

# 水質指標を用いたロジスティック回帰モデルによる 魚類のへい死事故の要因判別\*

玉城不二美\*\*・仲宗根一哉\*\*・宮城 俊彦\*\*\*

キーワード ①魚類のへい死事故 ②アンモニア態窒素 ③溶存酸素 ④ロジスティック回帰

## 要 旨

沖縄県内の河川等で発生した魚類のへい死事故事例117件および対照群137件のデータを基に魚類のへい死事故と水中のアンモニアおよび溶存酸素の関連を推定するロジスティック回帰モデルを作成した。アンモニア態窒素の回帰モデルより、溶存酸素が7.0mg/L前後の値をとる時はアンモニア態窒素濃度が12mg/L以上でないと事故の発生オッズは高くないが、溶存酸素が4 mg/L以下に減少したり、10mg/L以上の過飽和になると、低濃度のアンモニア態窒素の水質下でも事故が発生することが示唆された。非解離アンモニアの回帰モデルは溶存酸素が高い場合に、事故群と対照群の判別がよくなる傾向にあった。本モデルは、事故状況を速やかに把握する資料として、原因究明調査に活用されることが期待される。

## 1. はじめに

魚類のへい死事故に係る事故原因として酸素欠乏に次いで、アンモニアの毒性の影響が報告されている<sup>1)</sup>。アンモニアは水中で解離したアンモニウムイオン(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)と非解離のアンモニア(NH<sub>3</sub>)の状態が存在し、pHや温度によってその平衡が変化し、一般に非解離アンモニアの割合が高くなると魚毒性が強まるといわれている<sup>2)</sup>。また、非解離アンモニアによる魚毒性は水中の溶存酸素量と密接な関係があり、溶存酸素が低いときは低濃度で魚が死に至ることが報告されている<sup>3)</sup>。なお、2009年3月の国土交通省の「今後の河川水質管理の指標について(案)改訂版」の中においては「豊かな生態系の確保」の観点から呼吸に係る溶存酸素と、毒性に係る指標としてアンモニア態窒素

(NH<sub>4</sub>-N)が指針値として提案されている<sup>4)</sup>。

沖縄県では2002年から魚類のへい死事故の現地調査の際は溶存酸素の測定とともにアンモニア態窒素のパックテストを実施してきた。非解離アンモニアについては、アンモニア態窒素の測定値とpHおよび水温の測定結果から算出し<sup>5)</sup>、文献値の致死濃度<sup>1,2,6)</sup>と比較しながら、事故への影響を検討してきた。しかし、実際のへい死事故では事故の発生から調査まで数時間以上経過しており、事故時に比べ水質が回復していると推定されることが多い。また、へい死事故として通報される魚類は成魚が多く、毒性試験等で報告されている魚より比較的サイズが大きく、呼吸に必要な酸素量やアンモニアに対する抵抗性等が異なると考えられる。これらのことから、アンモニアと溶存酸素の

\*Logistic Analysis by Ammonia and Dissolved Oxygen on Fish Kills

\*\*Fujimi TAMAKI, Kazuya NAKASONE (沖縄県衛生環境研究所) Okinawa Prefectural Institute of Health and Environment

\*\*\*Toshihiko MIYAGI (沖縄県環境生活部環境保全課) Okinawa Prefecture Environmental Preservation Division

測定値が事故発生にどの程度関連があるのか、事故原因を判断するための独自の指標を必要としていた。

沖縄県内の魚類のへい死事故は年間10～20件程度の件数ではあるが、累計するとある程度まとまった数になり、統計的に処理することが可能になってきた。そこで、今回魚類のへい死事故とアンモニアおよび溶存酸素の関連について、ロジスティック回帰を用い、疫学的な手法による解析を試みたので報告する。

## 2. 方 法

### 2.1 解析データの範囲

解析に使用したデータの概要を表1に示す。2002年9月～2011年4月の期間に河川等(26河川, 6水路他)で発生した事故のうち、調査データのそろっている117件を使用した。ただし、回帰モデルの作成の際、農薬およびコイヘルペスウイルス、低温など致死要因が特定できた事故(24件)についてはダミー変数を用いて調整した。対照群として事故頻度の高い地点(国場川34件, 安里川35

表1 解析に用いたデータの概要

内 訳	件数	調査期間
河川等で発生したへい死事故 (26河川, 6水路等)	計117件	2002年9月～2011年4月
致死性の原因物質が検出された事故	24件	
農薬14件, 低温8件, 魚病2件		
対照群 (35河川, 3水路等)注)	計137件	
国場川(泊下橋)で採水	34件	2003年6月～2006年3月
安里川(安里練兵橋)で採水	35件	2003年6月～2006年8月
本島内公共用水域基準点等(38ヶ所)で採水	68件	2006年7月～8月 2007年8月～12月

注)国場川, 安里川は保健所で月1回モニタリングしたデータである。

表2 各変数の基本統計量

事故発生後の河川の調査データ n=117						
変 数	NH4-N	NH3	溶存酸素量 (DO)	溶存酸素 (DO 飽和率)	温度	pH
単 位	mg/L	mg/L	mg/L	%	℃	
平 均	3.51	0.278	5.19	64	25.4	7.92
不偏分散	23.2	0.350	11.9	1977	28.9	0.309
標準偏差	4.82	0.591	3.46	44.5	5.38	0.556
最小値	0.1	0.0004	0.1	1.2	13.7	6.04
最大値	30	5.7	17.0	245	38.0	9.60
変動係数	1.372	2.130	0.666	0.693	0.211	0.070

対 照 群 n=137						
変 数	NH4-N	NH3	溶存酸素量 (DO)	溶存酸素 (DO 飽和率)	温度	pH
単 位	mg/L	mg/L	mg/L	%	℃	
平 均	1.35	0.135	6.01	75	26.0	7.90
不偏分散	5.52	0.250	4.68	808	23.0	0.109
標準偏差	2.35	0.500	2.16	28.4	4.80	0.330
最小値	0.1	0.0001	1.8	24	11.5	7.04
最大値	20	5.5	14.8	205	34.0	9.54
変動係数	1.736	3.706	0.360	0.378	0.185	0.042

件)のモニタリングデータおよび公共用水域基準点等(以下基準点と略す)38カ所(35河川, 3水路)で調査した68件のデータを合わせて累計137件を用いた。なお, 水質調査後3日以内に事故が発生した事例があり, これについては対照群から除外した(国場川2件, 安里川1件)。

## 2.2 解析対象項目および解析ソフト

解析の対象項目は, アンモニア態窒素, 溶存酸素(JIS K 0102.32.1よう素滴定法), 溶存酸素飽和率および非解離アンモニア濃度とした。溶存酸素飽和率は水中の飽和溶存酸素(JIS K 0102 表32.1ただし, 塩化物イオンは0とみなす)の値から計算し, 非解離アンモニア濃度については水温, pHを基に算出した<sup>5)</sup>。アンモニア態窒素は主に簡易テスト(㈱共立理化学研究所製 WAK-NH<sub>4</sub>パケットテスト)で実施し, 一部についてはアンモニア試験紙あるいはインドフェノール青吸光光度法(JIS K 0102.42.2)で測定した。アンモニア態窒素の検出下限値未満の数値は0.1mg/Lに統一した。解析ソフトはエクセル統計2010(㈱社会情報サービス)を使用した。

## 3. 結果および考察

### 3.1 各変数の基本統計量およびヒストグラム

表2に各変数の基本統計量を示し, 図1に各変数のヒストグラムを示す。アンモニア態窒素及び非解離アンモニアについては, 事故調査データは対照群に比べて平均値が高く, ヒストグラム非対称で右に裾をひく分布を示す。対照群の中に非解離アンモニアが高い値を示すデータが1件あり平均値, 変動係数等に影響を与えていたが, 今回の解析ではそのまま使用することとした。

事故調査時の溶存酸素については測定濃度, 飽和率のいずれも対照群に比べて平均値は低くなっていた。対照群が5-6 mgO/Lを峰とする正規分布であるのに対し, 事故調査データのヒストグラムは低濃度側に大きく偏っており, 濃度の高い方にも分布が若干広がっていた。

pHについては, 事故調査データと対照データの平均値間に有意な差はなかった。

なお, 水温については対照の基準点調査時期が夏期に集中しているため分布が27.5-30.0℃の階級に分布の偏りが生じた。

### 3.2 単変量ロジスティック回帰

ロジスティック回帰は, 目的変数(y)に二値のデータを適用することが出来, 対照群(y=0)に対して事故が発生(y=1)するオッズ(事象が発生する確率/事象が発生しない確率)を求めることが出来る。

単変量ロジスティック回帰式の一例として,

$$\ln(p/(1-p)) = 0.2694 \times \text{NH}_4\text{-N} - 0.9687 + 3.728R$$

p: 事故の発生確率, p/(1-p): オッズ,

NH<sub>4</sub>-N: アンモニア態窒素濃度(mg/L),

R: 調整変数(R=1 農業等, R=0 その他)

を示す。

アンモニア(アンモニア態窒素, 非解離)及びその自然対数変換値, 溶存酸素については, 二次項を加えた場合も含めて, 単変量ロジスティック回帰分析による各々の標準回帰係数と回帰式の相関係数を表3にまとめた。

アンモニアについてはアンモニア態窒素, 非解離のいずれも対数変換値を用いた方が回帰式の相関係数が向上した。溶存酸素についてはヒストグラムから予想されたように二次項を加えると有意性が良くなり, 回帰式の相関係数が向上した。各々の式からアンモニア態窒素は1.9mg/L, 非解離アンモニア0.14mg/Lを境に死魚の発生が多く, 溶存酸素に関しては7.1mg/L, 酸素飽和率96%で事故発生が少なく, 同様に3.2mg/L, 酸素飽和率41%以下あるいは11mg/L, 151%以上で死魚の発生が多かった。

なお, 国土交通省の指標の中で「生物の生息・生育・繁殖しにくい」区分(Dランク)に該当する値は, 溶存酸素については3 mg/L未満, アンモニア態窒素については2 mg/Lを越えるものと設定されている<sup>4)</sup>が, 上述の死魚の発生オッズが1を超える値とほぼ一致する。

### 3.3 多変量ロジスティック回帰

アンモニア及び溶存酸素に係る変数を組み合わせて多変量ロジスティック回帰分析した場合の回帰モデルaからモデルfまでの標準偏回帰係数, 回帰式の相関係数及びAIC(赤池情報量基準)を表4に示す。

各変数の組み合わせの結果から, アンモニア態窒素については対数変換値, 溶存酸素については

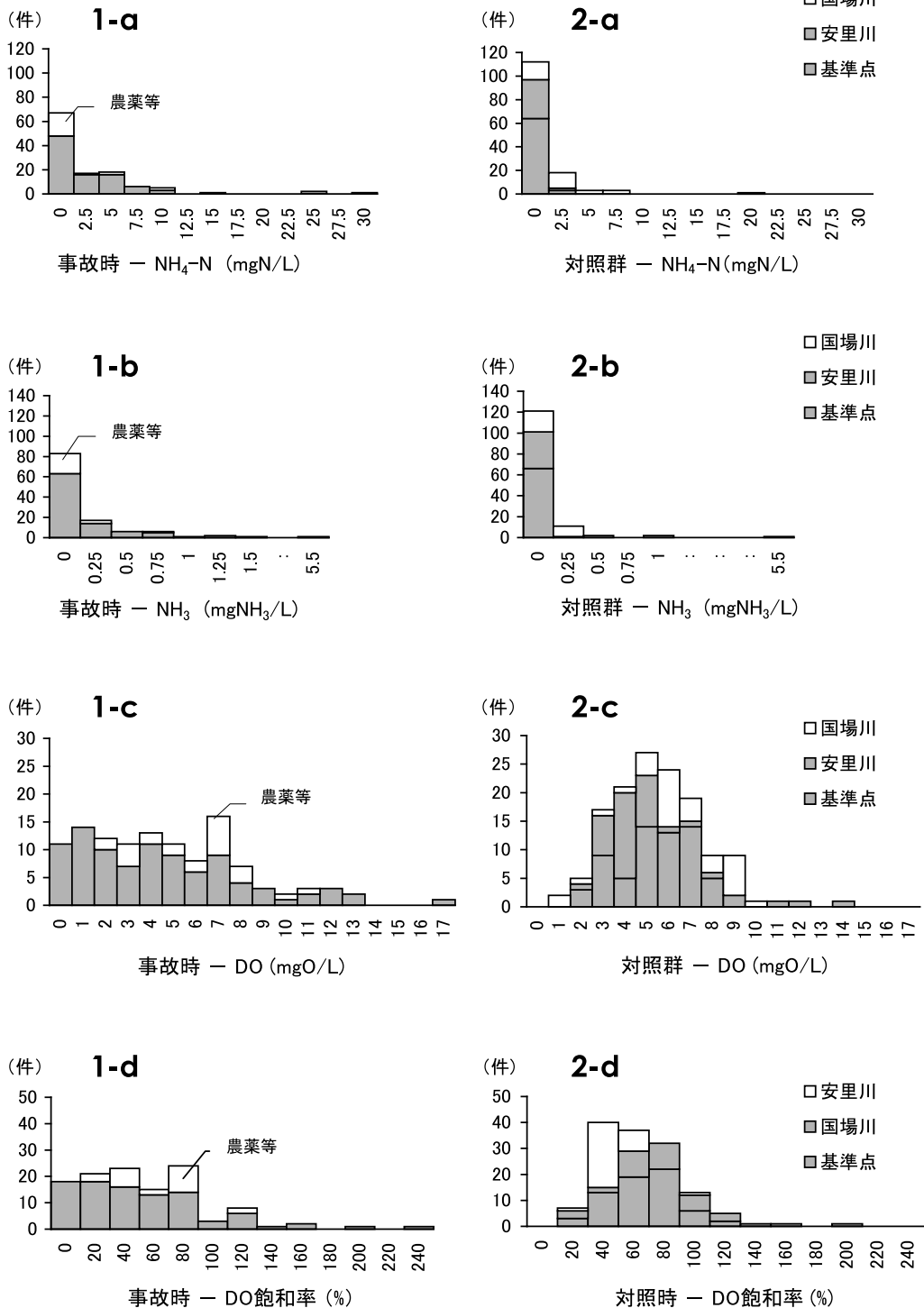


図 1-1 事故調査時および対照の階級分布図

1-a. 事故調査時のアンモニア態窒素, 1-b. 事故調査時の非解離アンモニア, 1-c. 事故調査時の溶存酸素, 1-d. 事故調査時の溶存酸素飽和率; 2-a. 対照群のアンモニア態窒素, 2-b. 対照群の非解離アンモニア, 2-c. 対照群の溶存酸素, 2-d. 対照群の溶存酸素飽和率

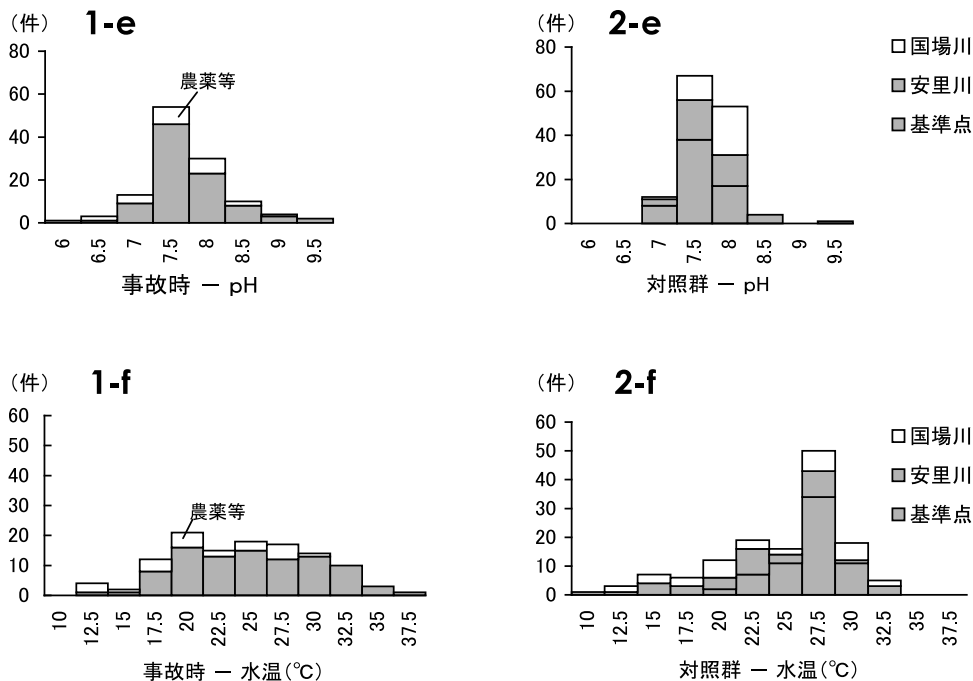


図 1-2 事故調査時および対照の階級分布図

1-e. 事故調査時の pH, 1-f. 事故調査時の水温 ; 2-e. 対照群の pH, 2-f. 対照群の水温

表 3 単変量ロジスティック回帰における標準偏回帰係数および回帰式の相関係数

変数及びその関数	標準偏回帰係数	回帰式の相関係数	AIC	備考
NH <sub>4</sub> -N	1.032***	0.478	296	>3.6mg/L(オッズ>1)
NH <sub>3</sub>	0.478	0.387	318	
DO	-0.397**	0.388	316	
DO 飽和率	-0.375**	0.383	317	
対数				
lnNH <sub>4</sub> -N	0.859***	0.494	288	>1.9mg/L(オッズ>1)
lnNH <sub>3</sub>	0.776***	0.469	297	>0.14mg/L(オッズ>1)
二次項				
DO	-3.387***	0.538	278	極小値 7.1mg/L(オッズ=0.222) <3.2mg/L, >11mg/L(オッズ>1)
DO <sup>2</sup>	3.215***			
DO 飽和率	-2.869***	0.517	285	極小値 96%(オッズ=0.229) <41%, >151%(オッズ>1)
DO 飽和率 <sup>2</sup>	2.804***			
参考				
温度	0.053	0.333	325	
pH	0.080	0.334	324	

\* P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001

表 4 多変量ロジスティック回帰分析における標準偏回帰係数及び AIC

変数及び その関数	各変数の組み合わせによる標準偏回帰係数					
	a	b	c	d	e	f
NH <sub>4</sub> -N	0.960***	0.624*				
対数						
lnNH <sub>4</sub> -N			0.606**	0.639***		
lnNH <sub>3</sub>					0.527**	0.580***
DO	-0.170					
二次						
DO		-2.827***	-2.649***		-2.814***	
DO <sup>2</sup>		2.743***	2.575***		2.583***	
DO 飽和率				-2.157***		-2.342***
DO 飽和率 <sup>2</sup>				2.175***		2.172***
回帰式の相関係数	0.483	0.559	0.569	0.555	0.564	0.552
AIC	297	273	267	272	271	275
モデルとして採用			モデル1		モデル2	

\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001

魚類のへい死事故発生モデル

回帰モデル1 (アンモニア態窒素, 溶存酸素)

$$\ln(p/(1-p)) = 0.4189 \times \ln\text{NH}_4\text{-N} - 0.9309 \times \text{DO} + 0.0669 \times \text{DO}^2 + 2.207 + 3.982 \times R$$

回帰モデル2 (非解離アンモニア, 溶存酸素)

$$\ln(p/(1-p)) = 0.2876 \times \ln\text{NH}_3 - 0.9891 \times \text{DO} + 0.0671 \times \text{DO}^2 + 3.348 + 4.159 \times R$$

p: 事故発生確率 p/(1-p): 事故発生オッズ  
 NH<sub>4</sub>-N: アンモニア態窒素(>0.1) DO: 溶存酸素  
 R: 調整変数(R=1農薬等, R=0その他)

二次項を加えた場合のモデル c の相関係数, AIC の両方とも良好であったので最適モデルとして採用した(回帰モデル 1)。また, モデル e の非解離アンモニアについても, 若干精度は劣るが, 文献値と比較する上で必要であることや, 事故の規模等を考慮すると非解離アンモニアの観点から解釈の方が良い事例があり, モデルとして採用することとした(回帰モデル 2)。

回帰モデル 1 (アンモニア態窒素, 溶存酸素)

$$\ln(p/(1-p)) = 0.4189 \times \ln\text{NH}_4\text{-N} - 0.9309 \times \text{DO} + 0.0669 \times \text{DO}_2 + 2.2070$$

回帰モデル 2 (非解離アンモニア, 溶存酸素)

$$\ln(p/(1-p)) = 0.2876 \times \ln\text{NH}_3 - 0.9891 \times \text{DO} + 0.0671 \times \text{DO}_2 + 3.348$$

p: 事故の発生確率, p/(1-p): オッズ,

NH<sub>4</sub>-N: アンモニア態窒素濃度(mg/L),

DO: 溶存酸素濃度(mg/L),

NH<sub>3</sub>: 非解離アンモニア濃度(mg/L)

※調整項を除く

事故発生オッズが1の場合, 回帰モデル 1 は DO=7.0mg/L, NH<sub>4</sub>-N=12mg/L, 回帰モデル 2 は DO=7.4mg/L, NH<sub>3</sub>=2.8mg/L を極大値とした二次曲線を描く。このアンモニアの数値は横浜市 の報告書のコイの急性試験の致死濃度(NH<sub>4</sub>-N=50.9mg/L NH<sub>3</sub>=0.61mg/L)<sup>1)</sup>と比較すると, アンモニア態窒素は1/4程度の値で, 非解離アンモニアは4.5倍程度の値であった。

一方, 外国の文献にテトラピアの半数致死濃度として非解離アンモニア値7.1mg/L<sup>(6)</sup>(窒素換算)があり, 県内の事故の魚種が主にテトラピアであることを考えると回帰モデル 2 による非解離アンモニア2.8mg/Lは著しく高い数値ではない。

図 2 にアンモニア態窒素と溶存酸素のデータ散布図, 図 3 に非解離アンモニアと溶存酸素のデータ散布図を示す。表 5, 表 6 に各回帰モデルによる判別結果を示す。モデル 1 及び 2 の判別率は全体として同等であるが, 溶存酸素が高い側はモデル 1 と比較して事故事例群と対照群の判別が

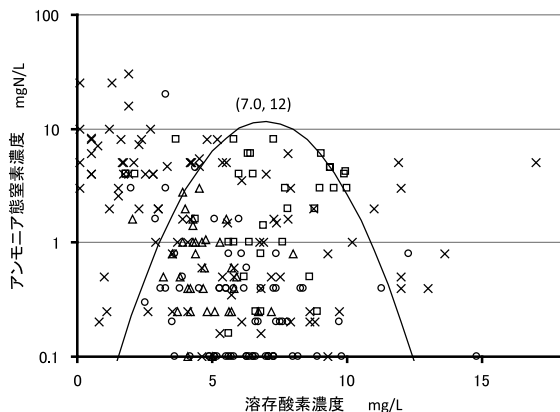


図2 アンモニア態窒素濃度(常用対数表示)/溶存酸素のデータ散布図

図中の実線は回帰モデル1でオッズが1の値をプロットしたものである

×：事故，□：国場川，△：安里川，○：基準点

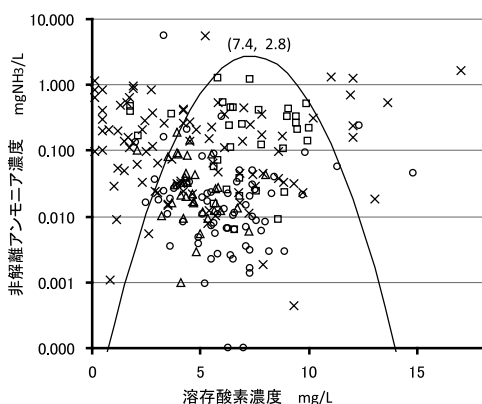


図3 非解離アンモニア濃度(常用対数表示)/溶存酸素のデータ散布図

図中の実線は回帰モデル2でオッズが1の値をプロットしたものである

×：事故，□：国場川，△：安里川，○：基準点

向上している傾向があった。従って、魚類のへい死事故においては、溶存酸素が低い時はアンモニア態窒素のデータ単独で事故の判断はある程度出来るが、溶存酸素が7mg以上で特に過飽和の時はpH、水温のデータを基に非解離アンモニアを算出してから判断した方が適当と考えられる。

溶存酸素が過飽和においても事故が発生しやすくなる現象が認められるが、その要因として1)藻類の発生で日中は光合成、夜間は呼吸により溶存酸素の変動が大きいこと、2)非解離アンモニアの中和に必要な炭酸濃度が少なくなっていること、3)酸素の過飽和自体が魚にストレスを与えていること等が考えられる。

### 3.4 アンモニア態窒素から魚類のへい死事故との関連を推定する指標

事故発生後の現地調査時に、事故の状況を把握するため、事故発生オッズが1以上となるアンモ

表5 回帰モデル1による判別率

観測値	予測値		判別率 (調整後)
	0	1	
対照=0	118(1)	20	85.4%
事故=1	41	76(24)	55.9%
	全 体		73.5%

( )内は調整数

表6 回帰モデル2による判別率

観測値	予測値		判別率 (調整後)
	0	1	
対照=0	124(1)	14	89.8%
事故=1	47	70(24)	49.5%
	全 体		73.5%

( )内は調整数

表7 溶存酸素とアンモニア態窒素から魚類のへい死事故との関連を推定する指標 (魚類のへい死事故発生オッズが1以上となる値)

	1	2	3	4	5
NH <sub>4</sub> -N(mg/L) バックテスト	—	2以上	4以上	8以上	12以上
DO(mg/L)	1.0以下	3.5以下 あるいは 11以上	4以下 あるいは 10以上	5.0以下 あるいは 9.0以上	5.0~9.0
魚類のへい死 事故との関連	酸素欠乏の 可能性が高い	アンモニアの毒性の影響が考えられる。 ただし事故発生からの経過時間等を考慮し総合的に判断すること。			

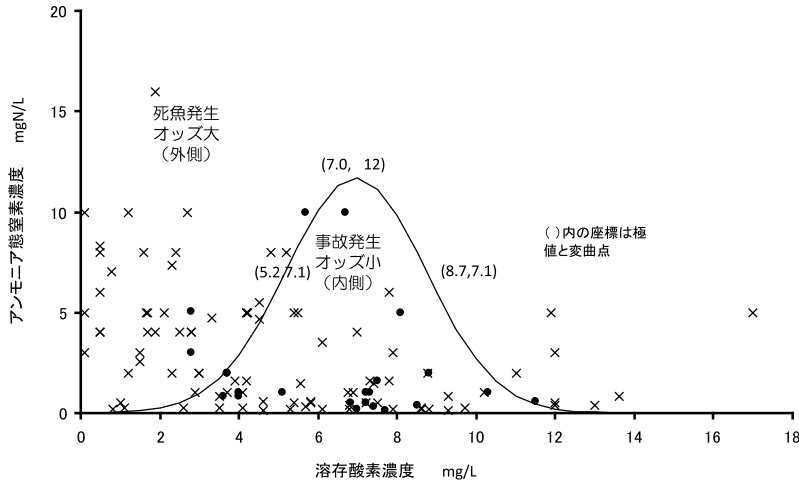


図4 事故時(農業等を含む)の溶存酸素・アンモニア態窒素値の分布

図中の実線は回帰モデル1でオッズが1の値をプロットしたものである

×：事故，●：農業等

ニア態窒素と溶存酸素についておおよその値を表7に示した。

図4の散布図に示した農業等のデータ(ダミー変数で調整)は溶存酸素およびアンモニア態窒素についてはオッズが1の境界線の内側に位置し、対照群に近い分布を示した。従って、モデルから算出される事故発生オッズが小さい時は、事故の原因がアンモニアあるいは溶存酸素以外である可能性が高いと考えられる。

### 3.5 検討課題

モデルの精度を考えるうえで検討すべき課題としてまず、アンモニア態窒素の測定がバックテストによる簡易テストであることが指摘される。確かにJIS(K0102.42.2)に比べ精度は劣るが、事故事例群と対照群との間で差が認められるので問題として大きいとは考えていない。課題はむしろ対照として選んだデータ群のバイアスである。今回、国場川および安里川をモニタリングしたデータを基準点等のデータに加えて(データ数の比1:1:2)対照群としたが、基準点についてはサンプリング時期が偏るという問題がある。また、仮に国場川のデータを除いて解析するとアンモニアがかなり低い濃度で事故が発生するという結果になる。魚類のへい死事故の発生する河川の多くは10年の間に数回以上事故を繰り返す河川であり、国場川と同様に汚染の進んだ都市河川も多

い。事故の発生した河川を中心にその頻度に応じて年間を通した定期的なサンプリングが、理想的なコントロールであるが、今回実施したデータ群の構成についてどの程度対応しているのか、検討する必要がある。

なお、対照の河川調査時には特に生魚の確認を行っていなかったため、モデルは「事故の発生していない環境」との比較になっていた。「魚が生息できる環境」との比較のためにも魚の生息情報は記録しておく必要があり、今後のモデルづくりにおける課題のひとつである。

### 4. まとめ

2002年9月～2011年4月の期間に河川で発生した事故のデータ117件を基にロジスティック回帰を用いて魚類のへい死事故とアンモニア態窒素および溶存酸素の関連を推定するモデルを作成した。回帰モデルより、事故調査時7mg/L前後の飽和量に近い値の溶存酸素の存在下ではアンモニア態窒素(NH<sub>4</sub>-N)12mg/L、非解離アンモニア(NH<sub>3</sub>)2.8mg/L程度まで事故は起こりにくく、溶存酸素が4mg/L以下に低下したり、10mg/L以上の過飽和状態になると、アンモニア濃度が少ない状態で事故が発生する事が示唆された。



## —参考文献—

- 1) 樋口文夫：酸素欠乏等の魚への生理学的影響，魚の死亡事故の原因究明に関する研究報告書，横浜市公害研資料，91，45-78，1991
- 2) Ruffier, J. P., Boyle C. W., Kleinschmidt J.: Short-term acute bioassays to evaluate ammonia toxicity and effluent standards., *Journal WPCF*, 53(3), 367-377, 1981
- 3) Thurston, R. V., Phillips G. R., Russo R. C.: Increased toxicity of ammonia to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) resulting from reduced concentrations of dissolved oxygen, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **38**, 983-988, 1981
- 4) 国土交通省：今後の河川水質管理の指標について(案)改訂版，2009
- 5) Emerson, K., Russo R. C., Lund R. E., Thurston R. V.: Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature, *J. Fish. Res. Board Can.* **32**, 2379-2383, 1975
- 6) El-Sherif, M. S., El-Feky A. M.: Effect of ammonia on Nile tilapia (*O. niloticus*) performance and some hematological and histological measures, *8th International Symposium on Tilapia in Agriculture 2008*, 513-530, 2008