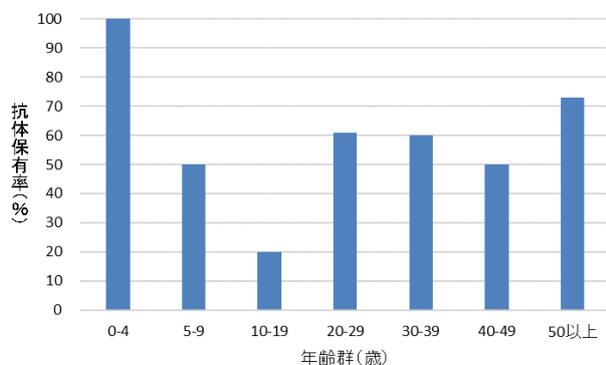


図 1 年齢群別の抗 PT 抗体保有率 (≥10EU/mL)

##### 3. 1. 2 抗繊維状赤血球凝集(抗 FHA)抗体

発症防御レベルとされる 10EU/mL 以上の年齢群別の抗体保有率を図 2 に示した。調査対象全体の抗体保有率は 69.5%であった。年齢群別でみると、0~4 歳では 100.0%、5~9 歳では 78.6%、10~19 歳では 60.0%、20~29 歳では 73.9%、30~39 歳では 80.0%、40~49 歳では 66.7%、50 歳以上では 50.0%であった。

予防接種歴別の抗体保有率を表 3 に示した。接種歴なしでは 58.3%、接種歴ありでは 81.4%、接種歴不明では 60.0%であった。

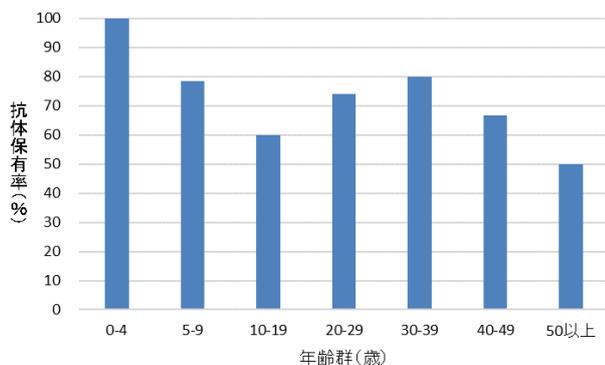


図 2 年齢群別の抗 FHA 抗体保有率 (≥10EU/mL)

#### 3. 2 ジフテリア

発症防御レベルとされる血中抗毒素抗体価 0.1IU/mL 以上の年齢群別の抗体保有率を図 3 に示した。調査対象全体の抗体保有率は 71.8%であった。年齢群別でみると、0~4 歳では 100.0%、5~9 歳では 85.7%、10~19 歳では 60.0%、20~29 歳では 73.9%、30~39 歳では 83.3%、40~49 歳では 54.2%、50 歳以上では 65.4%であった。

予防接種歴別の抗体保有率を表 4 に示した。接種歴なしでは 66.7%、接種歴ありでは 73.8%、接種歴不明では 70.7%であった。

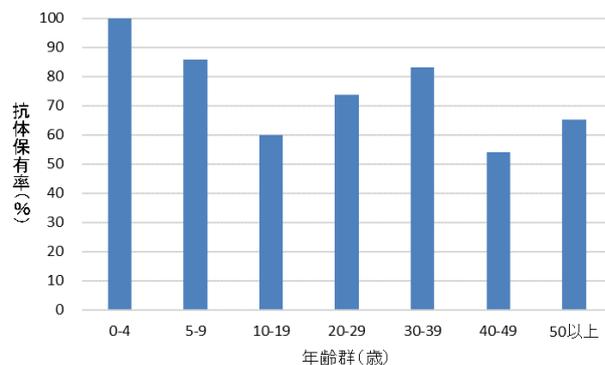


図 3 年齢群別のジフテリア抗毒素抗体保有率 (≥0.1IU/mL)

#### 3. 3 破傷風

##### 3. 3. 1 破傷風抗毒素抗体(KPA法)

発症防御レベルとされる 0.01IU/mL 以上の年齢群別抗体保有率を図 4 に示した。調査対象全体の抗体保有率は 84.7%であった。年齢群別でみると、0~4 歳では 100.0%、5~9 歳では 71.4%、10~19 歳では 70.0%、20~29 歳では 95.7%、30~39 歳では 100.0%、40~49 歳では 91.7%、50 歳以上では 61.5%であった。

予防接種歴別の抗体保有率を表 5 に示した。接種歴なしでは 75.0%、接種歴ありでは 85.7%、接種歴不明では 85.7%であった。

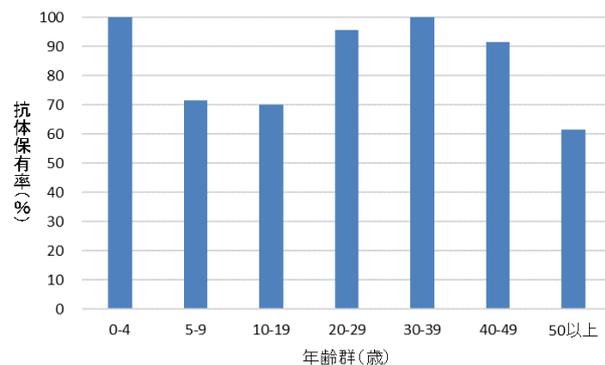


図 4 年齢群別の破傷風抗毒素抗体保有率 (≥0.01IU/mL)

##### 3. 3. 2 破傷風(KPA法とEIA法の相関)

KPA 法および EIA 法による破傷風抗毒素抗体価の相関図を図 5 に示した。両者の測定値による相関係数は、0.83 となり比較的良好な相関関係がみられた。

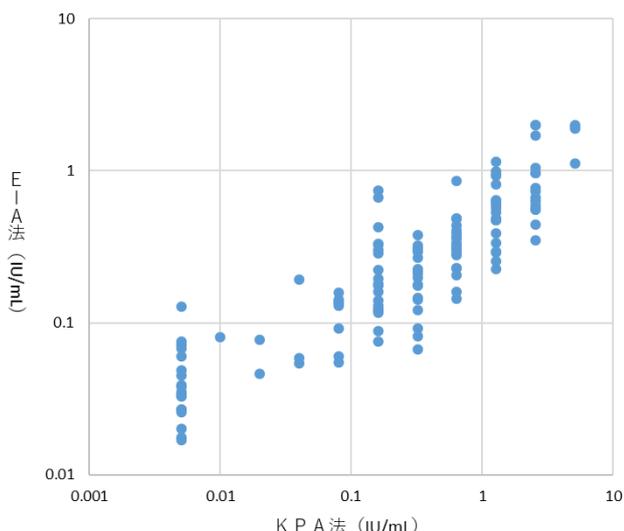


図5 KPA法およびEIA法による破傷風抗毒素抗体価の相関図

#### 4. 考察

抗PT抗体保有率は、0～4歳、5～9歳、10～19歳と年齢を重ねるごとに低くなっていた。これは、定期予防接種が、第1期として生後2～90ヶ月の間に4回接種（初回免疫として20日以上の間隔をおいて3回（標準として生後2～12ヶ月の間）接種し、追加免疫として、初回免疫終了後6ヶ月以上の間隔をおいて1回（標準的には初回免疫終了後12～18ヶ月の間）<sup>6)</sup>）すること、百日咳ワクチンの効果は4～12年で減弱する<sup>7)</sup>と報告されていることと合致する結果であった。また、10～19歳の検体の内訳は10歳3検体、11歳4検体、12歳3検体であり、13～19歳の検体は無かった。百日咳は小中学生世代に患者の集積を認めた<sup>8)</sup>と報告されているが、13～19歳の検体が無かったことが10～19歳の抗体保有率を極端に低くなった要因と考えられた。日本小児科学会は、百日咳に対する免疫を維持するために、就学前の三種混合ワクチンの追加接種を推奨している（任意接種）<sup>6)</sup>。

抗FHA抗体保有率については、調査対象全体の抗体保有率が抗PT抗体保有率よりも高かった。抗FHA抗体価は、百日咳菌以外の菌による感染症でも上昇する<sup>1)</sup>。このことが、抗FHA抗体保有率が高くなった要因のひとつではないかと考えられた。

ジフテリア抗毒素抗体保有率は、0～4歳の年齢群で100.0%と最も高かった。対象者4名全員が第1期予防接種を受けており、予防接種後の時間経過の短いこの年齢群で抗体保有率が高くなったと考えられた。また、10～19歳の年齢群で、抗体保有率が低くなった要因として第2期予防接種前（第2期として11～13歳未満を対象に、百日咳を除いたジフテリア・破傷風の二種混合ワクチン（DT）の接種が行われている<sup>6)</sup>）の検体が多かったことが考えられた。

破傷風抗毒素抗体保有率は調査対象全体で84.7%と高い結果であった。一方、50歳以上では、抗体保有率が61.5%と年齢群別では一番低かった。破傷風ワクチンを含む三種混合ワクチンの定期接種は1968年から開始され、50歳以上の人の多くがワクチンを接種する機会がなかったために、50歳以上の抗体保有率が低かったと考えられた。破傷風は、自然感染では免疫が誘導されない。創傷処置として、破傷風発症のリスクを考慮し最後のワクチン接種からの期間に応じて、沈降破傷風トキソイドの接種を行う。そのため、接種時期を記録しておくことが大切である<sup>4)</sup>。土に触る機会が多い人や、自然災害発生時にはリスクが高まるため、注意が必要である。

予防接種歴別にみると、3疾患4抗体の抗体保有率について、接種歴の有無で有意な差は得られなかったが、抗体保有率は接種歴ありで高かったことから、予防接種の効果が現れていると考えられた。接種歴不明の検体の抗体保有率は、抗PT抗体で56.7%、抗FHA抗体で60.0%、ジフテリア抗毒素抗体で70.7%、破傷風抗毒素抗体で85.7%と比較的高かった。これは、接種歴のある検体が含まれていると考えられるため、接種歴について正確な情報の収集が望まれる。

#### 謝辞

本調査を行うに当たり、血液を採取していただきました医療機関関係者の方々に深謝いたします。

#### 参考文献

- 1) 国立感染症研究所：百日咳とは  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/477>
- 2) 福井県感染症情報：過去10年の報告数一覧  
<https://info.pref.fukui.lg.jp/kansensyou/>
- 3) 国立感染症研究所：ジフテリアとは  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/411>
- 4) 国立感染症研究所：破傷風とは  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/466>
- 5) 厚生労働省健康局結核感染症課：令和5年度感染症流行予測調査実施要領  
[https://www.niid.go.jp/niid/images/epi/yosoku/AnnReport/2023/2023-99\\_ver11.pdf](https://www.niid.go.jp/niid/images/epi/yosoku/AnnReport/2023/2023-99_ver11.pdf)
- 6) 日本小児科学会：日本小児科学会が推奨する予防接種スケジュール2024年4月改訂版  
[https://www.jpeds.or.jp/uploads/files/20240401\\_vaccine\\_schedule.pdf](https://www.jpeds.or.jp/uploads/files/20240401_vaccine_schedule.pdf)
- 7) 厚生労働省健康局結核感染症課、国立感染症研究所感染症疫学センター：百日咳、平成30年度感染症流行予測調査報告,283-307,(2018)  
<https://www.niid.go.jp/niid/images/epi/yosoku/AnnReport/2018/10.pdf>
- 8) 国立感染症研究所感染症疫学センター：＜特集＞百日咳2021年1月現在,IASR,42,109-110 (2021)

表2 予防接種歴別の抗PT抗体保有率

年齢群 (歳)	接種歴なし			接種歴あり			接種歴不明			合計		
	抗体保有者数	検体数	抗体保有率(%)									
0-4				4	4	100.0				4	4	100.0
5-9				7	14	50.0				7	14	50.0
10-19				2	9	22.2	0	1	0.0	2	10	20.0
20-29	2	3	66.7	7	9	77.8	5	11	45.5	14	23	60.9
30-39				9	17	52.9	9	13	69.2	18	30	60.0
40-49	0	4	0.0	3	3	100.0	9	17	52.9	12	24	50.0
50以上	5	5	100.0	3	3	100.0	11	18	61.1	19	26	73.1
計	7	12	58.3	35	59	59.3	34	60	56.7	76	131	58.0

表3 予防接種歴別の抗FHA抗体保有率

年齢群 (歳)	接種歴なし			接種歴あり			接種歴不明			合計		
	抗体保有者数	検体数	抗体保有率(%)									
0-4				4	4	100.0				4	4	100.0
5-9				11	14	78.6				11	14	78.6
10-19				5	9	55.6	1	1	100.0	6	10	60.0
20-29	3	3	100.0	8	9	88.9	6	11	54.5	17	23	73.9
30-39				15	17	88.2	9	13	69.2	24	30	80.0
40-49	1	4	25.0	2	3	66.7	13	17	76.5	16	24	66.7
50以上	3	5	60.0	3	3	100.0	7	18	38.9	13	26	50.0
計	7	12	58.3	48	59	81.4	36	60	60.0	91	131	69.5

表4 予防接種歴別のジフテリア抗毒素抗体保有率

年齢群 (歳)	接種歴なし			接種歴あり			接種歴不明			合計		
	抗体保有者数	検体数	抗体保有率(%)									
0-4				4	4	100.0				4	4	100.0
5-9				12	14	85.7				12	14	85.7
10-19				6	9	66.7	0	1	0.0	6	10	60.0
20-29	3	3	100.0	6	9	66.7	8	11	72.7	17	23	73.9
30-39				14	19	73.7	11	11	100.0	25	30	83.3
40-49	2	4	50.0	1	3	33.3	10	17	58.8	13	24	54.2
50以上	3	5	60.0	2	3	66.7	12	18	66.7	17	26	65.4
計	8	12	66.7	45	61	73.8	41	58	70.7	94	131	71.8

表5 予防接種歴別の破傷風抗毒素抗体保有率

年齢群 (歳)	接種歴なし			接種歴あり			接種歴不明			合計		
	抗体保有者数	検体数	抗体保有率(%)									
0-4				4	4	100.0				4	4	100.0
5-9				10	14	71.4				10	14	71.4
10-19				6	9	66.7	1	1	100.0	7	10	70.0
20-29	3	3	100.0	9	9	100.0	10	11	90.9	22	23	95.7
30-39				19	19	100.0	11	11	100.0	30	30	100.0
40-49	3	4	75.0	3	3	100.0	16	17	94.1	22	24	91.7
50以上	3	5	60.0	3	5	60.0	10	16	62.5	16	26	61.5
計	9	12	75.0	54	63	85.7	48	56	85.7	111	131	84.7