

課題名	5B-1104 農薬取締法における水質汚濁に係る農薬の登録保留基準見直しのための根拠データの取得
課題代表者名	高梨 啓和（鹿児島大学大学院理工学研究科化学生命・化学工学専攻環境化学研究室准教授）
研究実施期間	平成23～25年度
累計予算額	158,146千円（うち25年度51,928千円） 予算額は、間接経費を含む。
本研究のキーワード	農薬、環境変化体、塩素処理副生物、変異原、変異原性物質生成能（MFP）、一斉分析、環境モニタリング、河川水、浄水処理、凝集沈殿処理、活性炭吸着処理、オゾン処理

研究体制

- (1) 農薬加水分解物の変異原性物質生成能(MFP)測定と生成する変異原の探索(鹿児島大学)
- (2) 農薬加水分解物の河川水中濃度モニタリング(横浜国立大学)
- (3) 農薬加水分解物の浄水処理性の評価(北海道大学)

研究概要

1. はじめに(研究背景等)

農薬は、環境中で速やかに分解されて環境中から検出されないことが望ましいとされ、分解性が高い農薬が開発されてきた。しかし、ここでいう分解は一次分解であり、完全分解ではない場合がある。結果として、水環境中での加水分解物やフォトプロダクトなど(以下、農薬の環境変化体、Pesticide Transformation Products in Water environments, PTPWs)が残存する可能性がある。図1に示したように、PTPWsは浄水場で塩素処理を受けることになるが、農薬取締法において、PTPWsが浄水場で塩素処理されたときの副生成物の毒性は確認されていない。河川水等の水道原水から検出される農薬の濃度は最大でもppbオーダーと低いが、米国において、河川水中の農薬およびPTPWsの濃度を測定した例では、PTPWsの方が138倍高濃度と報告されている。

以前、44種類の農薬を対象として、それらの農薬の変異原性が塩素処理によりどのように変化するかを検討した。その結果、農薬の変異原性は陰性だが、それらを浄水場での塩素処理工程を模擬した条件で塩素処理すると、試験した農薬の88%は変異原性が高くなることを明らかにした。しかし、PTPWsについてはほとんど検討されていない。

2. 研究開発目的

本研究では、農薬やその環境変化体(Pesticide Transformation Products in Water environments, PTPWs)が前駆体となり、それが塩素処理されると変異原性物質を生成することを証明する。これにより、農薬取締法における水質汚濁に係る農薬の登録保留基準を改訂して、浄水場で塩素処理されても変異原性物質を生成しない農薬に限定して、農薬の登録を行うための初期根拠データを提示する。

サブテーマ1では、主要なPTPWsのMFPの測定を行うとともに、土壤燻蒸剤D-Dを例として、農薬由来の変異原性物質の同定を試みる。これらにより、多くのPTPWsが浄水場で塩素処理されることによって変異原性物質を生成する可能性を示すとともに、一部の物質を例にして、生成する変異原性物質の化学構造を明らかにすることを目指す。

サブテーマ2では、農薬およびPTPWsの一斉分析方法を確立するとともに、確立した方法を用いて、河川水中の実態調査(モニタリング)を実施する。これらにより、水道原水となる河川水中の農薬の濃度は低いが、PTPWsの濃度は比較的高い場合があることを示し、現在行われている親農薬のモニタリングに加えて、PTPWsについてもモニタリングを行うことの重要性を示す。

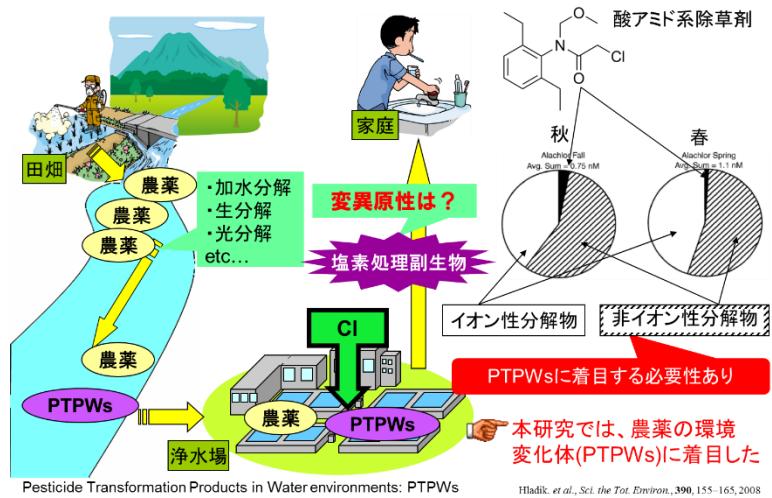


図1 農薬の環境変化体からの変異原性物質生成の可能性

Hladik, et al., *Sci. the Tot. Environ.*, 390, 155–165, 2008

サブテーマ3では、親農薬およびPTPWsの浄水処理工程における除去性を検討し、PTPWsが浄水処理工程でどの程度除去可能なのか、高MFPのPTPWsで除去困難な物質が発見されるかなどを検討する。

以上により、浄水場で塩素処理されても変異原性物質を生成しない農薬に限定して農薬の登録を行うための初期根拠データを提示することを目指す。

3. 研究開発の方法

(1) 農薬加水分解物の変異原性物質生成能(MFP)測定と生成する変異原の探索

独立行政法人科学技術振興機構(JST)が運営する文献情報データベースであるJ-Dream II、Elsevier社が運営するScienceDirect、Thomson Reuters社が運営するWeb of Science、代表的な書籍および農薬抄録または農薬抄録を用いて文献研究を行い、PTPWsのリストを作成した。作成したリストに基づき、変異原性および変異原性物質生成能(MFP)を測定した。実験は、2名の実験者で3回以上繰り返して実験を実施し、再現性を確認しながら実施した。

モデル農薬として土壤燻蒸剤D-Dの主要成分である(*E*)-1,3-dichloropropene (CASRN: 10061-02-6、DCP)を用い、塩素処理物中の変異原性物質の探索を行った。探索は、高分解能・高質量精度LC/MSを用いて行った。探索により発見された物質の同定には、LC/MSⁿとともに¹H-NMRを用いて行った。発見・同定された強変異原性物質である1,3-DCAが実河川水中においても生成するかを確認した。

(2) 農薬加水分解物の河川水中濃度モニタリング

まず、GC/MSおよびLC/MS/MSを用いた農薬およびPTPWsの一斉分析条件の検討を行った。先行調査としては、初年度にフェニトロチオン(MEP)とその分解物である3-メチル-4-ニトロフェノールの分析法を確立し、次いで、水道法、特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律(化管法)等において規制対象となる農薬を対象に継続的な文献調査を行って、親子関係の明らかな農薬およびPTPWsを探査・整理してリスト化するとともに、固相抽出濃縮から機器分析に至るまでの回収率や分析感度を精査して、対象物質の一斉分析に必要な分析条件のデータベース整備を行った。確立した一斉分析法を用いて、水道水源や一般環境測定点における河川水モニタリングを行い、親農薬とPTPWsの検出実態を調べた。

(3) 農薬加水分解物の浄水処理性の評価

26種類のPTPWsとその親農薬15種類の合計41種の物質の浄水処理性を、室内実験にて調べた。対象とした浄水処理工程は、わが国の浄水処理場にて広く用いられる処理法である凝集沈殿砂ろ過処理と、高度浄水処理として用いられる、活性炭吸着処理とオゾン処理とした。まず、凝集沈殿処理による処理性を調べた。PTPWsと親農薬の計41物質をそれぞれ10 µg/L程度を含む処理原水を豊平川河川水(藻岩浄水場原水)にて調整した。この人工原水を、1 Lの角型ビーカーに入れ、ジャーテスタに設置した。凝集沈殿後にpHが7.0になるよう水酸化ナトリウムあるいは塩酸にて調整し、凝集剤(ポリ塩化アルミニウム)を、採水日の藻岩浄水場における凝集剤注入率の0.5, 1, 2倍になるように3段階で添加した(概ね、0.5, 1.0, 1.5 mg-Al/L程度)。1 minの急速攪拌と、10 minの緩速攪拌を行い、その後60 min静置した。静置後に上澄水をサンプリングし、孔径0.45 µmのPTFE膜でろ過した。サンプル中の対象物質濃度は、LC/MSあるいはGC/MSにて測定した。次に、活性炭吸着処理性を調べるために、以下の手順にてバッチ式吸着実験を行った。まず、豊平川河川水にPTPWsと親農薬の計41物質をそれぞれ10 µg/L程度となるように加え、塩酸にてpHを7.0になるように調整した。これを150 rpmで攪拌しつつ、5 mg/Lとなるように粉末活性炭を添加し、経時的にサンプリングした。採取したサンプルを孔径0.2 µmのPTFE膜でろ過して活性炭粒子を除去し、ろ液中の対象物質の濃度をLC/MSあるいはGC/MSにて測定した。最後にオゾン処理性を調べるために、以下の手順にてバッチ式オゾン処理実験を行った。対象物質を、豊平川河川水にそれぞれ10 µg/L程度となるように加え、塩酸にてpHを7.0になるように調整した。これをスターで攪拌しつつ、オゾン発生装置を用いて0.3 mg-O₃/L·minにてオゾンを通気し(水中平均オゾン濃度1.2 mg-O₃/L)、経時的にサンプリングを行った。亜硫酸ナトリウムにて残留オゾンを消去した後、対象物質の濃度をLC/MSあるいはGC/MSにて測定した。加えて、これらの浄水処理性情報と地理情報を組み合わせることにより、PTPWsの浄水処理性マップの作成を試みた。

4. 結果及び考察

(1) 農薬加水分解物の変異原性物質生成能(MFP)測定と生成する変異原の探索

12,269報の論文タイトル、5,791報のアブストラクト、178報の論文、179報の農薬抄録・農薬評価書および2冊の書籍に基づき、159農薬の683種類のPTPWsをリスト化して公表した。以上の文献研究は、サブテーマ2および3と共に実施した。作成したリストに基づき、目標を大幅に上回る23種類の農薬、63種類のPTPWsについて、塩素処理された際の変異原性である変異原性物質生成能(Mutagen Formation Potential: MFP)などを測定した。

113 runの塩素要求量試験、384 runの塩素処理実験、44 runのAmes変異原性試験を行い、562サンプルの832,953個の復帰コロニーを計数して解析したところ、63種類のPTPWsのうち61種類が変異原性陰性であり、そのうち35種類がMFP陽性であることなどが明らかになった。このことから、PTPWsの中には、塩素処理されると変異原性物質を生成する物質があることが明らかになった。

さらに、2011農薬年度における生産・出荷量が最大であった土壤燻蒸剤D-Dの有効成分の1つである(*E*-1,3-dichloropropeneを塩素処理した際に生成する変異原性物質を探索した。その結果、160,000 net revertant/ μmol の比活性を有する変異原性物質を発見・同定した。実河川水中でD-Dを塩素処理した際に当該変異原性物質が生成することを確認し、目標を達成した。発見・同定された変異原性物質の比活性は、変異原性試験の陽性対照物質として用いられる4-nitroquinoline 1-oxideの比活性の約1/10と強変異原であった。

以上のように、多くの農薬・PTPWsの変異原性は陰性だがMFPは陽性であることを明らかにし、農薬を塩素処理した際に生成する変異原性物質を同定した。

(2) 農薬加水分解物の河川水中濃度モニタリング

研究期間を通じて対象物質の拡充を図り、最終的に親農薬37物質とそのPTPWsの63物質について、河川水試料に共通の固相抽出と窒素バージ濃縮を施した後にGC/MSあるいはLC/MS/MSで一斉分析を行うための分析法データベースを構築した。この方法を用いて、目標を大幅に上回る42地点311試料について、水道水源の広域モニタリング調査、農耕地近傍の農耕期前後での集中モニタリング調査、および一般環境測定点での調査を実施した結果、親農薬の消失に伴い環境変化体が出現する様子が明らかになった。また、図2に示すように、農耕地および水道水源や一般環境測定点においても、親農薬に比べPTPWsが高濃度に検出されるケースがかなりの割合で観測された。これらの結果より、環境中に排出された農薬には、光分解や加水分解あるいは生分解によってPTPWsに変化し、河川水中に一定期間残留するものがあり、むしろ、親農薬に比べてPTPWsの方が高頻度・高濃度に検出されうる実態が明らかになったことから、新たな環境汚染物質としてのPTPWsの重要性を裏付けるデータが示された。

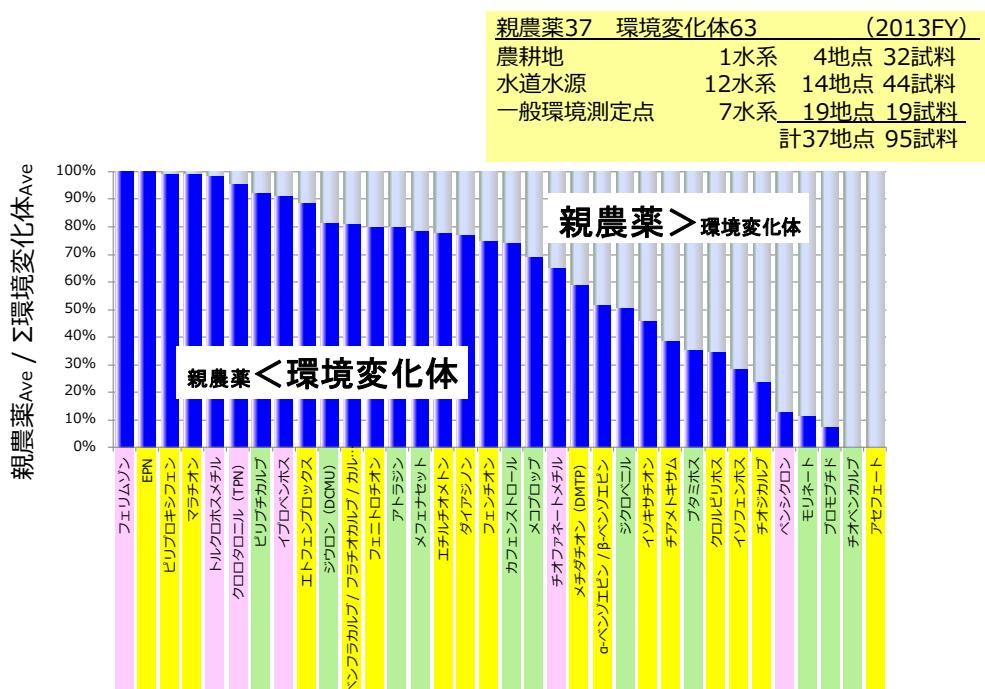


図2 河川水中における親農薬とその環境変化体の濃度比の調査結果

(3) 農薬加水分解物の浄水処理性の評価

凝集沈殿処理では、農薬原体であるetophenproxが6~8割程度除去された以外は、調べたいずれのPTPWsも農薬原体もほぼ全量が残存した。すなわち、凝集-沈殿-急速砂ろ過からなる通常の浄水処理では、一部の農薬原体は除去できる可能性はあるものの、対象としたいずれのPTPWsも除去できないと判断された。etophenproxはlog Kowが7程度と極めて疎水的であることが凝集沈殿処理での除去につながったと判断された。農薬原体に比べ、PTPWsはlog Kowが小さくなる傾向(すなわちより親水的)にあったため、環境中での分解により、農薬はより凝集沈殿処理で除去しにくい方向へと進むと想像された。活性炭吸着処理では、調べた多くの物質が除去可能であったが、いくつかの物質(dimethyl phosphate, trimethyl phosphate, D-(−)-tartaric diethyl ester)は全く除去されなかった。活性炭吸着処理での除去率とlog Kowの間には相関が見られ、log Kowの値が

大きい物質ほど(すなわち疎水性の高い物質ほど)、処理後の残存率が低い傾向が観察された。前述のとおり、農薬原体に比べ、PTPWsは $\log K_{ow}$ が小さくなる傾向にあるため、環境中での分解により、農薬はより活性炭吸着処理でも除去しにくい方向へと進むと想像された。オゾン処理では、対象とした物質のほとんどがオゾンとの反応に伴いその残存率が低下したが、殺菌剤TPNとその分解物である1,3-dicyanobenzeneは、20 minのオゾン処理により残存率が低下しなかった。オゾンによる分解と各物質のHOMOのエネルギー準位との間には相関が見られ、HOMOのエネルギー準位が高いほど、オゾンにより分解されやすい傾向にあることが分かった。また、PTPWsは親農薬よりHOMOのエネルギー準位が低くなる傾向にあり、それに伴いオゾン処理での除去率が小さくなる(=残存率が大きくなる)傾向にあることが示された。以上のように、PTPWsの浄水処理性を示したが、凝集沈澱処理と活性炭吸着処理では、対象物質が物理的に「除去」されるため、これらの処理法における「残存率の低下」は、そのまま「塩素処理後に発現する変異原性の低減」を意味することになる。これに対し、オゾン処理は質変換を伴う「分解」処理であるため、単純に「変異原性の低減」につながるわけではないことに注意が必要である。したがって、オゾン処理による生成物の変異原性物質生成能を詳細に調べる必要がある。殺虫剤fenitrothionの分解物である3M4NPのオゾン処理後の変異原性物質生成能を調べたところ、塩素処理後に3M4NPは高い変異原性を示すが、塩素処理前にオゾン処理を行うことにより、塩素処理後の変異原性を低減することが可能であることが示された。また、これらの情報を地理情報と統合することにより、3M4NPの浄水処理性マップを作成し、3M4NPが生成されても浄水処理で除去可能である流域を札幌市にて特定した。最後に、サブテーマ1にて調べられた変異原性物質生成能と、本サブテーマにて調べた浄水処理性を比較すると、変異原性物質生成能の高いいずれの物質も、凝集沈澱では除去されないが、活性炭吸着処理では除去可能であることが分かった。また、活性炭吸着処理で除去率の低いいずれの物質も、変異原性物質生成能が小さいことが分かった。すなわち、本研究で対象としたPTPWsには(あるいは農薬原体にも)、「変異原性物質生成能が高いにも関わらず浄水処理で除去できない物質」は含まれていないことが示された。

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

農薬をはじめとする化学物質の環境リスク評価を行う際に、その変化体までを含めたリスクを対象にすることは、環境リスク評価の研究分野において最もホットな話題のひとつであり、基本的な評価の考え方やツールの開発が検討課題に挙がっている。その中でも、人や環境生物への環境暴露量を評価する際に最も重要なのが環境モニタリングデータであるが、変化体の生成(どのような物質をモニタリング対象とすべきか)・環境挙動・浄水処理性に関する学術的情報は極めて少ないので現状である。また、そもそも膨大な数に及ぶ化学物質の暴露がないことの環境モニタリングデータを継続的に入手し監視していく必要があるため、効率的な同時一斉分析手法が不可欠な技術になる。

そのような科学的・社会的ニーズに基づき、サブテーマ1では、農薬からどのような変化体が生成し得るのかを検討した。同時に、未同定の変化体が多く存在する可能性を指摘した。また、農薬や環境変化体が浄水処理場で塩素処理を受けた際に、毒性の一種である変異原性を発現し得ることを示し、そのような物質が水道水中に存在するか否かを調査すること、その物質の発がん性を評価することの必要性を示した。同時に、親農薬より変化体の方が変異原性物質生成能(Mutagen Formation Potential: MFP)の比活性が高い物質が存在することを示した。一般的に、農薬は環境水中で速やかに分解して毒性が低減すると考えられているが、エンドポイントをMFPにした場合、毒性が上昇する物質が存在することが示された。さらに、モデル農薬として検討したD-D((E)-1,3-dichloropropene)の塩素処理サンプルから強変異原性物質である1,3-dichloroacetoneが生成することを見いだした。

サブテーマ2では、水試料に共通の前処理法を用いるGC/MSおよびLC/MS/MS一斉分析手法を構築し、多岐に亘る親農薬とその環境変化体の同時分析を可能にした。また、この技術を用いて、水道水源近傍や農耕地近傍および一般環境測定点における実態調査を実施して、親農薬の消失に伴うその環境変化体の検出挙動を明らかにし、親農薬に比べその環境変化体が高頻度・高濃度に検出される実態を示した。これらの成果は、環境中へ排出された後に光分解や加水分解、生分解などを受け、変化体となって環境中に残留している化学物質が決して少なくない事実を明らかにしており、環境リスクの評価と制御に関する研究領域においてさらなる学術的興味を呼び起こすものである。

サブテーマ3では、広く用いられる凝集－沈澱－砂ろ過処理のみならず、活性炭吸着処理、オゾン処理などの高度処理を含めて、環境変化体の広範な処理性の評価を行った。また、それらの情報を基に変異原Xの浄水処理性マップを作成した。対象とした環境変化体は塩素処理後に変異原性が発現すると報告されており、浄水処理工程での処理性について詳しく調べることは極めて重要である。また、一部の環境変化体については、水道水質基準の中での監視が求められていることからも、環境変化体の処理性の把握についての社会的ニーズは大きい。農薬原体の浄水処理性については国内外を問わず数多くの報告があるが、環境変化体の処理性を調べた

報告はこれまでにほとんど存在しない。したがって、本研究に環境変化体の浄水処理性を広範に明らかとしたことには、高い学術的意義があると考えられる。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

横浜市環境創造局においては、本報で明らかにした一斉分析法を市内各所の河川水の濃度スクリーニング手法の一つと位置づけ、特定化学物質の環境中への排出量の把握等および管理の改善の促進に関する法律(化管法)の対象物質や化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律(化審法)の旧第三種監視化学物質(水生生物に毒性を有する物質)に適用し、市内全域のきめ細かな濃度スクリーニングに活用している。また、事業者における自主的取組への支援対策として事業所排水の濃度スクリーニングへの適用を仲介している。

<行政が活用することが見込まれる成果>

農薬取締法第3条第1項において、農薬の使用による水質汚濁が原因となり、人畜に被害が生ずるおそれがあるときは、環境大臣は当該農薬の登録を保留することとなっている。同法では、環境経由の農薬の悪影響を律しているため、本研究の成果が検討されることが期待される。

また、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律(化審法)の優先評価化学物質や、特定化学物質の環境中への排出量の把握等および管理の改善の促進に関する法律(化管法)の特定化学物質については、法の定めあるいは自主的取組による環境リスク評価の実施が求められている。この中で、環境中での分解を含めたリスク評価や多数の物質のモニタリング手法およびモニタリングデータの整備が不可欠となっており、一斉分析に着目した本研究の成果が検討されることが期待される。サブテーマ2を担当する亀屋隆志が経済産業省の化学物質審議会安全対策部会の委員、環境省の化審法審査支援検討会などの委員として、同法における環境リスク評価手法の検討に参画し、施策立案に貢献している。

さらに、今後の水道水質基準の改定に際し、環境変化体の安全性評価が行われる可能性があり、その際には浄水処理性が重要な検討事項になる可能性がある。本研究により環境水中から検出された農薬変化体に変異原性物質生成能が認められ、さらに浄水場で除去困難な物質が存在した場合、その塩素処理副生物のADIを求める必要が示されることになる。

6. 研究成果の主な発表状況

(1) 主な誌上発表

<査読付き論文>

- 1) H. TAKANASHI, K. ABIRU, H. TANAKA, M. KISHIDA, T. NAKAJIMA, A. OHKI, T. KONDO, T. KAMEYA and T. MATSUSHITA: J. Wat. and Environ. Technol., 10(4), 437-447 (2012)
"Production of Chloro-5-Hydroxy-2-Nitrobenzoic Acid through Chlorination of 3-Methyl-4-Nitrophenol, a Typical Hydrolysate of Fenitrothion"
- 2) T. KAMEYA, M. SAITO, T. KONDO, W. TORIUMI, K. FUJIE, T. MATSUSHITA and H. TAKANASHI: J. Wat. and Environ. Technol., 10(4), p. 427-436 (2012)
"Detection of Fenitrothion and its Degradate 3-methyl-4-nitrophenol in Water Environment"
- 3) T. KONDO, M. SAITO, T. KAMEYA, K. FUJIE, T. MATSUSHITA and H. TAKANASHI: J. Wat. and Environ. Technol., 10(4), p. 409-417 (2012)
"Simultaneous Analytical Method for both Pesticides and Their Transformation Products in Water Environment Using GC-MS and LC-MS/MS"
- 4) H. TAKANASHI, M. KISHIDA, K. ABIRU, T. KONDO, T. KAMEYA, T. MATSUSHITA, T. NAKAJIMA and A. OHKI: J. Wat. Supply: Res. and Technol. - Aqua, 62(1), 14-22 (2013)
"A screening Study on the Mutagen Formation Potential of 44 Pesticides"
- 5) 高梨啓和、浜崎賢太、加藤雄介、中島常憲、大木 章、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓:水環境学会誌、36(2), 29-38 (2013)
「水環境中で生成する農薬変化体の文献研究」
- 6) H. TAKANASHI, T. HAMA, T. NAKAJIMA, A. OHKI, T. KONDO, T. KAMEYA and T. MATSUSHITA: J. Water and Environment Technology, 12(1) (2014)
"A screening study of mutagen formation potential (MFP) of pesticide transformation products in water environments (PTPWs) to investigate the MFP changes from their parent pesticides through transformations"
- 7) T. KONDO, S. MIHO, M. SAITO, T. KAMEYA, K. Fujie, T. MATSUSHITA, H. TAKANASHI: J. Water

and Environment Technology (in press)

“Addressing matrix effects in pesticides and their transformation product analysis using LC-positive-electrospray-MS/MS”

(2) 主な口頭発表(学会等)

- 1) H. TAKANASHI, T. HAMA, T. NAKAJIMA, A. OHKI, T. KONDO, T. KAMEYA and T. MATSUSHITA: Proc. the Water and Environment Technology Conference 2013 (2013)
“A screening study of mutagen formation potential (MFP) of pesticide transformation products in water environments (PTPWs) to investigate the MFP changes from their parent pesticides through transformations”
- 2) T. KONDO, S. MIHO, T. KAMEYA, K. FUJIE, T. MATSUSHITA, H. TAKANASHI: Proc. the Water and Environment Technology Conference 2013 (2013)
“Addressing matrix effects in analysis for pesticides and their transformation products using a LC-positive-electrospray-MS/MS”
- 3) H. TAKANASHI, M. Hama, M. Nishiyama, K. Abiru, M. Kishida, T. Nakajima, A. Ohki, T. Ueda, T. Kondo, T. Kameya and T. Matsushita: Proc. The 5th IWA-ASPIRE Conference & Exhibition (2013)
“Exploring Photodegradation Products of Organophosphorus Pesticide Fenitrothion by LC/MS”
- 4) T. Kameya, T. Kondo, T. Kobayashi, K. Fujie, T. Kondo, H. TAKANASHI and T. Matsushita: Proc. The 5th IWA-ASPIRE Conference & Exhibition (2013)
“Monitoring of pesticides degradation products in water environment”
ほか、日本語による口頭発表55件、英語による口頭発表・ポスター発表12件、優秀発表賞6件、優秀研究賞1件、シンポジウム開催2回、国民との科学・技術対話イベント開催12回

7. 研究者略歴

課題代表者: 高梨 啓和

横浜国立大学工学部卒業、博士(工学)、現在、鹿児島大学准教授

研究分担者

- 1) 亀屋 隆志
横浜国立大学工学部卒業、博士(工学)、現在、横浜国立大学准教授
- 2) 松下 拓
京都大学工学部卒業、博士(工学)、現在、北海道大学准教授

**5B-1104 農薬取締法における水質汚濁に係る農薬の登録保留基準見直しのための
根拠データの取得**

(1) 農薬加水分解物の変異原性物質生成能 (MFP) 測定と生成する変異原の探索

鹿児島大学

大学院理工学研究科化学生命・化学工学専攻 環境化学研究室 高梨 啓和・中島 常憲

平成23～25年度累計予算額：84,991千円

(うち、平成25年度予算額：31,106千円)

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

農薬は、環境中で速やかに分解されて環境中から検出されないことが望ましいとされ、分解性が高い農薬が開発されてきた。しかし、ここでいう分解は一次分解であり、完全分解ではない場合がある。結果として、水中での加水分解物やフォトプロダクトなどの環境変化体（Pesticide Transformation Products in Water environments、PTPWs）が残存するが、どのようなPTPWsが生成し得るのかのまとまった情報が得られず、研究の妨げとなっている。また、PTPWsは浄水場で塩素処理される場合があるが、塩素処理副生物についての安全性試験はほとんど実施されていない。

そこで本研究では、12,269報の論文タイトル、5,791報のアブストラクト、178報の論文、179報の農薬抄録・農薬評価書、2冊の書籍に基づき、159農薬の683種類のPTPWsをリスト化して公表した。作成したリストに基づき、23種類の農薬、63種類のPTPWsについて、塩素処理された際の変異原性である変異原性物質生成能（Mutagen Formation Potential: MFP）などを測定した。113 runの塩素要求量試験、384 runの塩素処理実験、44 runのAmes変異原性試験を行い、562サンプルの832,953個の復帰コロニーを計数して解析したところ、63種類のPTPWsのうち61種類が変異原性陰性であり、そのうち35種類のMFPが陽性であることなどが明らかになった。このことから、農薬やPTPWsの中には、塩素処理されると変異原性物質を生成する物質があることが明らかになった。

さらに、2011農薬年度における生産・出荷量が最大であった土壤燻蒸剤D-Dの有効成分の1つである(*E*)-1,3-dichloropropeneを塩素処理した際に生成する変異原性物質を探査した。その結果、160,000 net revertant/ μ molの比活性を有する変異原性物質を発見・同定した。この比活性は、変異原性試験の陽性対照物質として用いられる4-nitroquinoline 1-oxideの比活性の約1/10であった。

以上のように、多くの農薬・PTPWsの変異原性は陰性だがMFPは陽性であることを明らかにし、農薬を塩素処理した際に生成する変異原性物質を同定した。

[キーワード]

農薬、環境変化体、塩素処理副生成物、変異原性、高分解能・高質量精度LC/MS

1. はじめに

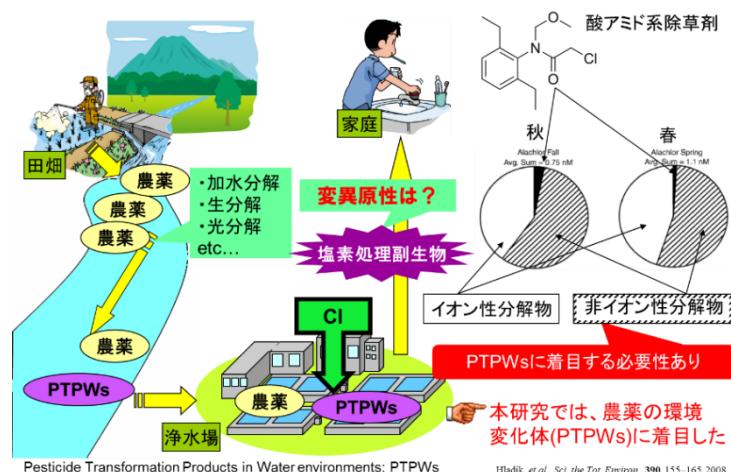
様々な化学物質のうち農薬は、環境中に意図的に散布されるという意味において、他の化学物質と比較して安全性評価・管理の重要性が異なると言つてよい。農薬は、環境中で速やかに分解

されて環境中から検出されないことが望ましいとされ、分解性が高い農薬が開発されてきた。しかし、ここでいう分解性は一次分解であり、完全分解ではない場合がある。結果として、水中での加水分解物やフォトプロダクトなどの環境変化体（Pesticide Transformation Products in Water environments, PTPWs）が残存する。植物による主要な代謝物、主要な加水分解物などの農薬分解生成物のうち同定できた物質については、安全性試験が実施されているが、それ以外の物質についての安全性試験は実施されていないのが一般的である。とくに、PTPWsが浄水場で塩素処理された際に副生する物質についての安全性試験は検討例がほとんどない。図(1)-1に示すように、PTPWsが河川などを通じて水道原水として循環する可能性があることを考えると、健全な水循環システムを構築するためには、水道原水の水質に重大な悪影響を及ぼさないように、農業排水中に含まれる化学物質の使用を適正化する必要がある。したがって、農薬取締法において、農薬のライフサイクルを通じた安全性評価体制を構築することは、健全な水循環システムの構築に貢献できると考えられる。

日本は、他国と比較して集約型農業を実施しており、農薬が水環境に与える影響は大きいと考えられる。このため、日本で使用されている農薬やそのPTPWsが前駆体となり、それらが塩素処理されると変異原性物質（毒性物質の一種）が生成することを明らかにすることは重要である。

2. 研究開発目的

本研究では、農薬やPTPWsが前駆体となり、それらが塩素処理されると変異原性物質を生成することを証明する。これにより、農薬取締法における水質汚濁に係る農薬の登録保留基準を改訂して、浄水場で塩素処理されても変異原性物質を生成しない農薬に限定して、農薬の登録を行うための初期根拠データを提示する。すなわち、文献研究によりPTPWsを同定している研究を探索し、PTPWsをリスト化する。リストに基づき、30物質を目標にPTPWsを塩素処理する前後での変異原性の測定を行い、塩素処理により変異原性を発現するPTPWsの割合を明らかにする。さらに、土壤燻蒸剤D-Dを例として、農薬が塩素処理された場合に生成する変異原性物質を同定する。これらにより、多くのPTPWsが浄水場で塩素処理されることによって変異原性物質を生成する可能性を示すとともに、一部の物質を例にして、生成する変異原性物質の化学構造を明らかにすることを目指す。



図(1)-1 農薬の環境変化体からの変異原性物質生成の可能性

3. 研究開発方法

(1) 農薬加水分解物の変異原性物質生成能（MFP）の測定

1) 農薬の環境変化体の文献研究

PTPWsの変異原性物質生成能（Mutagen Formation Potential: MFP）を測定するにあたり、PTPWsのまとめた情報を検索したが得ることができなかった。そこで、サブテーマ2におけるモニタリング地域である神奈川県において出荷量が上位30位までの農薬を対象としてPTPWsの文献研究を行った。また、著者らが農薬のMFPを測定した結果、MFPが500 net rev./mg以上であった2種類の農薬も対象とした。文献検索は、独立行政法人科学技術振興機構（JST）が運営する文献情報データベースであるJ-Dream II、Elsevier社が運営するScienceDirect、Thomson Reuters社が運営するWeb of Scienceを用いて文献検索を行った。本研究では、水中での分解反応を加水分解反応および光分解反応に限定し、PTPWsを質量分析計またはNMRで同定した文献を検索した。以上の文献の検索は、サブテーマ2およびサブテーマ3と共同で実施した。また、代表的な書籍としてTransformation Products of Synthetic Chemicals in the Environment¹⁾およびMetabolic Maps²⁾を検索した。

以上の文献検索および書籍検索の結果ヒットした文献および書籍にPTPWsの同定結果が記載されている場合には、根拠Aに基づくPTPWsとしてまとめた。PTPWsの同定結果が記載されていないが、PTPWsの化学物質名や構造情報などが記載されている場合が多く認められたため、文献の玄孫引きまで実施して同定結果を確認した。また、玄孫引きまで実施してもPTPWsの同定根拠を確認できなかつたが、水環境中のモニタリングなどが実施されている場合には、根拠Bに基づくPTPWsとしてまとめた。

2) 変異原性および変異原性物質生成能の測定

作成したPTPWsのリストに基づき、変異原性およびMFPを測定した。変異原性は、成書³⁾に従い、Ames試験により測定した。Ames試験は、サルモネラ菌TA100株を用いて代謝活性化剤を添加せずに行った。MFPは、文献⁴⁾にしたがって測定した。すべての実験は2名の実験者で3回以上繰り返して実験を実施し、再現性を確認した。

3-methyl-4-nitrophenolおよび3-methylphenolは東京化成工業（株）の試薬1級を、3,4-dichloroaniline（純度98%）、4-chlorobenzyl alcohol（純度99%）、4-chlorobenzoic acid（純度99%）、2-hydroxybenzyl alcohol（純度99%）、3-hydroxybenzyl alcohol（純度99%）、3-*tert*-butylphenol（純度98%）、2-aminothiophenol（純度95%）、monuron（純度95%）、2(3H)-benzothiazolone（純度98%）、2-methylbenzoic acid（純度98%）、3-phenoxybenzoic acid（純度98%）および2-(4-ethoxyphenyl)-2-methyl-1-propanol（純度98%）は東京化成工業（株）より市販されている試薬を、isoxathion、furathiocarb、bensulfuron methyl、isoxathion oxon、EPN oxon、bromobutide-debromo、dinotefuran、butamifos、carbosulfan、bromobutide、cafentrole、methyl dymron、dimuron、tolclofos-methyl oxon、fenthion-oxon-sulfone、benfuracarb、ethylenethiourea、cafentrole-descarbamoyl、3-hydroxycarbofuran、DMTP oxon、thiophanate methyl、pyriproxyfen、pencycron、methamidophos、fenthion-sulfoxide、fenthion-sulfone、fenthion-oxon-sulfoxide、fenthion-oxon、fenitrooxon、disulfotonoxon、malaoxon、diazoxon、carbendazimおよび2-aminobenzimidazoleは和光純薬工業（株）の残留農薬試験用試薬を、EPN、carbofuran、tolclofos-methyl、pendimethalin、etofenprox、pyributicarbおよびisoprothiolaneは和光純薬工業（株）のTraceSureを、sulfanilamideおよびN-methylbenzenamineは和光純薬工業（株）の試薬特級を、*p*-cresol

は和光純薬工業（株）の水質試験用を、*o*-methylacetophenone（純度97.0%）、4-chlorobenzaldehyde（純度98%）、4-phenoxyphenol（純度99%）、4-nitrophenol（純度99%）、3-methyl-4-(methylthio)phenol（純度97%）、2-hydroxybenzonitrile（純度98%）、phenylurea（純度98%）、trimethyl phosphate、diethyl fumarate、diethyl maleateおよびD-diethyl tartrateは和光純薬工業（株）より市販されている試薬を、polycarbamateおよびTPNは関東化学（株）の残留農薬試験用試薬を、benzyl alcohol（純度99%）およびbenzaldehyde（純度98%）はナカライトスクより市販されている試薬を、desethylatrazine（純度99.5%）、desisopropylatrazine（純度97.5%）、isophthalonitrile（純度98%）、2-isopropyl-6-methyl-pyrimidine-4-ol（純度99%）、1-(3,4-dichlorophenyl)-3-methylurea、1-(3,4-dichlorophenyl)-3-formyl-3-methylurea、3-(3-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea、3-methyl-4-nitroanisolおよびL-diethyl tartrateはシグマアルドリッヂャパン（株）より市販されている試薬を、glyphosate（純度97%）はDr.Ehrenstorfer GmbHより市販されている試薬を、AMPA((aminomethyl) phosphonic acid)はMP Biomedicals, Inc.より市販されている試薬を、disulfoton-sulfoxide（純度99%）はコスモ・バイオ（株）より市販されている試薬を、phosphoric acid diethyl ester（純度75%）およびdimethyl phosphate（純度98%）はACROS ORGANICSのブランド名でThermo Fisher Scientific Inc.より市販されている試薬をそれぞれ用いた。

（2）生成する変異原の探索

モデル農薬として土壤燻蒸剤D-Dの主要成分である(*E*)-1,3-dichloropropene (CASRN: 10061-02-6、DCP)を用いた。DCP（純度96%以上）、1,1-dichroloacetone (1,1-DCA、純度95%以上)、1,3-dichroloacetone (1,3-DCA、純度97%以上)、3-chloropropyl chloride (3-CPC、純度98%以上)は東京化成工業(株)より市販されているものを試験に用いた。3-chloroallyl alcohol (3CAA)は、DCPを純水に溶解させ、25°C、遮光下で29日間攪拌することで取得した。この際のDCPの分解率は、SPME法を用いてGC/QMSで測定された。

これらの物質のMFPの測定は、pH7.00の0.1 Mリン酸緩衝液中で塩素処理することによって行った。また、塩素処理されたサンプルは、LC/MSおよびGC/MSによる分析用に濃縮が行われた。この際、予備実験によりMFPが最も高くなる塩素添加量を求めておき、その塩素添加量にて分析用サンプルの作成が行われた。DCP塩素処理サンプルなどの定性分析は、Thermo Fisher Scientific Co. Ltd.より市販されているAPI-linear ion trap-Kingdon trap質量分析計と島津製作所（株）より市販されているUPLCを組み合わせたLC/MSを用いて行った。測定に先立ち、2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH)を用いてアナライトを誘導体化した。誘導体化物の合成確認および純度検定は、¹H-NMRを用いて行った。イオン化は、ESIおよびAPCIを用いてネガティブイオンモード、ポジティブイオンモードにて行った。LCによる分離は、ODSカラムを用いた逆相分離モードとシリカゲルカラムを用いた順相分離モードの両方を検討した。構造解析は、衝突誘起解離（Collision Induced Dissociation: CID）により行った。

1,3-DCAが実河川水中においても生成することを確認した。2013年12月3日に鹿児島県を流れる甲突川から採取した実河川を、採取後直ちにNo.5Cのろ紙でろ過した。その際、ろ紙は純水を用いて予め十分に洗浄した。ろ過した実河川水を用いてpH7.00の0.5 Mリン酸緩衝液を調整し、DCPを添加して塩素処理を行った。

4. 結果及び考察

(1) 農薬加水分解物の変異原性物質生成能（MFP）の測定

1) 農薬の環境変化体の文献研究

根拠Aに基づくPTPWsを表(1)-1に示す。農薬によっては、インドキサカルブのようにラセミ体や複数の物質の混合物をまとめた評価書が公開されている場合がある。そのような場合には、食品安全委員会から所轄大臣に答申される際の農薬の名称を英訳して表(1)-1に示した。農薬抄録・農薬評価書は2011年6月23日時点で179種類の農薬が公開されていた。無機物、ヨウ化エチル、臭化メチル、マシン油およびピネンを除いた全国出荷量上位10種類の中で農薬評価書が公開されていたのはブタミホスおよびエスプロカルブの2種類であった。農薬評価書が公開されている農薬の使用量順位の分布に偏りがあるか否かを検討するために、平成17農薬年度における458農薬の全国使用量の順位について、農薬評価書公開の有無と順位についてMann-Whitney検定をおこなった結果、 $P=0.00138$ となった。そこで、使用量の順位1～100位、101～200位、201～300位、301～400位、401～458位における農薬評価書が公開されていた農薬数を計数したところ、それぞれ27、27、19、18および4種類となった。すなわち、本研究において解析した農薬に関しては、比較的使用量が多い農薬の農薬評価書が公開されていると判断できる。

農薬評価書が公開されている農薬のうち、水中運命試験の結果が記載されていない農薬が5種類、水中運命試験は実施されているが分解物が表記されていない農薬が17種類、分解物が生じないとされている農薬が7種類あり、PTPWsの情報が報告されていたのは150種類の農薬であった。これらのうち、分解生成物がCO₂のみのような農薬5種類を除き、145種類の農薬について610種類のPTPWsを表(1)-1に示した。

根拠BおよびCに関する文献検索の結果、12,269報の論文がヒットした。ヒットしたすべての論文タイトルを調査し、水環境中で起こることが演繹的に推定できない人工的あるいは生物的な触媒を必要とする反応、系外から酸化剤などの反応試薬・反応基質を添加している反応を議論していると判断された論文を除き、5,791報の論文アブストラクトを取得した。除外された論文の多くは、光触媒分解やマウスなどの生物による代謝を議論している論文であった。

得られた5,791報の論文アブストラクトおよび下記の105報の論文を調査した結果、PTPWsを同定している論文22報を発見し、入手・調査した。この22報の論文に基づき、根拠BのPTPWsを取りまとめた。また、2冊の書籍より根拠Bの論文2報、根拠Cの論文2報を発見し、PTPWsを取りまとめた。なお、質量分析計を用いてPTPWsを同定している文献として採用したのは、分離カラムにおけるリテンションタイムが標準物質と一致し、かつEIやCIDによるフラグメントーションパターンが標準物質と一致していることを確認している文献に限定した。以上のように調査した根拠Bに基づくPTPWsを取りまとめ、表(1)-2に示す。

前述の5,791報のアブストラクトに基づき、環境水中濃度モニタリングなど、PTPWsの定量分析を行っていると推測された73報の論文を入手した。その73報の論文を調査し、記載されていたPTPWsがPTPWsであることの根拠論文を玄孫引きまで調査し、105報の論文を入手した。その105報の論文を調査した結果、PTPWsの同定結果を確認できなかった論文が73報中12報あった。この12報の論文に基づいて根拠Cに基づくPTPWsを取りまとめ、表(1)-3に示す。

根拠Bに基づくPTPWsについては、調査した32種類の農薬のうち10種類の農薬について51種類のPTPWsが同定されていた。根拠Cに基づくPTPWについては、根拠BのPTPWsとの重複を除いて、

表(1)-1 根拠Aに基づく農薬環境変化体の調査結果

Pesticide	CAS RN	PTPW (CAS RN)
1-naphthaleneacetic acid	61-31-4	1-naphthaleneacetic acid (68-99-3) 1-naphthoic acid (86-55-5)
acephate	30560-19-1	1-methylhydroxy acetylphosphorodithioate (42576-53-4) S-methyl hydrogen acetylphosphorodithioate (66194-74-7)
acequofol	57904-97-7	5-(alpha,beta-dihydroxy-4-oxo-4-phenyl-1,2-dihydrofuran-3-yl)-N-(alpha,beta-dihydroxy-4-oxo-4-phenyl-1,2-dihydrofuran-3-yl)phthalimide (57904-13-3)
acetamiprid	135410-20-7	3,2-dihydrofuran-1,4-dione-2-phenyl-acetone (-) N-(alpha,beta-dihydroxy-4-oxo-4-phenyl-1,2-dihydrofuran-3-yl)-N-(alpha,beta-dihydroxy-4-oxo-4-phenyl-1,2-dihydrofuran-3-yl)acetamide (584628-19-3)
azumuluron	348635-87-0	N'-[6-(2-hydroxy-3-methoxy-1,2,4-triazole-3-yl)-3-methoxy-5-en-5-yl]methylacetamide (-) 3-amino-6-fluoro-2-methyl-4-thiouracil (151010-03-6)
benfuralin	1861-40-1	2-acetylaminooxy-4-thiouracil (60993-05-1) 2-acetylamino-1-hydroxydeoxybenzoic acid (-) 1,4-dihydro-1,2,4-triazole-3-sulfonic acid (111816-60-0)
benfurates	68505-69-1	1,4-dihydro-1,2,4-triazole-3-sulfonic acid (1789-27-0) formic acid (64-18-6)
benulfuron methyl	83055-99-6	methyli[[ammonium]oxy-4-phenyl-1,2-dihydro-1,4-dioxane-2-oxide] (1188355-09-7)
benzoyl-ccb	156963-66-5	3-[2-(2-hydroxy-3-methoxy-1,2,4-triazole-3-yl)-3-methoxy-4-oxo-4-phenyl] glycolate (-)
bifenazate	149877-41-8	1-hydroxy-2-methyl-4-trifluoromethyl-1H-benzimidazole (42191-71-9) acetic acid (64-19-7) 4-(4-methoxy-2-pyridinyl)pyrimidine (36315-01-2)
bifenthrin	82657-04-3	isopropyl(4-methoxyphenyl)-3-vinylbenzofuran-2-oxole (109876-84-0) 3,4-dihydro-2-phenyl-2,3-dihydro-1-propenyl-2,2-dimethyl-3-phenylpropenoate <i>cis/trans</i> -3,2-etheno-3,3-dihydro-1-propenyl-2,2-dimethyl-3-phenylpropenoate 2-methyl-3-phenylbenzoic acid (11536-11-6)
bonmethide	74712-19-9	N-(tri-methylbenzyl)-3,5-dimethyl-1-hydroxylurea (-)
borotetran	6957-76-0	1-tert-butyl-3-isopropyl-5-phenoxybutene (10784-83-3)
butanilites	3635-67-8	2-tert-butylamino-5-(4-hydroxy-1,3,5-thiadiazine-4-one-4-oxide (-)) 6-tert-butylamino-2,5-dihydro-2-pyran-2-one (-)
cadinole	95406-99-8	O-ethyl-2-methylbenzylbenzoate (53250-83-2)
carbamid	12356-83-4	3,2,6-trimethyl-1,2,4-triazole (14959-19-8)
chlorfenprop	104070-54-8	carbonic sulfide (1775-76-9)
chlorfenprop- <i>ipm</i>	50008-45-7	2,4,5-trihydroxy-3,3-methyl-chloronanecarbonilium-5-carbonate acid (126647-06-9)
chlorfenprop- <i>ipm</i>	1471-30-35-4	2,3-bromo-1,4-hydroxy-2-phenyl-1H-pyrazol-5-yl-carboxylic acid (-) 2,3-bromo-1,4-hydroxy-2-phenyl-1H-pyrazol-5-yl-carbonate (-)
chlorfenprop- <i>ipm</i>	123453-75-0	2-bromo-4-(4-phenyl-1,2-dihydro-1,4-dioxane-2-oxo-4-phenyl)-2-carbonate (-)
chlorfenprop- <i>ipm</i>	84496-56-0	3,5-dichloro-2,4-dihydro-2-pyridylphosphonobutrate (6661-96-6)
chlorproprinos	2921-88-2	O,O-dibutyl-O-(5-chloro-3,4-dioxo-5,6,7,8-tetrahydro-1,3-dioxo-2-phenylcyclooct-2-enyl)-O-phenylphosphonate (54276-23-1)
cindon-ethyl	14280-20-1	(Z)-2-chloro-5-(2-chloro-5-(2-hydroxycarbonyl)cyclohex-1-yl)-carbonylaminophenylacrylic acid ethyl ester (118744-19-8) (Z)-2-chloro-5-(2-chloro-5-(2-hydroxycarbonyl)cyclohex-1-yl)-carbonylaminophenylacrylic acid ethyl ester (118744-19-8)
clenazulim-methyl	1471-30-35-4	cyclohex-1,2-dicarboxylic anhydride (226-02-0) 3-[12-(2-hydroxy-6-methoxycarbonylphenyl)-sulfonyl]-1-ethoxyimmonium-1H-1,2,4-triazol-5-ylacetate (-)
c-kethenidin	210886-02-5	4-tert-butyl-5-phenyl-1,2,4-triazole-3-carboxylic acid (-)
cyanofunki	120116-88-3	N-(2-tert-butyl-5-hydroxy-5-methyl-1,2,4-triazole-3-carboxylic acid) (65239-91-9)
cyanopyridien	560121-52-0	5-hydroxy-5-p-phenyl-2-oxo-2-oxazoline (-) (Z)-2-(4-tert-butylphenyl)-3-hydroxy-5-(3,4-dimethylphenyl)-2-oxo-2-oxazoline (-)
cydromazine	66215-27-8	5-(4S,5S)-1-tert-butyl-5-cyano-3-hydroxy-1,5-bis(methyl-4S,5S)-methylenecyclopentane (-)
dkkeynet	139920-32-4	6-cyclopropylamine-1,3-triazen-2-yl-carbonyl-5-carbonitrile (-)
dinehtanid	189409-60-3	1,3,4-trimethylbenzo-5-carboxylic acid (111294-67-2)
cylindrom	408832-07-7	(E)-N-(tert-cyclohexylmethyl)-2,3-dihydro-6-(trifluoromethyl)benzeno-oxobutinone (180410-63-3)
cylinderofen	120116-88-3	2-methoxy-5-phenyl-2-oxo-2-oxazoline (-)
cyanofunki	120116-88-3	4-(2-tert-butylphenyl)-2,3-dihydro-6-(trifluoromethyl)benzeno-oxobutinone (128789-91-0)
cyanone	66215-27-8	5-tert-butyl-2-(1-phenyl-1,2-dihydro-1,4-dioxane-2-oxo-4-phenyl)-2-oxo-2-oxazoline (-)
dimenhamid	110488-70-5	6-cyclopropylamine-1,3-triazen-2-yl-carbonyl-5-carbonitrile (-)
dimuron	42696-52-9	1,4-dicarbonylphenylbenzene (11394-76-7)
disecton	165232-70-0	1-methyl-3-tert-butyl-3,5-dimethylguanidine (457614-34-5)

表(1)-2 根拠Bに基づく農薬環境変化体の調査結果

Pesticide	CASRN	PTPW	Ref.	PTPW	Ref.	PTPW	Ref.
benzene-sodium, benzene	25057-89-0	NIA					
BPPS	2312-35-8	NIA					
carban	13-06-2	NIA					
carbon	144-54-7	NIA					
carbam-sodium	15263-52-2	nerc toxin (1631-58-9)	5				
carup	76-06-2	NIA					
chloroprecin							
doxone	53-74-4	NIA					
DCMU	330-54-1	monuron (150-68-5)	6				
D-DD	542-75-6	cis-3-chlorobutyl alcohol (4643-05-4)	7.8	trans-3-chlorobutyl alcohol (4643-06-5)	7.8		
DDVP	62-73-7	dimethyl phosphor (813-78-5)	9				
DEP	52-68-6	NIA		diethyl phosphate (598-02-7)	10, 11	diazoxon (962-58-3)	11
disazon	33-41-5	2-(propyl-6-methyl-4-pyridinol) (281-24-2)	11	1-hydroxy isopropyl diazonium (29320-16-4)	11	diazoxon (962-58-3)	11
DMTP	950-37-8	1-hydroxy isopropyl diazonium (281-24-2)	11	O,O,S-trimethylthiophosphoric acid (152-20-5)	12	O,O,S-trimethylthiophosphoric acid (152-20-5)	12
		O,O-dimethylphosphordithioate (39885-16-1)	12	O,O,O,O-tetramethyl-5,S-methylidiphosphorane	12	2-methoxy- Δ^2 -1,3-dihydro-5-one (1705-27-5)	12
		O,O,O,O-tetramethyl-5,S-methylidiphosphorane	12	2-methoxy-4-methylmethoxy- Δ^2 -1,3-dihydro-5-one (1669-52-2)	12	2-methoxy- Δ^2 -1,3-dihydro-5-one (-)	12
		(-)	12	2-methoxy-4-methylmethoxy- Δ^2 -1,3-dihydro-5-one (-)	12	1,3,4-oxadiazole-2,5-dione (-)	12
ethylthioneton	298-04-4	disulfoton-oxon (126-75-0)	13	disulfoton-sulfoxide (2497-07-6)	13	ditriflrophoric acid, O,S,O-triflyester (2524-09-6)	13
fenitrofate	98886-44-3	NIA					
glyphosate ammonium salt	1071-83-6	(aminoethyl)phosphonic acid (AMPA) (0066-51-9)	14				
glyphosate, potassium salt	1071-83-6	NIA					
isochloroanate methyl	556-61-6	NIA					
isowallton	18854-01-8	NIA					
malathion	121-75-5	NIA					
maneb	12427-38-2	NIA					
maneb	8018-01-7	NIA					
MEP	12-14-5	3-methylphenol (108-39-4)	15	3-methylphenol (108-39-4)	15	3-methylphenol (108-39-4)	16
		amino-fenuron (65417-72-0)	16	O,O-dimethyl-3-(4-methoxyphenyl) phosphorothioate (-)	16	carbamoylfenuron (-)	17
		3-methyl-4-nitrophenol (281-34-2)	17	S-methylfenuron (3344-14-7)	17	carbamoylfenuron (298-04-0)	17
		3-methyl-4-nitroanisol (5367-32-8)	18, 20	18, 20	18, 20	carbamoylfenuron (-)	20, 22,
		3-methyl-4-nitroanisol (5367-32-8)	25	carbamoylfenuron (3344-14-7)	25	carbamoylfenuron (-)	23
		tertbutyl pyrophosphate (690-49-3)	15, 23	carbamoylfenuron (-)	22	carbamoylfenuron (-)	23
		trinethyl phosphite (512-56-1)	19, 22	O,O-dimethyl O-(methylphenyl) phosphorothioate (59238-81-2)	23	O,O,S-tri-methyl phosphorothioate (152-20-5)	15, 16
			22	fenitrofate (4229-03-2)	22	fenitrofate (225-17-6)	15, 16
polycarbamate	64440-88-6	NIA					
propel	12071-83-9	NIA					
pyridaphenthion	119-12-0	NIA					
thiophanate methyl	23564-05-8	NIA					
thiram	137-26-8	NIA					
toletofen methyl	57018-04-9	NIA					
TPN	1897-45-6	4-hydroxy-2,5,6-trihydroisophthalonitrile (28343-61-5)	26	1,3-dicarbanonyl-2,4,5,6-tetrachlorobenzene	26	2,5,6-trichloro-4-methoxyisophthalonitrile (57531-87-0)	26
		isophthalonitrile (626-17-5)	26	isophthalonitrile (115044-75-0)	26	2,4,5-trichloroisophthalonitrile (23076-59-7)	26
		1-carbanonyl-1-cyano-4-hydroxy-2,5,6-trihydrobenzene	26	2,5,6-trichloro-4-(methoxyisophthalonitrile (-))	26	2,4,5-trichloroisophthalonitrile (23076-59-7)	26
		2,5,6-trichloro-4-(methoxyisophthalonitrile (-))	27	2,5,6-trichloro-4-methoxyisophthalonitrile (-)	27	2,5,6-trichloro-4-methoxyisophthalonitrile (-)	27
zineb	12122-67-7	NIA					

N/A: no information available

表(1)-3 根拠Cに基づく農薬環境変化体の調査結果

Pesticide	CASRN	PTPW	Ref.	PTPW	Ref.	PTPW	Ref.
bentazone-sodium, bentazone	25057-89-0	8-hydroxybenzene (60374-43-8)	28, 29				
BPPS	2312-35-8	N/A					
captan	133-06-2	N/A					
carbam	144-54-7	N/A					
carbarsodium	144-54-7	N/A					
carcup	15263-52-2	N/A					
chlorotolin	76-06-2	N/A					
diazome	533-74-4	N/A					
DCMU	350-54-1	N/A					
D-D	542-75-6	cis-3-chloropropenoic acid (1699-93-4)	30	<i>trans</i> -2-chloropropenoic acid (2345-61-1)	30	3-hydroxyacrylic acid (-)	30
DDVP	62-73-7	N/A					
DEP	52-68-6	N/A					
diazinon	333-41-5	N/A					
DMTP	950-37-8	N/A					
ethylbrometon	298-04-4	N/A					
festucazone	98886-44-3	N/A					
glyphosate, ammonium salt	1071-83-6	methylenaminomethylphosphonic acid (MAMPA) (35404-71-8)	31	methylphosphonic (MPA) acids (999-13-5)	31	glycine (56-40-6)	32
glyphosate, isopropylamine salt	1071-83-6	N/A					
isothiocyanate methyl	556-61-6	N/A					
isoxathion	18854-01-8	N/A					
malathion	121-75-5	malaxon (1634-78-2)	33, 34	diethyl maleate (141-05-9)	33, 34	diethyl fumarate (623-91-6)	33, 34
maneb	12427-38-2	N/A					
manezo	8018-01-7	N/A					
MEP	122-14-5	N/A					
polygonalumate	64440-88-6	N/A					
propiconob	12071-83-9	ethylenethiourea (96-45-7)	36				
pyridaphenthion	119-12-0	N/A					
thiophanate methyl	23564-65-8	2-aminobenzimidazole (934-32-7)	37	carbazimide (10665-21-7)	37		
thiram	137-26-8	N/A					
tolclofos methyl	57018-04-9	N/A					
TPN	1897-45-6	N/A					
zineb	12122-67-7	N/A					

N/A: no information available

表(1)-4に、MFPを表(1)-5にまとめて示す。本研究でPTPWsのみを検討して親農薬を検討していない場合がある。そのような場合には、親農薬の試験結果について、表(1)-4と表(1)-5に著者らの以前の結果をあわせて示した。変異原性に関しては、etofenproxのPTPWである2-(4-ethoxyphenyl)-2-methyl-1-propanol、iprobenfosのPTPWsである2-hydroxybenzyl alcoholが陽性であった。MFPに関しては、4種類の農薬、35種類のPTPWsが陽性であった。これらのことから、農薬もPTPWsも、塩素処理を受けることにより変異原性物質を生成する場合があることが示された。とくにPTPWsについては、試験した63物質中35物質（56%）が塩素処理により変異原性が陰性から陽性に転じ、塩素処理前に陽性であった2物質は塩素処理後も陽性であった。

親農薬のMFPの分布を図(1)-2に、PTPWsのMFPの分布を図(1)-3に示す。図(1)-2および図(1)-3の横軸は、各被検物質のMFPから同物質の変異原性（Mutagenic Activity: MA）を差し引いた値を示

表(1)-4 農薬およびPTPWsの変異原性測定結果

Compound	Mutagenicity					
	Determined value (net rev./μmol) ^a	Average ^a (net rev./μmol)	MR value (-) ^a	Result ^b	Detection limit (net rev./μmol)	Dose (mg/plate)
acephate	(5.8)	(5.8)	(1.3)	N (1)	12	0.25-1
methamidophos	-	-	-	N (1)	-	-
asulam	(6.2)	(6.2)	(0.90)	N (1)	13	0.25-1
sulfanilamide	-	-	-	N (2)	-	-
atrazine	(4.7)	(4.7)	(1.1)	N (1)	9.5	0.25-1
desethylatrazine	(9.4-14)	(12)	(1.0-1.4)	N (3)	19-27	0.125-0.5
desisopropylatrazine	(8.7-13)	(10)	(1.1-1.4)	N (3)	17-25	0.125-0.5
benfuracarb	(84-97)	(89)	(1.0-1.1)	N (3)	170-190	0.05-0.2
bensulfuron methyl	(73-115)	(100)	(0.88-0.94)	N (3)	140-230	0.04375-0.175
bromobutide	(97-150)	(120)	(1.2-0.89)	N (3)	190-310	0.025-0.1
bromobutide-debromo	(14-23)	(17)	(1.1-1.3)	N (3)	29-46	0.125-0.5
butamifos	(110-130)	(110)	(1.0-1.1)	N (3)	220-250	0.03125-0.125
cafenstrole	(140-230)	(172)	(1.0-1.2)	N (3)	290-460	0.01875-0.075
cafenstrole-descarbamoyl	(16-25)	(19)	(0.89-1.2)	N (3)	31-49	0.125-0.5
carbofuran	(14-22)	(17)	(0.98-1.3)	N (3)	27-43	0.125-0.5
3-hydroxycarbofuran	(39-45)	(43)	(1.0-1.1)	N (3)	78-90	0.0625-0.25
carbosulfan	(2100-2400)	(2200)	(1.0-1.1)	N (3)	4200-4800	0.001875-0.0075
daimuron	(170-260)	(230)	(1.1)	N (3)	330-530	0.0125-0.05
DCMU	(16)	(16)	(0.85)	N (1)	16	0.125-0.5
1-(3,4-dichlorophenyl)-3-methylurea	(21-23)	(23)	(0.86-1.0)	N (3)	43-46	0.0625-0.25
1-(3,4-dichlorophenyl)-3-formyl-3-methylurea	(6.5-7.4)	(6.8)	(1.0)	N (3)	13-15	0.25-1
3-(3-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea	(5.2-5.9)	(5.7)	(1.0-1.1)	N (3)	11-12	0.25-1
3,4-dichloroaniline	(33-38)	(35)	(1.1)	N (3)	67-77	0.05-0.2
monuron	-	-	-	N (2)	-	-
DDVP	(7.1)-42	28	(1.2)-2.5	P (2), N (1)	9.9-15	0.25-1
dimethyl phosphate	(4.9-5.0)	(4.9)	(0.97-1.0)	N (3)	9.7-10	0.25-1
diazinon	(9.4)	(9.4)	(0.88)	N (1)	19	0.25-1
diazoxon	(9.3-11)	(9.9)	(0.91-1.1)	N (3)	19-22	0.25-1
DEP (phosphoric acid diethyl ester)	(5.3-5.5)	(5.4)	(0.95-1.0)	N (3)	11	0.25-1
2-isopropyl-6-methyl-pyrimidine-4-ol	(5.5)	(5.5)	(0.96-1.0)	N (3)	11	0.25-1
dichlobenil (DBN)	(3.3)	(3.3)	(1.0)	N (1)	6.5	0.25-1
2-hydroxybenzonitrile	(8.6-9.7)	(9.3)	(1.0-1.1)	N (3)	17-19	0.125-0.5
dinetofuran	(13-20)	(17)	(1.1)	N (3)	25-40	0.125-0.5
DMTP	(10)	(10)	(0.73)	N (1)	21	0.25-1
DMTPoxon	(20-23)	(21)	(1.1)	N (3)	40-46	0.125-0.5
EPN	(110-120)	(110)	(1.0-1.1)	N (3)	210-250	0.03125-0.125
EPN oxon	-	-	-	N (1)	-	-
4-nitrophenol	-	-	-	N (4)	-	-
ethylthiometon	(8.8)	(8.8)	(1.0)	N (1)	18	0.25-1
disulfoton-oxon	(8.3-10)	(8.9)	(1.1-1.2)	N (3)	17-20	0.25-1
disulfoton-sulfoxide	(11)	(11)	(0.94-1.1)	N (3)	22	0.25-1
etofenprox	(9100)	(9100)	(1.1)	N (2)	18000	0.0001875-0.00075
3-phenoxybenzoic acid	(5.2-5.7)	(5.4)	(1.0-1.1)	N (3)	5.4	0.25-1
2-(4-ethoxyphenyl)-2-methyl-1-propanol	-	-	-	P(3)	-	-
fenitrothion (MEP)	(7.8-9.7)	(8.9)	(0.97-1.2)	N (4)	15-19	0.25-1
3-methyl-4-nitrophenol	(4.6)	(4.6)	(0.65-0.91)	N (3)	9.2	0.25-1
3-methyl-4-nitroanisol	(25)	(25)	(1.2-1.3)	N (3)	50	0.05-0.2
3-methylphenol	(6.0)	(6.0)	(0.65-1.2)	N (3)	12	0.25-1
fentroxon	(8.4-8.6)	(8.5)	(1.0-1.3)	N (3)	17	0.25-1
O,O,O-trimethyl phosphoric ester	(4.5-5.1)	(4.7)	(0.83-1.1)	N (3)	9.0-10	0.25-1
fenthion (MPP)	(23)	(23)	(0.90)	N (1)	45	0.1-0.4
fenthion-sulfoxide (MPP sulfoxide)	(110-130)	(110)	(0.94-1.1)	N (3)	210-260	0.025-0.1
fenthion-sulfone (MPP sulfone)	(22-27)	(24)	(0.99-1.2)	N (3)	45-54	0.125-0.5
fenthion-oxon (MPP oxon)	(21-23)	(22)	(1.2-1.3)	N (3)	42-46	0.125-0.5
fenthion-oxon-sulfoxide (MPP oxon sulfoxide)	(22-24)	(23)	(1.3)	N (3)	45-49	0.125-0.5
fenthion-oxon-sulfone (MPP oxon sulfone)	(35-38)	(36)	(1.2-1.3)	N (3)	70-75	0.125-0.5
3-methyl-4-(methylthio)phenol	(7.7-11)	(8.9)	(1.1-1.4)	N (3)	15-22	0.125-0.5
ferimzone	(8.1)	(8.1)	(1.2)	N (1)	16	0.25-1
2'-methylacetophenone	(22-25)	(23)	(1.1-1.2)	N (3)	44-51	0.125-0.5
furathiocarb	(100-120)	(110)	(1.0-1.1)	N (3)	210-240	0.075-0.3

表(1)-4 農薬およびPTPWsの変異原性測定結果（つづき）

Compound	Mutagenicity					
	Determined value (net rev./μmol) ^a	Average ^a (net rev./μmol)	MR value (-) ^a	Result ^b	Detection limit (net rev./μmol)	Dose (mg/plate)
glyphosate	-	-	-	N (2)	-	-
AMPA((aminomethyl)phosphonic acid)	(7.6)	(7.6)	(1.0-1.1)	N (3)	15	0.125-0.5
iprobenfos	(9.8)	(9.8)	(0.97)	N (1)	20	0.25-1
benzyl alcohol	-	-	-	N (3)	-	-
benzaldehyde	-	-	-	N (4)	-	-
2-hydroxybenzyl alcohol	9.3-12	11	1.6-1.8	P (3)	6.0-6.6	0.25-1
3-hydroxybenzyl alcohol	(3.0-3.3)	(3.1)	(0.84-1.3)	N (3)	6.0-6.6	0.25-1
isoprothiolane	(95-110)	(100)	(1.0-1.1)	N (3)	190-220	0.125-0.5
isoxathion	(67)	(67)	(1.3)	N (1)	130	0.0375-0.15
isoxathion oxon	(18-19)	(19)	(1.2-1.4)	N (3)	36-39	0.125-0.5
malathion	(7.6)	(7.6)	(1.1)	N (1)	15	0.25-1
malaoxon	-	-	-	N (3)	-	-
diethyl maleate	(6.5)	(6.5)	(0.88-1.0)	N (3)	13	0.25-1
diethyl fumarate	(6.4)	(6.4)	(0.94)	N (2)	13	0.25-1
D-tartaric acid diethyl	(7.6-8.2)	(8.0)	(1.0-1.2)	N (3)	15-16	0.25-1
L-tartaric acid diethyl	(7.8-8.2)	(8.1)	(0.98-1.2)	N (3)	16	0.25-1
mefenacet	-	-	-	-	-	-
2(3H)-benzothiazolone	(3.7-4.0)	(3.8)	(0.87-1.1)	N (3)	7.3-8.0	0.25-1
2-aminothiophenol	-	-	-	N (4)	-	-
N-methylbenzenamine	-	-	-	N (2)	-	-
mepronil	(9.2)	(9.2)	(0.94)	N (1)	21	0.25-1
2-methylbenzoic acid	(2.4-3.6)	(2.8)	(0.94-1.1)	N (3)	4.8-7.2	0.25-1
methyl dymron	(22-25)	(23)	(1.1-1.2)	N (3)	44-51	0.125-0.5
pendycron	(820-1200)	(940)	(1.1-1.4)	N (3)	1600-2400	0.0025-0.01
phenylurea	(2.4-3.6)	(2.8)	(1.1-1.3)	N (3)	4.8-7.2	0.025-1
pendimethalin	(230-370)	(320)	(1.0-1.2)	N (3)	460-730	0.009375-0.0375
polycarbamate	(140-150)	(150)	(0.91-1.0)	N (3)	280-310	0.025-0.1
ethylenethiourea	(4.1)	(4.1)	(1.0)	N (1)	8.3	0.25-1
pyributicarb	(1600-2400)	(2100)	(1.1-1.4)	N (3)	3300-4800	0.00125-0.005
3- <i>tert</i> -butylphenol	(53-66)	(62)	(1.0-1.3)	N (3)	110-130	0.0125-0.05
pyriproxyfen	(800-1200)	(920)	(1.0-1.4)	N (3)	1600-2300	0.0025-0.01
4-phenoxyphenol	(66-82)	(77)	(1.2-1.3)	N (3)	130-160	0.0125-0.05
thiobencarb	(4.9)	(4.9)	(0.84)	N (1)	9.8	0.25-1
4-chlorobenzyl alcohol	-	-	-	N (1)	-	-
4-chlorobenzaldehyde	-	-	-	N (2)	-	-
4-chlorobenzoic acid	-	-	-	N (6)	-	-
thiophanate methyl	-	-	-	P (1), N (2)	-	-
carbendazim	-	-	-	N (9)	-	-
2-aminobenzimidazole	(4.8)	(4.8)	(0.93-1.0)	N (3)	10	0.25-1
tolclofos-methyl	(410-470)	(430)	(1.1)	N (3)	820-950	0.0075-0.03
tolclofos-methyl oxon	(23-27)	(25)	(1.1-1.2)	N (3)	47-54	0.125-0.5
p-cresol	-	-	-	N (1)	-	-
TPN	(320-350)	(330)	(0.96-1.3)	N (3)	650-700	0.005-0.02
isophthalonitrile	-	-	-	N (3)	-	-

してしている。両者に差が無いと考えられることから、両者のパーセンタイルプロットを行ったところ、図(1)-4に示すように、両者のプロットがほぼ一致した。一般的に、農薬は水環境で変化体に変化すると毒性が低下すると考えられるが、エンドポイントをMFPにして郡全体同士で比較すると、毒性は変化しないことが明らかになった。

そこで、次に、親農薬からPTPWsへの変化に伴うMFPの変化を物質毎に検討した。これまでの研究とあわせて、PTPWsのMFPとその親農薬のMFPの両方を測定したのは48組であった。PTPWsのMFPをaとし、その親農薬のMFPをbとして、aをbで除した値をモル基準で比較すると、図(1)-5に示すように0.010～38倍の範囲で分布していた。その中で、比率が最も高かったのは

表(1)-5 農薬およびPTPWsの変異原性物質生成能測定結果

Compound	Mutagen Formation Potential					
	Determined value (net rev./μmol) ^a	Average (net rev./μmol)	MR value (-) ^a	Result ^b	Detection limit (net rev./μmol)	Dose (mg/plate)
acephate	(6.0)-21	(9.9)	(1.1)-1.5	P (1), N (3)	12	0.25-1
methamidophos	(9.6-10)	(9.9)	(1.1-1.2)	N (3)	19-21	0.125-0.5
asulam	3,600-6,400	4800	2.4-2.8	P (4)	1,000-1,400	0.0025-0.01
sulfanilamide	(250)-930	730	(1.4)-1.7	P (5), N (1)	510-600	0.00625-0.025
atrazine	33-37	35	2.5	P (2)	8.8-9.5	0.25-1
desethylatrazine	(13-14)	(13)	(1.1-1.2)	N (3)	26-27	0.125-0.5
desisopropylatrazine	(60-63)	(61)	(1.1-1.3)	N (3)	120-130	0.025-0.1
benfuracarb	(77-80)	(79)	(1.1-1.3)	N (3)	150-160	0.05-0.2
bensulfuron methyl	(63-110)	(78)	(1.2)	N (3)	130-210	0.0625-0.25
bromobutide	(84-140)	(100)	(1.0-1.4)	N (3)	170-280	0.025-0.1
bromobutide-debromo	(13)-23	(19)	(1.1)-1.7	P (1), N (2)	25-42	0.125-0.5
butamifos	(110)-220	(150)	(1.3)-1.5	P (1), N (2)	180-230	0.03125-0.125
cafenstrole	(130-210)	(180)	(0.91-1.4)	N (3)	250-420	0.01875-0.075
cafenstrole-descarbamoyl	(23)-48	(31)	(1.1)-1.6	P (1), N (2)	27-46	0.125-0.5
carbofuran	(20)-91	63	(1.3)-2.3	P (2), N (1)	24-48	0.125-0.5
3-hydroxycarbofuran	(74-75)	(75)	(1.1-1.3)	N (3)	150	0.0675-0.25
carbosulfan	(1900-2000)	(2000)	(1.1-1.2)	N (3)	3800-4000	0.001875-0.0075
daimuron	(420-490)	(450)	(1.2)-1.6	P (1), N (2)	580-970	0.0125-0.05
DCMU	(820)-5,300	2300	1.3-2.9	P (3), N (1)	100-1,600	0.0025-0.0125
1-(3,4-dichlorophenyl)-3-methylurea	(370-400)	(380)	(1.1-1.2)	N (3)	750-800	0.005-0.02
1-(3,4-dichlorophenyl)-3-formyl-3-methylurea	52-64	60	1.6-1.7	P (3)	36	0.125-0.5
3-(3-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea	(160)-400	280	(1.3)-2.0	P (2), N (1)	140-310	0.025-0.1
3,4-dichloroaniline	1100-1600	1400	1.5-2.1	P (3)	590-650	0.005-0.02
monuron	(4.8)-180	110	(1.2)-1.7	P (2), N (1)	9.6-10	0.25-1
DDVP	12-25	20	1.5-2.0	P (3)	9.7-12	0.25-1
dimethyl phosphate	(2.2)-6.8	5.2	(1.3)-1.6	P (2), N (1)	4.4	0.25-1
diazinon	38-60	49	1.8-2.8	P (2)	13-19	0.25-1
diazoxon	28-98	62	1.5-2.8	P (3)	21-22	0.25-1
DEP (phosphoric acid diethyl ester)	(5.1-5.2)	(5.2)	(1.2-1.3)	N (3)	10	0.25-1
2-isopropyl-6-methyl-pyrimidine-4-ol	11-29	21	1.4-2.0	P (3)	11-12	0.25-1
dichlobenil (DBN)	(5.2)-16	11	(1.1)-2.0	P (1), N (1)	6.5-10	0.25-1
2-hydroxybenzonitrile	430-740	570	2.5-4.6	P (3)	82-110	0.025-0.1
dinotefuran	(11-22)	(17)	(1.3-1.4)	N (3)	22-44	0.125-0.5
DMTP	(7.9)-170	51	1.3-4.1	P (2), N (2)	16-22	0.25-1
DMTPoxon	(20-23)	(21)	(1.1-1.2)	N (3)	39-46	0.125-0.5
EPN	(110)-320	230	(1.3)-1.8	P (2), N (1)	170-220	0.03125-0.125
EPN oxon	(41-52)	(49)	(1.2-1.4)	N (3)	81-110	0.125-0.5
4-nitrophenol	(270-280)	(270)	(1.0-1.3)	N (3)	540-560	0.005-0.02
ethylthiometon	24-91	46	1.5-3.1	P (4)	15-19	0.25-1
disulfoton-oxon	(10)-44	21	(1.1)-1.9	P (1), N (2)	19-21	0.25-1
disulfoton-sulfoxide	(19)-90	47	(1.4)-2.6	P (2), N (1)	22-23	0.25-1
etofenprox	(17000)	(17000)	(1.1-1.3)	N (3)	34000	0.0001875-0.00075
3-phenoxybenzoic acid	(5.7)-20	(11)	(1.1)-1.5	P (1), N (2)	11-15	0.25-1
2-(4-ethoxyphenyl)-2-methyl-1-propanol	78	78	1.9-2.1	P(2)	6.9-8.6	0.25-1
fentrothion (MEP)	100-310	170	3.4-4.5	P (4)	15-38	0.25-1
3-methyl-4-nitrophenol	1,500-2,500	2,000	1.8-2.7	P (3)	610-790	0.005-0.015
3-methyl-4-nitroanisol	(42)-115	(67)	(1.2)-1.7	P (1), N (2)	84-89	0.05-0.15
3-methylphenol	510	510	2.3	P (3)	150-160	0.025-0.1
fentrooxon	310-520	390	3.5-4.4	P (3)	36-39	0.125-0.5
O,O,O-trimethyl phosphoric ester	(5.3)-11	(7.3)	(1.2)-1.4	P (1), N (2)	10-11	0.25-1
fenthion (MPP)	120	120	2.4	P (1)	35	0.1-0.4
fenthion-sulfoxide (MPP sulfoxide)	(110)-650	390	(1.4)-2.2	P (2), N (1)	220-260	0.025-0.1
fenthion-sulfone (MPP sulfone)	750-780	760	3.8-4.3	P (3)	91-110	0.0625-0.25
fenthion-oxon (MPP oxon)	97-230	170	2.0-3.1	P (3)	39-46	0.125-0.5
fenthion-oxon-sulfoxide (MPP oxon sulfoxide)	58-95	76	1.6-1.8	P (3)	41-49	0.125-0.5
fenthion-oxon-sulfone (MPP oxon sulfone)	470-600	550	4.0-4.2	P (3)	63-75	0.125-0.5
3-methyl-4-(methylthio)phenol	1900-2500	2200	2.8-3.4	P (2)	420	0.00625-0.025
ferimzone	530-1,600	940	8.1-10.9	P (3)	29-40	0.1-0.4
2'-methylacetophenone	(8.9-10)	(9.8)	(1.1-1.4)	N (3)	19-20	0.125-0.5
furathiocarb	(48-50)	(49)	(1.2-1.3)	N (3)	96-99	0.075-0.3

表(1)-5 農薬およびPTPWsの変異原性物質生成能測定結果(つづき)

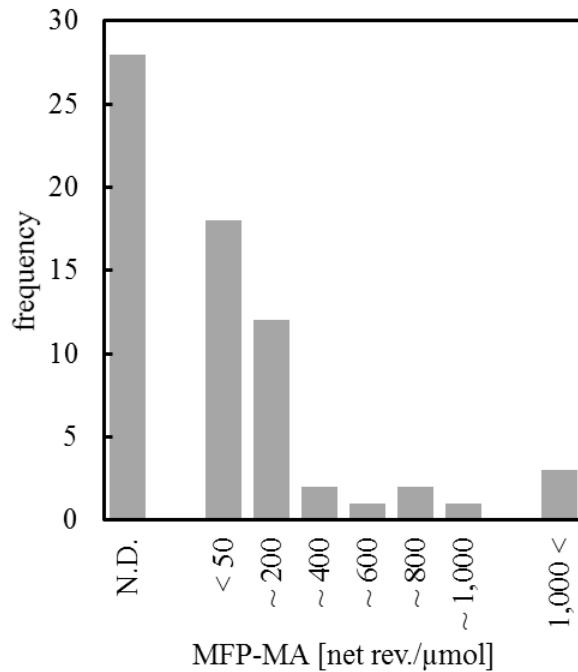
Compound	Mutagen Formation Potential					
	Determined value (net rev./μmol) ^a	Average (net rev./μmol)	MR value (-) ^a	Result ^b	Detection limit (net rev./μmol)	Dose (mg/plate)
glyphosate	10-15	13	1.5-1.7	P (3)	8.2-8.9	0.25-1
AMPA((aminomethyl)phosphonic acid)	(3.4)-12	(6.7)	(1.0)-1.7	P (1), N (2)	6.7-9.0	0.25-1
iprobenfos	35-45	40	1.8-1.9	P (2)	18-20	0.25-1
benzyl alcohol	(2.6)-8.0	(4.8)	(1.1)-1.4	P (1), N (2)	5.2-7.5	0.25-1
benzaldehyde	(2.6)-12	7.9	(1.2)-1.6	P (2), N (1)	5.2-7.4	0.25-1
2-hydroxybenzyl alcohol	87-260	130	3.5-6.7	P (3)	8.8-22	0.125-0.5
3-hydroxybenzyl alcohol	1,200-2,000	1,500	3.4-5.6	P (3)	170-350	0.0125-0.05
isoprothiolane	(19-22)	(21)	(1.1)-1.3	N (3)	38-44	0.125-0.5
isoxathion	220-4,100	1500	1.8-8.7	P (3)	110-210	0.0375-0.15
isoxathion oxon	(16-22)	(20)	(1.1)-1.2	N (3)	33-43	0.125-0.5
malathion	250-270	260	4.8-8.6	P (3)	15-26	0.25-1
malaoxon	(12)	(12)	(1.0)-1.2	N (3)	23-24	0.25-1
diethyl maleate	(5.9)-16	13	(1.3)-1.5	P (2), N (1)	12-13	0.25-1
diethyl fumarate	(6.7)-26	17	(1.3)-1.8	P (2), N (1)	13	0.25-1
D-tartaric acid diethyl	(7.6)-21	(12)	(1.1)-1.4	P (1), N (2)	15	0.25-1
L-tartaric acid diethyl	(7.6)-43	24	(1.3)-2.1	P (2), N (1)	15	0.25-1
mefenacet	-	-	-	-	-	-
2(3 <i>H</i>)-benzothiazolone	9.8-21	14	1.4-1.8	P (3)	10.7	0.125-0.5
2-aminothiophenol	110-130	120	2.3-2.9	P (3)	28-32	0.05-0.2
<i>N</i> -methylbenzenamine	(740-1000)	(910)	(1.1)	N (3)	1500-2000	0.00125-0.005
mepronil	57-71	66	2.1-2.9	P (3)	14-26	0.25-1
2-methylbenzoic acid	(7.0)-13	8.7	(1.3)-1.7	P (2), N (1)	14-7.0	0.25-1
methyl dymron	(18-20)	(20)	(1.3)-1.4	N (3)	36-41	0.125-0.5
pencycron	(110)-1800	(680)	(1.1)-1.6	P (1), N (2)	160-260	0.0025-0.01
phenylurea	(210-250)	(240)	(1.1)-1.3	N (3)	420-490	0.00625-0.025
pendimethalin	(310)-700	(450)	(1.1)-1.7	P (1), N (2)	430-680	0.009375-0.0375
polycarbamate	(100-140)	(130)	(1.0)-1.3	N (3)	210-280	0.025-0.1
ethylenethiourea	(4.1)-12	8.7	(1.0)-1.8	P (2), N (1)	6.2-8.3	0.25-1
pyributicarb	(260)-3600	(1400)	(1.1)-1.5	P (1), N (2)	330-520	0.00125-0.005
3- <i>tert</i> -butylphenol	(140)-800	490	2.1-2.5	P (2), N (1)	210-270	0.0125-0.05
pyriproxyfen	(1200-1300)	(1200)	(1.1)-1.2	N (3)	2300-2500	0.0025-0.01
4-phenoxyphenol	(95)	(95)	(1.1)-1.3	N (2)	190	0.0125-0.05
thiobencarb	80-82	81	3.2-4.4	P (2)	9.8-15	0.25-1
4-chlorobenzyl alcohol	(2.5)-10	(5.0)	(1.1)-1.6	P (1), N (2)	5.1-6.9	0.25-1
4-chlorobenzaldehyde	(2.5)	(2.5)	(1.1)-1.3	N (3)	5.0	0.25-1
4-chlorobenzoic acid	(3.5)-11	8.5	(1.3)-1.5	P (2), N (1)	6.9-11	0.25-1
thiophanate methyl	320-410	370	3.7-4.6	P (3)	47-56	0.125-0.5
carbendazim	290-540	410	1.9-3.1	P (3)	77-100	0.0375-0.15
2-aminobenzimidazole	120-360	260	1.6-2.7	P (3)	86	0.03125-0.125
tolclofos-methyl	(380)-780	(460)	(1.2)-1.5	P (1), N (5)	660-860	0.0075-0.03
tolclofos-methyl oxon	51-250	120	1.5-3.0	P (3)	43-49	0.125-0.5
<i>p</i> -cresol	310-470	360	3.1-3.6	P (3)	59-70	0.03125-0.125
TPN	(490-580)	(550)	(1.2)	N (3)	980-1200	0.005-0.02
isophthalonitrile	10-11	10	1.5-1.8	P (3)	4-10	0.25-1

3-hydroxybenzyl alcohol(親農薬はiprobenfos)の38倍であった。その他の組み合わせで比率が1を超えたのは10組であった。このことから、親農薬からPTPWsへの変化に伴いMFPが上昇する物質が存在することが明らかになった。

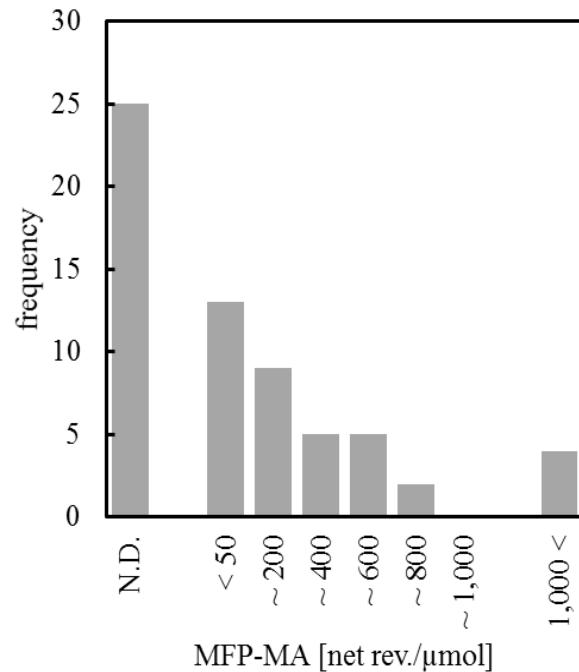
以上のことから、親農薬に加えてPTPWsについても、環境中での濃度モニタリングや浄水処理性の検討が重要と言える。

(2) 生成する変異原の探索

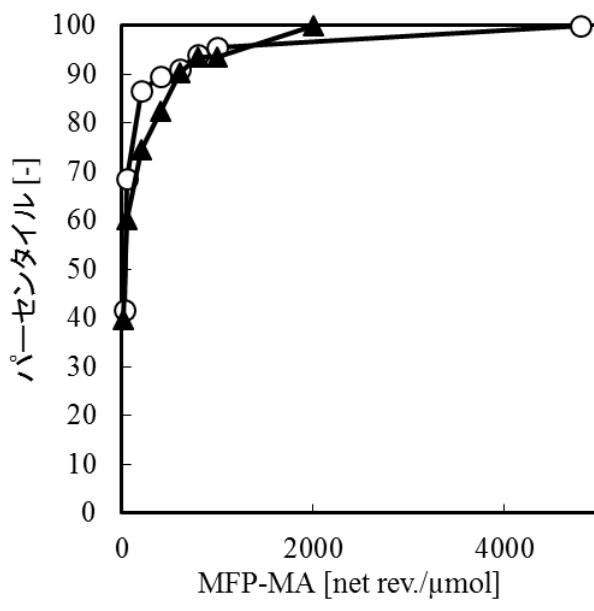
精密質量分析技術と誘導体化技術を用いたunknown exploringと言うべき技術を開発し、モデル農



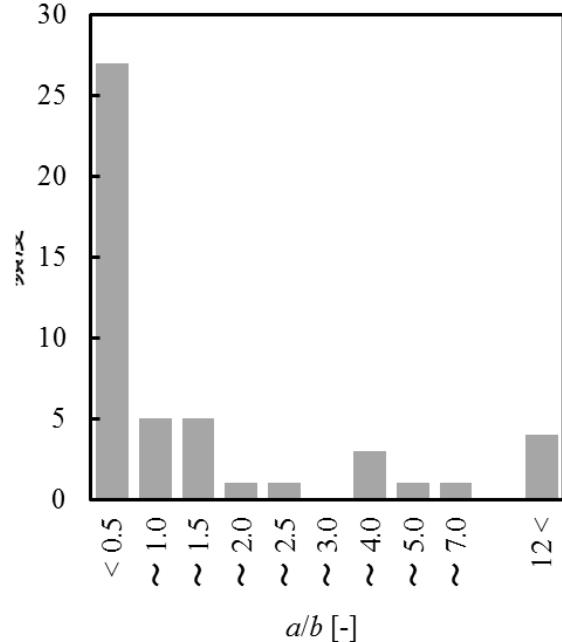
図(1)-2 農薬のMFPの分布



図(1)-3 PTPWsのMFPの分布

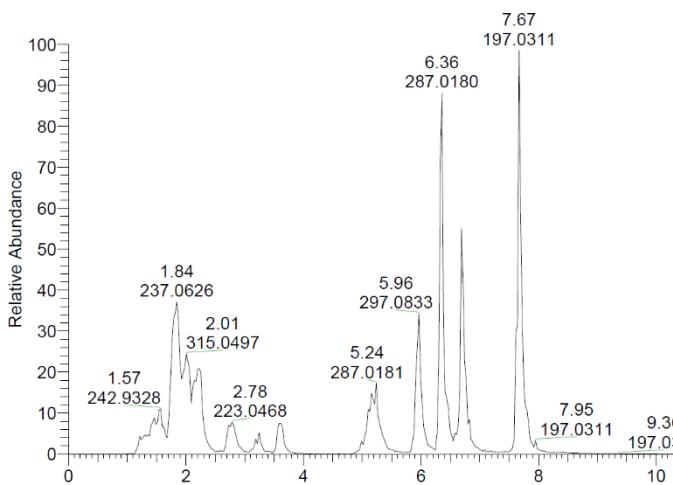


図(1)-4 農薬とPTPWsのMFP分布の比較

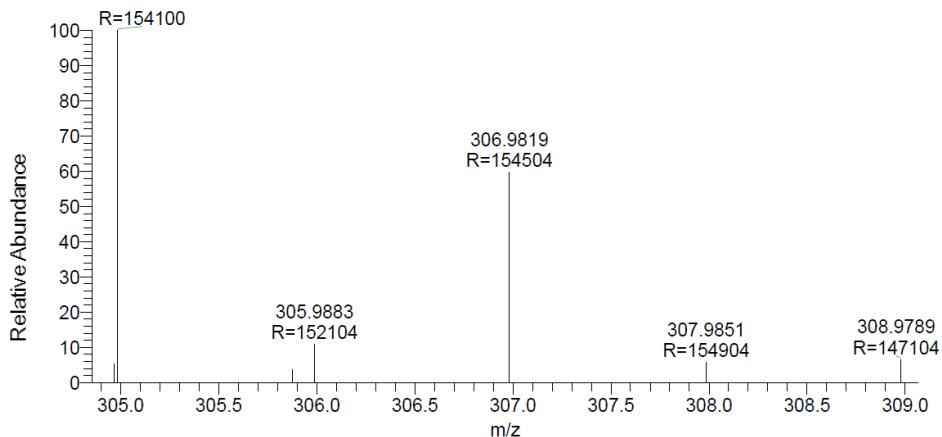


図(1)-5 PTPWsへの変化によるMFPの変化

薬であるDCPの水溶液を塩素処理した際に生成する変異原性物質を探査した。DCP塩素処理物をESIおよびAPCIでイオン化したところ、ポジティブイオンモードおよびネガティブイオンモードのいずれのイオン化モードにおいても塩素処理生成物のピークと考えられるピークが得られなかつた。このため、イオン化されにくいケトンやアルデヒドなどのカルボニル化合物の生成を予測し、

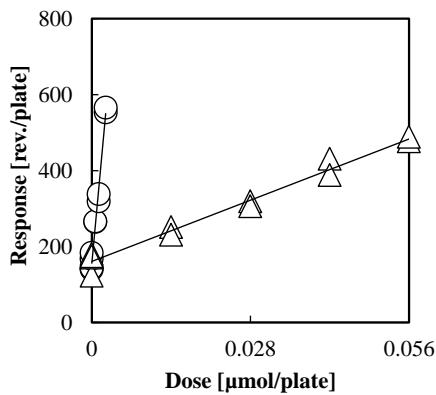


図(1)-6 DCP塩素処理-DNPH誘導体化サンプルのLC/MS測定結果

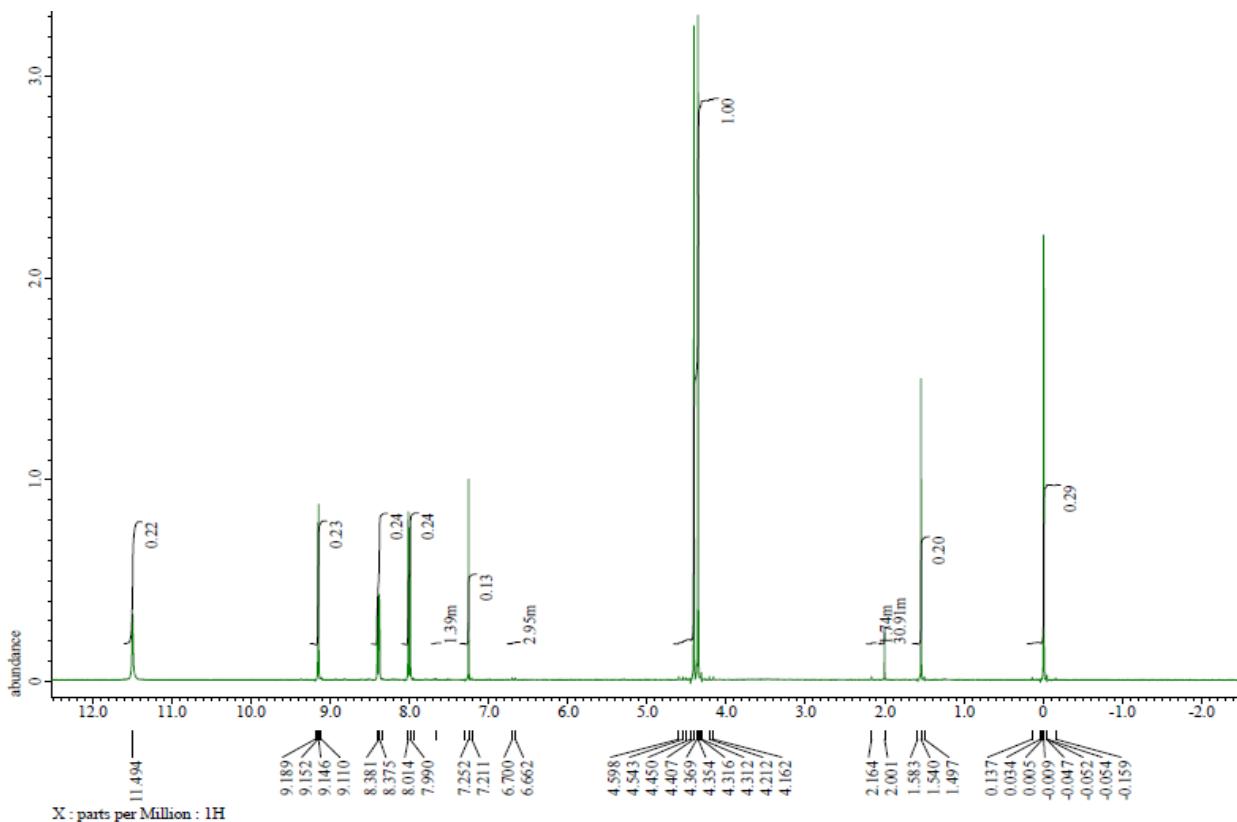


図(1)-7 DCP塩素処理-DNPH誘導体化サンプル中に含まれるイオンの分子式決定例

DNPHで誘導体化したDCP塩素処理サンプル（以下、①サンプル）中に含まれる物質をLC/MSにより分析した。その結果、図(1)-6に示すように明確なピークが得られたため、この全イオン電流クロマトグラムを解析した。解析する際、DCPが有機塩素化合物であること、DCPを塩素処理していることから、有機塩素化合物のみを対象とした。その結果、LCカラム保持時間が異なる8物質が塩素化合物のイオンとして発見された。8物質のうち、2物質は精密質量が同一であったため、異性体の可能性がある。発見されたイオンの分子式は、DCPおよびDNPHの化学構造に基づき、構成元素をC、H、O、NおよびClと仮定して推定した。さらに、同位体パターン分析を行い、図(1)-7に例を示すように、分解能154,000～181,000、質量誤差0.063～0.805 ppmの精度において6つの分子式を決定した。また、MS²およびMS³分析による各物質の構造を解析したところ、すべての物質がDNPH誘導体であることが示唆された。決定された分子式から、DCPとDNPHの化学構造に基づいてこれらのイオンの化学構造を推定したところ、互変異性体を含めて18種類の構造が推定された。推定された18物質の中で試薬の購入が可能だったのは、質量電荷比m/z 304.9850を有するイオンから推定された1,3-DCAのみであった。1,3-DCAの変異原性は、TA100株を用いた代謝活性剤非存在下の条件において陽性であることが報告されている。本研究において1,3-DCAの比活性を評価したとこ



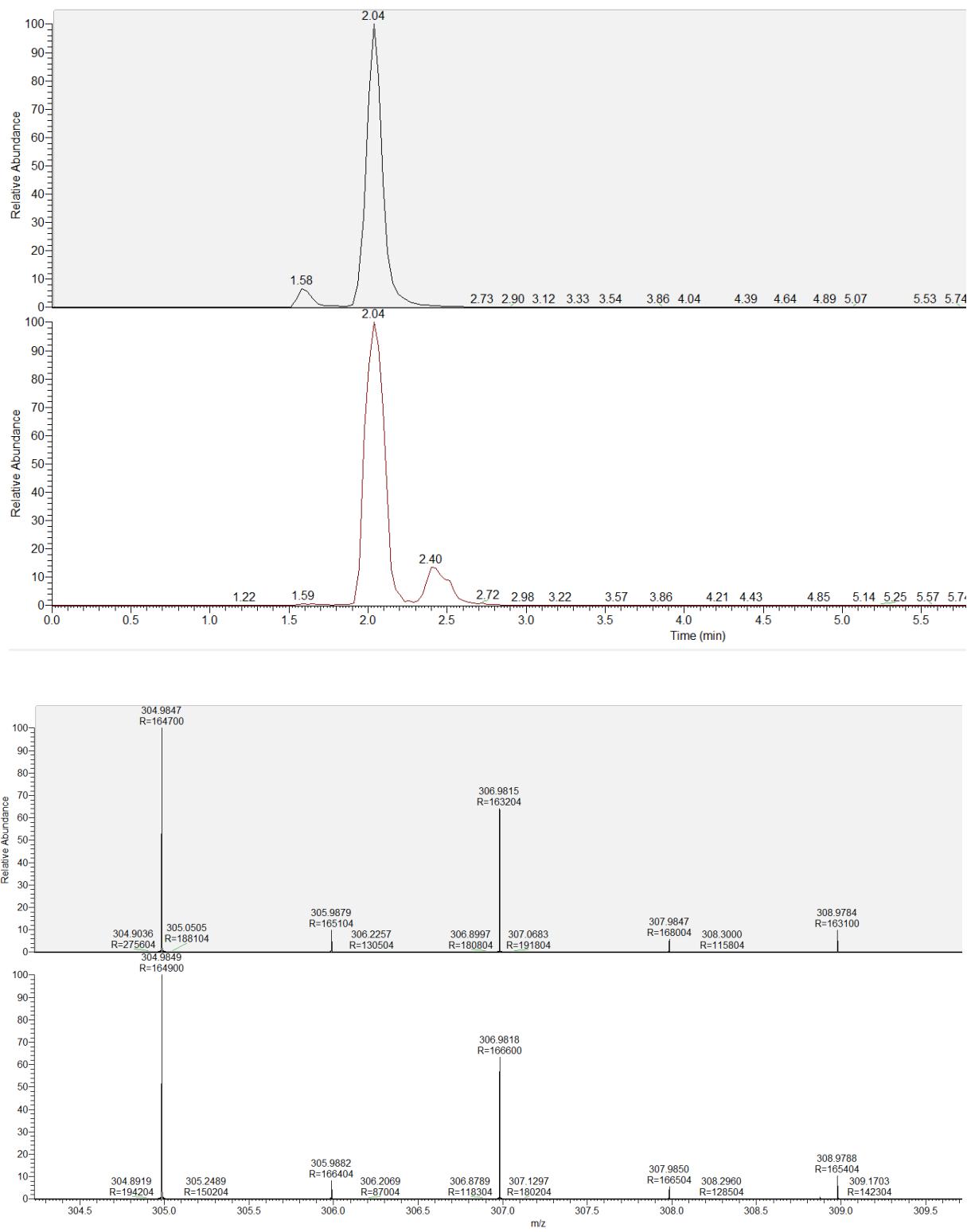
図(1)-8 1,3-DCAとDCP塩素処理物の変異原性 (○ : 1,3-DCA、△ : DCP塩素処理物)



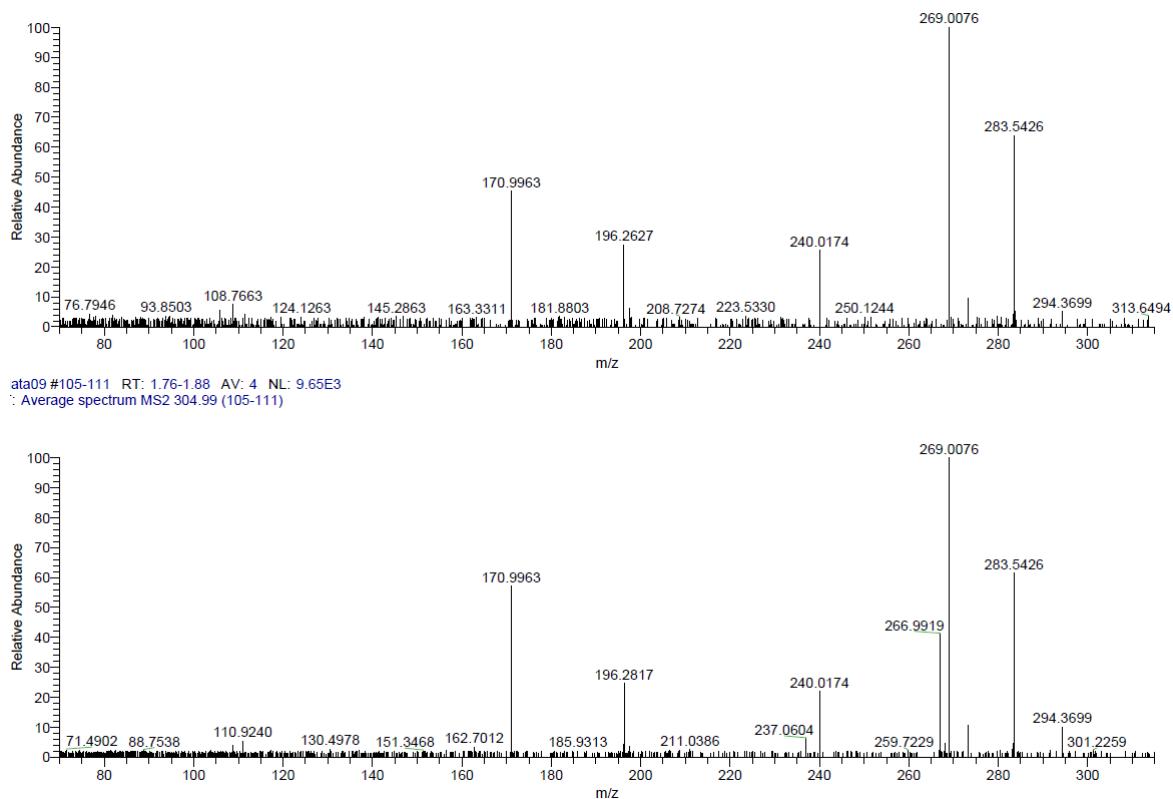
図(1)-9 1,3-DCA-DNPH誘導体化物の¹H-NMR測定結果

ろ、図(1)-8に示すように160,000 net rev./μmolであった。この値は、Ames試験の陽性対照物質として用いられる4-nitroquinoline 1-oxideの10分の1程度と高い値であった。そこで、1,3-DCAが①サンプル中に含まれているか否かを検討した。

検討に先立ち、購入した1,3-DCAの試薬をDNPHで誘導体化し、誘導体化物の合成と精製を¹H-NMRにて確認した。その結果、図(1)-9に示すように、誘導体化物の合成と精製が確認された。そこで、合成した誘導体化物を標準物質として用いて、①サンプル中に1,3-DCAが含まれているか否かを検討した。その結果、図(1)-10に示すように、LCの保持時間が合成した標準物と①サンプル中のm/z 304.9850を有するイオンで一致し、さらにMSスペクトルが一致した。また、linear ion trapに



図(1)-10 1,3-DCA-DNPH誘導体化物とDCP塩素処理-DNPH誘導体化サンプル中の m/z 304.9850のLCカラム保持時間とMSスペクトル（上：1,3-DCA-DNPH誘導体化物、下：DCP塩素処理-DNPH誘導体化サンプル）



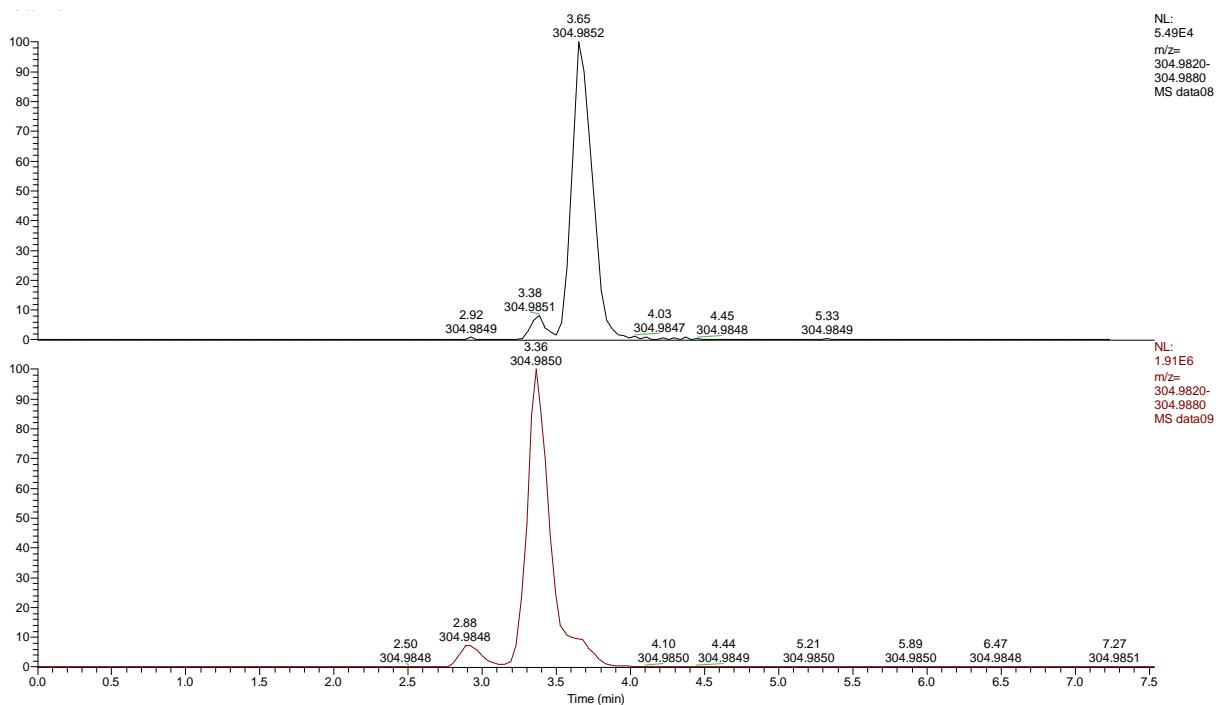
図(1)-11 1,3-DCA-DNPH誘導体化物とDCP塩素処理-DNPH誘導体化サンプル中の m/z 304.9850の MS^2 プロダクトイオンスペクトル

による衝突誘起解離を用いたLC/MS²分析を行った結果、図(1)-11に示すように、 m/z 170.9963, 240.0174, 269.0076のイオンが一致した。それらのイオンを帰属した結果、すべてのイオンは1,3-DCA-DNPH誘導体化物として帰属することができた。これらの結果から、①サンプル中の m/z 304.9850を有するイオンは1,3-DCA-DNPH誘導体化物と結論づけられた。そこで、DCAから1,3-DCAの生成反応経路を考察した結果、1,3-DCAが生成し得ることを確認した。

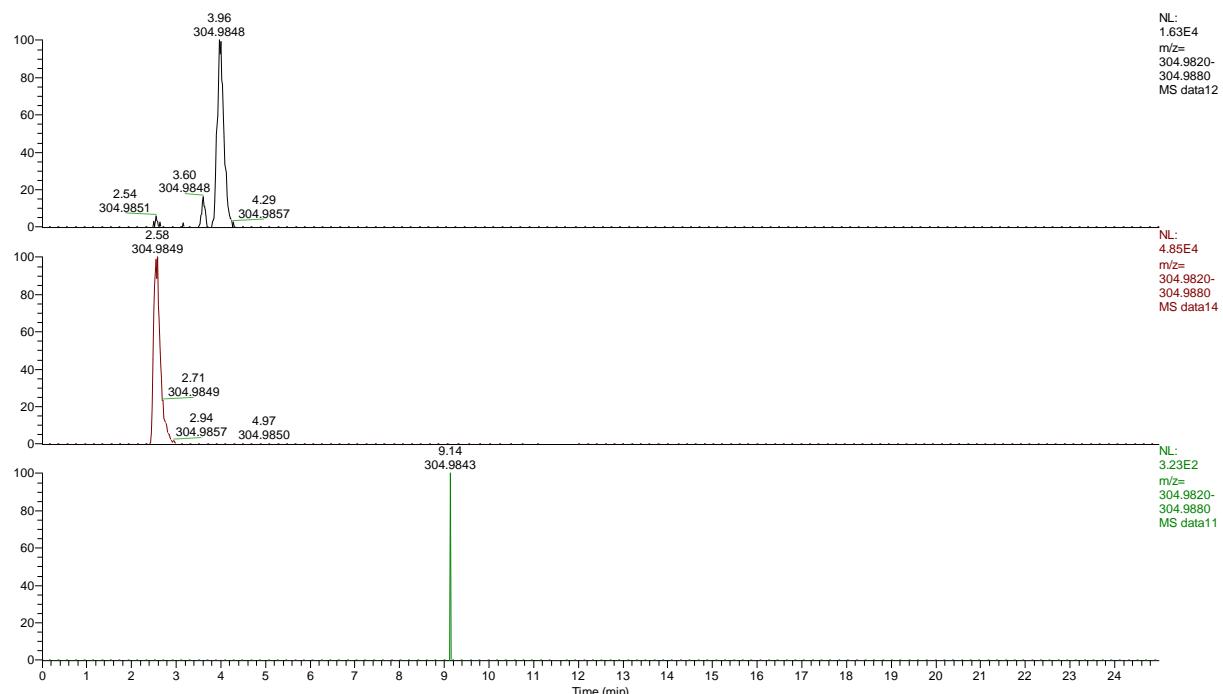
次に、①サンプル中の1,3-DCAを定量したところ、DCP塩素処理時の収率が3.8%であった。1,3-DCAの濃度が明らかになったため、①サンプルの変異原性強度に対する1,3-DCAの変異原性の寄与率を求めた結果、110%となった。このことから、DCP塩素処理サンプル中の主要な変異原は1,3-DCAと結論づけることができる。なお、寄与率が100%を超えたのは、主に変異原性試験の誤差に起因すると考えられる。

発見された1,3-DCAが実河川水中においても生成することを確認するために、実河川水中で塩素処理したDCPサンプル中に含まれる物質をLC/MSを用いて探索した。測定前にサンプル中の被検物質をDNPHで誘導体化した。1,3-DCAのDNPH誘導体のexact massを算出し、算出結果に基づいて抽出イオンクロマトグラムを描いた。その結果、図(1)-12に示すように、純水中でDCPを塩素処理した際に生成した1,3-DCAの他に、カラム保持時間の異なる異性体AおよびC（カラム保持時間の早い順にA、BおよびC）が生成していることが確認された。また、異性体Aおよび1,3-DCA（異性体B）の生成量が減少し、異性体Cの生成量が増加していることが明らかになった。

そこで、最もピークが大きかった異性体Cを同定するために、購入可能であった異性体である



図(1)-12 (E)-1,3-dichloropropene塩素処理物DNPH誘導体化物中の $C_9H_7N_4O_4Cl_2$ （上：純水中での塩素処理、下：河川水中での塩素処理）



図(1)-13 $C_9H_7N_4O_4Cl_2$ の構造異性体のMSクロマトグラム（上：純水中での塩素処理、中：1,1-dichloroacetone誘導体、下：3-chloropropyl chloride誘導体）

1,1-DCAと3-CPCをDNPHで誘導体化して同様に測定した。その結果、3-CPCは検出されなかった。また、図(1)-13に示すように、異性体Cのカラム保持時間は1,1-DCAのカラム保持時間とは異なり、異なる物質であることが明らかとなった。次に、異性体Cを単離してNMRで構造を推定することを試みた。しかし、アセトンと異性体Cの分離が困難であり、NMRを測定することができなかつた。純水中で塩素処理した場合と実河川水中で塩素処理した場合で、各生成物の選択率が大きく異なる結果が得られた理由の詳細は不明であるが、実河川水中の微細な懸濁物質の表面における反応の寄与が考えられる。

なお、本研究における塩素処理は、浄水場における塩素処理条件を考慮せずに実験を行った。今後、本研究により発見された物質の浄水中における存在確認や浄水処理性を検討する必要がある。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

農薬をはじめとする化学物質の環境リスク評価を行う際に、その環境変化体までを含めたリスクを対象にすることは、環境リスク評価の研究分野において最もホットな話題のひとつであり、基本的な評価の考え方やツールの開発が検討課題に挙がっている。そのような科学的・社会的ニーズに基づき、本研究では、農薬からどのような環境変化体が生成し得るのかを検討した。同時に、未同定の環境変化体が多く存在する可能性を指摘した。また、農薬やその環境変化体が浄水処理場で塩素処理を受けた際に、毒性の一種である変異原性を発現し得ることを示し、そのような物質が水道水中に存在するか否かを調査すること、その物質の発がん性を評価することの必要性を示した。同時に、親農薬より環境変化体の方が変異原性物質生成能(Mutagen Formation Potential: MFP)の比活性が高い物質が存在することを示した。一般的に、農薬は環境水中で速やかに分解して毒性が低減すると考えられているが、エンドポイントをMFPにした場合、毒性が上昇する物質が存在することが示された。さらに、モデル農薬として検討した2011農薬年度における使用量が最大であった土壤燻蒸剤D-D ((E)-1,3-dichloropropene)の塩素処理サンプルから強変異原性物質である1,3-dichloroacetoneが生成することを見いだした。この際、近年のLC/MSの技術的進歩を利用した、unknown exploringとも呼ぶべき新たな技術を構築し、環境サンプルのような複雑なマトリックス中に含まれる未知・微量な有害汚染物質の探索・同定技術に道を開いた。unknown exploringは、今後益々多様化していくと考えられる環境汚染物質について、とくに非意図的に生成する未知汚染物質や曝露された既知汚染物質の体内における未知代謝物の探索・同定に寄与すると考えられる。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載する事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

農薬取締法第3条第1項において、農薬の使用による水質汚濁が原因となり、人畜に被害が生ずるおそれがあるときは、環境大臣は当該農薬の登録を保留することとなっている。同法では、

環境経由の農薬の悪影響を律しているため、本研究の成果が検討されることが期待される。

また、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）の優先評価化学物質や、特定化学物質の環境中への排出量の把握等および管理の改善の促進に関する法律（化管法）の特定化学物質については、法の定めあるいは自主的取組による環境リスク評価の実施が求められている。この中で、環境中での分解を含めたリスク評価が求められており、本研究の成果が検討されることが期待される。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) H. TAKANASHI, K. ABIRU, H. TANAKA, M. KISHIDA, T. NAKAJIMA, A. OHKI, T. KONDO, T. KAMEYA and T. MATSUSHITA: Journal of Water and Environment Technology, 10(4), 437-447 (2012)
“Production of Chloro-5-Hydroxy-2-Nitrobenzoic Acid through Chlorination of 3-Methyl-4-Nitrophenol, a Typical Hydrolysate of Fenitrothion”
- 2) H. TAKANASHI, M. KISHIDA, K. ABIRU, T. KONDO, T. KAMEYA, T. MATSUSHITA, T. NAKAJIMA and A. OHKI: Journal of Water Supply: Research and Technology - Aqua, 62(1), 14-22 (2013)
“A screening Study on the Mutagen Formation Potential of 44 Pesticides”
- 3) 高梨啓和、浜崎賢太、加藤雄介、中島常憲、大木 章、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：水環境学会誌、36(2), 29-38 (2013)
「水環境中で生成する農薬変化体の文献研究」
- 4) H. TAKANASHI, T. HAMA, T. NAKAJIMA, A. OHKI, T. KONDO, T. KAMEYA and T. MATSUSHITA: Journal of Water and Environment Technology, 12(1) (2014)
“A screening study of mutagen formation potential (MFP) of pesticide transformation products in water environments (PTPWs) to investigate the MFP changes from their parent pesticides through transformations”

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) 高梨啓和、亀屋隆志：環境科学会誌、25(6), 445-447 (2012)
「農薬分解物の安全性、環境中濃度、浄水処理性～農薬分解物の環境安全管理を目指して～」

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 高梨啓和、加藤雄介、浜崎賢太、中島常憲、大木 章、松下 拓、近藤貴志、亀屋隆志：平成23年度日本水環境学会九州支部研究発表会(2011)

- 「農薬分解物の変異原性および変異原性物質生成能の調査」
- 2) 田中華子、阿比留和也、高梨啓和、中島常憲、大木 章、松下 拓、近藤貴志、亀屋隆志：平成23年度日本水環境学会九州支部研究発表会(2011)
 「農薬分解物塩素処理サンプル中の変異原性物質の探索」
- 3) 阿比留和也、田中華子、高梨啓和、中島常憲、大木 章、松下 拓、近藤貴志、亀屋隆志：第46回日本水環境学会年会(2011)
 「精密質量分析による農薬塩素処理物中の変異原性物質の探索」
- 4) 加藤雄介、浜崎賢太、高梨啓和、中島常憲、大木 章、松下 拓、近藤貴志、亀屋隆志：第46回日本水環境学会年会(2011)
 「農薬分解物の変異原性物質生成能の調査」
- 5) H. TAKANASHI, K. ABIRU, H. TANAKA, M. KISHIDA, T. NAKAJIMA, A. OHKI, T. KONDO, T. KAMEYA and T. MATSUSHITA: Proceedings of 10th China-Japan Water Environment Symposium-Water Reclamation, Remediation and Restoration towards a Greener Asia-, Shenzhen (2012)
 “Accurate Mass Analysis of Chlorination By-Products of Fenitrothion”
- 6) H. TAKANASHI, K. ABIRU, H. TANAKA, M. KISHIDA, T. NAKAJIMA, A. OHKI, T. KONDO, T. KAMEYA and T. MATSUSHITA: Proceedings of the Water and Environment Technology Conference 2012, Tokyo (2012)
 “Production of Chloro-5-Hydroxy-2-Nitrobenzoic Acid through Chlorination of 3-Methyl-4-Nitrophenol, a Typical Hydrolysate of Fenitrothion”
- 7) 高梨啓和、阿比留和也、田中華子、中島常憲、大木 章、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：環境科学シンポジウム 2012、横浜市（2012）
 「フェニトロチオ等を塩素処理した際の副生物の探索」
- 8) H. TAKANASHI, K. ABIRU, M. KISHIDA, T. NAKAJIMA, A. OHKI, T. MATSUSHITA and T. KAMEYA: Proceedings of the IWA World Water Congress & Exhibition, Busan Korea (2012)
 “Qualitative analysis of chlorination byproducts of organophosphorus pesticide fenitrothion”
- 9) H. TAKANASHI, K. ABIRU, H. TANAKA, M. KISHIDA, T. NAKAJIMA, A. OHKI, T. KONDO, T. KAMEYA and T. MATSUSHITA: Proceedings of SETAC Asia/Pacific 2012 Annual Meeting, Kumamoto (2012)
 “Production of Chlorophenols through Chlorination of 3-Methyl-4-Nitrophenol, a Typical Hydrolysate of Fenitrothion”
- 10) 高梨啓和、阿比留和也、田中華子、中島常憲、大木 章、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：第15回日本水環境学会シンポジウム、大阪市（2012）
 「精密質量分析による農薬変化体の探索」
- 11) 高梨啓和：日本分析化学会・機器分析ワークショップ、北九州（2012）
 「精密質量分析に基づいた農薬変化体の探索～フェニトロチオ等を塩素処理した際の副生
成物について～」
- 12) 高梨啓和：日本分析化学会・機器分析ワークショップ、鹿児島（2012）
 「精密質量分析に基づいた農薬変化体の探索～フェニトロチオ等を塩素処理した際の副生

成物について～」

- 13) 高梨啓和、濱美紗希、西山舞、阿比留和也、中島常憲、大木 章、松下 拓、近藤貴志、亀屋隆志：平成24年度日本水環境学会九州支部研究発表会、北九州市（2013）
「精密質量分析と天然同位体パターン分析によるフェニトロチオン光分解物質の探索」
- 14) 阿比留和也、田中華子、高梨啓和、中島常憲、大木 章、松下 拓、近藤貴志、亀屋隆志：平成24年度日本水環境学会九州支部研究発表会、北九州市（2013）
「塩素処理による土壤燻蒸剤1,3-ジクロロプロペニルからの1,3-ジクロロアセトンの生成」
- 15) 田中華子、阿比留和也、高梨啓和、中島常憲、大木 章、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：平成24年度日本水環境学会九州支部研究発表会、北九州市（2013）
「精密質量分析による3-メチル-4-ニトロフェノール塩素処理物中の変異原探索」
- 16) 高梨啓和、迫田健志、浜知広、中島常憲、大木 章、松下 拓、近藤貴志、亀屋隆志：第47回日本水環境学会年会、大阪市（2013）
「農薬分解物の変異原性物質生成」
- 17) 濱美紗希、西山舞、阿比留和也、高梨啓和、中島常憲、大木 章、松下 拓、近藤貴志、亀屋隆志：第47回日本水環境学会年会、大阪市（2013）
「精密質量分析によるフェニトロチオン光分解物質の探索」
- 18) 田中華子、阿比留和也、高梨啓和、中島常憲、大木 章、松下 拓、近藤貴志、亀屋隆志：第47回日本水環境学会年会、大阪市（2013）
「精密質量分析による3-メチル-4-ニトロフェノール塩素処理物中の変異原性物質の探索」
- 19) 阿比留和也、田中華子、高梨啓和、中島常憲、大木 章、松下 拓、近藤貴志、亀屋隆志：第47回日本水環境学会年会、大阪市（2013）
「精密質量分析に基づく1,3-ジクロロプロペニル塩素処理副生成物の探索」
- 20) 高梨啓和：日本分析化学会・機器分析ワークショップ、大分市（2013）
「水道水源保全を指向した農薬取締法改定のための根拠データの取得～質量分析計の基礎から未知物質の構造推定まで～」
- 21) 高梨啓和：日本分析化学会・機器分析ワークショップ、北九州市（2013）
「水道水源保全を指向した農薬取締法改定のための根拠データの取得～質量分析計の基礎から未知物質の構造推定まで～」
- 22) H. TAKANASHI, T. HAMA, T. NAKAJIMA, A. OHKI, T. KONDO, T. KAMEYA and T. MATSUSHITA: Proceedings of the Water and Environment Technology Conference 2013 (2013)
“A screening study of mutagen formation potential (MFP) of pesticide transformation products in water environments (PTPWs) to investigate the MFP changes from their parent pesticides through transformations”
- 23) H. TAKANASHI, M. Hama, M. Nishiyama, K. Abiru, M. Kishida, T. Nakajima, A. Ohki, T. Ueda, T. Kondo, T. Kameya and T. Matsushita: Proceedings of the 5th IWA-ASPIRE Conference & Exhibition, Daejeon, Korea (2013)
“Exploring Photodegradation Products of Organophosphorus Pesticide Fenitrothion by LC/MS”
- 24) 高梨啓和、有島由紀子、濱美紗希、中島常憲、大木 章、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：環境科学会2013年会（2013）

「LC/MSを用いた農薬変化体の探索」

- 25) 高梨啓和、中島常憲、大木 章、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：環境科学会2013年会（2013）
「LC-MSを用いたunknown screeningによる土壤燻蒸剤D-D塩素処理物中の変異原の探索」
- 26) 高梨啓和、濱美紗希、有島由紀子、宮崎菜月、中島常憲、大木 章、上田岳彦、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：第16回日本水環境学会シンポジウム（2013）
「LC/MSを用いた農薬変化体（PTPWs）のunknown screening」
- 27) 高梨啓和、田中華子、糸満桃子、松崎直樹、中島常憲、大木 章、上田岳彦、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：第16回日本水環境学会シンポジウム（2013）
「LC/MSを用いた農薬変化体（PTPWs） 塩素処理物中の変異原の探索」
- 28) 高梨啓和：日本分析化学会機器分析ワークショップ、久留米市（2013）
「農薬塩素処理サンプルからの変異原性物質の探索・同定～質量分析計の基礎から未知物質の構造推定まで～」
- 29) 高梨啓和：日本分析化学会機器分析ワークショップ、熊本市（2013）
「農薬塩素処理サンプルからの変異原性物質の探索・同定～質量分析計の基礎から未知物質の構造推定まで～」
- 30) 高梨啓和：一般財団法人化学物質評価研究機構講演会、久留米市（2013）
「LC-Linear Ion trap-Kingdon trapハイブリッドMSを用いたunknown screeningによる農薬塩素処理サンプルからの変異原性物質の探索・同定」
- 31) H. TAKANASHI: The Japan Science and Technology Agency (JST)/The Chinese Academy of Sciences (CAS) Joint Symposium on Sustainable Social System, Xiamen China, (2014)
“Analysis of chlorination by-products using high-resolution LC/MS”
- 32) 田中華子、糸満桃子、高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：日本水環境学会九州支部研究発表会、霧島市（2014）
「殺虫剤fenitrothionの環境変化体3-methyl-4-nitrophenol塩素処理副生成物の構造解析」
- 33) 有島由紀子、濱美紗希、高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：日本水環境学会九州支部研究発表会、霧島市（2014）
「精密質量分析によるDiuron光分解物質の探索」
- 34) 濱美紗希、宮崎菜月、高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：日本水環境学会九州支部研究発表会、霧島市（2014）
「精密質量解析および修飾反応解析にもとづくフェニトロチオノン変化体の探索」
- 35) 糸満桃子、松崎直樹、田中華子、高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：日本水環境学会九州支部研究発表会、霧島市（2014）
「LC-MSを用いた3-メチル-4-ニトロフェノール塩素処理試料中の変異原性物質の探索」
- 36) 藤木健司、浜 知広、高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、松下 拓、近藤貴志、亀屋隆志：日本水環境学会九州支部研究発表会、霧島市（2014）
「農薬および農薬変化体の構造と変異原性物質生成能(MFP)との関係の検討」
- 37) 松崎直樹、糸満桃子、田中華子、高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、松下 拓、近藤貴志、亀屋隆志：日本水環境学会九州支部研究発表会、霧島市（2014）
「3-ヒドロキシベンジルアルコール塩素処理物中の変異原の探索」

- 38) 浜 知広、藤木健司、高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、松下 拓、近藤貴志、亀屋 隆志：日本水環境学会九州支部研究発表会、霧島市（2014）
「農薬変化体等の変異原性および変異原性物質生成能(MFP)の検討」
- 39) 宮崎菜月、有島由紀子、濱美紗希、高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：日本水環境学会九州支部研究発表会、霧島市（2014）
「LC/MSによる農薬光照射サンプル中の未知変化体のスクリーニング」
- 40) 浜 知広、藤木健司、高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：日本水環境学会九州支部研究発表会、霧島市（2014）
「農薬変化体等の変異原性および変異原性物質生成能(MFP)の調査」
- 41) 高梨啓和、宮崎菜月、有島由紀子、濱美紗希、中島常憲、大木 章、上田岳彦、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：日本水環境学会九州支部研究発表会、霧島市（2014）
「精密質量解析による農薬光照射サンプル中の未知変化体のスクリーニング」
- 42) 田中華子、糸満桃子、高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：日本水環境学会九州支部研究発表会、霧島市（2014）
「殺虫剤fenitrothionの環境変化体3-methyl-4-nitrophenol塩素処理副生成物の構造推定」
- 43) 濱美紗希、宮崎菜月、高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓：日本水環境学会九州支部研究発表会、霧島市（2014）
「精密質量解析および修飾反応解析によるフェニトロチオノン変化体の探索」

（3）出願特許

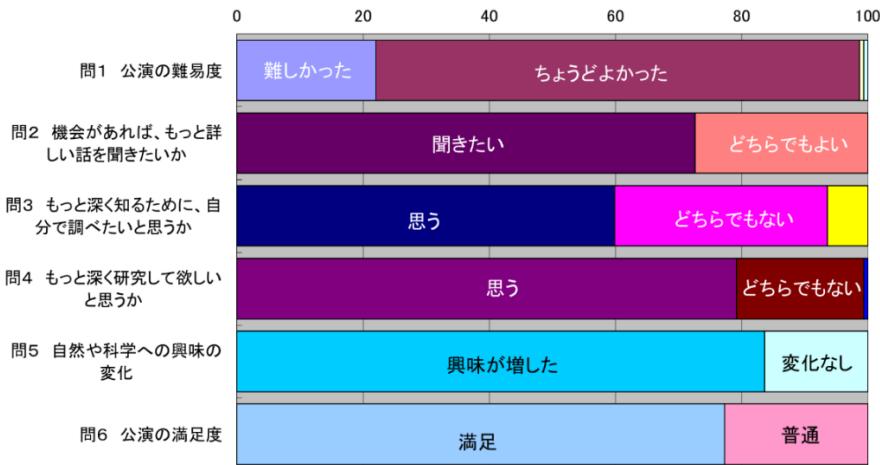
特に記載すべき事項はない。

（4）シンポジウム、セミナー等の開催（主催のもの）

- 1) 農薬分解物の安全性、環境中濃度、浄水処理性～農薬分解物の環境安全管理を目指して～（2012年9月13日、横浜国立大学、観客20名程度）
- 2) 農薬変化体の環境安全管理を目指して（2013年9月4日、静岡県コンベンションアーツセンター、観客20名程度）
- 3) 国民と科学・技術対話、工学部における環境研究の実際（2011年7月19日、北九州市、観客12名）
- 4) 国民との科学・技術対話、10回実施、アンケート調査用紙159名分を回収・集計（集計結果を図(1)-14に示す。）

（5）マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。



図(1)-14 国民との科学・技術対話イベントの実施結果

(6) その他

- 1) H. TAKANASHI: WET Excellent Presentation Award, Japan Society on Water Environment (2012)
“Production of chloro-5-hydroxy-2-nitrobenzoic acid through chlorination of 3-methyl-4-nitrophenol, a typical hydrolysate of fenitrothion Japan Society on Water Environment”
- 2) 阿比留和也：第47回日本水環境学会年会優秀発表賞（2013）
「農薬変化体等の変異原性および変異原性物質生成能(MFP)の調査」
- 3) H. TAKANASHI, T. HAMA, T. NAKAJIMA, A. OHKI, T. KONDO, T. KAMEYA and T. MATSUSHITA: WET Excellent Research Award, Japan Society on Water Environment (2013)
“A screening study of mutagen formation potential (MFP) of pesticide transformation products in water environments (PTPWs) to investigate the MFP changes from their parent pesticides through transformations”
- 4) 浜 知広、藤木健司、高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、松下 拓、近藤貴志、亀屋 隆志：第48回日本水環境学会年会学生ポスター発表賞（2014）
「農薬変化体等の変異原性および変異原性物質生成能(MFP)の調査」

8. 引用文献

- 1) BOXALL, A.B.A. ed.: Handbook of environmental chemistry, Subseries 2, Springer-Verlag, Berlin, 249pp. (2009)
“Transformation products of synthetic chemicals in the environment”
- 2) AIZAWA, H., ed.: Metabolic maps: Pesticides, environmentally relevant molecules and biologically active molecules, Academic Press, Tokyo, 330pp (2009)
- 3) 労働省化学物質調査課編：新・微生物を用いる変異原性試験ガイドブック，187pp，中央労働災害防止協会，東京（1986）
- 4) TAKANASHI, H., URANO, K., HIRATA, M., HANO T., and OHGAKI, S.: Water Research, **35**, 7, 1627–1634 (2001)

- “Method for measuring Mutagen Formation Potential (MFP) on chlorination as a new water quality index”
- 5) DEJONCKHEERE, W.P. and Kips, R.H.: Journal of Agricultural Food Chemistry, **22**, 959–968 (1974) “Photodecomposition of Methidathion”
- 6) TSAO, R. and ETO, M.: Journal of Pesticide Science, **14**, 47–51 (1989)
“Chemical and photochemical transformation of the insecticide cartap hydrochloride into nereistoxin”
- 7) DURAND, G., BARCELÓ, D., ALBAIGES, J. and MANSOUR, M: Toxicology and Environmental Chemistry, **31**, 55–62 (1991)
“On the photolysis of selected pesticides in the aquatic environment”
- 8) McCall, P.J.: Pesticide Science, **19**, 235–242 (1987)
“Hydrolysis of 1,3-dichloropropene in dilute aqueous solution”
- 9) MINGXIN, G., SHARON, K.P., WEI, Z. and SCOTT, R.Y.: Journal of environmental quality, **33**, 612–618 (2004)
“Effects of environmental factors on 1,3-dichloropropene hydrolysis in water and soil”
- 10) LIEBERMAN, M.T. and ALEXANDER, M.: Journal of Agricultural Food Chemistry., **31**, 265–267 (1983)
“Microbial and nonenzymatic steps in the decomposition of dichlorvos (2,2-dichlorovinyl O,O-dimethyl phosphate)”
- 11) ZHANG, Q. and PEHKONEN, S.,O.: Journal of Agricultural Food Chemistry, **47**, 1760–1766 (1999)
“Oxidation of diazinon by aqueous chlorine: kinetics, mechanisms, and product studies”
- 12) IBÁÑEZ, M., SANCHO, J.V., POZO, Ó.J. and HERNÁNDEZ, F.: Analytical and Bioanalytical Chemistry, **384**, 448–457 (2004)
“Use of liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry in the elucidation of transformation products and metabolites of pesticides. Diazinon as a case study”
- 13) DEJONCKHEERE, W.P. and KIPS, R.H.: Journal of Agricultural Food Chemistry, **22**, 959–968 (1974)
“Photodecomposition of Methidathion”
- 14) ZAMY, C., MAZELLIER, P. and LEGUBE, B.: Water Research, **38**, 2305–2314 (2004)
“Phototransformation of selected organophosphorus pesticides in dilute aqueous solutions”
- 15) BÖRJESSON, E., TORSTENSSON, L.: Journal of Chromatography A, **886**, 207–216 (2000)
“New methods for determination of glyphosate and (aminomethyl)phosphonic acid in water and soil”
- 16) DERBALAH, A.S.H., WAKATSUKI, H., YAMAZAKI, T. and SAKUGAWA, H.: Geochemical Journal., **38**, 201–213 (2004)
“Photodegradation kinetics of fenitrothion in various aqueous media and its effect on steroid hormones biosynthesis”
- 17) MATSUSHITA, T., MATSUI, Y. and MATSUI, Y.: Chemosphere, **64**, 144–151 (2006)

- “Estimating mutagenic compounds generated during photolysis of fenitrothion—by HPLC fractionation followed by mutagenicity testing and high-resolution GC–MS analysis”
- 18) KORMALI, P., DIMOTICALI, D., TSIPI, D., HISKIA, A. and PAPACONSTANTINOU, E.: Applied Catalysis B: Environmental, **48**, 175–183 (2004)
“Photolytic and photocatalytic decomposition of fenitrothion by $\text{PW}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$ and TiO_2 : a comparative study”
- 19) BAROJA, O., UNCETA, N., SAMPEDRO, M.C., GOICOLEA, M.A. and BARRIO, R.J.: Journal of Chromatography A, **1059**, 165–170 (2004)
“Optimization and validation of a method of analysis for fenitrothion and its main metabolites in forestry air samples using sorbent tubes with thermal desorption cold trap injection and gas chromatography–mass spectrometry”
- 20) BARCELÓ, D., DURAND, G., de BERTRAND, N. and ALBAIGÉS, J.: Science of the Total Environment, **132**, 283–296 (1993)
“Determination of aquatic photodegradation products of selected pesticides by gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-mass spectrometry”
- 21) WEBER, J., KURKOVÁ, R., KLÁNOVÁ, J., KLÁN, P. and HALSALL, C.J.: Environmental Pollution, **157**, 3308–3313 (2009)
“Photolytic degradation of methyl-parathion and fenitrothion in ice and water: Implications for cold environments”
- 22) LACORTE, S. and BARCELÓ, D.: Environmental Science & Technology, **28**, 1159–1163 (1994)
“Rapid degradation of fenitrothion in estuarine waters”
- 23) DURAND, G., MANSOUR, M. and BARCELÓ, D.: Analytica Chimica Acta, **262**, 167–178 (1992)
“Identification and determination of fenitrothion photolysis products in water—methanol by gas chromatography—mass spectrometry”
- 24) SAKELLARIDES, T.M., SISKOS, M.G. and ALBANIS, T.A.: International Journal of Environmental Analytical Chemistry, **83**, 33–50 (2002)
“Photodegradation of selected organophosphorus insecticides under sunlight in different natural waters and soils”
- 25) CASTILLO, M., DOMINGUES, R., ALPENDURADA, M.F. and BARCELÓ, D.: Analytica Chimica Acta, **353**, 133–142 (1997)
“Persistence of selected pesticides and their phenolic transformation products in natural waters using off-line liquid solid extraction followed by liquid chromatographic techniques”
- 26) OUBIÑA, A., FERRER, I., GASCÓN, J. and BARCELÓ, D.: Environmental Science & Technology, **30**, 3551–3557 (1996)
“Disappearance of aerially applied fenitrothion in rice crop waters”
- 27) CHAVES, A., SHEA, D. and DANEHOWER, D.: Chemosphere, **71**, 629–638 (2008)
“Analysis of chlorothalonil and degradation products in soil and water by GC/MS and LC/MS”
- 28) PEÑUELA, G., A. and BARCELÓ, D.: Journal of Chromatography A, **823**, 81–90 (1998)

- “Photodegradation and stability of chlorothalonil in water studied by solid-phase disk extraction, followed by gas chromatographic techniques”
- 29) BARCELÓ, D., CHIRON, S., FERNANDEZ-ALBA, A., VALVERDE, A., and ALPENDURADA, M.F.: Herbicide Metabolites in Surface Water and Groundwater, ACS Symposium Series, Vol. 630, American Chemical Society, Chapter 18, 237–253 (1996)
“Monitoring pesticides and metabolites in surface water and groundwater in Spain”
- 30) LAGANÀ, A., BACALONI, A., LEVA, I.D., FABERI, A. and FAGO, G., MARINO, A.: *Analytica Chimica Acta*, **462**, 187–198 (2002)
“Occurrence and determination of herbicides and their major transformation products in environmental waters”
- 31) CONNORS, T.F., STUART, J.D. and COPE, J.B.: *The Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **44**, 288–293 (1990)
“Chromatographic and mutagenic analysis of 1,2-dichloropropane and 1,3-dichloropropylene and their degradation products”
- 32) ZBIGNIEW, H.K., DOROTA, K.G., JÓZEF, D. and JERZY, L.: *Journal of Chromatography A*, **947**, 129–141 (2002)
“Novel approach for the simultaneous analysis of glyphosate and its metabolites”
- 33) LUND-HØIE, K. and FRIESTAD, H.O.: *The Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **36**, 723–729 (1986)
“Photodegradation of the herbicide glyphosate in water”
- 34) KRALJ, M.B., TREBŠE, P. and ZUPANČIČ-KRALJ, L.: *Chemosphere*, **50**, 595–601 (2003)
“Investigations of the determination and transformations of diazinon and malathion under environmental conditions using gas chromatography coupled with a flame ionisation detector”
- 35) KRALJ, M.B., FRANKO, M. and TREBŠE, P.: *Chemosphere*, **67**, 99–107 (2007)
“Photodegradation of organophosphorus insecticides – Investigations of products and their toxicity using gas chromatography–mass spectrometry and AChE-thermal lens spectrometric bioassay”
- 36) KRALJ, M.B., ČERNIGOJ, U., FRANKO, M. and TREBŠE, P.: *Water Research*, **41**, 4504–4514 (2007)
“Comparison of photocatalysis and photolysis of malation, isomalation, malaoxon, and commercial malathion–Products and toxicity studies”
- 37) 巴山忠：福岡大学薬学集報、第8巻、84-99 (2008)
「LC-MS/MSによる環境負荷化学物質の分析に関する研究」
- 38) SANDAHL, M., MATHIASSEN, L. and JÖNSSON, J.,Å.: *Journal of Chromatography A*, **893**, 123–131 (2000)
“Determination of thiophanate-methyl and its metabolites at trace level in spiked natural water using the supported liquid membrane extraction and the microporous membrane liquid–liquid extraction techniques combined on-line with high-performance liquid chromatography”

(2) 農薬加水分解物の河川水中濃度モニタリング

横浜国立大学

大学院環境情報研究院環境リスクマネジメント専攻 環境管理学研究室
<研究協力者>

亀屋 隆志

横浜国立大学大学院環境情報研究院・産学連携研究員

近藤 貴志

平成23～25年度累計予算額：34,010千円

(うち、平成25年度予算額：11,696千円)

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

農薬は、水田や畑、森林などに散布され、その除草、殺虫、殺菌、成長促進などの薬効を発揮した後には、自然的な作用によって速やかに分解されて環境中へ排出されないことが望ましいとされ、環境中での分解性が高く、すなわち残留性が低い農薬が開発されてきた。しかし、ここでいう分解性は、農薬分子の複雑な構造の一部が改変するだけの一次分解であり、無害な二酸化炭素や水にまで至る完全分解ではない場合が多く、その結果、農薬からの分解生成物が環境中に残存することになる。河川水等から検出される農薬の濃度は、最大でもppbオーダーと低いものだが、米国において河川水中の農薬および農薬分解物の濃度を測定した例では、分解物の方が138倍も高濃度で検出された報告もある。そこでサブテーマ2では、多数の農薬および農薬加水分解物の一斉分析方法を確立するとともに、それらの河川水中濃度の実態調査（モニタリング）を実施した。

その結果、親農薬37物質とその環境変化体（PTPWs）63物質について、河川水試料に対し共通の固相抽出と窒素バージ濃縮を施した後にGC/MSあるいはLC/MS/MSで一斉分析を行うための保持時間とイオン化モードおよび質量スペクトルに関する分析条件のデータベースを構築できた。この方法を用いて水道水源として利用される河川地点についての広域モニタリング調査、農耕期前後における農耕地近傍河川での集中モニタリング調査および都市河川の一般環境測定点での調査を計42地点311試料について実施した結果、環境変化体が親農薬の消失に伴って出現し、また時間とともに消失していくといった様子が観察され、また、農耕地および一般環境測定点や水道水源においても、親農薬に比べてPTPWsが高濃度で検出されるケースがかなりの割合で観測された。これらの結果より、環境中に排出された農薬にはそのPTPWsが河川水中に一定期間残存するものが多数あり、親農薬に比べてむしろPTPWsの方が高頻度・高濃度に検出されうる実態も明らかになったことから、新たな環境汚染物質としてのPTPWsの重要性を裏付けるデータが示された。

[キーワード]

一斉分析、GC/MS、LC/MS/MS、環境モニタリング、河川水

1. はじめに

農薬は、水田や畑、森林などに散布され、その除草、殺虫、殺菌、成長促進などの薬効を発揮した後には、自然的な作用によって速やかに分解されて環境中へ排出されないことが望ましいと

され、環境中での分解性が高く、すなわち残留性が低い農薬が開発されてきた。しかし、ここでの分解性は、農薬分子の複雑な構造の一部が改変するだけの一次分解であり、無害な二酸化炭素や水にまで至る完全分解ではない場合が多く、その結果、農薬の環境変化体（Pesticide Transformation Products in Water Environments: PTPWs）が水環境中に残存することになる。

河川水等から検出される農薬の濃度は、最大でもppbオーダーと低いものだが、米国において河川水中の農薬および農薬分解物の濃度を測定した例では、分解物の方が138倍も高濃度で検出された報告もある。わが国もおいても、有機塩素系殺虫剤のジクロロジフェニルトリクロロエタンやベンゼンヘキサクロリドが1971年の農薬取締法の改正施行に伴って農業用としての使用がすべて禁止になったが、使用禁止以降、これらの親農薬が水中や土壤中などの環境中で加水分解や光分解および微生物分解されて生成した環境変化体の残留が認められ、生態系への懸念されるようになった。例えば、ジクロロジフェニルトリクロロエタンの環境変化体の一つであるジクロロジフェニルジクロロエチレンは、環境中に長期間にわたって残留することが知られており、食物連鎖を通じた野生生物への影響が懸念されている¹⁾。また、有機りん系農薬は、急性毒性であるアセチルコリンエステラーゼ活性障害や、慢性毒性である神経毒性が知られており、特に変化体であるオキソノ体の方が親農薬（原体）に比べて数百～一万倍程度にまで毒性が高まるとの報告もある。このため、有機りん系農薬のオキソノ体には検査法が定められ、監視が行われている²⁾。

農薬およびその環境変化体等の安全性は、農薬登録時に確認されることになっており、農薬登録にあたって申請者から提出された申請書や各種試験データに基づき審査が行われる。試験には毒性試験や生体内等代謝試験などが行われ、毒性・水産動植物に対する影響に加え、生成する変化体の種類や残留性も審査内容に含まれている³⁾。しかしながら、これらの確認は農薬登録前に行う事前確認の制度であるため、物質の毒性情報や物理化学的性状等のハザード情報に基づき行われているものであり、実際に様々な農薬が水田や畑等で農薬が使用された後に、環境中へどのように排出され、どのような変化を受けてどのような環境変化体が生じ、それらが実環境中でどの程度残留しているのかについては情報が少ない。このため、化学物質の環境リスク評価の観点からみれば、様々な農薬およびその環境変化体の環境中での存在状況について懸念が残る状況となっている。

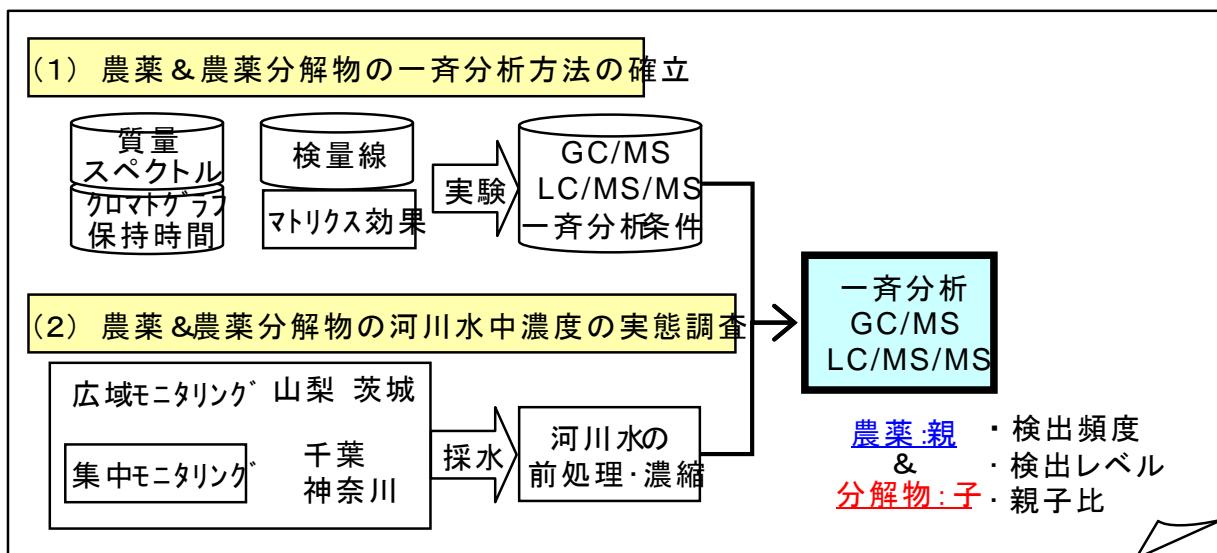
一方、水環境中には極めて多種の化学物質が存在すると考えられるが、ppbオーダーで存在する物質はほとんどない。それにも拘わらず、それら微量化学物質の存在が懸念される理由は、多くの物質の中に特異的に毒性が高い物質が存在するからである。そのため、微量化学物質を低濃度まで精度良く効率的に分析することが必要となるが、近年は、ガスクロマトグラフィー質量分析（GC/MS）法や液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC/MS/MS）法などの精度の高い微量分析技術が格段に進歩してきており、pptオーダーまでの高精度分析が可能となる物質も増えている。

2. 研究開発目的

サブテーマ2では、農薬およびその環境変化体（PTPWs）の河川水中でのモニタリングデータを蓄積し、これらにより、水道原水となる河川水中での農薬の濃度は低いが、PTPWsの濃度は比較的高い場合があることを示し、PTPWsの水環境中でのモニタリングが重要であることを示すこととした。このため、多数の農薬およびその環境変化体を効率的にモニタリングするための一斉

分析方法を確立するとともに、その確立した方法を農耕地近傍の河川水や一般環境の河川水および水道水源として利用されている河川水モニタリングに適用して、農薬およびその環境変化体の河川水中濃度の実態調査を実施した。サブテーマ2における研究アプローチの概要を図(2)-1に示した。

一斉分析方法の確立においては、より多数の親農薬およびその環境変化体を効率よく分析できるようにすることを念頭におき、サンプリングした河川水試料に共通の前処理を施し、GC/MSあるいはLC/MS/MSで同時分析するための条件の確立を行うこととした。また、実態調査においては、農薬使用の多様性を鑑みて、茨城県から千葉県、神奈川県、山梨県まで関東地方の広域に亘る河川の調査を行うとともに、この地域において水道水源として利用されている河川水の調査や、春から夏にかけての農耕期における農耕地近傍での集中調査を行って、検出される農薬およびその環境変化体の種類、それらの出現と消長の様子、濃度レベル、親子での濃度比などを調べることとした。



図(2)-1 サブテーマ2における研究アプローチの概要

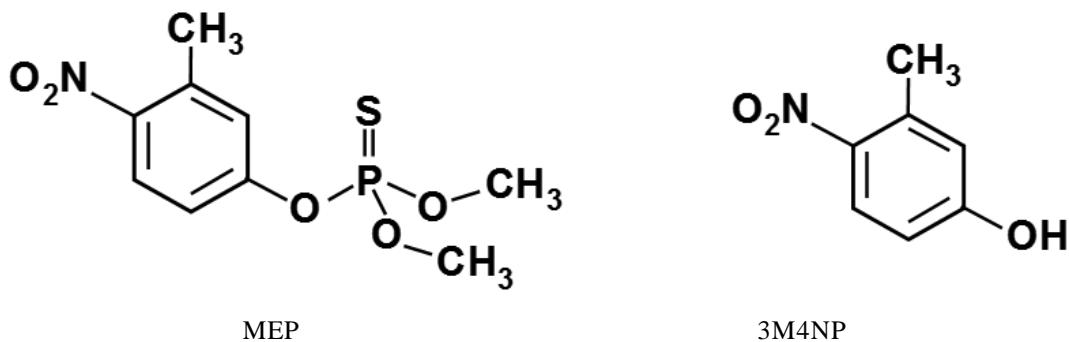
3. 研究開発方法

(1) 3-メチル-4-ニトロフェノール(3M4NP)の河川水モニタリングの先行調査

代表的な殺虫剤であるフェニトロチオン(MEP)の加水分解物3-メチル-4-ニトロフェノール(3M4NP)を例に、河川水モニタリングの先行調査を行った。この先行調査は、初年度に当たり、親子関係が明らかであり、使用量も多いフェニトロチオンとそのPTPWである3M4NPを対象して、複数の県にまたがる広域調査と場所と地点を絞った集中調査により、農薬とその環境変化体の検出についての時空間的な調査事例を蓄積し、一斉分析法の開発ならびにモニタリング実態調査の方法論の確立のモデルにしようとしたものである。

フェニトロチオン(MEP)は、代表的な有機リン酸エステル系殺虫剤であり、リン酸基が加水分解して水酸基(-OH)に置換され、主要な変化体である3M4NPが生成する(図(2)-2)。神奈川県内の農耕地におけるMEPの使用量は平成17農薬年度で約3トンと推定され、その主な適用作物はみかん、

水稻、なし、すいかなどとなっている。他県においても水稻や果樹、その他ゴルフ場や森林、家庭園芸などでも広く使用されていることに留意し、サンプリング地点としては、関東近郊の神奈川県、千葉県、山梨県を選んだ。フェニトロチオンの分解の程度の違いによる影響も加味できるように、各県が設置している公共水域の環境測定点39地点と、農耕地の発生源近傍4地点を選んだ。また、環境測定点では季節サンプリングを、発生源となる農耕地近傍にいては、春から夏の農耕期に週2回程度の集中サンプリングを実施した。



図(2)-2 先行調査対象のフェニトロチオン(MEP)と3-メチル-4-ニトロフェノール(3M4NP)

(2) 農薬加水分解物等の一斉分析に必要な分析条件の検討とデータベースの整備

水道法、特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律（化管法）等において規制対象となる農薬を対象に継続的な文献調査を行って新たな農薬およびそのPTPWsを探査・整理し、一斉分析対象物質のデータベース化を図った。

親子関係が明らかになった対象物質について、汎用性の高い四重極型ガスクロマトグラフ質量分析装置GC/MS（島津製作所、GCMS-QP2010 plus）およびトリプル四重極型高速液体クロマトグラフ質量分析装置LC/MS/MS（サーモサイエンティフィック、TSQ Quantum Access MAX）を用いた農薬およびPTPWsの一斉分析について検討を行った。それぞれ適用可能な分析機器において、クロマトグラム保持時間、イオン化モードや定性イオンと定量イオンの質量スペクトル、検量線データを実験により取得して、一斉質量分析データベースの整備を行った。そのうえで、対象とした親農薬およびその環境変化体（PTPWs）について、河川水中の共存物質によるマトリクス効果の実態把握と改善を図るとともに、固相抽出から機器分析に至るまでの回収率や分析感度、定量下限などの精査を行った。

(3) 農薬およびPTPWsの河川水モニタリング

高性能の吸着樹脂および活性炭を用いた固相抽出カートリッジ（Sep-Pak PS-2およびSep-Pak AC-2、いずれも日本ウォーターズ）からアセトン溶出ならびに窒素ページ濃縮を行う共通の前処理法について、水試料からの回収率の確認を行った。この前処理法と上記の一斉分析法を用いて、アドバイザリーボード会合での指摘などに基づき、水道原水となる河川水域を主たる調査対象として、農薬使用の異なる地域の広がりや季節変化をみるための広域モニタリングと、農耕期における分解による親子比の変化をみるための集中モニタリングを実施した。河川水をサンプリングし、前処理と濃縮を行って分析測定を行い、検出頻度や検出レベル、親子比の把握を行った。農

葉およびその環境変化体の一斉分析の一連の流れを図(2)-3に示した。

1) 試料水の調製

a 試料水のサンプリングとろ過、保存

モニタリング地点においてサンプリングした河川水試料を10Lポリタンクに入れて研究室に搬送した。この際、川幅の大きい河川においては河川の流れの中央部から試料水を採水し、枝や葉など大きな固形物が出来るだけ入らないようにし、試料水でポリタンクを共洗いして用いた。ポリタンクの容量一杯に試料水を満たし、試料水が空気に触れないようにした。研究室へ持ち帰った試料水は直ちに、ガラス繊維ろ紙（GA-100、有効径1.0μm、ADVANTEC社製）で吸引ろ過して懸濁物質を取り除いた。ろ過した水は、基本的には速やかに濃縮操作を行うが、作業が翌日に持ち越す場合には、4℃の冷蔵庫で暗所保管した。

b 固相抽出カートリッジのコンディショニングと通水

固相抽出カートリッジSep-Pak PS-2およびSep-Pak AC-2は、カートリッジ内に残存する可能性がある汚染物質を除去するためにコンディショニングを行ってから使用した。コンディショニング方法は、AC-2に最大5個を連結させ、ヘキサン10mL(10mL/min×1min)とアセトン10 mL(10 mL/min×1min)の順で、PS-2も最大5個連結させ、アセトン10mL(10mL/min×1min)を脱離方向に上向流で通液させた後、イオン交換樹脂と活性炭を通したイオン交換活性炭処理水（以下、IE/AC水）を100mL(20mL/min×5min)を吸着方向に上向流で通水した。

コンディショニング済みのPS-2とAC-2をPS-2への通水が先となるように1つずつ連結させたものをコンセントレーターにセットして、1Lあたり塩化ナトリウム25gと0.5Mリン酸緩衝液4mLを添加したろ過試料水を流量15mL/minで1000mLを通水した。

c 固相抽出カートリッジからの脱離と窒素ページ濃縮

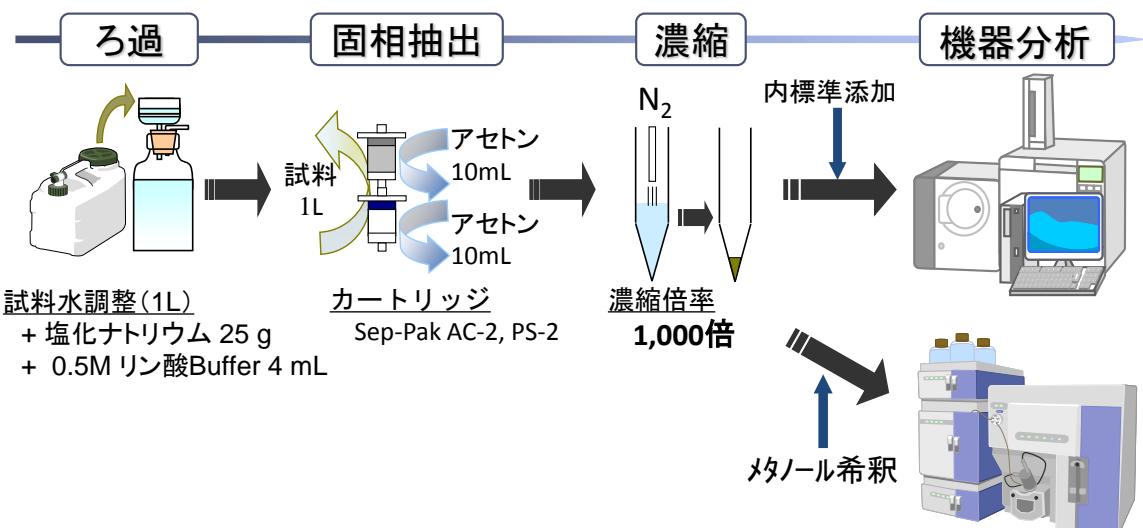
試料水を通水した固相カートリッジを連結したまま、そこへ常温の窒素ガスを40 L(1L/min×40min)通気してカートリッジ内をある程度乾燥させた。乾燥後、PS-2とAC-2の連結を外し、通水した方向とは逆の方向にそれぞれアセトン9mL (1mL/min×9min)を通液して10mL遠沈管に受けた。直ちに濃縮を行わない場合は、遠沈管のねじ口の上からパラフィルムを巻いて-20℃のメディカルフリーザ内で保管した。

脱離後、35℃の湯浴下で遠沈管に入れた脱離液に窒素ガスを吹き付けて濃縮を行った。およそ5.5mLまで濃縮した後、遠沈管内の試料上部の内壁に付着・残存している可能性がある部分をアセトン0.5mLで洗い流した後、再び窒素ガスを吹き付けて、液量が3.0 mLとなったところでPS-2脱離液の遠沈管内にAC-2脱離液の遠沈管内の濃縮液を移し入れて混合した。AC-2脱離液の遠沈管の内壁をアセトン2.0mLを数回に分けてよく洗い流し、この洗い流した液も混合した。混合した脱離液に再び窒素ガスを吹き付け、液量が3.5mLとなった時に0.5 mLアセトンで管壁を洗い流した。その後、再び窒素ガスを吹き付けて1.0 mLまで濃縮した。直ちに分析を行わない場合は、遠沈管のねじ口の上からパラフィルムを巻いて-20℃のディープフリーザーで保管した。

d 機器分析

GC/MS分析およびLC/MS/MS分析の運転条件を表(2)-1に示した。GC/MS分析は、北九州市立大学の門上希和夫教授が開発した全自動同定・定量データベース（AIQS-DB）システムにおける運転条件に準じることにした。分離カラムも同システムに準じたJ&W DB-5ms（Agilent社製、 $30\text{m}\times 0.25\text{mm}\times 0.25\mu\text{m}$ ）とした。この分離カラムは、疎水性がきわめて高い物質や極性が高い物質、揮発性物質などにはあまり適さないとされるが、同AIQS-DBシステムでは、農薬をはじめとする半揮発性物質を主な対象物質とされており、これに準じることで汎用性の高い検出が行えると考えた。電子イオン化(EI)法はGC/MS分析でもっともよく使用されるイオン化法であり、定性および定量の両方の分析で非常に有用とされている方法を採用した。

また、LC/MS/MS分析においても、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)分析で汎用性の高いオクタデシルシリル(ODS)系カラム(C18カラム)と電子スプレーイオン化(ESI)法によるイオン化を採用し、より幅広い物質に対応できるようにした。



図(2)-3 農薬およびその環境変化体の一斉分析の流れ

4. 結果及び考察

(1) 3-メチル-4-ニトロフェノール(3M4NP)の河川水モニタリングの先行調査

フェニトロチオン(親)と3M4NP(子)のモニタリングの先行調査の地点を選定し図(2)-4に示した。神奈川県内では、水道水源として利用されている相模川と酒匂川のほか、下水放流水や農耕地排水が混入する境川、都市部を貫流しており汚染が全国的に有名な鶴見川などに設置された一般環境測定点から上流／下流の流れを考慮して23地点を選んだ。このほか、農耕地近傍の河川として4地点を別に選んだ。千葉県内では、水道水源として利用されている養老川や小櫃川などに設置された一般環境測定点から上流／下流の流れを考慮して10地点を選んだ。山梨県内では、富士川へつながる笛吹川およびその支流に設置された一般環境測定点から上流／下流の流れを考慮して6地点を選んだ。

表(2)-1 GC/MS分析およびLC/MS/MS分析の運転条件

GC/MS分析条件

GC/MS	島津 GCMS-QP2010 plus
カラム	J&W DB-5ms (30 m × 0.25 mm, 0.25 µm)
カラム昇温プログラム	40 °C (2 min) → 8 °C/min → 310 °C (5 min)
イオン源温度	200 °C
気化室温度	250 °C
インターフェイス温度	300 °C
注入モード	スプリットレス
キャリアガス	ヘリウム
キャリアガス流速	40 cm/sec
イオン化法	EI
測定モード	Fast Automated Scan/SIM Type (FASST)
試料注入量	1 µL

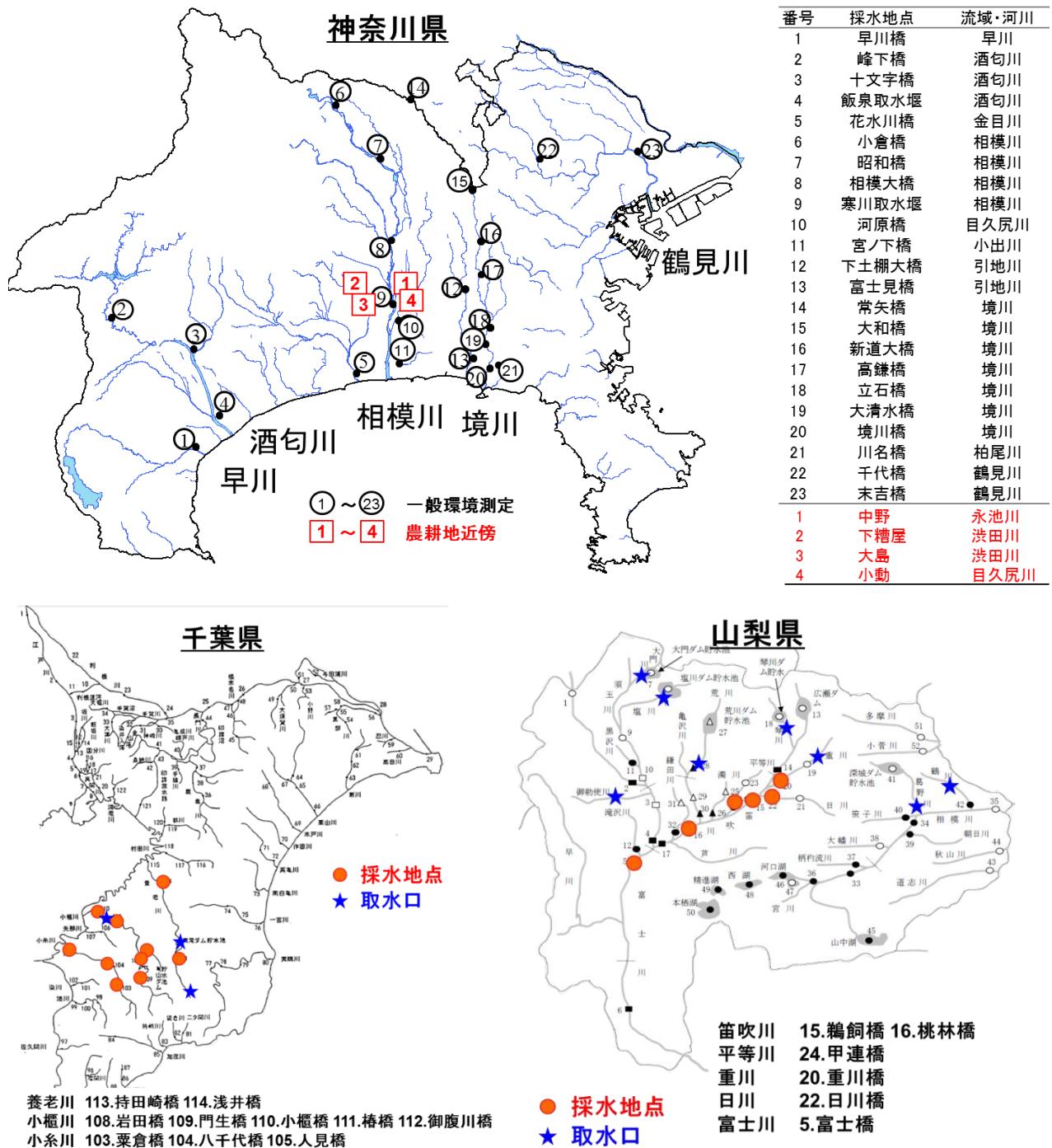
LC/MS/MS分析条件

LC/MS/MS	Thermo Scientific TSQ Quantum Access MAX
カラム	Hypersil GOLD (50 mm × 2.1 mm, 1.9 µm)
移動相	A: メタノール, B: 2 mM ギ酸アンモニウム A [vol%] 1% (0 min) → 1% (2 min) → 60% (4 min) → 75% (10 min) → 99% (15 min) → 1% (15.01 min) → 1% (18 min)
イオン化法	エレクトロニスプレー法
スプレー電圧	3000 V (ポジティブモード), 2500 V (ネガティブモード)
シースガス圧力	50 arb
補助ガス圧力	15 arb
	キャピラリー温度 270 °C
脱溶媒ガス温度	450 °C
衝突ガス圧力	1.5 mTorr
	測定モード Timed SRM with EZ Method
	試料注入量 5 µL

上記の計39地点においてフェニトロチオン(親)と3M4NP(子)のモニタリングの先行調査を行った結果を図(2)-5に示した。その結果、親農薬のフェニトロチオンは、延べ107試料中51試料 (48%) で検出され、その環境変化体である3M4NPは33試料 (31%) で検出され、かなり高い検出率であった。このとき検出された濃度レベルは、フェニトロチオン(親)が1.1µg/L、3M4NP(子)が0.44µg/L (いずれも神奈川県) であり、米国食品医薬品局(U.S. Food and Drug Administration: USFDA)が飲料水中の微量汚染物質の閾値とする0.75µg/Lに近いレベルでも存在しうることが確認された。千葉県内の10地点および山梨県内の6地点においては、フェニトロチオン(親)と3M4NP(子)のいずれもおおむね0.1µg/L以下の濃度であり、顕著な汚染物質としての検出ではなかった。

また、いずれか一方が検出された地点において、フェニトロチオン(親)に比べて3M4NP(子)の方が濃度の高くなっている場合が107試料中15試料 (25%) あることが明らかになった。これはフェニトロチオン(親)と3M4NP(子)それぞれの検出率からみても、環境変化体が親農薬とほぼ同等以上の濃度で検出されうることを示したデータとして注目すべき結果であった。

また、サブグループ1での過去の研究において、3M4NP(子)はフェニトロチオン(親)に比べて約30倍の変異原性物質生成能 (MFP) の比活性があることがわかっており、これを考慮すれば、実

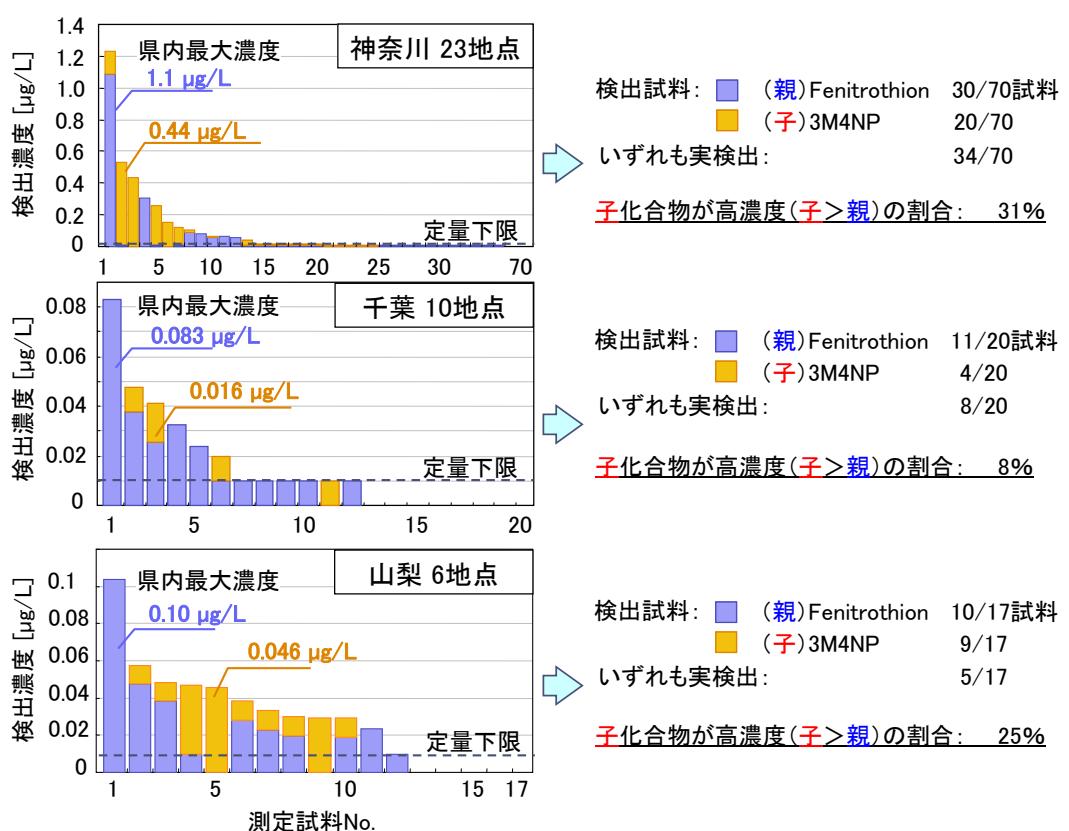


図(2)-4 MEPおよび3M4NPの河川水モニタリング先行調査の対象地点

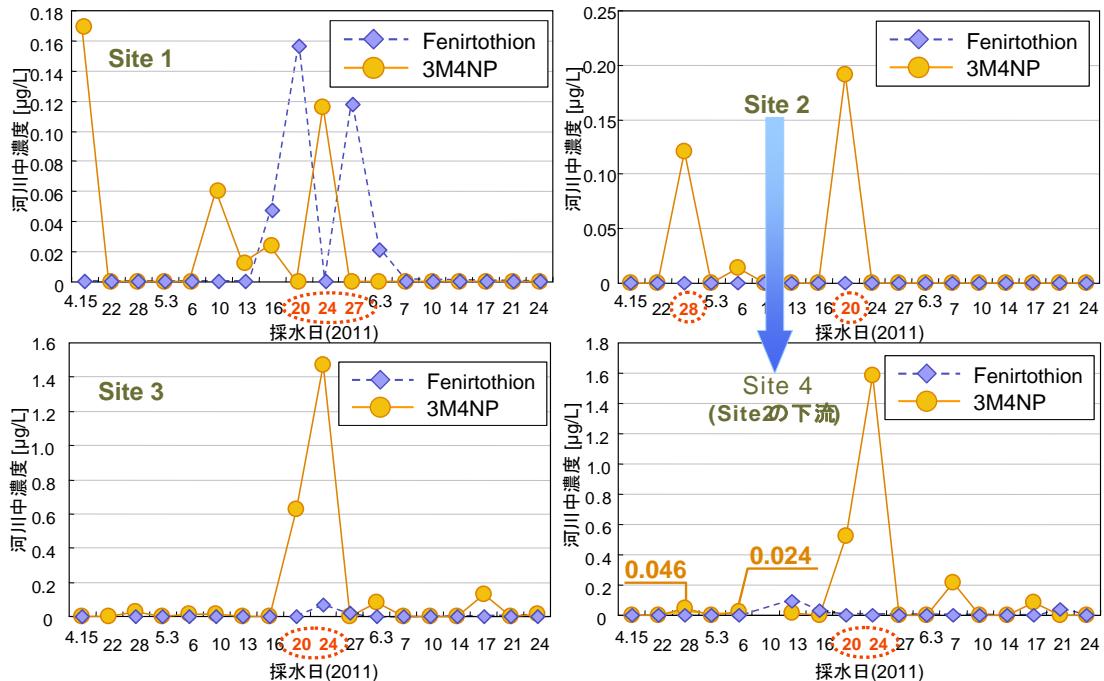
際の河川水中ではフェニトロチオン(親)よりむしろ3M4NP(子)の影響が強く懸念される場合がかなり多いものと思われる。しかし、フェニトロチオン(親)と3M4NP(子)の存在比は、地点ごと季節ごとに不規則に異なっており、予測が困難である。このことから、環境変化体を考慮した河川水モニタリングを実際に行うことの重要性はかなり高いことが明らかになったと言える。

また、神奈川県内4地点の農耕地近傍河川で行った先行調査の地点を図(2)-4に合わせて示した。週2回程度の集中調査としたために、4地点と地点数は少なくなっているが、4月中旬から6月下旬までの農耕期に約10週に亘って継続的に行った調査であるため、試料数はかなり多いものとなっている。

農耕期におけるフェニトロチオン(親)と3M4NP(子)の集中モニタリングを行った結果を図(2)-6に示した。特に、Site-1の中野(永池川)でのモニタリング結果においては、フェニトロチオン(親)の消長に連動して3M4NP(子)が出現してくる様子がよく見て取れたものと思われた。また、サンプリング地点がフェニトロチオン(親)の発生源となる農耕地近傍であるにもかかわらず、3M4NP(子)の濃度がフェニトロチオン(親)に比べて高く検出される時期もかなり確認された。しかし、3M4NP(子)濃度がピークとして検出される期間は約1週間程度で収まり、その後は検出限界($0.01 \mu\text{g}/\text{L}$)未満になった。下流域にあたる環境測定点においても3M4NP(子)の濃度レベルは低いことから、3M4NP(子)はその生成速度および消失速度がかなり速い物質であると考えられた。このような農薬については、その使用時期や使用場所によって特異的に検出されうるため、対象農薬とその分解物の一斉分析ツールを用いた継続的な河川水モニタリングの重要性が示されたと言える。



図(2)-5 環境測定点におけるフェニトロチオン(親)と3M4NP(子)の先行モニタリング結果
(神奈川、千葉、山梨、2011年度)



図(2)-6 農耕地近傍河川でのフェニトロチオン(親)と3M4NP(子)の先行モニタリング結果
(2011年4月～6月の農耕期)

(2) 農薬加水分解物等の一斉分析に必要な分析条件の検討とデータベースの整備

1) 一斉分析データベースの整備

a データベース化の方針

農薬および農薬加水分解物の一斉分析のためのデータベースの整備を行った。前提条件として、一斉分析方法の確立において多数の親農薬およびその環境変化体を効率よく分析できるようにすることを念頭におき、サンプリングした河川水試料に共通の前処理を施した上で、四重極型ガスクロマトグラフ質量分析(GC/MS)法あるいはトリプル四重極型高速液体クロマトグラフ質量分析装置(LC/MS/MS)で同時分析するための条件の確立を行うこととした。ここで、共通の前処理を行う目的は、第一には、河川水試料中のppbオーダー以下の微量の農薬およびその環境変化体を高感度に検出するための濃縮・精製を行うことにある。また第二には、微量汚染物質の分析においては前処理法の選択が対象物質の範囲や回収率に大きく影響するが、その一連の分析操作において前処理工程には多大な労力を要するので、様々な物質の検出の有無を主眼とする本研究の場合には、様々な物性を有するできるだけ多くの物質に適用できる汎用の前処理法が適当と考えられるためである。このため本研究では、疎水性の有機物の回収を得意とする吸着樹脂Sep-Pak PS-2⁴⁾と極性を有する有機物の回収を得意とする高性能活性炭Sep-Pak AC-2(ともに日本ウォーターズ社製)を用いた固相抽出法を採用することとし、揮発性の高い物質や極端に水溶解性の高い物質、アルデヒド類などをはじめとする不安定ために反応捕集が必要な物質などは、前処理不適のため検討対象外とした。

GC/MS一斉分析方法としては、汎用性の高い四重極型ガスクロマトグラフ質量分析装置（島津

製作所製、GC/MS-QP2010 plus) を用い、対象物質について高感度の選択イオン検出(Selected Ion Monitoring: SIM)での分析方法の確立を行った。LC/MS/MS一斉分析方法としては、環境分析の分野でも近年に急速に普及してきているトリプル四重極型高速液体クロマトグラフ質量分析装置 LC/MS/MS (サーモサイエンティフィック、TSQ Quantum Access MAX) を用い、高精度の多重反応検出(Multiple Reaction Monitoring: MRM) モードにおける分析条件の検討を行った。

b 一斉分析対象物質リストの作成

まず最初に、本研究における河川水モニタリングの対象として予定地点の多い神奈川県で使用される農薬に着目し、神奈川県内での親農薬の使用量や神奈川県内の農耕地近傍でのモニタリング調査における検出頻度を参考に、親農薬およびその環境変化体の一斉分析法の確立に着手した。その後、分析対象物質の拡充を図るため、水道法等において規制対象とされる農薬に対してそれらの環境変化体の調査を実施し、一斉分析データベースへの登録を検討した。水道法対象農薬の旧第1群の102物質に同対象農薬カルボフランの親農薬にあたるフラチオカルブ、カルボスルファンを加えた計104物質を対象とし、キーワードとして「加水分解」「光分解」「土壤中分解」「水圈中分解」と指定して、国際連合食糧農業機関(FAO)、アメリカ合衆国環境保護庁(USEPA)等のデータベースや、その他文献検索により環境変化体についての情報を確認した。その結果、水道法関係の親農薬104物質のうち、83物質に対して約530物質の環境変化体の情報が確認された一方、残る21物質については環境変化体の情報は得られなかった。親子関係が確認されている83物質について標準物質の市販の有無を確認したところ、親農薬71物質の環境変化体203物質について標準物質が入手可能であることが確認された。そこで、環境変化体の標準物質を順次入手して、GC/MSおよびLC/MS/MSを用いた一斉分析法の検討を行った。また、集中モニタリング地域（鹿児島県、茨城県）において農薬散布情報が明らかとなった法規制対象農薬2物質（フェリムゾン、クロメップロップ）と分解物3物質等についても検討した。その結果、親農薬37物質（除草剤11物質、殺虫剤20物質、殺菌剤6物質）とその環境変化体63物質（除草剤の環境変化体15物質、殺虫剤の環境変化体37物質、殺菌剤の環境変化体11物質）の計100物質を分析可能とする一斉分析データベースを確立することができた。

c 一斉分析対象の親農薬およびその環境変化体の概要

一斉分析対象とした親農薬およびその環境変化体の概要を表(2)-2～表(2)-4に示した。対象物質の中には、親農薬としては水道法や化管法（PRT法）あるいは農薬取締法の登録保留基準で監視の対象とされている物質も多いが、その環境変化体については、それら法規制の対象外であるものがほとんどであった。すなわち、既存の法規制においては、人間が使用し環境へ排出される化学物質までは管理の対象となっているが、ひとたび環境中へ排出された後に、光分解や加水分解、生分解などを受けて親化合物とは別の構造と別の物性・毒性を有する物質に変化した物質については、監視はなく、ほとんど調べされることもない状態であることが確認された。

除草剤は、主に水稻用であるが、中には、とうもろこしや果樹、野菜、ゴルフ場農薬として利用されているものも含まれる。アトラジンやジウロンメフェナセットのように複数の環境変化体が対象となった親農薬もある。変異原性(Mutagenic Activity: MA)が陽性を示す親農薬は今回は見つかなかったが、塩素処理時の変異原性すなわち変異原性物質生成能 (Mutagen Formation

表(2)-2 一斉分析対象とした親農薬およびその環境変化体の概要(除草剤)

農薬	PTPW	種類	主な適用作物	MA	MFP	水道法	PRTR	保留基準	神奈川	鹿児島	北海道	山梨	H23	H24	H25
アトラジン	1	除草剤	とうもろこし	ND	35	○	○	○	83	94	35	166			○
		アトラジン脱エチル体	(KU)	(KU)											○
		アトラジン脱イソプロピル体													○
カフェンストロール	1	除草剤	水稻	ND	ND	○	○	○	171	123	129	87		○	○
		カフェンストロール脱カルバモイル体		ND	ND			○						○	○
ジウロン(DCMU)	3	除草剤	みかん、茶、果樹	ND	2,300	○	○	○	30	44	180	161			○
		1-(3,4-ジクロロフェニル)-3-メチルウレア(DCPMU)		ND	(KU)										○
		3,4-ジクロロアニリン(DCA)	(KU)	(KU)		○									○
		3-3-クロロフェニル-1,1-ジメチルウレア(MCPMU)		ND	(KU)										○
チオベンカルブ	1	除草剤	水稻、ねぎ	ND	81	○	○	○	19	116	139	40		○	○
		4-クロロベンジルアルコール		ND	ND									○	○
ピリブチカルブ	1	除草剤	水稻	(KU)	(KU)	○	○	○	223	181	134	80			○
		3-ターシャリーブチルフェノール		ND	490										○
ブタミホス	1	除草剤	キヤウツ、野菜、すいか	(KU)	(KU)	○	○	○	89	73	96	184			○
		ブタミホスオキソ				○									○
プロモブチド	1	除草剤	水稻	ND	ND	○		○	75	142	78	66			○
		プロモブチドデプロモ		ND	ND			○							○
メコプロップ(MCPP)	1	除草剤	(ゴルフ場)	ND	450	○	○	○	NIA	NIA	NIA	NIA			○
		o-クレゾール; 2-メチルフェノール				○									○
メフェナセット	2	除草剤	水稻			○	○	○	58	17	172	58		○	○
		2(3H)-ベンゾチアゾロン		ND	14									○	○
		N-メチルアニリン		ND			○								○
モリネート	1	除草剤	水稻	ND	84	○	○	○	141	333	115	51			○
		モリネート-2-ケト													○
ジクロベニル(DBN)	1	除草剤	りんご、なし、もも	ND	11	○	○	○	88	146	85	89			○
		2, 6-ジクロロベンズアミド						○							○

注1) MAは変異原性、MFPは塩素処理時の変異原性。

注2) 水道法、PRTR、保留基準は各法規制への対応の有無。

注3) 神奈川、鹿児島、北海道、山梨は親農薬の農耕地での使用量順位(平成17農薬年度)。

注4) H23, H24, H25は本研究におけるモニタリング検討対象。

Potential: MFP) が陽性を示す親農薬はアトラジン、ジウロン、チオベンカルブ、メコプロップ、モリネート、ジクロベニルと11物質中6物質もあり、さらに環境変化体がMFP陽性を示すケースとして、ピリブチカルブ(親)の環境変化体である3-tert-ブチルフェノール、メフェナセット(親)の環境変化体である2(3H)-ベンゾチアゾロンがあった。

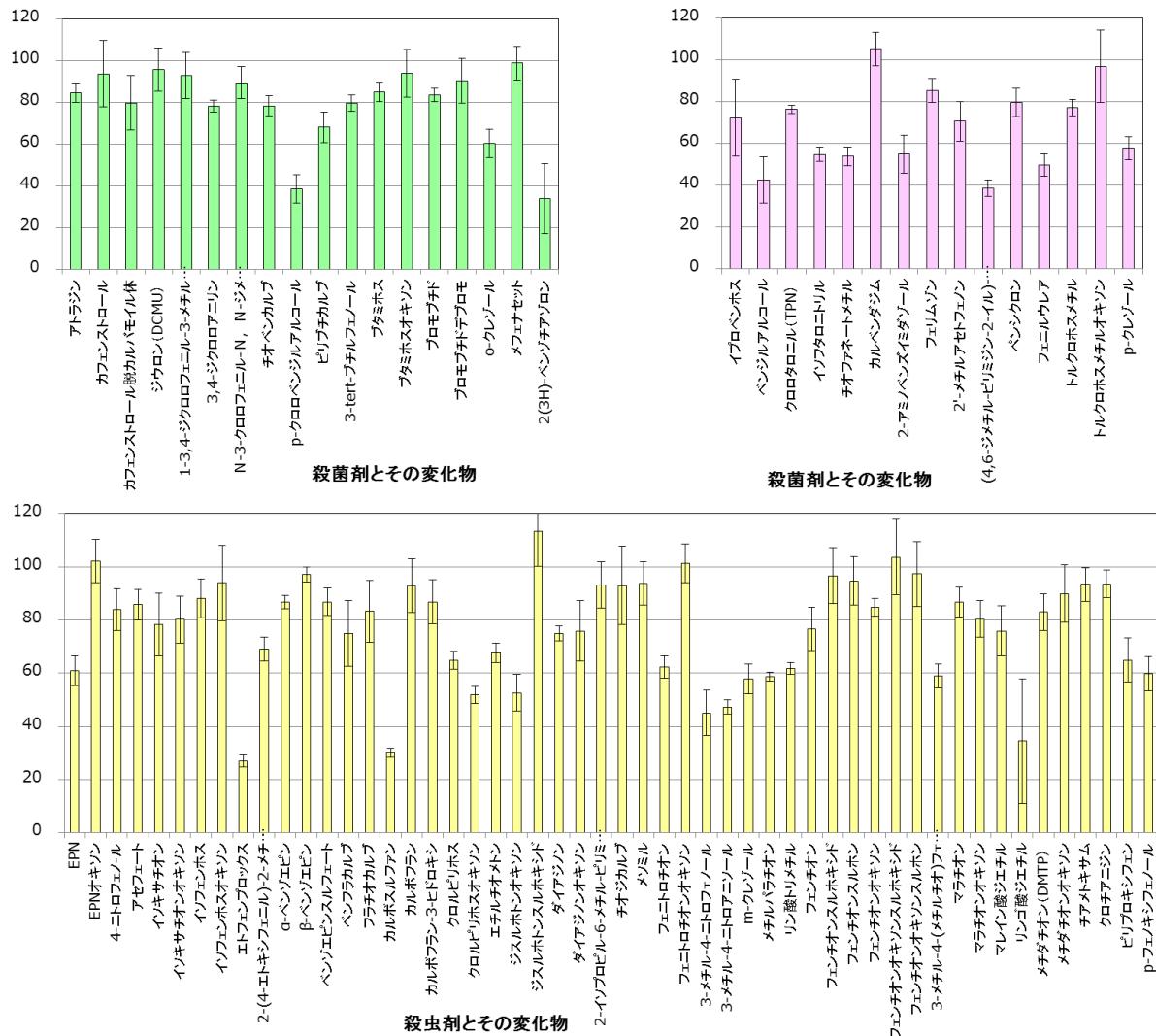
殺虫剤は、野菜、果樹、水稻用と適用作物が幅広い。複数の環境変化体が対象となった親農薬が20物質中7物質あった一方、α-エンドスルファン(親)とβ-エンドスルファン(親)はいずれもエンドスルファンスルフェートの共通の親農薬として、また、ベンチオカルブ(親)とフラチオカルブ(親)およびカルボスルファン(親)はいずれもカルボフラン(子)、カルボフラン-3-ヒドロキシ(子)、カルボフラン-3-ケト(子)、カルボフラン-7-フェノール(子)の共通の親農薬として一斉分析対象とした。MA陽性が現時点で判明している親農薬および環境変化体はなかったが、MFP陽性が判明している親農薬が20物質中8物質、環境変化体が37物質中12物質あった。

殺菌剤は、主に水稻用であるが、中には、野菜や果実に用いられるもの含まれる。複数の環境変化体が対象となった親農薬が6物質中5物質あった。また、MFP陽性が判明している親農薬が6物質中3物質、環境変化体が11物質中5物質あった。

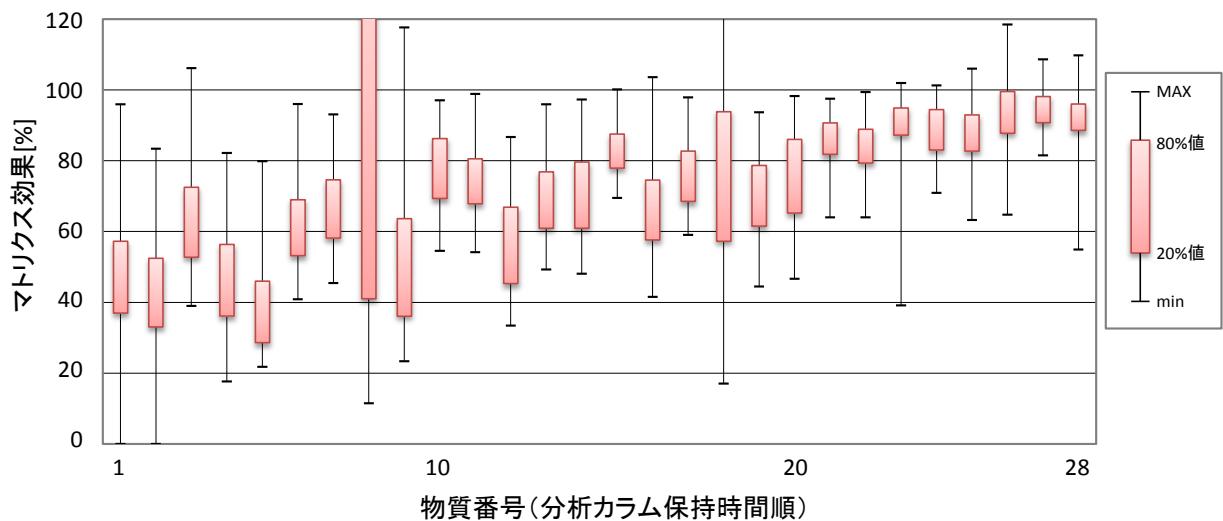
以上のように、本研究で対象とした親農薬および環境変化体の中には、親農薬や環境変化体自身では変異原性を示さないものの、塩素処理を施すと変異原性を発現するようになる親農薬やその環境変化体が多数存在することがわかった。この結果により、親農薬だけを監視するのではなく、その環境変化体や塩素処理における変化についても監視する必要性が見出せたと言える。な

表(2)-7 GC/MSおよびLC/MS/MS一斉分析データベース登録対象物質とその分析条件（殺菌剤）

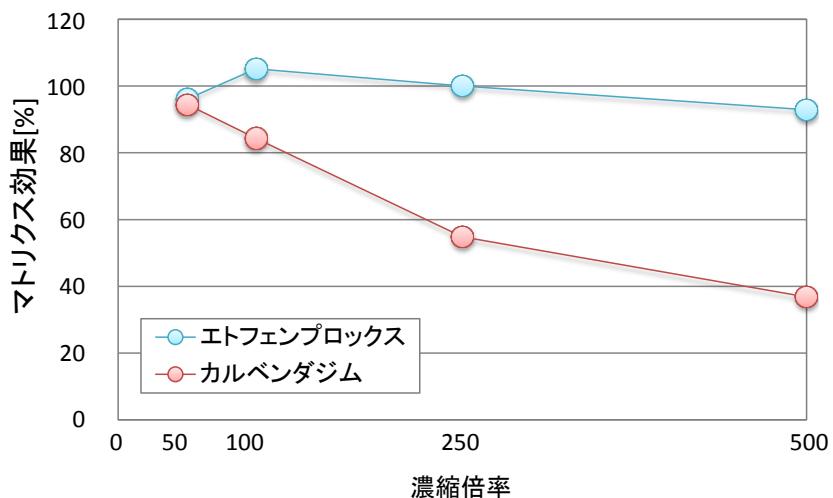
農薬	PTPW	種類	主な適用作物	LC/MS/MS					GC/MS			
				P/N	ion	Q1	Q3	RT	RT	定量	確認1	確認2
イプロベンホス(IPB)	3	殺菌剤	水稻	Pos	[M+H]+	289 → 91	289 → 205	13.6	22.590	91	204	246
			ベンジルアルコール						9.405	79	108	107
			3-ヒドロキシベンジルアルコール						15.275	124	95	77
クロロタロニル(TPN)	1	殺菌剤	水稻、たまねぎ、すいか						22.010	266	268	109
			イソフタロニトリル						13.930	128	101	50
チオファネートメチル	2	殺菌剤	ねぎ、みかん、野菜	Pos	[M+H]+	343 → 151	343 → 311	8.38				
			カルベンダジム	Pos	[M+H]+	192 → 160	192 → 132	6.89				
			2-アミノベンズイミダゾール	Pos	[M+H]+	134 → 65	134 → 92	5.16				
フェリムゾン	2	殺菌剤	水稻	Pos	[M+H]+	255 → 132	255 → 124	11.5				
			2'-メチルアセトフェノン	Pos	[M+H]+	135 → 44	-		11.425	119	91	134
			(4, 6-ジメチルピリミジン-2-イル)-ヒドラジン	Pos	構造不明	179 → 123	179 → 95	6.83				
ペンシクロン	2	殺菌剤	水稻、ばれいしょ	Pos	[M+H]+	329 → 125	329 → 89	14.5	20.570	125	127	328
			アニリン	Pos	[M+H]+	94 → 77	94 → 51		8.200	93	66	65
			フェニルウレア	Pos	[M+H]+	137 → 94	137 → 77	4.89	19.525	93	66	136
トルクロホスマチル	2	殺菌剤	だいこん、キャベツ、野菜	Pos	[M+H]+	301 → 269	301 → 175	14.2	23.300	265	267	125
			トルクロホスマチルオキソソ	Pos	[M+H]+	285 → 109	285 → 253	10.81	22.855	249	149	250
			p-クレゾール; 4-メチルフェノール						10.170	108	77	79



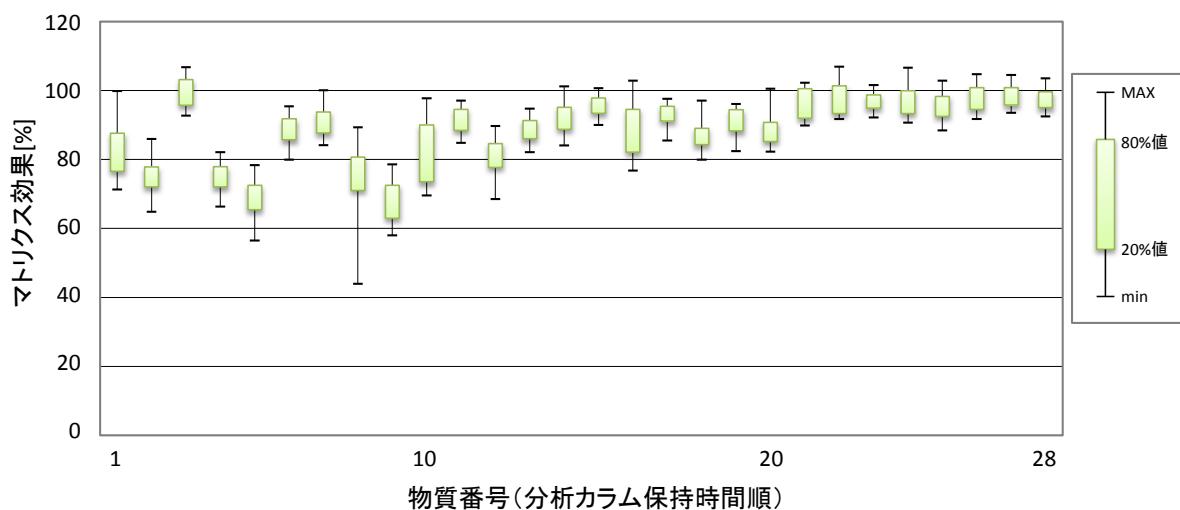
図(2)-7 固相抽出濃縮における親農薬およびその環境変化体の回収率



図(2)-8 500倍濃縮サンプル分析時におけるマトリクス効果 (166試料)



図(2)-9 濃縮倍率とマトリクス効果の関係



図(2)-10 100倍濃縮サンプル分析時におけるマトリクス効果 (36試料)

お、環境変化体の変異原性(MA)あるいは変異原性物質生成能(MFP)については、サブグループ1における将来的な研究データの蓄積によっては、陽性を示す物質がさらに拡大する可能性がある。

d GC/MSおよびLC/MS/MS一斉分析における分析条件

一斉分析対象とした親農薬37物質およびその環境変化体63物質のうち、GC/MSによる一斉分析の対象となったものは33物質、LC/MS/MSによる一斉分析の対象になったものは67物質であった。これらの対象物質について確立できたGC/MSおよびLC/MS/MS一斉分析データベースの質量スペクトルとカラム保持時間の分析条件を表(2)-5～表(2)-7に示した。GC/MSおよびLC/MS/MSの両方の分析条件が確立できた物質もあるが、環境変化体には加水分解を受けたものも多く、極性を有する物質が多いことや、一般にLC/MS/MSの方が感度が良いことなどからピーク分離や感度の良い方を選択して、最終的にGC/MS対象となるものが33物質、LC/MS/MS対象となるものが67物質となつた。

2) 固相抽出における回収率の評価

環境試料を分析する上では、微量に含まれる農薬およびPTPWsを濃縮する必要があるため、Sep-Pak PS-2 およびSep-Pak AC-2カートリッジ（いずれも日本ウォーターズ社製）を用いた固相抽出濃縮における農薬およびその環境変化体の回収率について評価した（図(2)-7）。85物質を用い、それぞれの混合標準試料を作製して固相濃縮を行い、回収率を評価した。その結果、56物質（66%）ではGC/MSまたはLC/MS/MSで良好な回収率（70%～120%）を達成し、19物質（22%）が回収率50%以上70%未満であった。他の10物質については回収率が27%から50%未満とやや低く、さらなる回収率の改善には固相抽出カートリッジの検討等が必要であるが、スクリーニングを目的とした本研究の場合には、図(2)-7に合わせて示したように、変動係数(Coefficient of Variation: CV)も小さいことから分析可能と判断し、濃度を算出する際は、回収率で補正した。なお、アトラジンデスエチル、アトラジンデスイソプロピル、メコプロップ、N-メチルアニリン、モリネート、2-ケトモリネート、ジクロベニル、2,6-ジクロロベンズアミド、メタミドホス、カルボフラン-3-ケト、カルボフラン-7-フェノール、メチルパラチオンオキソン、D-酒石酸ジエチル、3-ヒドロキシベンジルアルコール、アニリンについては、今回は回収率ならびに変動係数が未確認であり、濃度データの解釈においては注意が必要である。

3) LC/MS/MS一斉分析におけるマトリクス効果の検証と対策

LC/MS/MSを用いた分析においては、環境サンプルに含まれる共存物質であるマトリクスによりイオン化が増強または抑制されるマトリクス効果が報告されており、本研究においては固相抽出法を用いていることからもマトリクス成分が濃縮され、定量結果の信頼性に影響を及ぼすことが予想される。そこで、環境モニタリングにおけるマトリクス効果の検証とその対策を行った。

ここで、マトリクス効果とは、次式で定義されるものであり、100%であればマトリクス効果による影響はないが、イオン化促進の効果がある場合には100%を超え、イオン化抑制の効果がある場合には100%を下回り、100%からのずれが大きいほどマトリクス効果が大きいことになる。

$$\text{効果の強度} = \frac{\text{マトリクス含有試料のAREA} - \text{プランクのAREA}}{\text{標準試料のAREA}} \times 100[\%]$$

ME%

LC/MS/MS分析対象物質のうち28物質を例にして、マトリクス効果の検証を行った。その結果、環境試料166試料を500倍濃縮（1,000倍濃縮サンプルをメタノールにより2倍希釈）して分析した際には全ての物質においてマトリクス効果が確認され、特にカラム保持時間の比較的短い物質においてマトリクス効果が大きく、定量値の信頼性が損なわれていることがわかった（図(2)-8）。多様な性質をもつ物質群を一斉分析する場合には、保持時間等、性質の似た物質をグルーピングし、グループごとに同位体を内部標準物質として用いることが信頼性の担保に必要であるが、その一方で、保持時間が僅かに異なるだけでもマトリクス効果は変化することが報告されている。つまり、全ての分析対象物質に対して同位体物質を使用することが最善ではあるが、コスト面・作業面において現実的ではないことから、濃縮サンプルを希釈することによりマトリクス効果を回避することとした。1,000倍濃縮（アセトン溶媒）を500倍濃縮から50倍濃縮までアセトン：メタノール比=1:1を維持しながら段階的に希釈し、マトリクス効果を確認した結果、100倍濃縮（1,000倍濃縮サンプルを10倍希釈）においてマトリクス効果を十分に回避可能であることがわかった（図(2)-9、10）。その一方で、チオファネートメチル（図(2)-10、物質番号8）のように100倍濃縮においてもサンプル間のバラつきがある物質もあることから、一斉分析を行う際にはサンプルごとにマトリクス効果を検証し、マトリクス効果を補正することとした。また、濃縮倍率を100倍濃縮にまで下げた場合においても、一斉分析可能であるすべての水道法農薬の定量下限値は、分析法の目安とされている目標値の1/100以下（表(2)-8）であることから、環境サンプルの分析には100倍濃縮したサンプルを分析することとした。

表(2)-8 LC/MS/MSにより検出可能な水道法対象農薬の目標値と定量下限値

農薬	目標値 [ppb] (= 100倍濃縮サンプルで目標値の1/100)	定量下限値 [ppb]
チオベンカルブ	20	< 0.1
メフェナセット	20	< 0.1
カafenストロール	8	< 0.1
メチダチオン(DMTP)	4	0.5
ダイアジノン	5	< 0.1
エチルチオメトン	4	1.0
マラチオン	50	0.2
エトフェンプロックス	80	< 0.1
ピリプロキシフエン	300	< 0.1
チオファネートメチル	300	1.0
ペンシクロン	100	< 0.1
メプロニル	100	0.2

（3）農耕地、水道水源および一般環境測定点における河川水モニタリング

1) 河川モニタリング実施地点の概要

親農薬37物質およびその環境変化体63物質について確立した一斉分析法を利用し、河川水モニタリングを実施した。調査は神奈川県、山梨県、千葉県、茨城県の水道水源・取水口近傍において

て季節モニタリングと茨城県の農耕地（発生源）近傍および鹿児島県の水源近傍での集中モニタリングを行った。確立した一斉分析法による河川モニタリングの実施地点の概要を表(2)-9に示した。

茨城県の桜川は、筑波山を源流とする河川であり、農耕地を貫流した後に霞ヶ浦へと流れ込み、水道水源として取水されている河川である。また、千葉県の黒部川は、利根川水系の河川であり、これも農耕地帯を貫流した後に下流において水道水源として取水されている河川である。

千葉県の養老川や小櫃川は、上流のダムから流れ出た水が比較的上流で、あるいは農耕地帯ある程度を貫流した後に水道水源として取水されている河川である。小糸川も農耕地帯を貫流して東京湾へと注ぐ河川であるが、工業用水の取水はあるものの、飲料用水としての取水はない。千葉県が設置している一般環境測定点のうち、水道水源に近い地点およびやや離れた地点においてモニタリングを実施することにした。

山梨県では、水道水源として取水されている地点はダムの直下や山あいにあり、農耕排水の混入はかなり少ないものと思われた。一方、富士川へとつながる笛吹川とその支流の流域に選んだ一般環境測定点は、果樹や水田などの農耕地帯の影響を受けているものと想定してモニタリングを実施した。

神奈川県では、相模湖、津久井湖、宮が瀬湖、酒匂川の飯泉取水堰、相模川の寒川取水堰、相模大堰といった水道水源がモニタリング対象となっているが、いずれもダム湖であったり、下水や工業排水、農業排水の混入がかなり制御管理された河川である。一般環境測定点については、横浜市と川崎市、相模原市の中心部を避けた地域であるものの、農耕地がメインとなる地点は数少ないため、住宅化された都市域と農耕地が混在する場所の一般環境測定点を選んだ。

2) 農耕地での農耕期における親農薬とその環境変化体の挙動

農耕期前後の2013年5月から8月にかけて行った一斉モニタリングにおいては、親農薬37物質のうち33物質が、環境変化体63物質のうち53物質が検出された。このうち、親農薬30物質とその環境変化体50物質が同時に検出され、親農薬とその環境変化体がかなりの頻度で実河川水中に共存していることが確認された。

親農薬に比べてその環境変化体が高頻度かつ高濃度に検出された例として、図(2)-11において、除草剤メフェナセットとその環境変化体2(3H)-ベンゾチアゾロンを例に、農耕期の前後における濃度変化をみてみると、親農薬メフェナセットの濃度は散布されたと思われる時期に一時的に上昇した後、比較的速やかに低下していくが、環境変化体2(3H)-ベンゾチアゾロンの濃度は親農薬メフェナセットが減少していく間に上昇し、しばらく高い濃度が継続した後に徐々に低下していく様子が観測された。このような挙動は、桜川の農耕地域にある地点からその下流にあたる霞ヶ浦の水道水源の地点においても2012年および2013年のいずれにおいても同じ傾向が観測され、さらに、遠く離れた鹿児島県の甲突川の水道水源近傍の地点においても同じ傾向が観測された。このように、農薬が環境中で光分解や加水分解あるいは微生物分解を受けることにより、その環境変化体が親農薬に比べて高頻度・高濃度で一般河川水や水道水源において存在している証拠が得られた。

ピリップチカルブの分解物である3-*tert*-ブチルフェノール、プロモブチドの分解物であるプロモブチドデブロモ、カフェンストロールの分解物であるカフェンストロール脱カルバモイル体は、農

薬散布時期以外にも検出が確認された。これらの除草剤は水田で使用されており、水稻用除草剤と呼ばれるものである。水稻除草剤は、稻の移植前後に散布する初期剤、移植直後から移植後15日位までに散布する一発処理剤、移植後20～30日位に散布する中期剤、取りこぼした雑草を茎葉散布で防除する中・後期剤に分けることができる。上記の4種の農薬は一発処理剤に分類される除草剤で、1回の処理で多年性雑草を含めて、多くの種類の雑草に効果がある。その効果をもたらす性能上から、使用後30～40日の残効期間があることが知られている。さらに、桜川流域内では防除暦にしたがって毎年ほぼ同じ時期に除草剤が使用されており、初期剤および一発処理剤は5月初旬から中旬、中期剤は5月下旬6月上旬、後期剤は6月以降に散布し検出ピークがその時期と一致することが知られている。今回も一発処理剤の除草剤に対してその傾向が見られたことから4種の除草剤とそのPTPWsが農薬散布時期以外にも検出したといえる。

一方、上記の物質以外で検出した物質の中にも親農薬が検出していないにも関わらず環境変化体が頻繁に検出されたか、あるいは農薬散布時期以外に検出された物質も見られた。

3) 親農薬およびその環境変化体の検出率

親農薬37物質およびその環境変化体63物質の計100物質について開発した一斉分析法を用いて、2012年度から2013年度にかけて、対象とした河川の全42地点311試料についてモニタリング調査を実施し、親農薬とその環境変化体の検出率および濃度分布を集計・整理して表(2)-10～表(2)-12に示した。分析法の開発と並行してモニタリング調査を実施したため、各対象物質の分析数が試料数に比べて少ないものがある。

一斉分析対象とした親農薬37物質のうち、まったく検出されなかった物質は殺虫剤のE P N、 α -エンドスルファン、 β -エンドスルファンの3物質のみであり、このほか検出率30%に満たなかった物質は除草剤のメコプロップ、ジクロベニル、殺虫剤のイソフェンホス、ベンフラカルブ、フラチオカルブ、カルボスルファン、エチルチオメトン、チオジカルブ、フェニトロチオン、フェンチオン、殺菌剤のクロロタロニル、チオファネートメチル、トリクロホスメチルの13物質であった。つまり、親農薬37物質中の21物質は検出率が30%以上であり、比較的頻繁に検出された。

しかしここで、殺虫剤フェニトロチオンとその環境変化体3M4NPについては、2011年度に行なった先行調査では検出率がそれぞれ48%および31%であったのに対し、分析法はまったく同じであるにも関わらず、2012年度および2013年度ではそれぞれ5%および1%と著しく低い検出結果となつた。この違いが発生した理由については、①地点が違うために当該地点では適用作物へのフェニトロチオンの使用がなかった可能性があること、また、②先行調査の結果で示したように、フェニトロチオンおよび3M4NPは消失が速く、環境中に残存する期間がおよそ1週間程度と短いため、フェニトロチオンの散布時期と河川水のサンプリング時期とがずれた可能性が考えられた。つまり、親農薬およびその環境変化体の環境中での残存状況は、農薬の使用状況や分解性に大きく影響されるので、ごく限られた数のデータでその残存状況やそれに伴う環境リスク、環境影響を判断することは適切ではないと考えられる。

しかしながら、一方で、検出率が70%を超えた物質は、除草剤ではカフェンストロール、ジウロン、チオベンカルブ、ブロモブチドとピリブチカルブの変化体である3-tert-ブチルフェノール、ブロモブチドの変化体であるブロモブチドデブロモの6物質、殺虫剤ではエトフェンプロックス、ダイアジノン、カルボスルファンの変化物であるカルボフラン、ダイアジノンの変化物である2-

イソプロピル-6-メチルピリミジン-4-オールの4物質、殺菌剤はベンシクリン、イプロベンホスの変化体であるベンジルアルコール、チオファネートメチルの変化体であるカルベンダジムの3物質であり、計13物質に及び、これらの物質はいたるところで頻繁に検出される物質であると思われた。

4) 親農薬およびその環境変化体の検出濃度

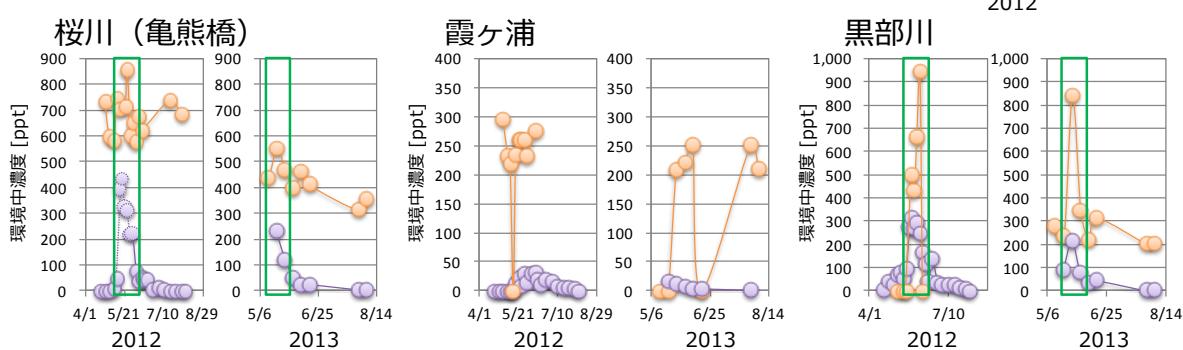
親農薬37物質およびその環境変化体63物質の一斉モニタリングにおける検出濃度分布を集計し、表(2)-10～表(2)-12に合わせて示した。定量値が得られた中での最大値、最小値、25%値、50%値（中央値）、75%値を示した。

最大の検出濃度を与えたのは、除草剤のブルモブチドで、32ppbとかなりの高濃度で検出された。このほかにも1ppbを超えて検出されたものは、除草剤ではモリネート、ピリブチカルブの変化体である3-tert-ブチルフェノール、メフェナセットの変化体である2(3H)-ベンチアドロンの3物質、殺虫剤ではマラチオンの変化体であるリンゴ酸ジエチルの1種類、殺菌剤ではイプロベンホスの1種類であった。除草剤がppbを超える高濃度レベルで検出されることとは、実際にしばしば見受けられることであるが、農薬の使用場所とサンプリング場所との関係や使用時期とサンプリング時期との関係が強く影響するものと考えられる。

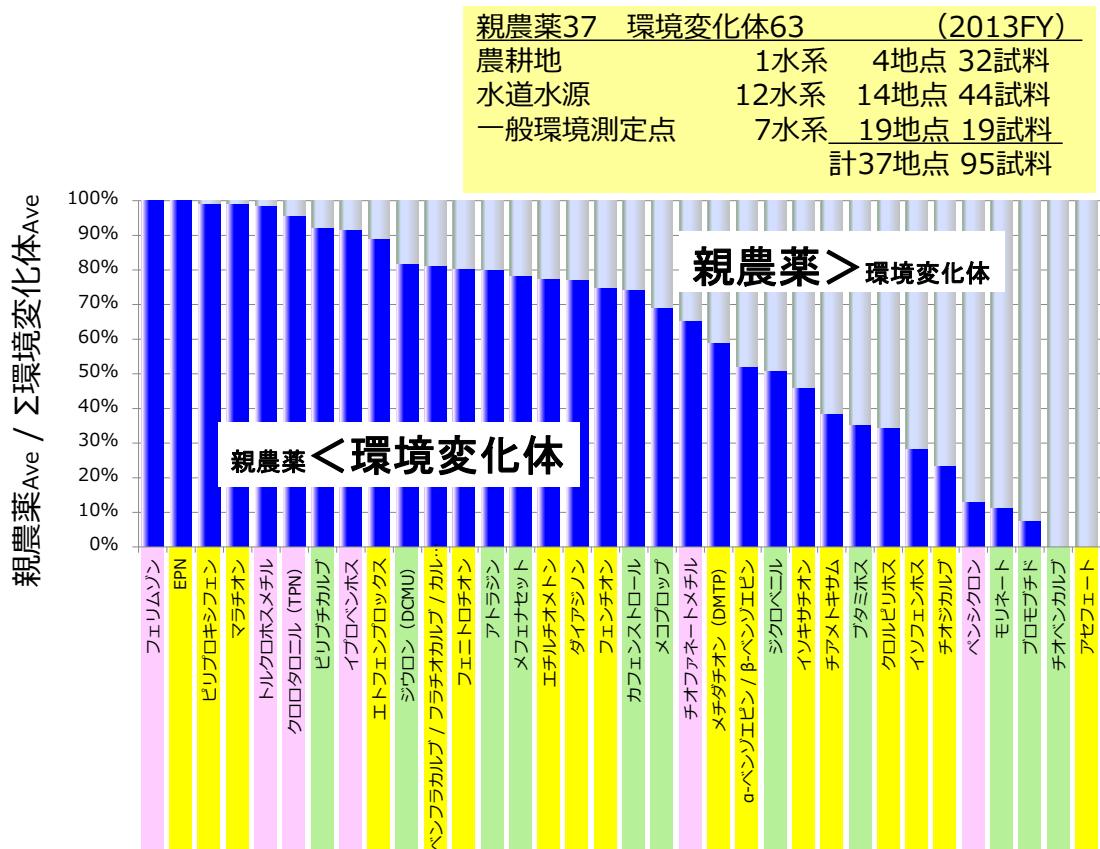
また、農耕地を貫流する桜川（茨城県）および、その桜川が流入し水源として利用されている霞ヶ浦、同じく水源として利用されている黒部川（千葉県）において、農薬およびその環境変化体が高頻度・高濃度で検出された。このことから、水源として利用されている地点でも農薬およ

2(3H)-ベンゾチアゾロン（親農薬：メフェナット）

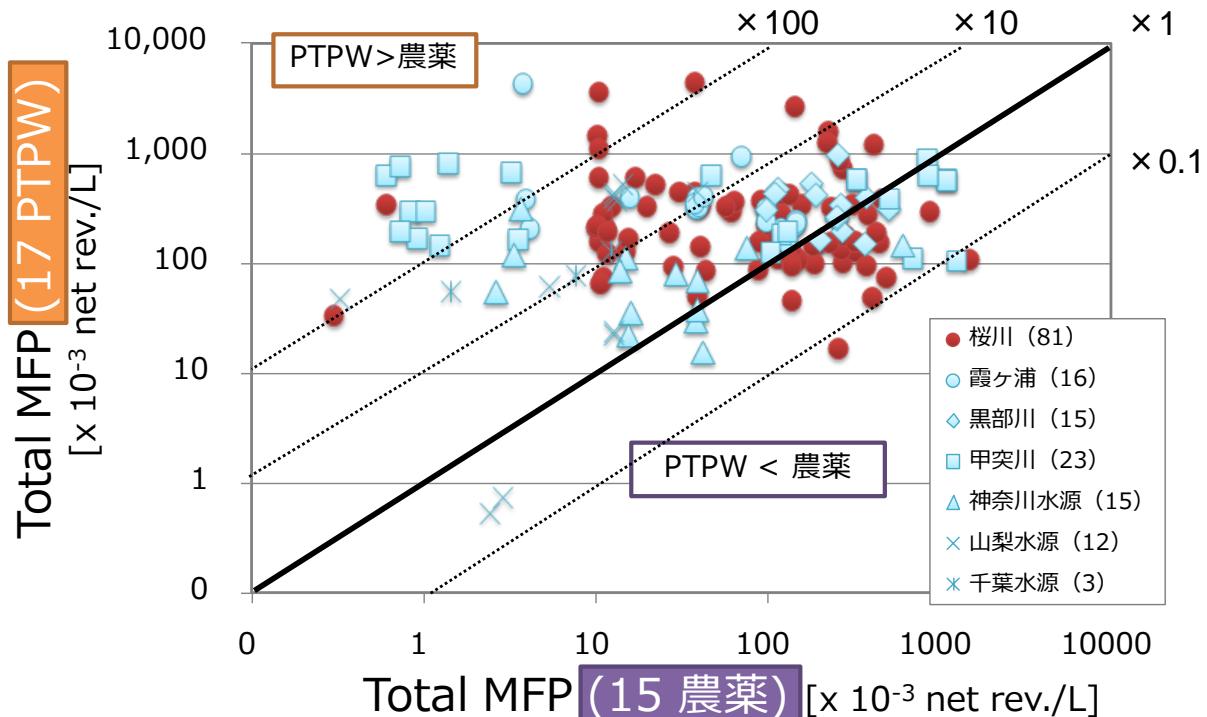
地点	2012			2013		
	試料数	検出数	濃度範囲 [ppt]	試料数	検出数	濃度範囲 [ppt]
桜川	54	36	400 - 940	32	32	180 - 540
霞ヶ浦	10	9	220 - 290	8	5	210 - 250
黒部川	8	4	430 - 940	8	8	200 - 840
甲突川	24	5	730 - 1,900	-	-	-
神奈川水源	5	0	-	10	1	59
山梨水源	5	0	-	7	1	67
千葉水源	4	0	-	-	-	-



図(2)-11 農耕期において検出頻度が高かった親農薬とその環境変化体の挙動の例



図(2)-12 親農薬とその環境変化体の平均濃度の比較



図(2)-13 親農薬とその環境変化体に由来する変異原性物質生成能の合算値の比較

表(2)-9 農薬およびその環境変化体の河川モニタリング実施地点の概要

県	水系	河川	地点	水源	住所	緯度経度
茨城	桜川	桜川	亀熊大橋		桜川市真壁町亀熊	N 36°16'55" E 140°05'36"
		→	君島橋		つくば市君島	N 36°09'44" E 140°05'06"
		→	栄利橋		土浦市藤沢新田	N 36°06'48" E 140°08'40"
		→	銭亀橋		土浦市大町	N 36°04'40" E 140°11'29"
		霞ヶ浦	霞ヶ浦		稲敷郡美浦村大字大山	N 36°00'24" E 140°22'37"
千葉	利根川	黒部川	菰敷橋		香取郡東庄町笠川	N 35°50'21" E 140°40'57"
	小櫃川	小櫃川	門生橋		君津市蔵玉	N 35°13'20" E 140°07'44"
		→	椿橋(大寺浄水場上)	(水源)	木更津市下望陀	N 35°23'44" E 139°59'06"
	養老川	養老川	持田崎橋	市原市田淵	N 35°18'00" E 140°08'46"	
小糸川	小糸川	人見橋	(工水)	君津市人見		N 35°19'50" E 139°52'16"
山梨	富士川	琴川	杣口(鳥之口橋)	水源	山梨市牧丘町杣口	N 35°47'06" E 138°41'27"
		荒川	平瀬(万年橋)	水源	甲府市平瀬町	N 35°42'52" E 138°32'44"
		塩川	塩川(大渡原集会所前)	水源	北杜市須玉町江草	N 35°50'22" E 138°29'03"
		大門川	大門ダム(津金発電所下)	水源	北杜市高根町長澤	N 35°51'35" E 138°25'56"
		御勅使川	駒場(白根西橋)	水源	南アルプス市有野	N 35°39'17" E 138°25'08"
相模川	葛野川	百蔵(百蔵橋)	水源	大月市七保町下和田		N 35°37'00" E 138°58'09"
		鶴川	上野原(俣渡橋)			
神奈川	相模川	相模川	相模湖(相模湖大橋)	水源	相模原市相模湖町若柳	N 35°36'50" E 139°11'43"
		→	津久井湖(三井大橋)	水源	相模原市津久井町太井	N 35°35'19" E 139°16'04"
		→	小倉橋		相模原市城山町川尻	N 35°35'12" E 139°17'56"
		→	昭和橋		厚木市上依知	N 35°31'10" E 139°21'59"
		→	相模大橋(相模大堰上)	(水源)	厚木市厚木	N 35°26'38" E 139°22'19"
		→	寒川取水堰(神川橋)	水源	平塚市田村	N 35°22'26" E 139°22'14"
		宮ヶ瀬湖	宮ヶ瀬湖(やまびこ大橋)	水源	愛甲郡清川村宮ヶ瀬	N 35°31'28" E 139°14'04"
		小出川	宮ノ下橋		茅ヶ崎市柳島	N 35°19'33" E 139°22'40"
		目久尻川	河原橋		高座郡寒川町一ノ宮	N 35°21'59" E 139°22'26"
境川	境川	境川	常矢橋		相模原市上矢部	N 35°35'05" E 139°23'41"
		→	大和橋		大和市下鶴間	N 35°29'46" E 139°27'56"
		→	新道大橋		横浜市瀬谷区北新	N 35°27'18" E 139°28'32"
		→	高鎌橋		藤沢市高倉	N 35°25'01" E 139°28'41"
		→	立石橋		横浜市戸塚区東俣野町	N 35°21'42" E 139°29'11"
		→	大清水橋		藤沢市大鋸	N 35°21'29" E 139°29'03"
		→	境川橋		藤沢市鵠沼藤が谷	N 35°19'21" E 139°29'11"
		柏尾川	川名橋		藤沢市川名	N 35°20'11" E 139°29'47"
引地川	引地川	下土棚大橋		藤沢市下土棚		N 35°24'26" E 139°27'17"
		→	富士見橋			
金目川	金目川	花水橋		中郡大磯町高麗		N 35°19'24" E 139°19'45"
		酒匂川	峰下橋			
酒匂川	酒匂川	十文字橋		足柄上郡松田町松田惣領		N 35°22'17" E 139°01'55"
		→	飯泉取水堰(飯泉橋)			
		→				
早川	早川	早川橋		小田原市早川		N 35°14'34" E 139°08'50"
鹿児島	甲突川	甲突川	河頭大橋	水源	鹿児島市犬迫町	N 31°38'30" E 130°30'51"

表(2)-10 検出された親農薬およびその環境変化体の検出率と検出濃度レベル
(除草剤、単位ppt)

農薬	PTPW	種類	主な適用作物	分析数	検出数	検出率	最大	最小	25%	50%	75%		
アトラジン	1	除草剤	とうもろこし	298	128	43%	31	0.1	0.5	1.3	2.5		
			アトラジン脱エチル体	94	46	49%	8.2	2.1	2.5	2.5	2.5		
			アトラジン脱イソプロピル体	70	6	9%	15	6.7	8.6	10	11		
カフェンストロール	1	除草剤	水稻	298	218	73%	401	0.03	0.5	4.8	47		
			カフェンストロール脱カルバモイル体	298	202	68%	533	0.3	27	54	131		
ジウロン(DCMU)	3	除草剤	みかん、茶、果樹	298	221	74%	317	0.1	1.0	8.0	19		
			1-(3, 4-ジクロロフェニル)-3-メチルウレア(DCPMU)	261	53	20%	62	0.5	0.8	2.5	38		
			3, 4-ジクロロアニリン(DCA)	194	6	3%	55	16	21	28	42		
			3-3-クロロフェニル-1, 1-ジメチルウレア(MCPDMU)	298	44	15%	7.3	0.3	1.0	1.0	5.0		
チオベンカルブ	1	除草剤	水稻、ねぎ	298	228	77%	41	0.1	0.1	0.3	2.5		
			4-クロロベンジルアルコール	193	0	0%							
ピリブチカルブ	1	除草剤	水稻	298	207	69%	127	0.04	0.1	1.5	4.3		
			3-ターシャリーブチルフェノール	194	171	88%	1100	4.8	13	22	42		
ブタミホス	1	除草剤	キャベツ、野菜、すいか	298	166	56%	10	0.1	0.1	0.1	1.0		
			ブタミホスオキゾン	286	153	53%	3.5	0.03	0.1	0.1	1.0		
ブロモブチド	1	除草剤	水稻	194	169	87%	32121	11	113	981	5136		
			ブロモブチドデブロモ	298	277	93%	931	0.1	19	91	206		
メコプロップ(MCPP)	1	除草剤	(ゴルフ場)	94	2	2%	125			12			
			o-クレゾール; 2-メチルフェノール	194	112	58%	248	11	18	29	42		
メフェナセット	2	除草剤	水稻	298	265	89%	978	0.03	1.0	12	122		
			2(3H)-ベンゾチアゾロン	194	115	59%	1921	48	234	400	652		
			N-メチルアニリン	84	3	4%	23	15	15	21	23		
			モリネート	1	除草剤	水稻	46	19	41%	1973	1.0	1.9	62
			モリネート-2-ケト	46	23	50%	392	2.0	10	22	215		
ジクロベニル(DBN)	1	除草剤	りんご、なし、もも	35	5	14%	28	11	13	21	25		
			2, 6-ジクロロベンズアミド	46	22	48%	105	14	21	32	63		

表(2)-11 検出された親農薬およびその環境変化体の検出率と検出濃度レベル
(殺菌剤、単位ppt)

農薬	PTPW	種類	主な適用作物	分析数	検出数	検出率	最大	最小	25%	50%	75%
イプロベンホス(IPB)	3	殺菌剤	水稻	298	183	61%	1015	0.1	1.3	4.4	37.5
			ベンジルアルコール	189	185	98%	925	46	195	315	456
			3-ヒドロキシベンジルアルコール	194	1	1%	137	137			137
クロロタロニル(TPN)	1	殺菌剤	水稻、たまねぎ、すいか	194	1	1%	3.1	3.1		3.1	
			イソフタロニトリル	194	1	1%	146	146		146	
チオファネットメチル	2	殺菌剤	ねぎ、みかん、野菜	267	15	6%	534	0.5	0.9	4.4	4.6
			カルベンダジム	261	248	95%	111	0.1	0.3	5.6	11
			2-アミノベンズイミダゾール	298	36	12%	36	0.5	0.9	0.9	36
フェリムゾン	2	殺菌剤	水稻	298	149	50%	688	0.03	0.1	0.3	3
			2'-メチルアセトフェノン	194	4	2%	28	6.4	7.2	12	24
			(4, 6-ジメチルビリミジン-2-イル)-ヒドラジン	298	6	2%	7.4	0.3	0.7	2.0	5.0
ペンシクロン	2	殺菌剤	水稻、ばれいしょ	298	235	79%	11	0.03	0.1	0.1	2.5
			アニリン	84	4	5%	116	15	17	23	93
			フェニルウレア	193	0	0%					
トルクロホスマチル	2	殺菌剤	だいこん、キャベツ、野菜	230	7	3%	20	0.5	1.0	4.2	9.4
			トルクロホスマチルオキゾン	287	7	2%	5.0	0.5	0.5	5.0	5.0
			p-クレゾール; 4-メチルフェノール	194	75	39%	164	0.01	30	56	78

表(2)-12 検出された親農薬およびその環境変化体の検出率と検出濃度レベル
(殺虫剤、単位ppt)

農薬	PTPW	種類	主な適用作物	分析数	検出数	検出率	最大	最小	25%	50%	75%
EPN	2	殺虫剤	キャベツ、水稻、すいか	194	0	0%					
		EPNオキソン		287	67	23%	2.5	0.1	0.1	0.1	1.3
		4-ニトロフェノール		298	182	61%	328	1.0	2.5	2.5	83
アセフェート	1	殺虫剤	キャベツ、野菜、みかん	298	156	52%	30	0.1	0.3	2.7	5.6
		メタミドホス		194	0	0%					
イソキサチオン	1	殺虫剤	キャベツ、みかん、かんしょ	298	140	47%	102	0.1	0.5	2.5	2.5
		イソキサチオノキソン		287	31	11%	2.5	0.03	0.1	0.1	2.5
イソフェンホス	1	殺虫剤	(ゴルフ場)	298	28	9%	6.1	0.1	0.1	0.1	0.4
		イソフェンホスオキソン		287	31	11%	1.0	0.1	0.1	0.1	1.0
エトフェンプロックス	1	殺虫剤	水稻、みかん、キャベツ	298	279	94%	273	0.1	0.1	0.2	1.8
		2-(4-エトキシフェニル)-2-メチルプロパンオール		194	4	2%	25	12	14	24	25
α-エンドスルファン	1	殺虫剤	(野菜)	170	0	0%					
β-エンドスルファン	1			194	0	0%					
		エンドスルファンスルフェート		194	1	1%	31	31		31	
ベンフラカルブ	4	殺虫剤	キャベツ、水稻、だいこん	298	76	26%	26	0.1	0.1	0.3	4.5
フラチオカルブ	4	殺虫剤	(失効)	298	68	23%	10	0.1	0.1	0.1	2.5
カルボスルファン	4	殺虫剤	水稻、大根、かんしょ	298	64	21%	61	0.3	0.3	1.7	2.5
		カルボフラン		298	237	80%	203	0.1	1.0	5.3	25
		カルボフラン-3-ヒドロキシ		298	6	2%	10	0.1	0.2	1.0	3.9
		カルボフラン-3-ケト		94	46	49%	2.6	2.5	2.5	2.5	2.5
		カルボフラン-7-フェノール		77	0	0%					
クロルピリホス	1	殺虫剤	みかん、果樹、ぶどう	298	96	32%	3.9	0.04	0.1	0.2	1.0
		クロルピリホスオキソン		287	32	11%	2.0	0.1	0.1	0.1	1.9
エチルチオメトン(ジスルホトン)	2	殺虫剤	みかん、水稻、キャベツ	298	62	21%	15	0.1	0.7	0.7	1.5
		ジスルホトンオキソン		298	37	12%	4	0.1	0.2	1.9	3.8
		ジスルホトンスルホキシド		298	147	49%	59	0.1	0.5	5.0	6.8
ダイアジノン	2	殺虫剤	みかん、キャベツ、かんしょ	298	264	89%	221	0.1	0.1	0.5	2.4
		ダイアジノンオキソン		287	31	11%	1.4	0.1	0.1	0.1	0.3
		2-イソプロピル-6-メチル-βリミジン-4-オル		298	226	76%	28	0.1	0.3	0.5	5.0
チオジカルブ	1	殺虫剤	キャベツ、みかん、野菜	298.0	29.0	10%	29	0.1	0.3	0.5	0.5
		メソミル		298	59	20%	203	0.3	0.3	0.5	0.5
フェニトロチオン(MEP)	7	殺虫剤	水稻、みかん、なし	194	10	5%	467	93	129	141	160
		フェニトロチオンオキソン		298	17	6%	21	0.1	0.1	2.9	5.3
		3-メチル-4-ニトロフェノール		194	2	1%	301	183		242	
		3-メチル-4-ニトロアニソール		194	1	1%	38	38		38	
		m-クレゾール;3-メチルフェノール		194	62	32%	164	25	47	59	81
		メチルパラチオン		194	0	0%					
		メチルパラチオンオキソン		194	0	0%					
		リン酸トリメチル		298	2	1%	13	11		12	
フェンチオン(MPP)	6	殺虫剤	かんしょ、ぱれいしょ	298	47	16%	26	0.3	0.3	0.3	4.7
		フェンチオン(MPP)スルホキシド		298	193	65%	16	0.1	0.1	0.3	2.0
		フェンチオン(MPP)スルホン		298	17	6%	18	0.1	1.8	7.4	10
		フェンチオン(MPP)オキソン		298	14	5%	3	0.4	1.0	1.0	2.0
		フェンチオン(MPP)オキソンスルホキシド		296	44	15%	2	0.1	0.1	0.1	2.0
		フェンチオン(MPP)オキソンスルホン		298	4	1%	5	0.3	0.4	2.8	5.0
		3-メチル-4-(メチルチオ)フェノール		194	12	6%	315	36	73	103	135
マラチオン(マラソン)	6	殺虫剤	キャベツ、みかん、大根	298	182	61%	122	0.1	0.1	0.3	1.0
		マラオキソン		287	25	9%	2	0.1	0.1	0.5	0.5
		マレイン酸ジエチル		299	3	1%	8	0.5	0.5	1.0	7.6
		酒石酸ジエチル		194	17	9%	646	43	67	100	412
		リンゴ酸ジエチル		194	7	4%	1082	11	191	282	900
メチダチオン(DMTP)	1	殺虫剤	みかん、くり、野菜	298	90	30%	28	0.1	0.5	1.3	2.5
		メチダチオンオキソン		298	40	13%	7	0.1	0.2	0.3	5.0
チアメトキサム	1	殺虫剤	なし、野菜	298	102	34%	131	0.1	0.1	2.0	8.1
		クロチアニジン		240	180	75%	159	0.1	0.9	13	30
ピリプロキシフェン	1	殺虫剤	瓜野菜	193	82	42%	404	0.4	0.4	36	98
		p-フェノキシフェノール		194	5	3%	227	60	78	135	211

びその環境変化体による汚染が存在しうることが明らかになった。一方で、山梨県や神奈川県の水源、取水口では、検出が確認できた環境変化体も低濃度であり、検出率も農耕地に比べると少なかった。

5) 親農薬およびその環境変化体の検出濃度比

親農薬37物質とその環境変化体63物質の同時分析を行った平成25年度データを用いて、測定した各地点の各試料の平均値を求め、親農薬の濃度と環境変化体の濃度の比を図(2)-12にまとめて整理した。ここで、親農薬が共通の場合および複数の環境変化体が存在する場合はそれぞれまとめて整理したので、親子の組み合わせは34種類になっている。37地点における総体的な整理であるが、これより、親農薬に比べて環境変化体の濃度の方が高い親子が半数以上にのぼっている実態が明らかになった。

6) 親農薬とその環境変化体の変異原性物質生成能（MFP）を加味した河川水質の比較

モニタリングによって得られた親農薬37物質とその環境変化体63物質の濃度に変異原性物質生成能（MFP）を掛け合わせ、各地点での親農薬とその環境変化体による変異原性物質生成能の合算値を求めて図(2)-13に示した。MFPデータの有無により、比較対象にできた親農薬が15物質、環境変化体が17物質と多くはないが、環境変化体に由来するMFPの合算値が親農薬に由来するものよりも大きくなっている場合が多いことがわかった。これより、実際の河川水を変異原性物質生成能で見る場合にも、親農薬よりもむしろ環境変化体に着目すべき実情が示されたものと言える。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

農薬をはじめとする化学物質の環境リスク評価を行う際に、その分解物までを含めたリスクを対象にすることは、環境リスク評価の研究分野において最もホットな話題のひとつであり、基本的な評価の考え方やツールの開発が検討課題に挙がっている。その中でも、人や環境生物への環境暴露量を評価する際に最も重要なのが環境モニタリングデータであるが、分解物の生成（どのような物質をモニタリング対象とすべきか）や環境挙動に関する学術的情報は極めて少ないのが現状である。また、そもそも膨大な数に及ぶ化学物質の暴露がないことの環境モニタリングデータを継続的に入手し監視していく必要があるため、効率的な同時一斉分析手法が不可欠な技術になる。

そのような科学的・社会的ニーズに基づき、サブテーマ2では、水試料に共通の前処理法を用いるGC/MSおよびLC/MS/MS一斉分析手法を構築し、多岐に亘る親農薬とその環境変化体の同時分析を可能にした。また、この技術を用いて、水道水源近傍や農耕地近傍および一般環境測定点における実態調査を実施して、親農薬の消失に伴うその環境変化体の検出挙動を明らかにし、親農薬に比べその環境変化体が高頻度・高濃度に検出される実態を示した。これらの成果は、環境中へ排出された後に光分解や加水分解、生分解などを受け、変化体となって環境中に残留している化学物質が決して少なくない事実を明らかにしており、環境リスクの評価と

制御に関する研究領域においてさらなる学術的興味を呼び起こすものである。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

横浜市環境創造局においては、本報で明らかにした一斉分析法を市内各所の河川水の濃度スクリーニング手法の一つと位置づけ、特定化学物質の環境中への排出量の把握等および管理の改善の促進に関する法律（化管法）の対象物質や化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）の旧第三種監視化学物質（水生生物に毒性を有する物質）に適用し、市内全域のきめ細かな濃度スクリーニングに活用している。また、事業者における自主的取組への支援対策として事業所排水の濃度スクリーニングへの適用を仲介している。

<行政が活用することが見込まれる成果>

化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）の優先評価化学物質や、特定化学物質の環境中への排出量の把握等および管理の改善の促進に関する法律（化管法）の特定化学物質については、法の定めあるいは自主的取組による環境リスク評価の実施が求められている。この中で、環境中の分解を含めたリスク評価や多数の物質のモニタリング手法およびモニタリングデータの整備が不可欠となっており、ここに本研究の成果、すなわち、共通の前処理と一斉分析による数百物質についての同時モニタリング手法が導入検討されることが期待される。また、サブテーマ2で得られた成果により、農薬とその環境変化体が高頻度・高濃度に検出される事実や、環境変化体の方がより高濃度・高頻度で検出される事実を親子関係のある多数の農薬およびその環境変化体に対して実証したものであり、環境変化体を含めた化学物質のライフスタイルに亘る環境リスク評価の必要性を強く要求できるものである。

なお、サブテーマ2を統括する亀屋隆志は、経済産業省の化学物質審議会安全対策部会の委員、産業構造審議会産業技術環境分科会産業環境対策小委員会の委員、環境省の化審法審査支援検討会の委員、横浜市環境創造審議会の委員、川崎市化学物質対策検討会の委員などとして、中央および地方行政における環境リスクの評価手法の検討会等に積極的に参画し、行政施策の立案に貢献しており、今後の環境リスク評価における一斉モニタリングデータの活用が期待される。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) T. KONDO, M. SAITO, T. KAMEYA, K. FUJIE, T. MATSUSHITA and H. TAKANASHI: Journal of Water and Environment Technology, 10(4), 409-417 (2012)
“Simultaneous Analytical Method for both Pesticides and Pesticide Transformation Products in

Water Environment (PTPW) using GC-MS and LC-MS/MS"

- 2) T. KAMEYA, M. SAITO, T. KONDO, W. TORIUMI, K. FUJIE, T. MATSUSHITA and H. TAKANASHI: Journal of Water and Environment Technology, Vol.10, No.4, pp.427-436 (2012)
"Detection of Fenitrothion and its Degradate 3-Methyl-4-nitrophenol in Water Environment"
- 3) T. KONDO, S. MIHO, T. KAMEYA, K. FUJIE, T. MATSUSHITA and H. TAKANASHI: Journal of Water and Environment Technology, Vol.12, No.2, pp.123-133 (2014)
"Addressing matrix effects in analysis for pesticides and their transformation products using a LC-positive-electrospray-MS/MS, Journal of Water and Environment Technology"
- 4) T. KAMEYA, K. KONUMA, T. KONDO, Y. MATSUMOTO, H. KATSUMATA, T. KOBAYASHI and K. FUJIE: Journal of Water and Environment Technology, Vol.12, No.2, pp.161-175 (2014)
"Nitrogen purge condition for simultaneous GC/MS measurement of chemicals"

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 亀屋隆志、勝俣宏信、小池瑛子、齋藤美穂、村田夏樹、松本祐典:環境科学会2011年会(2011)
「化管法対象物質のGC/MS包括一斉分析の可能性検討」
- 2) 小池瑛子、亀屋隆志、鳥海 航、小林 剛、藤江幸一:環境科学会2011年会(2011)
「生態毒性物質の環境モニタリングと季節変動」
- 3) 小池瑛子、亀屋隆志、近藤貴志、小林 剛、藤江幸一:第46回日本水環境学会年会(2012)
「河川水の生態毒性物質モニタリングと毒性試験」
- 4) 齋藤美穂、鳥海 航、亀屋隆志、近藤貴志、松下 拓、高梨啓和:第46回日本水環境学会年会(2012)
「殺虫剤Fenitrothionとその加水分解物3M4NPの環境水中での存在状況」
- 5) T. KAMEYA, T. KONDO, T. KOBAYASHI, K. FUJIE, H. TAKANASHI and T. MATSUSHITA: The 10th Japan-China-Symposium on Water Environment, Shenzhen, China, 2012
"An Estimation about Potential Load of Agricultural Chemicals to Water Environment in Japan"
- 6) T. KAMEYA, M. SAITO, T. KONDO, W. TORIUMI, K. FUJIE, T. MATSUSHITA and H. TAKANASHI: Water and Environment Technology Conference 2012 (WET2012), Tokyo, Japan, 2012
"Detection of Fenitrothion and its Degradate 3-methyl-4-nitrophenol in Water Environment"
- 7) T. KONDO, M. SAITO, T. KAMEYA, K. FUJIE, T. MATSUSHITA and H. TAKANASHI: Water and Environment Technology Conference 2012 (WET2012), Tokyo, Japan 2012
"Simultaneous analytical method for both pesticides and their transformation products in water environment using GC-MS and LC-MS/MS"
- 8) 小沼一元、齋藤美穂、三保沙織、近藤貴志、亀屋隆志、藤江幸一:環境科学会2012年会(2012)
「微量化学物質分析の窒素吹付濃縮過程における揮散ロスとヘンリイ定数との関係」

- 9) 小池瑛子、亀屋隆志、近藤貴志、小林 剛、藤江幸一：環境科学会2012年会 (2012)
「各種環境化学物質のリスク評価に必要な分析感度と濃縮法の検討」
- 10) 斎藤美穂、村田夏樹、近藤貴志、亀屋隆志、藤江幸一：環境科学会 2012 年会 (2012)
「水質環境測定点における化管法対象物質の一斉検出とその頻度」
- 11) 近藤貴志、斎藤美穂、鳥海航、小池瑛子、亀屋隆志、松下 拓、高梨啓和：環境科学会 2012
年会 (2012)
「フェニトロチオンなどを例にした河川水中の農薬と農薬分解物の測定」
- 12) 亀屋隆志、近藤貴志、松下 拓、高梨啓和：環境科学会 2012 年会 (2012)
「化審法等における分解生成物の取扱い」
- 13) E. KOIKE, T. KAMEYA, T. KOBAYASHI, K. FUJIE, T. MATSUSHITA and H. TAKANASHI:
IWA World Congress 2012, Busan, Korea, 2012
"Comparison of ecotoxicity strength and concentration of chemicals in river water"
- 14) M. SAITO, T. KAMEYA, K. FUJIE, T. MATSUSHITA and H. TAKANASHI: IWA World
Congress 2012, Busan, Korea, 2012
"A simultaneous detection method of the Japanese PRTR chemicals and its application to sewerage
facility"
- 15) T. KONDO, M. SAITO, T. KAMEYA, K. FUJIE, T. MATSUSHITA and H. TAKANASHI,
SETAC Asia/Pacific 2012, Kumamoto, Japan, 2012
"Monitoring approach of pesticides and their transformation products in water environment"
- 16) 亀屋隆志、小池瑛子、斎藤美穂、三保紗織、近藤貴志、小林 剛、亀屋隆志、藤江幸一：
第 47 回日本水環境学会年会(2013)
「河川における約 500 種の生態毒性物質の一斉分析とハザード比」
- 17) 小池瑛子、斎藤美穂、三保紗織、亀屋隆志、近藤貴志、小林 剛、亀屋隆志、藤江幸一：
第 47 回日本水環境学会年会 (2013)
「生態毒性物質のハザード比と藻類・甲殻類急性毒性試験結果の比較」
- 18) 斎藤美穂、三保紗織、小池瑛子、近藤貴志、小林 剛、亀屋隆志、藤江幸一：第 47 回日本
水環境学会年会 (2013)
「LC/MS/MS による PRTR 対象物質同時分析法の適用範囲」
- 19) 近藤貴志、斎藤美穂、小池瑛子、三保紗織、亀屋隆志、松下 拓、高梨啓和：第 47 回日本
水環境学会年会 (2013)
「GC/MS および LC/MS/MS 同時分析による農薬分解物の河川水モニタリング」
- 20) 三保紗織、斎藤美穂、近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓、高梨啓和：第 47 回日本水環境学会
年会(2013)
「各地の河川水中の農薬・農薬分解物の LC/MS/MS 同時分析におけるマトリクス効果」
- 21) S. MIHO, M. SAITO, E. KOIKE, T. KONDO, T. KAMEYA, T. KOBAYASHI and K. FUJIE,
Water and Environment Technology Conference 2013 (WET2013), Tokyo, Japan, 2013
"Simultaneous measuring method for PRTR chemicals in water environment by using GC/MS and
LC/MS/MS"
- 22) T. KONDO, S. MIHO, T. KAMEYA, K. FUJIE, T. MATSUSHITA and H. TAKANASHI, Water

- and Environment Technology Conference 2013 (WET2013), Tokyo, Japan, 2013
 "Addressing matrix effects in analysis for pesticides and their transformation products using a LC-positive-electrospray-MS/MS"
- 23) K. KONUMA, T. KONDO, S. MIHO, T. KAMEYA, K. FUJIE, T. MATSUSHITA and H. TAKANASHI: Water and Environment Technology Conference 2013 (WET2013), Tokyo, Japan, 2013
 "Pesticide transformation products in environmental waters: comparison between paddy field and drinking water source"
- 24) T. KAMEYA, K. KONUMA, T. KONDO, Y. MATSUMOTO, H. KATSUMATA, T. KOBAYASHI and K. FUJIE, Water and Environment Technology Conference 2013 (WET2013), Tokyo, Japan, 2013
 "Nitrogen purge condition for simultaneous GC/MS measurement of chemicals"
- 25) 三保紗織、鈴木拓万、近藤貴志、亀屋隆志、小林 剛 : 環境科学会 2013 年会 (2013)
 「LC/MS/MS を用いた一斎分析における分析試料溶媒によるピーク形状の変化」
- 26) 佐藤裕文、石川浩輔、鈴木 翔、亀屋隆志、小林 剛 : 環境科学会 2013 年会 (2013)
 「化管法対象物質の光、加水分解性とフェントン、オゾンおよび塩素との反応性」
- 27) 小沼一元、松本佑典、近藤貴志、亀屋隆志、小林 剛、藤江幸一 : 環境科学会 2013 年会 (2013)
 「河川水の GC/MS AIQS-DB 分析におけるカラム性能劣化とその影響を受ける物質」
- 28) 亀屋隆志、小池瑛子、小沼一元、川田久美子、近藤貴志、小林 �剛、藤江幸一 : 環境科学会 2013 年会 (2013)
 「生態毒性物質の環境モニタリング～農薬成分を中心として～」
- 29) 近藤貴志、亀屋隆志、松下 拓、高梨啓和 : 環境科学会 2013 年会 (2013)
 「水道法農薬を中心とした農薬・農薬分解物の河川モニタリング」
- 30) T. KAMEYA, T. KONDO, T. KOBAYASHI, K. FUJIE, H. TAKANASHI and T. MATSUSHITA, IWA-ASPIRE Conference 2013, Daejeon, Korea, 2013)
 "Monitoring of pesticides degradation products in water environment"
- 31) 近藤貴志、松本祐典、小沼一元、亀屋隆志、松下 拓、高梨啓和 : 第 65 回日本生物工学会大会(2013)
 「環境中における化学物質の構造変化体と微生物代謝との関連性」
- 32) 鈴木拓万、小沼一元、近藤貴志、亀屋隆志、松下拓、高梨啓和 : 日本水処理生物学会第 50 回大会 (2013)
 「農薬散布時における水環境中の農薬・農薬変化体の一斎分析」
- 33) 鈴木拓万、小沼一元、近藤貴志、亀屋隆志、藤江幸一、小林 剛、松下 拓、高梨啓和 : 第 48 回日本水環境学会年会 (2014)
 「河川水中の農薬および農薬分解物の実態調査」
- 34) 亀屋隆志、三保紗織、近藤貴志、小林剛、松下 拓、高梨啓和 : 第 48 回日本水環境学会年会, (2014)
 「環境水中化学物質の一斎分析によるモニタリングの可能性」

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) シンポジウム、セミナー等の開催（主催のもの）

- 1) 環境安全管理と科学技術研究（平成23年10月1日、横浜国立大学、観客3名）
- 2) 生活や産業を支える環境工学（平成25年7月11日、神奈川県環境科学センター、観客35名）

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

- 1) 斎藤美穂、鳥海 航、亀屋隆志、近藤貴志、松下 拓、高梨啓：和第46回日本水環境学会年会「優秀発表賞」受賞(2012)
「殺虫剤fenitrothionとその加水分解物3M4NPの環境水中での存在状況」
- 2) 小池瑛子、亀屋隆志、近藤貴志、小林 剛、藤江幸一：第46回日本水環境学会年会「優秀発表賞」受賞：(2012)
「河川水の生態毒性物質モニタリングと毒性試験」
- 3) T. KAMEYA, M. SAITO, T. KONDO, W. TORIUMI, K. FUJIE, T. MATSUSHITA and H. TAKANASHI: Water and Environment Technology Conference 2012 (WET2012) Excellent Presentation Award: (2012)
“Detection of Fenitrothion and its Degradate 3-methyl-4-nitrophenol”
- 4) T. KONDO, S. MIHO, T. KAMEYA, K. FUJIE, T. MATSUSHITA and H. TAKANASHI: Water and Environment Technology Conference 2013 (WET2013) Excellent Presentation Award: (2013)
“Addressing matrix effects in analysis for pesticides and their transformation products using a LC-positive-electrospray-MS/MS”
- 5) 斎藤美穂、三保紗織、小池瑛子、近藤貴志、小林 剛、亀屋隆志、藤江幸一：第47回日本水環境学会年会「優秀発表賞」受賞(2013)
「LC/MS/MSによるPRTR対象物質同時分析法の適用範囲」
- 6) 鈴木拓万、小沼一元、近藤貴志、亀屋隆志、藤江幸一、小林 剛、松下 拓、高梨啓和：第48回日本水環境学会年会「発表優秀賞」受賞 (2014)
「河川水中の農薬および農薬分解物の実態調査」

8. 引用文献

- 1) 岩船 敬：明治大学博士論文、博士(農学)、乙第 510 号、平成 25 年 3 月 25 日
「日本の河川生態系における農薬と主要な代謝分解物の環境動態と生態毒性」
- 2) 鴨志田公洋、小坂浩司、浅見真理、相澤貴子：水環境学会誌、30(3)、145-154 (2007)
「塩素処理における有機りん系農薬の類型別反応性とオキソン体への変換について」
- 3) 農林水産消費安全技術センター：農薬登録の仕組みと登録検査、

http://www.famic.go.jp/information/business_guidance/nouyaku.html

- 4) 石井誠治, 浦野紘平, 龜屋隆志 : 水環境学会誌、23(2)、85-9 (2000)
「多孔質ポリスチレン樹脂カートリッジによる水中微量有機化合物の濃縮条件の一般化」

(3) 農薬加水分解物の浄水処理性の評価

北海道大学大学院工学研究院

松下 拓

平成23～25年度累計予算額：39,145千円

(うち、平成25年度予算額：9,126千円)

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

サブテーマ3では、26種類の（農薬の環境変化体、PTPWs）とその親農薬15種類の合計41種の物質の浄水処理性（凝集沈殿処理、活性炭吸着処理、オゾン処理）をラボラトリースケールプラント実験により詳細に調べた。その結果、PTPWsは親農薬に比べていずれの処理法においても処理性が低くなる傾向にあり、凝集沈殿処理はもとより、活性炭吸着処理でも除去できない物質もあることが分かった。しかしながら、サブテーマ1で変異原性物質生成能が高いとされる物質は、いずれも活性炭吸着処理にて除去可能であり、活性炭吸着処理にて除去できなかった物質は、いずれも変異原性物質生成能が低い物質であった。すなわち、変異原性物質生成能が高く、かつ浄水処理で除去困難な物質は、現段階では確認されなかった。

[キーワード]

凝集沈殿処理、活性炭吸着処理、オゾン処理、変異原性

1. はじめに

浄水処理場に流入する農薬類の浄水処理性については、多くの先行研究があり、処理が容易なものから困難なものまで様々であると報告されている。一方、農薬は環境中にて加水分解や光分解などの様々な修飾を受け、その形を変えた後に浄水処理場に流入すると考えられる。農薬原体レベルでの消長に対する議論は数多くあるのに対し、これらの修飾後の物質（農薬の環境変化体、PTPWs）の浄水処理性については、先行研究が極めて少ないので現状である。環境中での修飾により、一部の農薬の毒性が増加したとの報告もあるため、これらのPTPWsの挙動や毒性を調べる必要性は極めて大きい。

2. 研究開発目的

サブテーマ3では、「凝集－沈殿－砂ろ過」処理、あるいは高度浄水処理であるオゾンや活性炭吸着処理などのラボラトリースケールプラント実験を用い、PTPWsの浄水処理性を調べることを目的とする。これにより、PTPWsが現行の浄水処理で除去可能であるか否かを判断すると共に、どのような処理法なら除去可能であるかを示す。

3. 研究開発方法

(1) 本研究にて対象とした物質

26種類のPTPWsとその親農薬15種類の合計41種の物質（表(3)-1）の浄水処理性を、室内実験にて調べた。対象とした浄水処理工程は、わが国の浄水処理場にて広く用いられる処理法である凝

表(3)-1 本研究で対象としたPTPWsとその親農薬(表中の✓はLC/MSにて定量、それ以外はGC/MSにて定量)

<u>殺虫剤</u>	<u>除草剤</u>	<u>殺菌剤</u>
✓ Diazinon <ul style="list-style-type: none"> ✓ Diazinon-oxon ✓ Diethyl phosphate ✓ 2-Isopropyl-6-methyl-pyrimidine-4-ol 	✓ DMTP <ul style="list-style-type: none"> ✓ DMTP-oxon 	✓ Cafenstrole <ul style="list-style-type: none"> ✓ Cafenstrole-descarbamoyl
✓ Dichlorovos (DDVP) <ul style="list-style-type: none"> ✓ Dimethyl phosphate 	✓ Pyriproxyfen <ul style="list-style-type: none"> p-Phenoxyphenol 	✓ Mefenacet <ul style="list-style-type: none"> ✓ 2(3H)Benzothiazolone ✓ 2-Aminothiophenol
Disulfoton <ul style="list-style-type: none"> ✓ Disulfoton-sulfoxide Disulfoton-oxon 	✓ Thiobencarb <ul style="list-style-type: none"> p-Chlorobenzyl alcohol 	✓ Mepronil
✓ Etophenprox <ul style="list-style-type: none"> ✓ 2-(4-Ethoxyphenyl)-2-methyl propanol 		✓ Pencycuron <ul style="list-style-type: none"> ✓ Phenylurea
Fenitrothion <ul style="list-style-type: none"> 3-methyl-4-nitrophenol 3-Methyl-4-nitroanisole ✓ Fenitrooxon (MEP-oxon) ✓ Methyl paraoxon ✓ Trimethyl phosphate 	✓ Thiophanate-methyl <ul style="list-style-type: none"> ✓ Carbendazim ✓ 2-Aminobezimidazole 	✓ Thiophanate-methyl <ul style="list-style-type: none"> TPN (Chlorothalonil) 1,3-Dicyanobenzene
✓ Malathion <ul style="list-style-type: none"> ✓ Malaoxon ✓ D-(-)-Tartaric diethyl ester ✓ Diethyl malate Diethyl fumarate 		

集沈濾砂ろ過処理と、高度浄水処理として用いられる、活性炭吸着処理とオゾン処理である。

(2) 凝集沈殿処理

まず、凝集沈殿処理による処理性を調べた。PTPWsと親農薬の計41物質をそれぞれ10 µg/L程度を含む処理原水を豊平川河川水（藻岩浄水場原水、濁度: 1.1 NTU, E260: 0.03 cm⁻¹, DOC: 0.97 mg/L）にて調整した。その際、PTPWsと親農薬を河川水に直接添加するのではなく、まずアセトンを用いてストックソリューション（各物質10 mg/L程度）を作成し、そのストックソリューションを河川水に添加することにより人工原水を調整した。その後、浄水処理に影響を及ぼす可能性があるアセトン濃度を低減するために、56 °Cの温浴下にて窒素ガスパージを3時間行い、アセトンを揮発させた。このようにして調整した人工原水中のアセトン濃度は10 µg/L以下であった（パージ＆トラップ-GC/MS (Agilent 7890A GC/5975C MS) にて定量）。この人工原水を、1 Lの角型ビーカーに入れ、ジャーテスターに設置した。凝集沈殿後にpHが7.0になるよう、あらかじめ調べておいた量の塩酸あるいは水酸化ナトリウム溶液を添加し、攪拌 (G=200 s⁻¹, 1 min) した。ここに、凝集剤（ポリ塩化アルミニウム）を、採水日の藻岩浄水場における凝集剤注入率の0.5, 1, 2倍になるよう3段階で添加し（概ね、0.5, 1.0, 1.5 mg-Al/L程度）、1 minの急速攪拌 (G=200 s⁻¹) と、10 minの緩速攪拌 (G=20 s⁻¹) を行い、その後60 min静置した。静置後に上澄水をサンプリングし、孔径0.45 µmのPTFE膜でろ過した。サンプル中の対象物質濃度は、LC/MS (Thermo & Fischer Q-Exactive) あ

るいは、固相抽出（Sep-pak Plus PS-2）で100倍濃縮した後にGC-MS（Agilent 7890A GC/5975C MS）にて測定した。

（3）活性炭吸着処理

PTPWsの活性炭吸着処理性を調べるために、以下の手順にてバッチ式吸着実験を行った。まず、豊平川河川水にPTPWsと親農薬の計41物質をそれぞれ10 µg/L程度となるように加え、共存アセトンを窒素ガスパージにより揮発させた。次に、塩酸にてpHを7.0になるように調整した。これを150 rpmで攪拌しつつ、5 mg/Lとなるように粉末活性炭（ $d_{50}=13.5\text{ }\mu\text{m}$ ）を添加し、経時的にサンプリングした。採取したサンプルを孔径0.2 µmのPTFE膜でろ過して活性炭粒子を除去し、ろ液中の対象物質の濃度をLC/MSあるいは固相抽出後にGC/MSにて測定した。

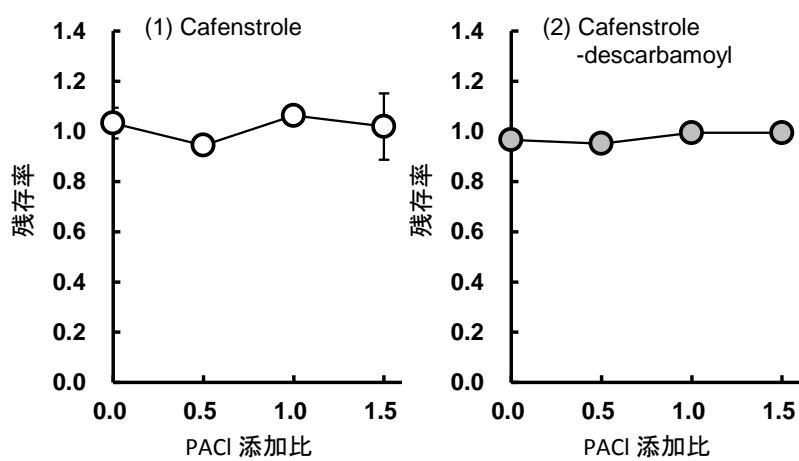
（4）オゾン処理

PTPWsのオゾン処理性を調べるために、以下の手順にてバッチ式オゾン処理実験を行った。オゾン処理では、親農薬から測定対象のPTPWsが生成する可能性があるため、物質の構造から判断して対象物質を生成物がかぶることのない7つのグループに分け、それぞれのグループに対してオゾン処理実験を行った（グループ1: mepronil, cafenstrole, trimethyl phosphate, 2-aminothiophenol, diethyl malate, phenylurea, carbendazim, グループ2: mepronil, diethyl phosphate, diethyl fumarate, cafenstrole-descarbamoyl, 3-methyl-4-nitrophenol, p-chlorobenzyl alcohol, TPN, pyriproxyfen, グループ3: mepronil, dimethyl phosphate, diethyl maleate, 3-methyl-4-nitroanisole, 2(3H)-benzothiazolone, pencycuron, p-phenoxyphenol, グループ4: mepronil, diazinon, 2-aminobenzimidazole, fenitrothion, disulfoton-sulfoxide, etophenprox, malaoxon, 1,3-dicyanobenzene, グループ5: mepronil, mefenacet, malathion, methyl paraoxon, disulfoton, diazinon-oxon, DMTP-oxon, 2-(4-ethoxyphenyl)-2-methylpropanol, グループ6: mepronil, DDVP, MEP-oxon, D-(-)-tararic acid diethyl ester, disulfoton-oxon, DMTP, thiophanate methyl, thiobencarb）。このように分けた対象物質を、豊平川河川水にそれぞれ10 µg/L程度となるように加え、共存アセトンを窒素ガスパージにより揮発させた。次に、塩酸にてpHを7.0になるように調整した。これをスターラーで攪拌しつつ、オゾン発生装置を用いて0.3 mg-O₃/L·minにてオゾンを通気し（水中平均オゾン濃度1.2 mg-O₃/L）、経時的にサンプリングを行った。亜硫酸ナトリウムにて残留オゾンを消去した後、対象物質の濃度をLC/MSあるいは固相抽出後にGC/MSにて測定した。

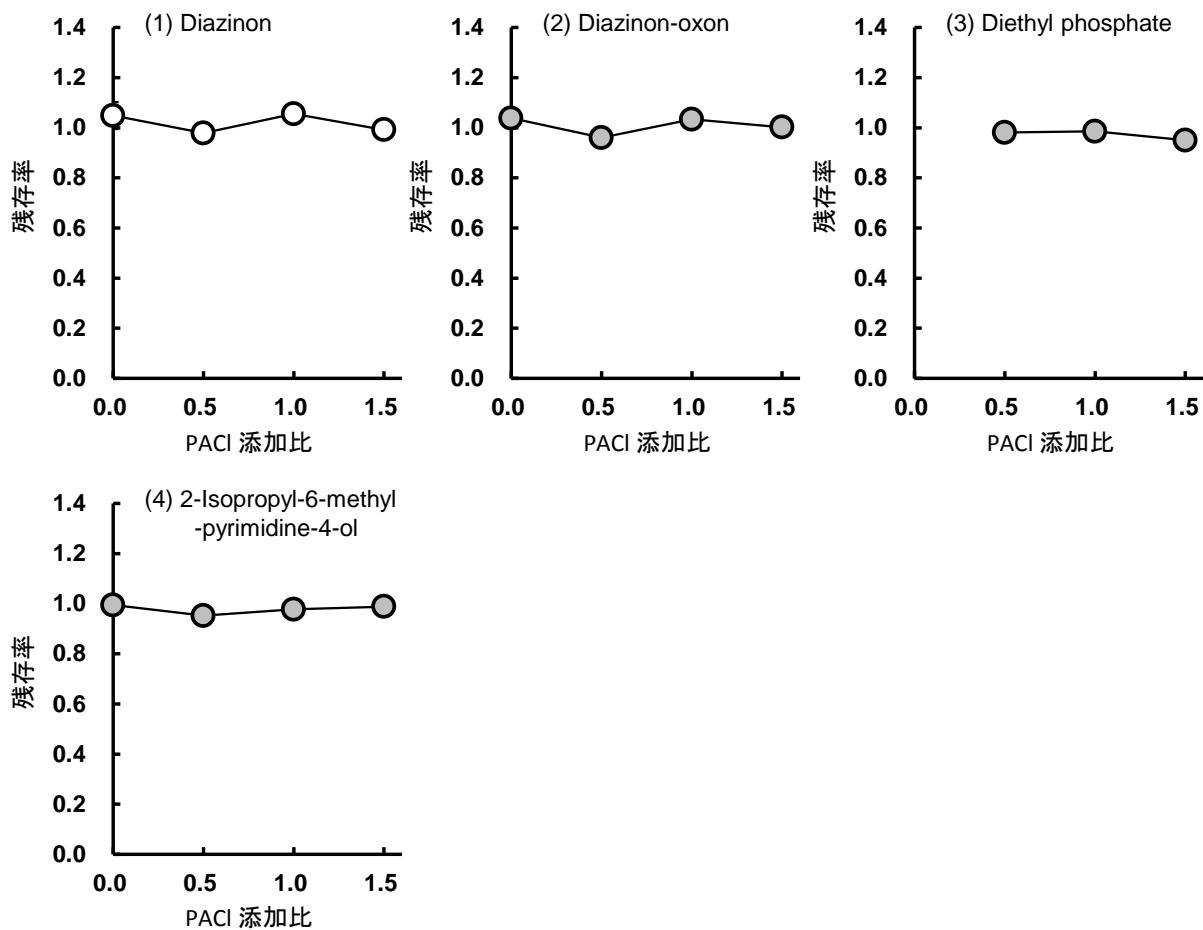
4. 結果及び考察

（1）凝集沈殿処理によるPTPWsの処理性

図(3)-2～15に凝集沈殿処理におけるPTPWsとその親農薬の処理性を示す。ほとんどの場合、PTPWsも農薬原体も、いずれの凝集剤添加濃度においても残存率に変化はなく、ほぼ全量残存した。一方、農薬原体であるetophenproxは6~8割程度除去された（図(3)-5(1)）。しかしながら、etophenproxの分解生成物である2-(4-ethoxyphenyl)-2-methylpropanolは全く除去されなかった（図(3)-5(2)）。このことから、凝集－沈殿－急速砂ろ過からなる通常の浄水処理では、一部の農薬原体は除去できる可能性はあるものの、対象としたいずれのPTPWsも除去できないと判断された。



図(3)-1 Cafenstroleとその分解生成物の凝集沈殿処理における処理性



図(3)-2 Diazinonとその分解生成物の凝集沈殿処理における処理性

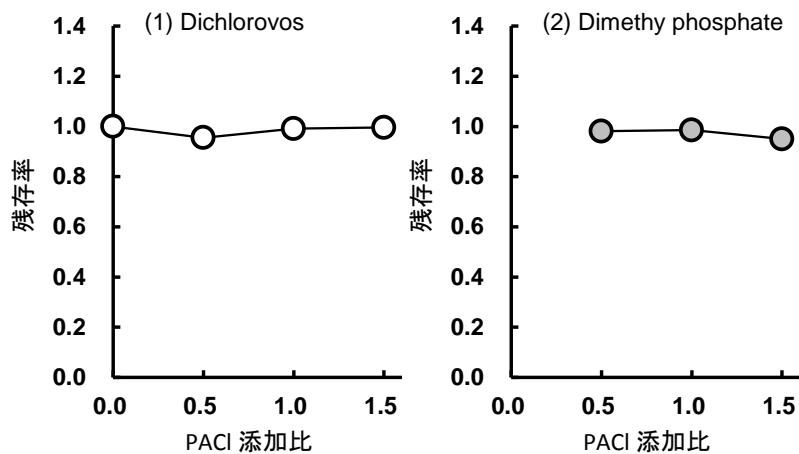


図 (3)-3 Dichlorovos (DDVP)とその分解生成物の凝集沈殿処理における処理性

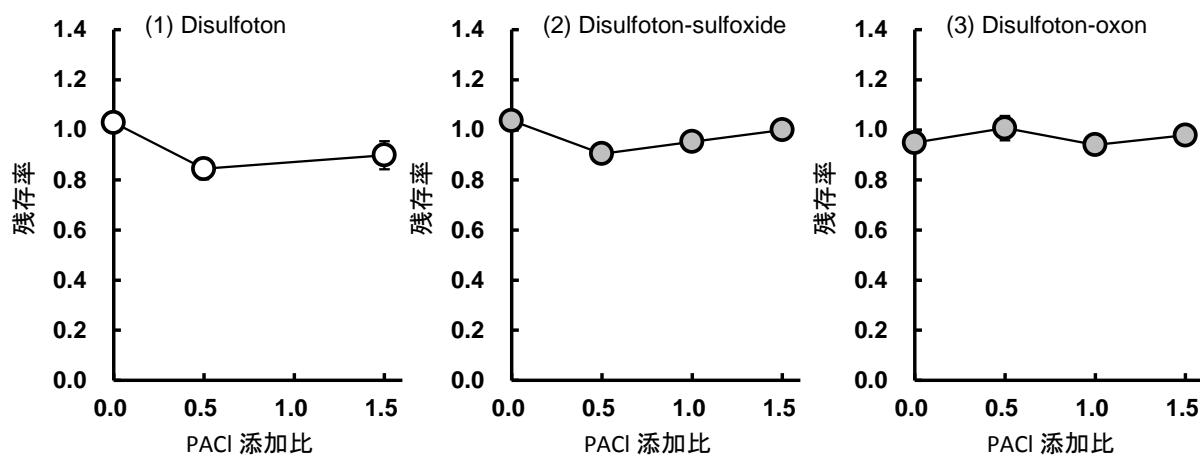


図 (3)-4 Disulfoton (Ethylthiometon)とその分解生成物の凝集沈殿処理における処理性

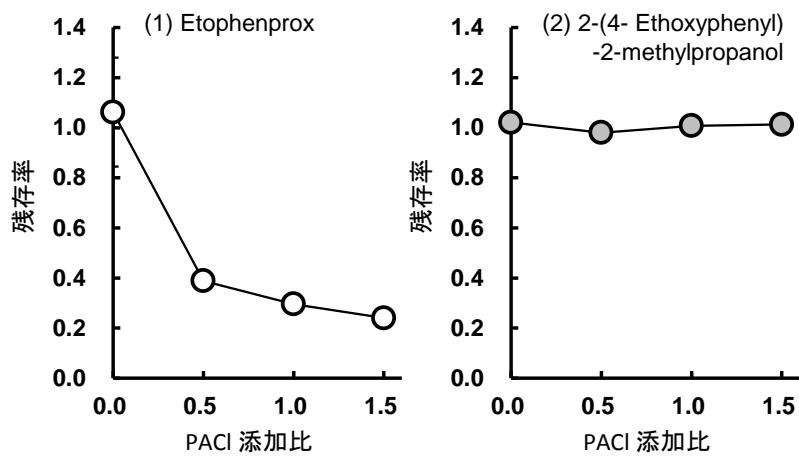
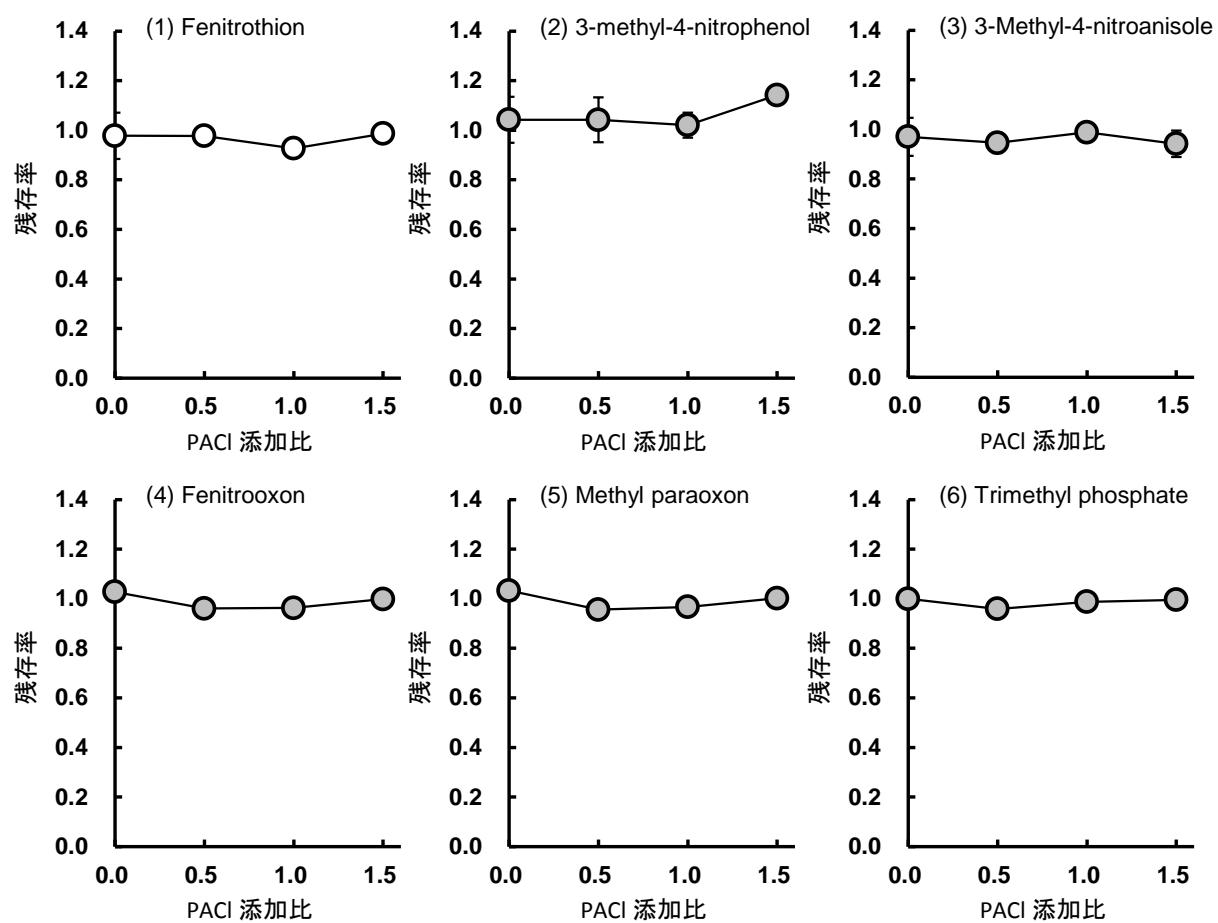
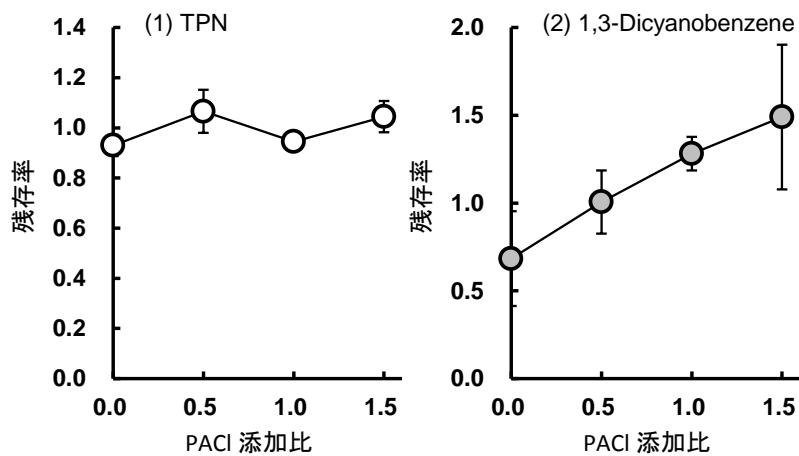


図 (3)-5 Etofenproxとその分解生成物の凝集沈殿処理における処理性



図(3)-6 Fenitrothionとその分解生成物の凝集沈殿処理における処理性



図(3)-7 TPN (Chlorothalonil)とその分解生成物の凝集沈殿処理における処理性

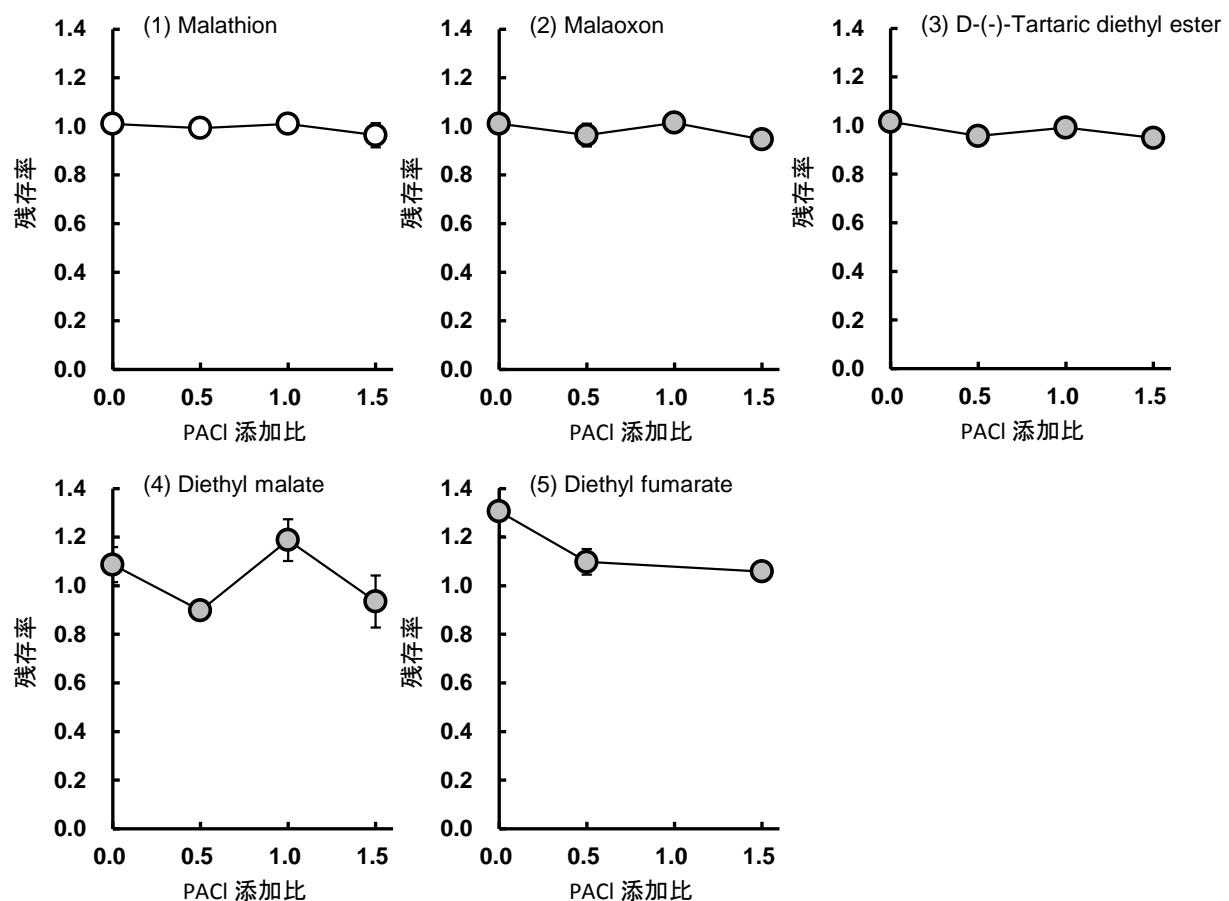


図 (3)-8 Malathionとその分解生成物の凝集沈殿処理における処理性

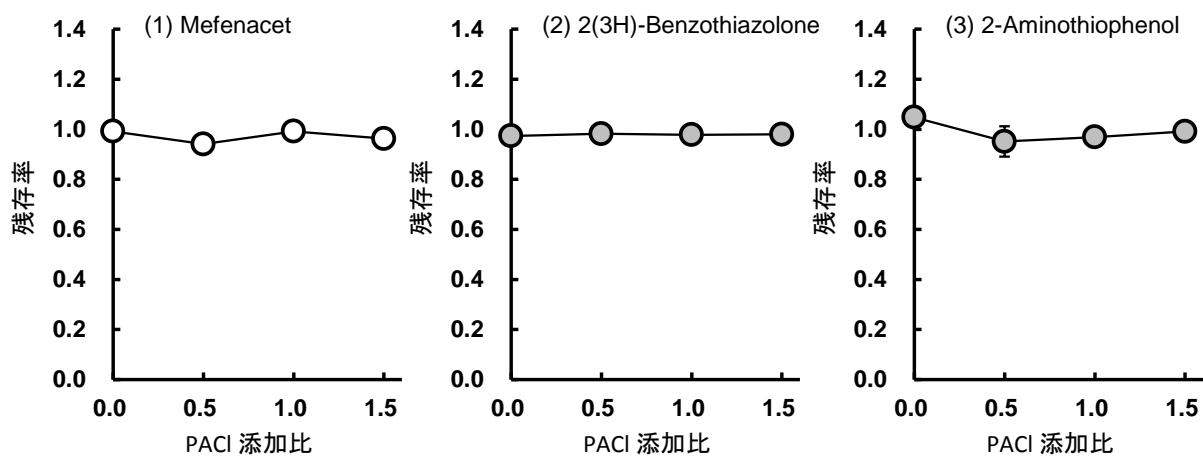


図 (3)-9 Mefenacetとその分解生成物の凝集沈殿処理における処理性

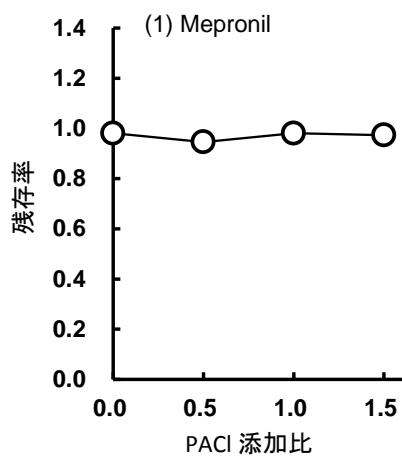


図 (3)-10 Mepronilの凝集沈殿処理における処理性

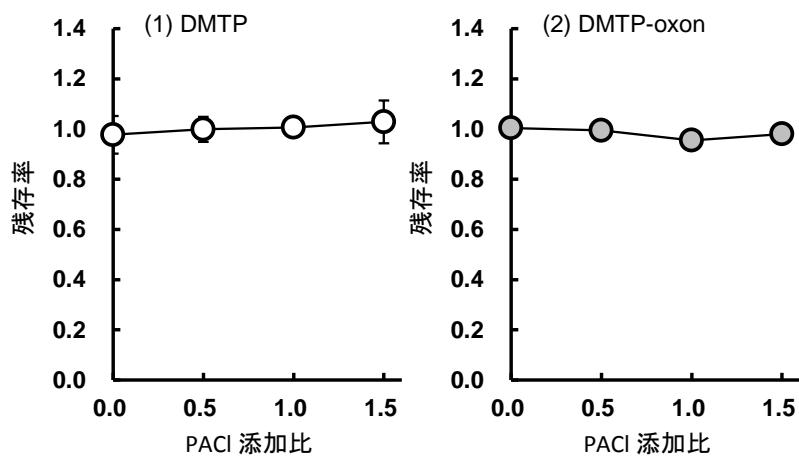


図 (3)-11 DMTPとその分解生成物の凝集沈殿処理における処理性

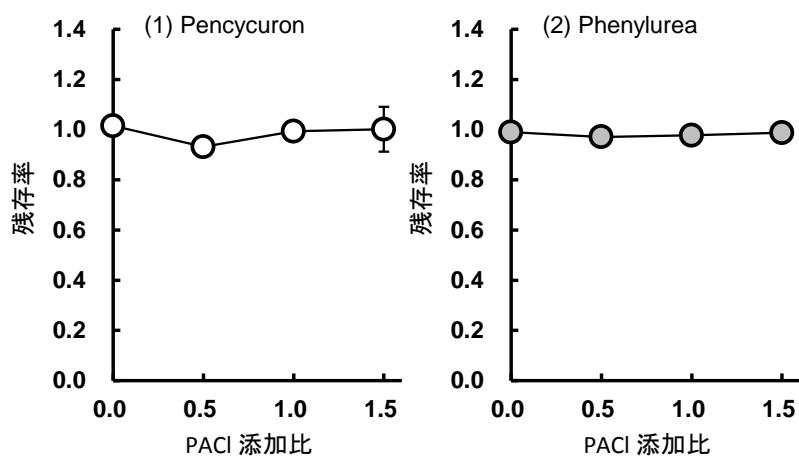


図 (3)-12 Pencycuronとその分解生成物の凝集沈殿処理における処理性

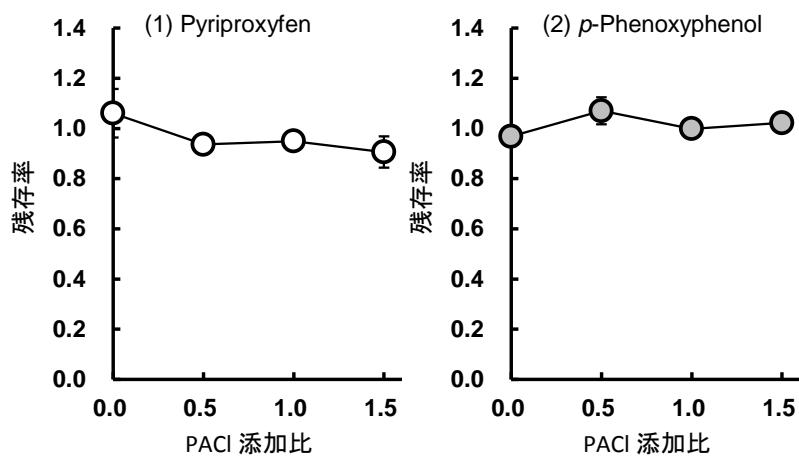


図 (3)-13 Pyriproxyfenとその分解生成物の凝集沈殿処理における処理性

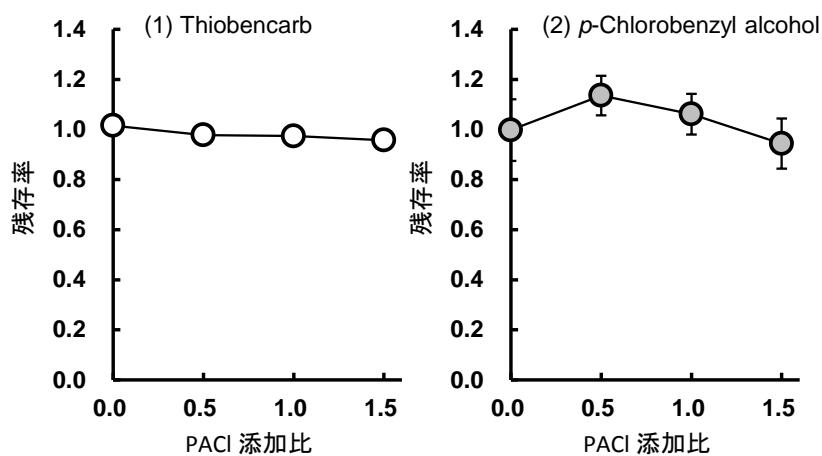


図 (3)-14 Thiobencarbとその分解生成物の凝集沈殿処理における処理性

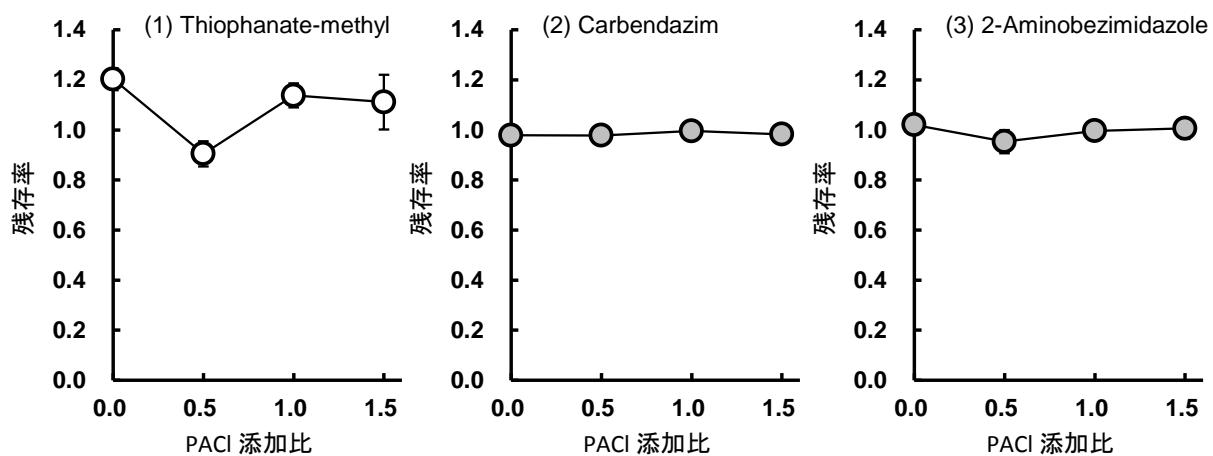


図 (3)-15 Thiophanate-methylとその分解生成物の凝集沈殿処理における処理性

本実験で得られた凝集沈殿処理後の各物質の残存率と各物性値の相関をとったところ、オクタノール／水分配係数 ($\log K_{ow}$) と処理後の残存率の間に関係性が見られた(図(3)-16)。すなわち、図に示されるように、 $\log K_{ow}$ の値が小さい場合には凝集沈殿では除去できず、その値が極めて大

きい場合 (>7) にのみ凝集沈殿での除去が期待できるとの結果が得られた。凝集沈殿処理では、疎水性の高い化学構造や原子団を含む化学物質の除去率が高くなる傾向が指摘されており、本研究にて得られた結果と定性的に一致する。また、農薬原体とPTPWsを比較すると、PTPWs (●) は農薬原体 (○) よりも $\log K_{ow}$ の値が小さい傾向にあった（図(3)-16）。このことにより、PTPWsが原体よりも凝集沈殿処理で除去されにくくなつたと考えられた。

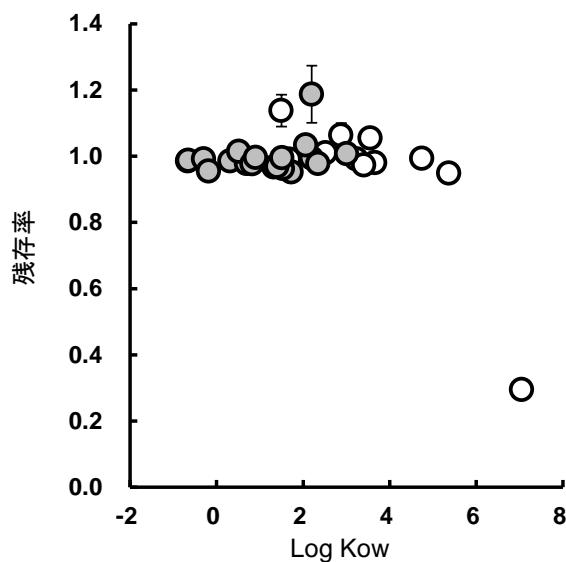


図 (3)-16 凝集沈殿処理における残存率(凝集剤添加率1倍時)とオクタノール水分配係数(Log K_{ow})の関係, 白丸: 農薬原体, 黒丸: 分解生成物

(2) 活性炭吸着処理によるPTPWsの処理性

図(3)-17～31に活性炭吸着処理によるPTPWsとその親農薬の処理性を示す。ほとんどの物質において、活性炭との接触により経時的に濃度が減少した。しかしながら、Diazinonの分解生成物であるdiethyl phosphate (図(3)-18(3)) などは活性炭との親和性が小さく、60 minの活性炭接触でもその濃度はほとんど変化しなかつた。

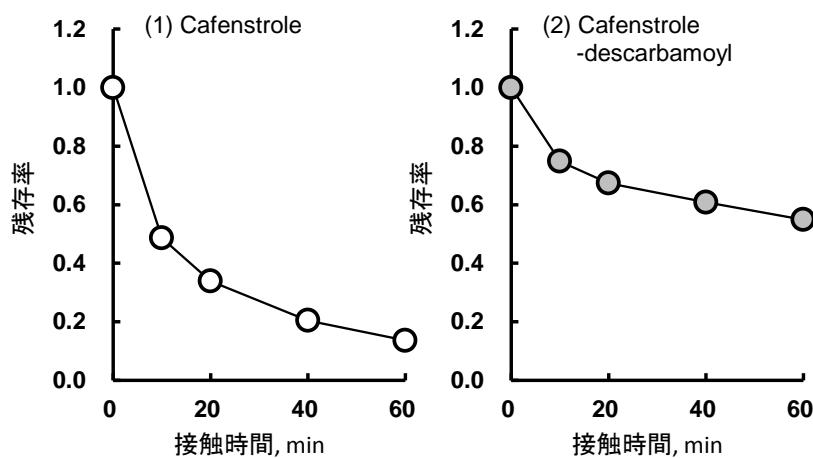


図 (3)-17 Cafenstroleとその分解生成物の活性炭吸着処理における処理性

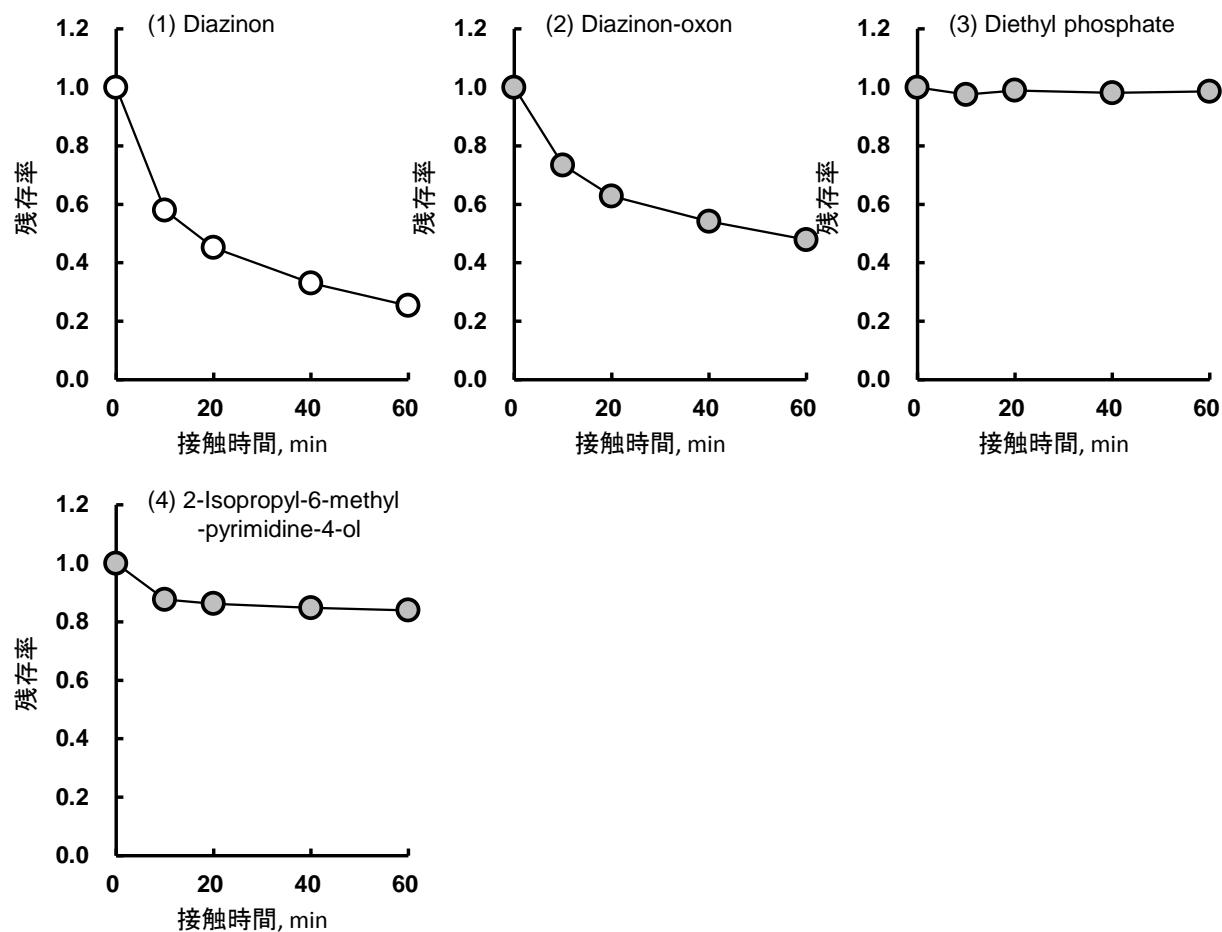


図 (3)-18 Diazinonとその分解生成物の活性炭吸着処理における処理性

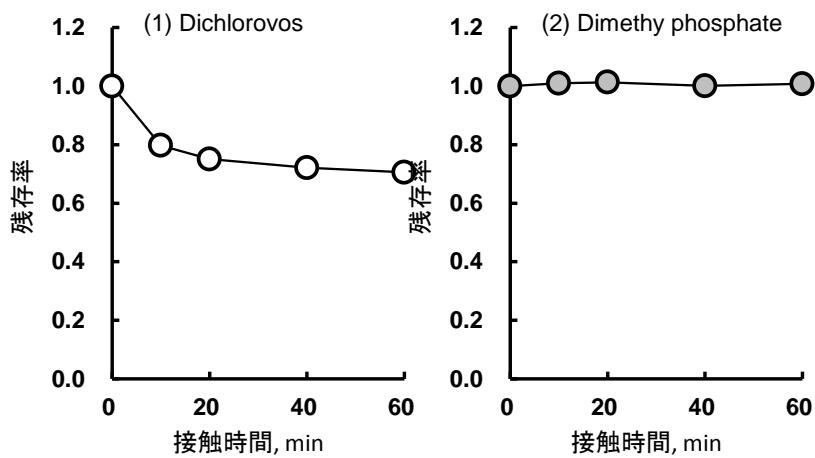


図 (3)-19 Dichlorovos (DDVP)とその分解生成物の活性炭吸着処理における処理性

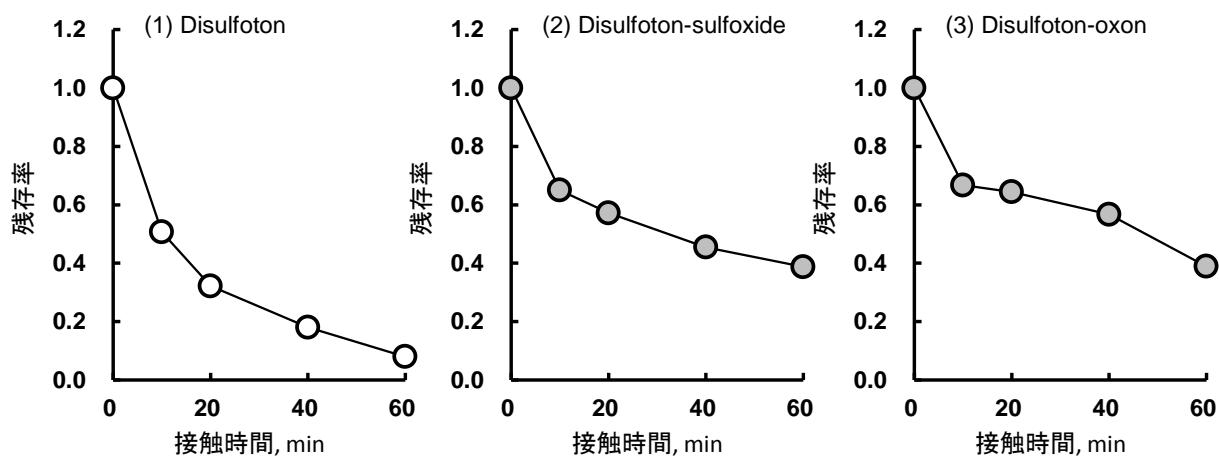


図 (3)-20 Disulfoton (Ethylthiometon)とその分解生成物の活性炭吸着処理における処理性

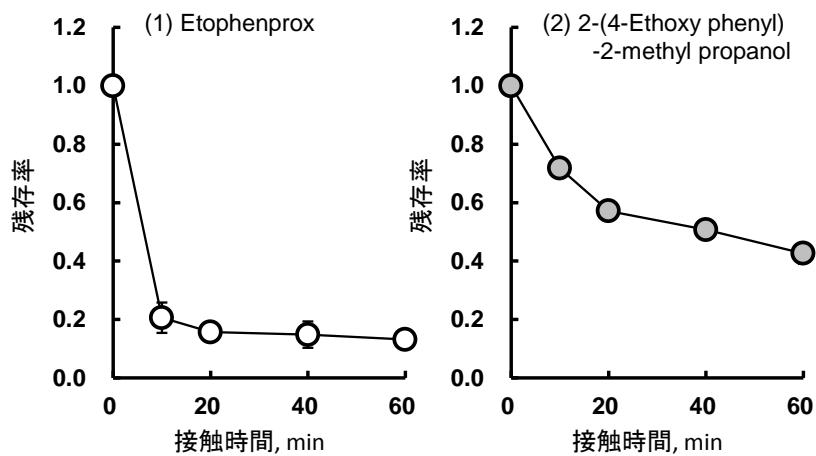


図 (3)-21 Etofenproxとその分解生成物の活性炭吸着処理における処理性

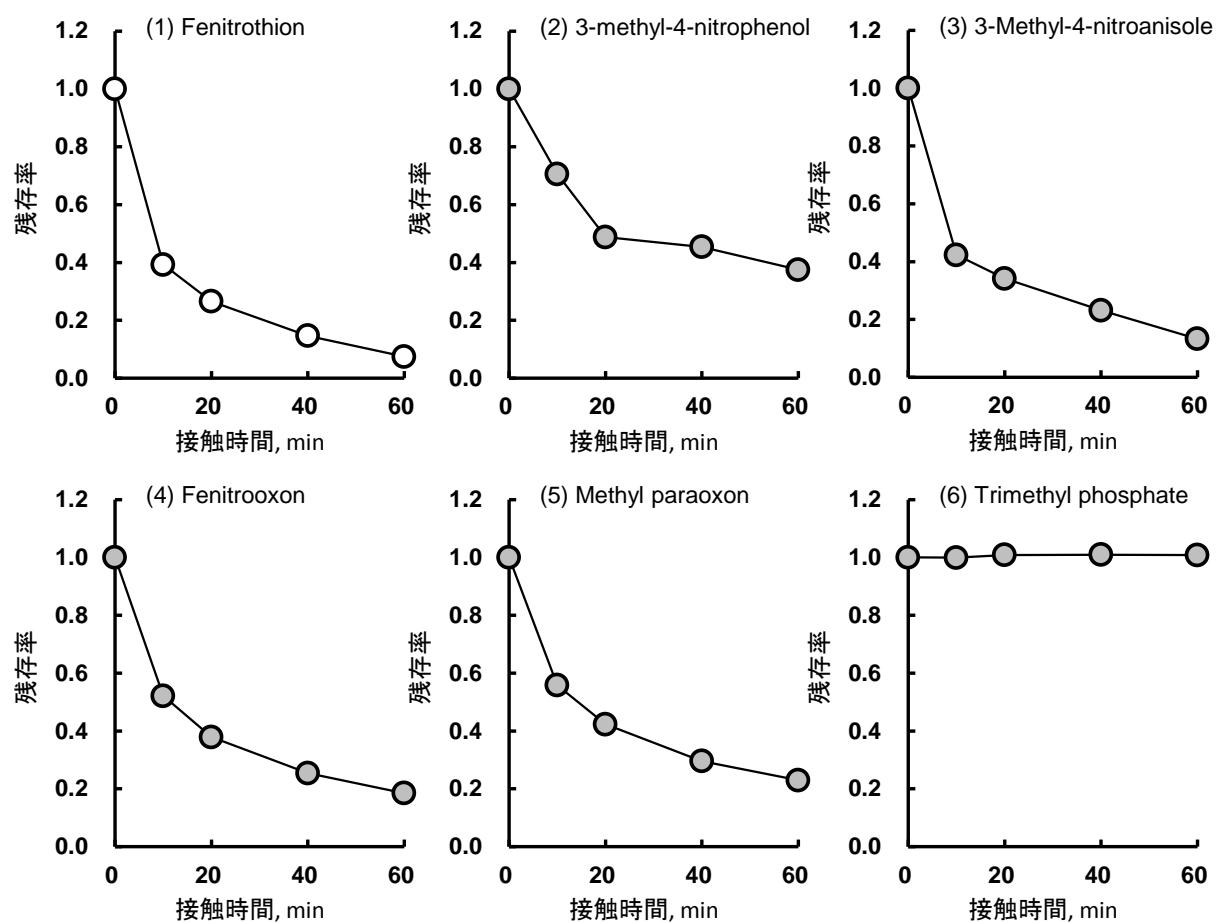


図 (3)-22 Fenitrothionとその分解生成物の活性炭吸着処理における処理性

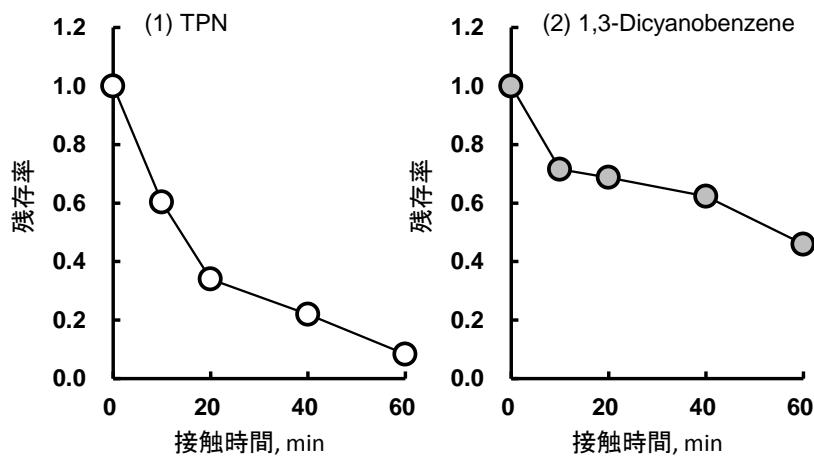


図 (3)-23 TPN (Chlorothalonil)とその分解生成物の活性炭吸着処理における処理性

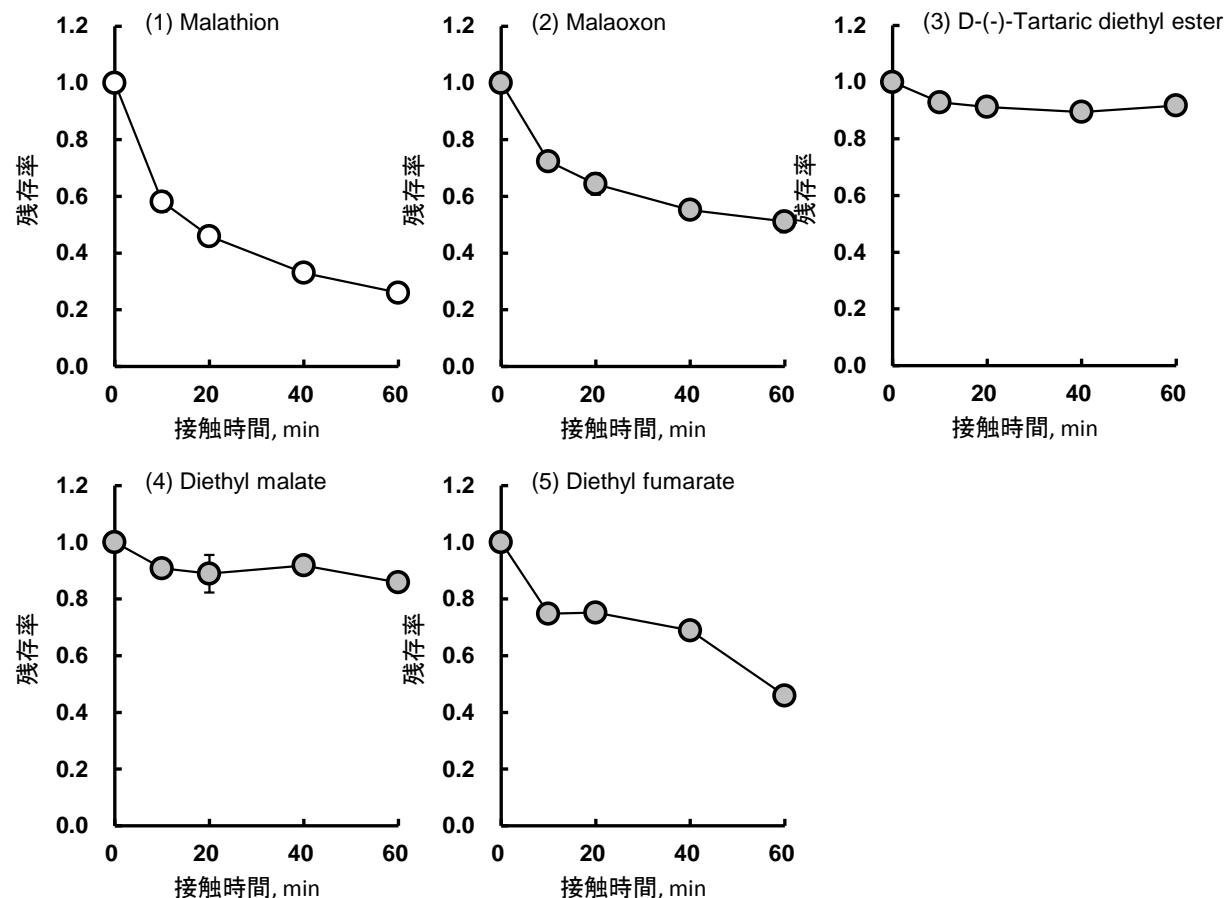


図 (3)-24 Malathionとその分解生成物の活性炭吸着処理における処理性

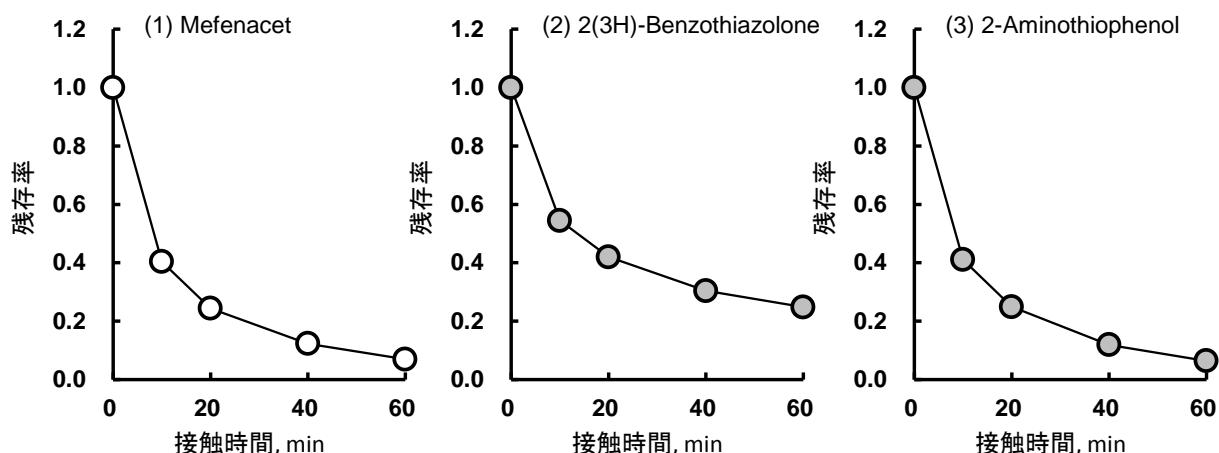


図 (3)-25 Mefenacetとその分解生成物の活性炭吸着処理における処理性

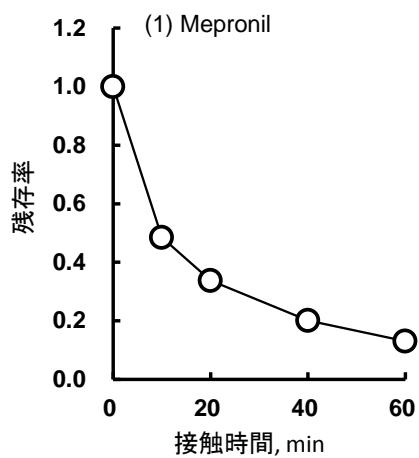


図 (3)-26 Mepronilの活性炭吸着処理における処理性

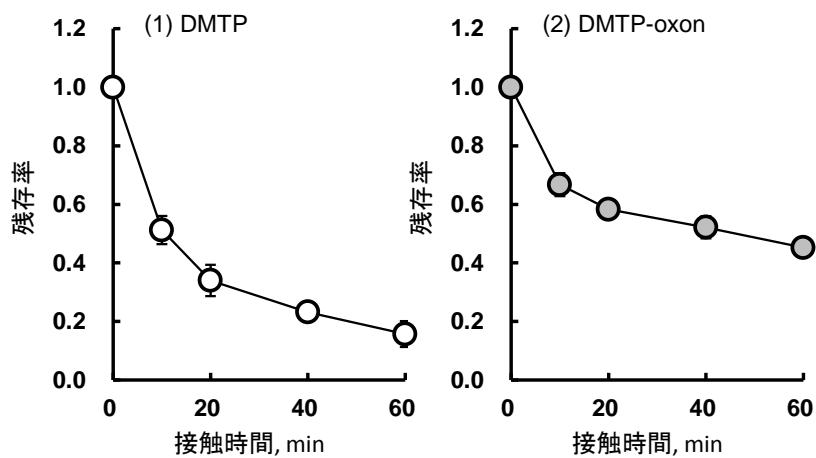


図 (3)-27 DMTPとその分解生成物の活性炭吸着処理における処理性

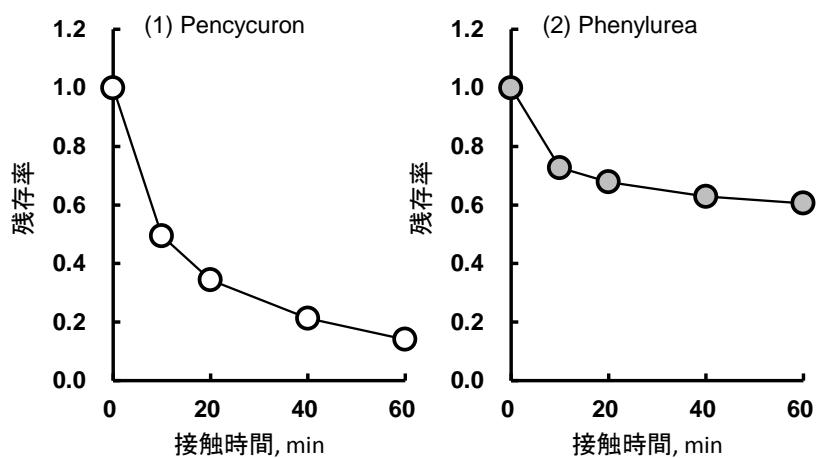
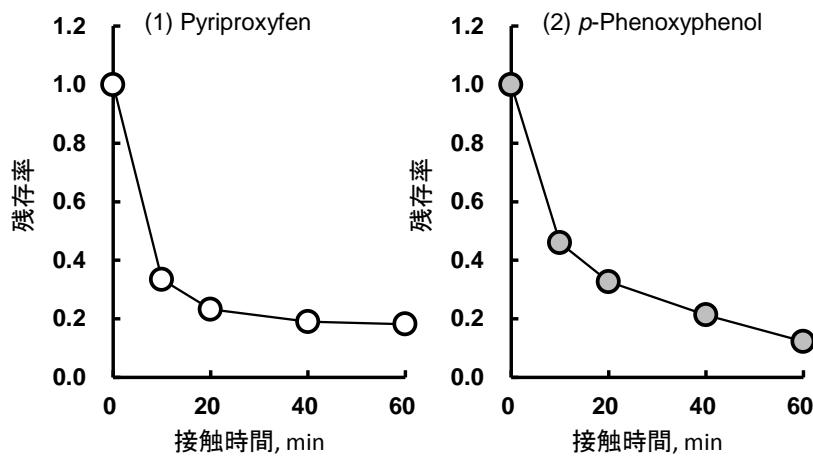
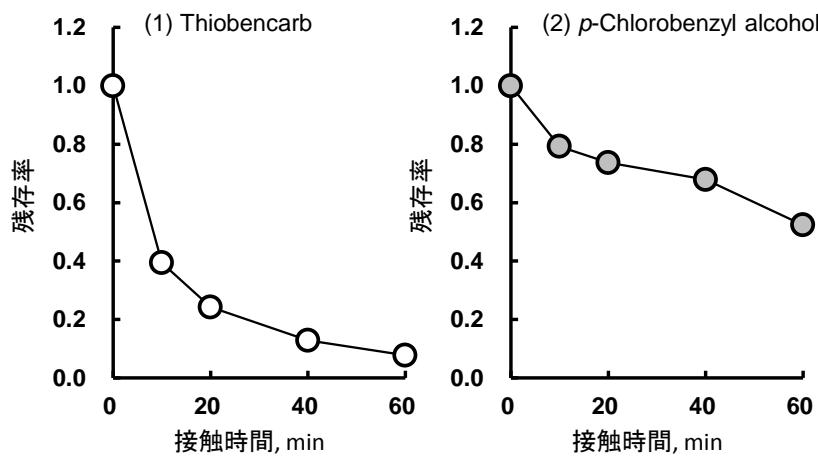


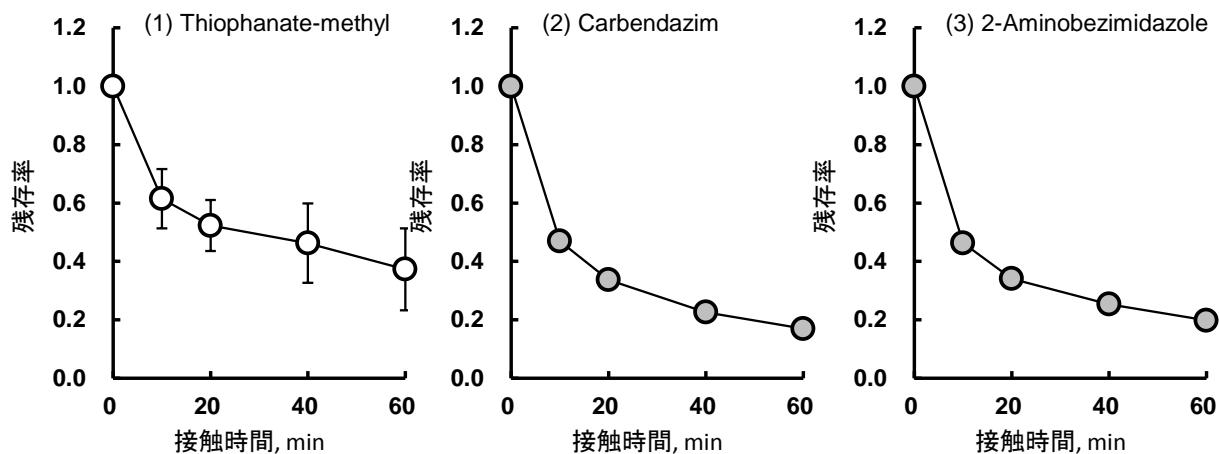
図 (3)-28 Pencycuronとその分解生成物の活性炭吸着処理における処理性



図(3)-29 Pyriproxyfenとその分解生成物の活性炭吸着処理における処理性



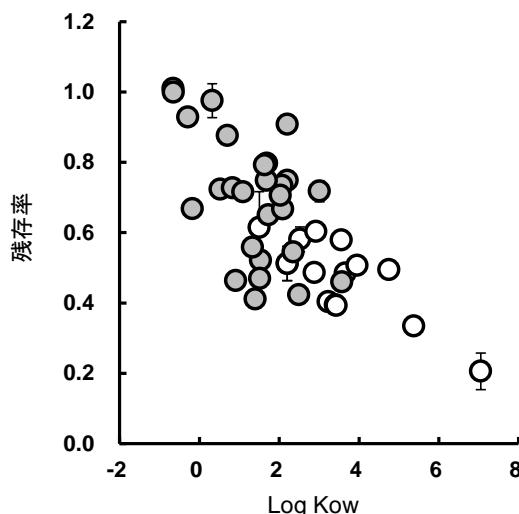
図(3)-30 Thiobencarbとその分解生成物の活性炭吸着処理における処理性



図(3)-31 Thiophanate-methylとその分解生成物の活性炭吸着処理における処理性

図(3)-32に示すように、 $\log K_{ow}$ と活性炭吸着性の間には相関が見られ、 $\log K_{ow}$ の値が大きい物質ほど、処理後の残存率が低い傾向が観察された。一般的に、活性炭は疎水性有機物に対して高い吸着・保持能力を持つとされており¹⁾、これは本実験で得られた結果と一致する。また、農薬原

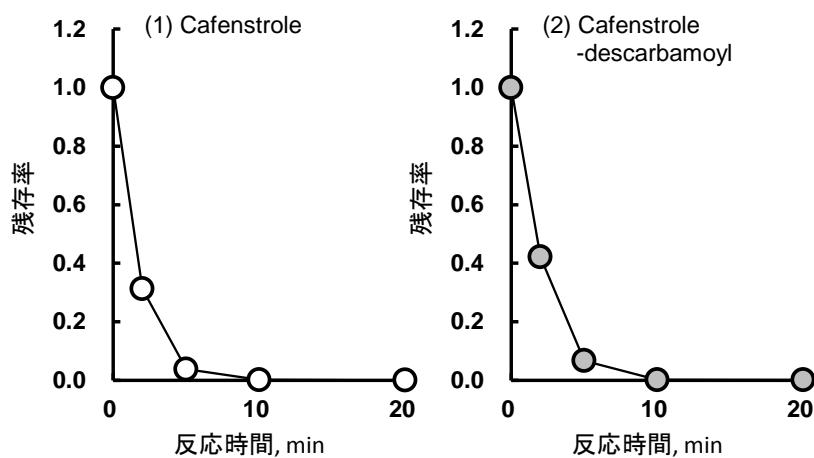
体（●）に比べ、PTPWs（○）は $\log K_{ow}$ の値が小さくなる傾向にあった。この傾向により、農薬原体に比べてPTPWsの活性炭吸着性が小さくなつたと考えられた。本研究で対象とした物質のうち、 $\log K_{ow}$ が負の値になる物質はいずれもPTPWsであり、それらはdimethyl phosphate（DVDPの分解生成物）、trimethyl phosphate（fenitrothionの分解生成物）、D-(-)-tartaric diethyl ester（Malathionの分解生成物）、DMTP-oxon（DMTPの分解生成物）であった。このうち、前者3物質は活性炭ではほとんど除去されなかつたが、DMTP-oxonは $\log K_{ow}$ が負であるにも関わらず、10 minの接触で33%程度除去された。



図(3)-32 活性炭吸着処理における残存率(接触時間10 min)とオクタノール水分配係数(Log Kow)の関係、白丸: 農薬原体、黒丸: 分解生成物

(3) オゾン処理によるPTPWsの処理性

図(3)-33～47にオゾン処理によるPTPWsとその親農薬の処理性を示す。本研究で対象とした物質のほとんどはオゾンとの反応に伴いその残存率が低下したが、殺菌剤TPN（図(3)-39(1)）とその分解物である1,3-dicyanobenzene（図(3)-39(2)）は、20 minのオゾン処理により残存率が低下しなかつた。



図(3)-33 Cafenstroleとその分解生成物のオゾン処理における処理性

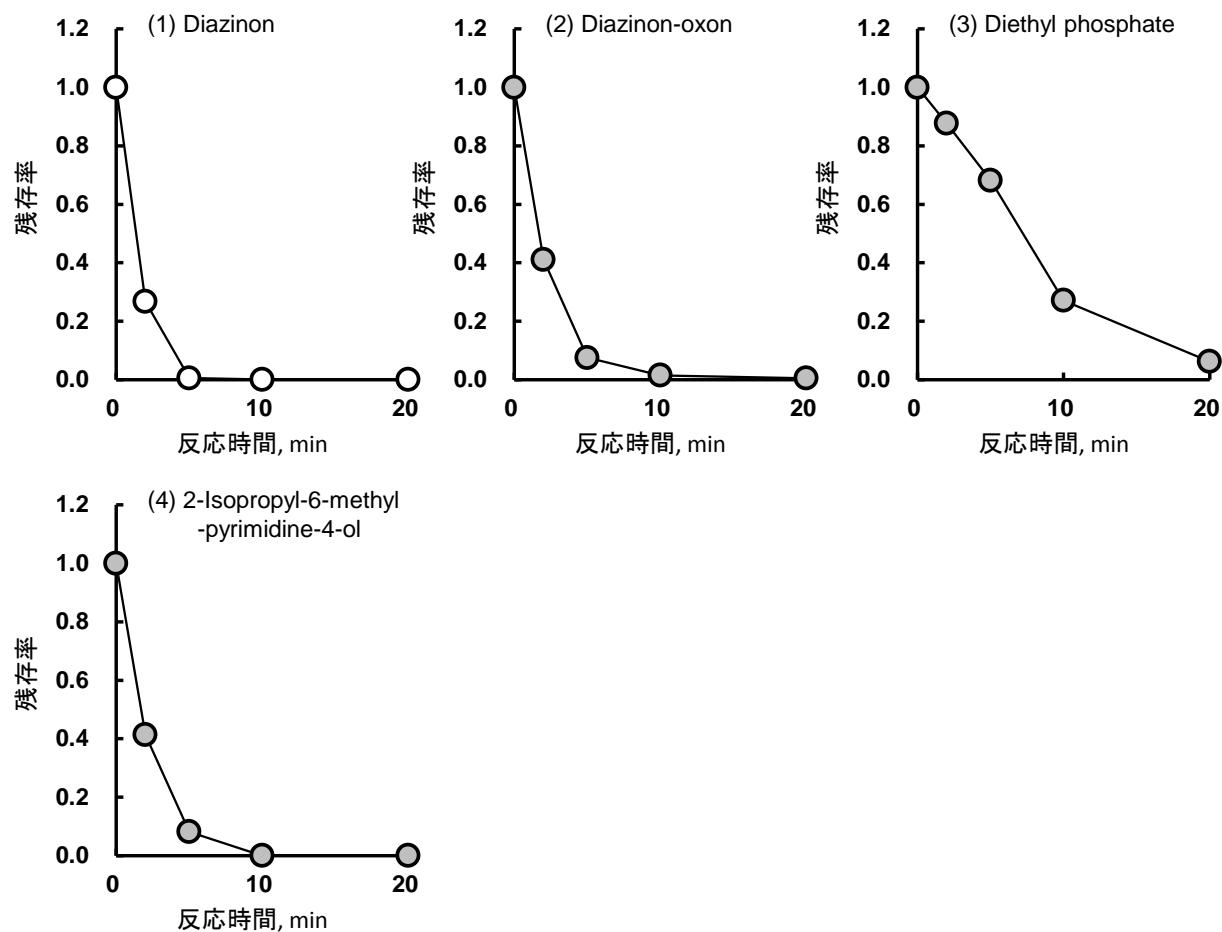


図 (3)-34 Diazinonとその分解生成物のオゾン処理における処理性

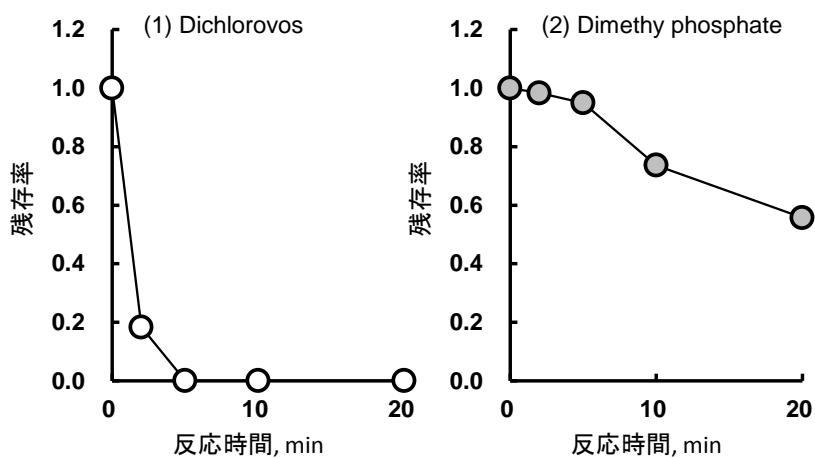


図 (3)-35 Dichlorovos (DDVP)とその分解生成物のオゾン処理における処理性

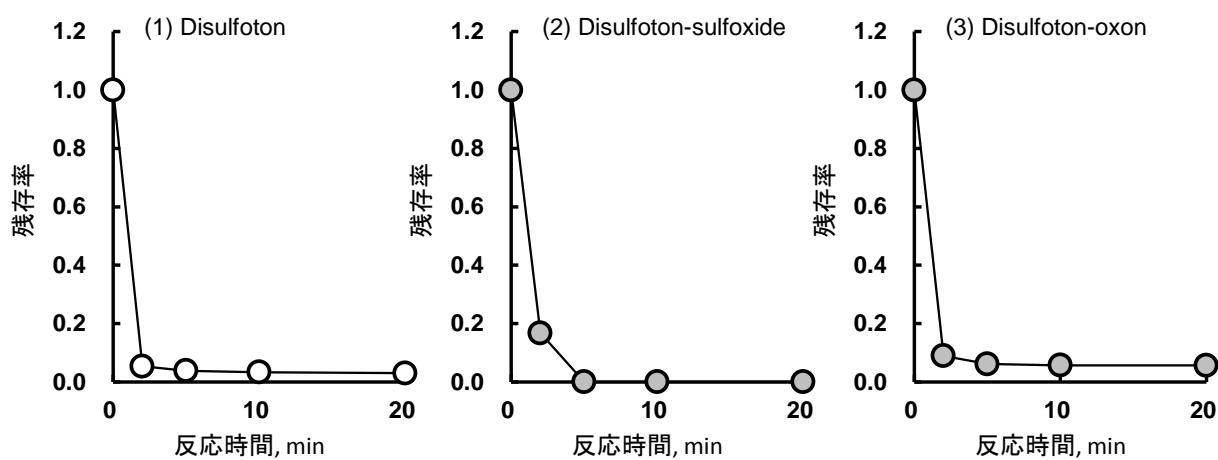


図 (3)-36 Disulfoton (Ethylthiometon)とその分解生成物のオゾン処理における処理性

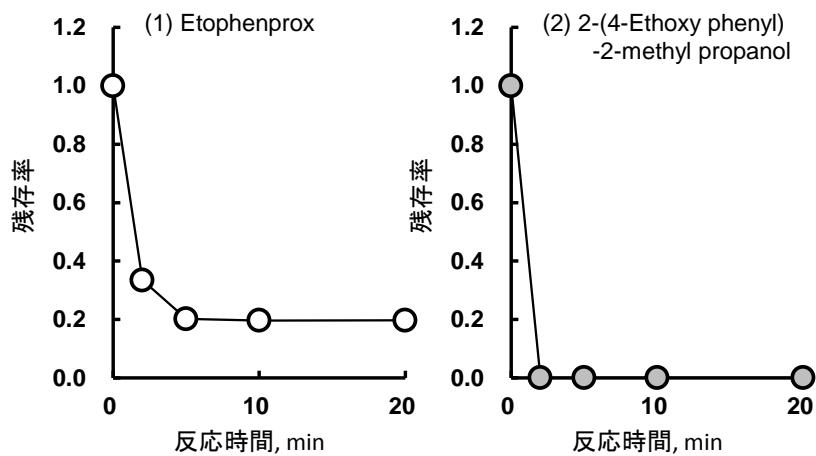


図 (3)-37 Etofenproxとその分解生成物のオゾン処理における処理性

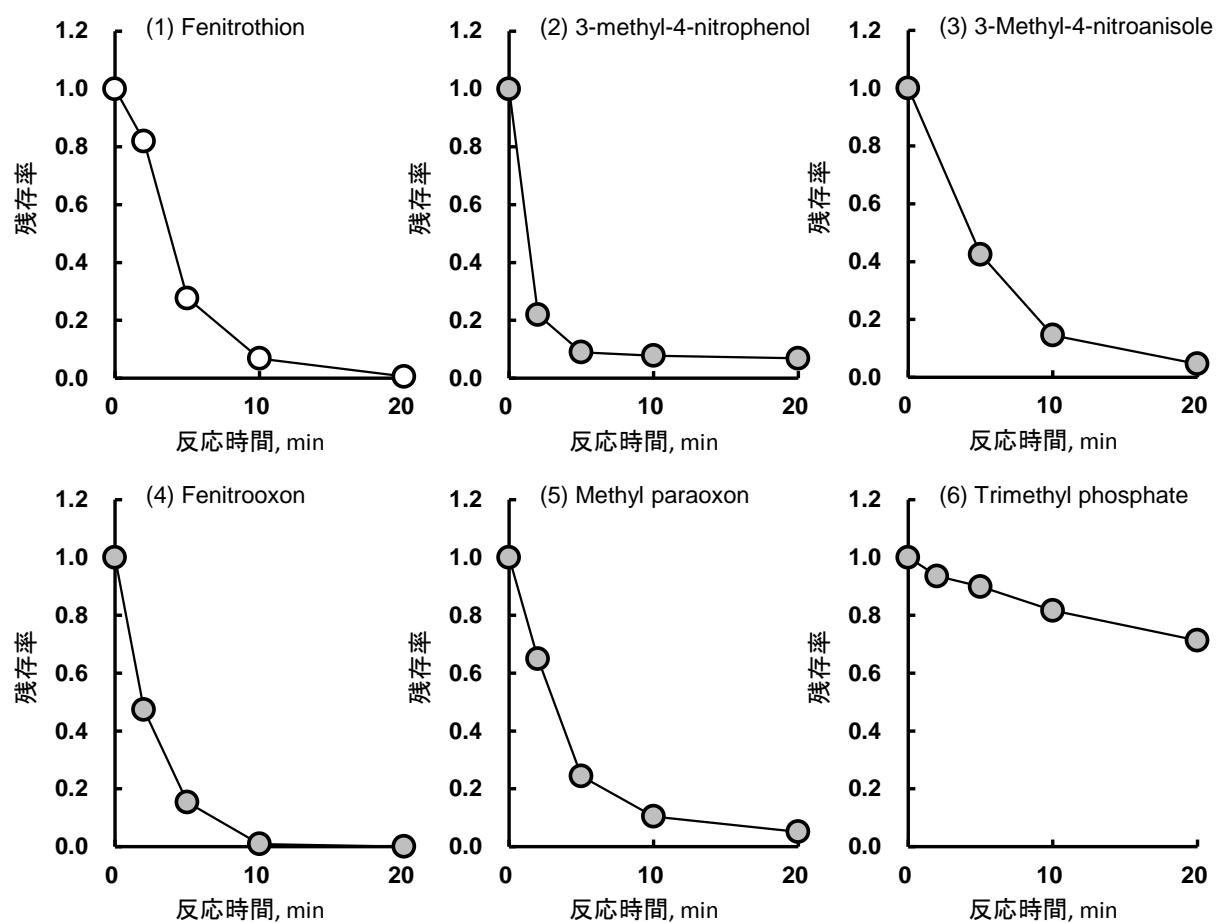


図 (3)-38 Fenitrothionとその分解生成物のオゾン処理における処理性

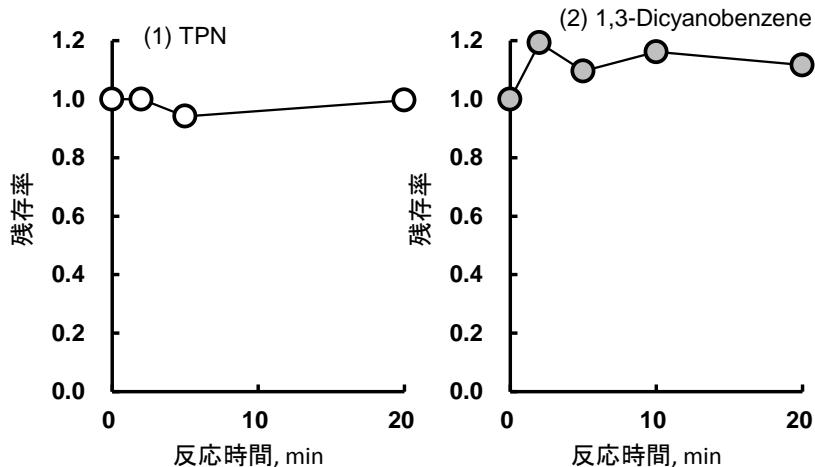


図 (3)-39 TPN (Chlorothalonil)とその分解生成物のオゾン処理における処理性

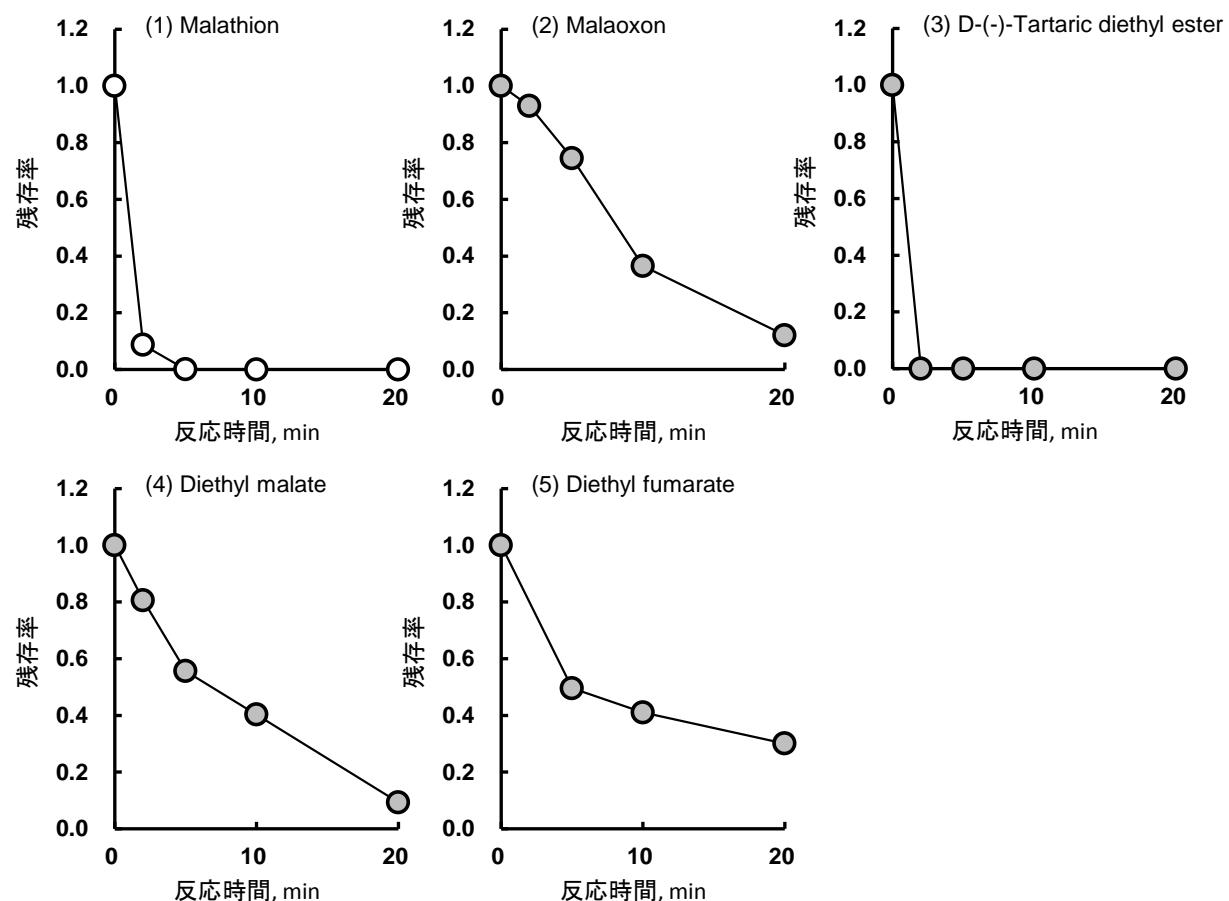


図 (3)-40 Malathionとその分解生成物のオゾン処理における処理性

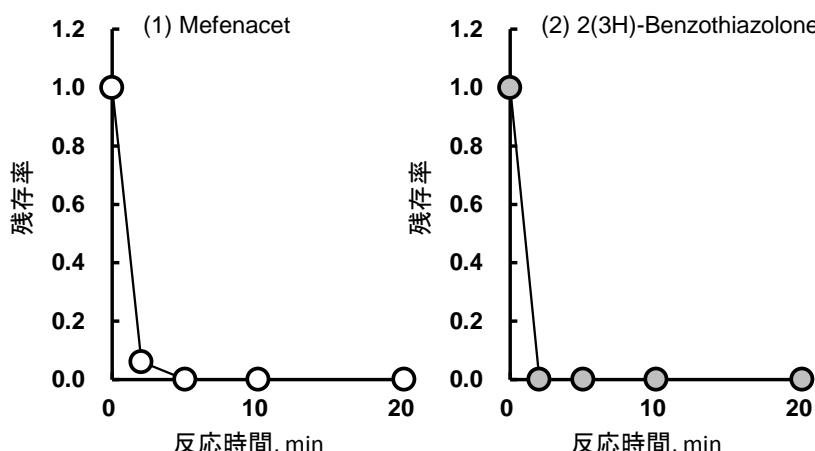


図 (3)-41 Mefenacetとその分解生成物のオゾン処理における処理性

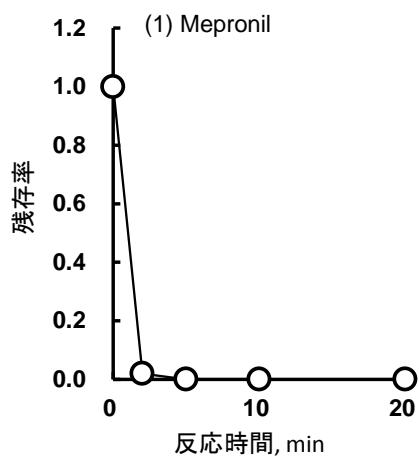


図 (3)-42 Mepronilのオゾン処理における処理性

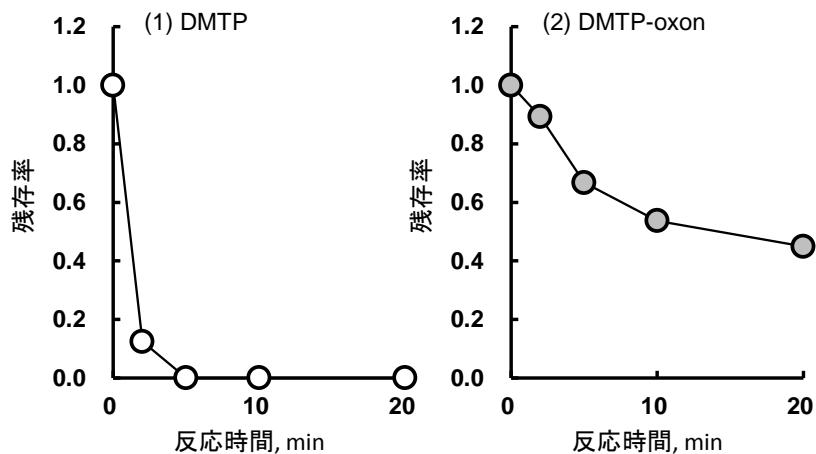


図 (3)-43 DMTPとその分解生成物のオゾン処理における処理性

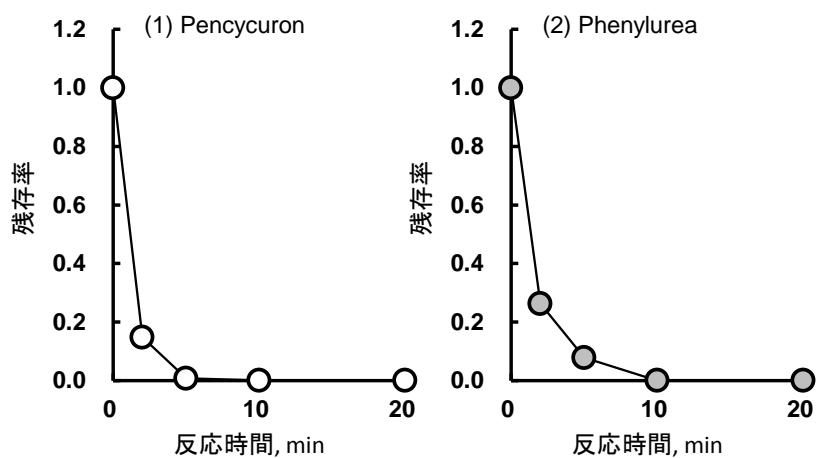
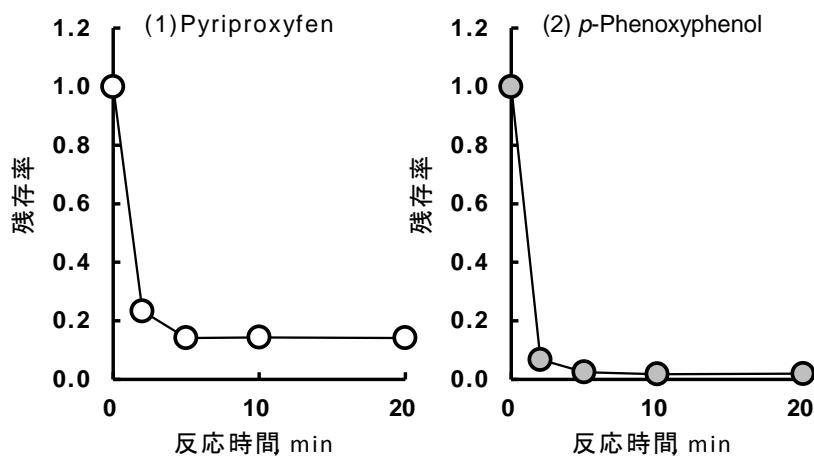
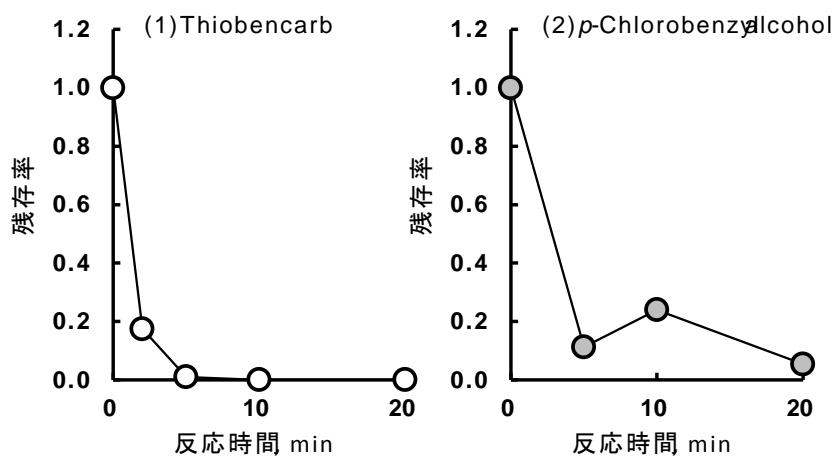


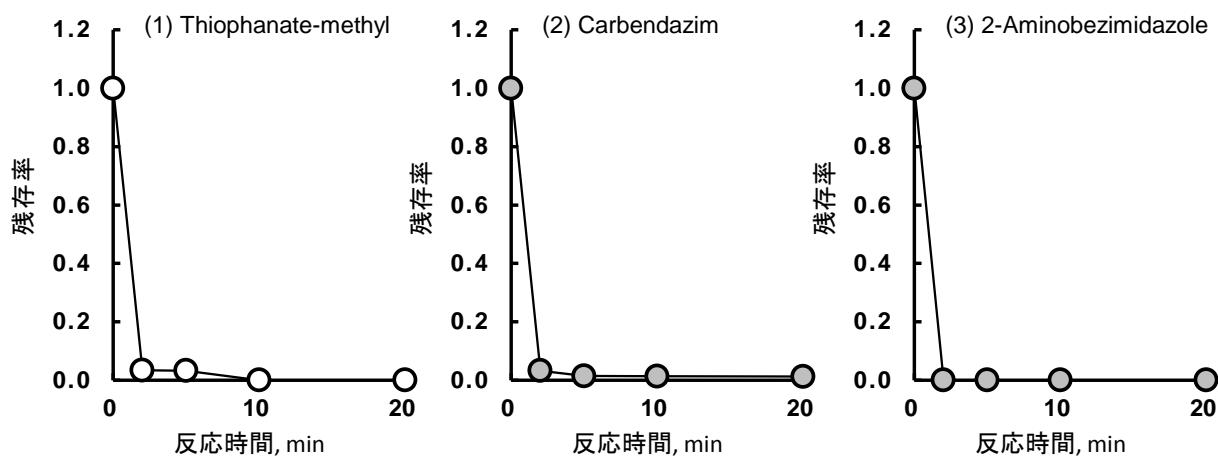
図 (3)-44 Pencycuronとその分解生成物のオゾン処理における処理性



図(3)-45 Pyriproxyfenとその分解生成物のオゾン処理における処理性



図(3)-46 Thiobencarbとその分解生成物のオゾン処理における処理性



図(3)-47 Thiophanate-methylとその分解生成物のオゾン処理における処理性

図(3)-48にオゾン処理におけるPTPWsとその親農薬の処理性と各物質の最高被占軌道 (highest occupied molecular orbital: HOMO) のエネルギー準位の関係を示す。図に示すように、オゾンによる分解と各物質のHOMOのエネルギー準位との間には相関が見られた。すなわち、HOMOのエネ

ルギー準位が高いほど、オゾンにより分解されやすい傾向にあることが分かった。HOMOのエネルギー準位は、電子を軌道から奪う際に必要なエネルギーを意味するイオン化ポテンシャルに相当する。したがって、HOMOのエネルギー準位が低いほど、電子を奪うために大きなエネルギーを要することとなる。オゾンとの反応は基本的に酸化反応であると考えられる。酸化とは物質より電子を奪うことであるから、電子を奪われやすい、すなわちHOMOのエネルギー準位が高い物質ほど、酸化反応を受けやすくなると解釈できる。また、フロンティア軌道理論でも、求核分子のHOMOと求電子物質のLUMOのエネルギー準位差が小さいほど、その間の反応性が大きくなるとある。求電子物質であるオゾンのLUMOのエネルギー準位は一定であるため、求核分子のHOMOのエネルギー準位が高いほどオゾンのLUMOのエネルギー準位との差が小さくなる。すなわち、HOMOのエネルギー準位が高いほど、オゾンとの反応性が高いと考えられた。既存研究でも農薬原体のHOMOエネルギー準位が高いほどオゾンとの反応性が高くなることが報告されており²⁾、本研究の結果と定性的に一致する。

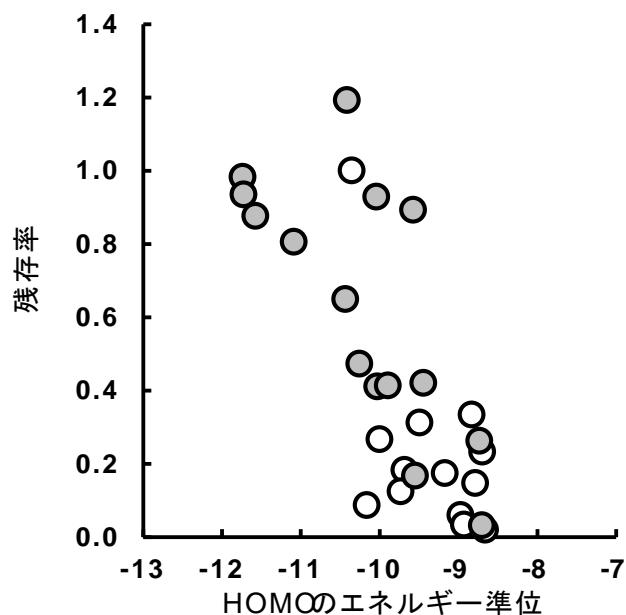


図 (3)-48 オゾン処理における残存率(反応時間2 min)とHOMOのエネルギー準位の関係、白丸: 農薬原体、黒丸: 分解生成物

また、PTPWs (●) は親農薬 (○) よりHOMOのエネルギー準位が低くなる傾向にあり、それに伴いオゾン処理での除去率が小さくなる (= 残存率が大きくなる) 傾向にあることが示された。

(4) 3-methyl-4-nitrophenolのオゾン処理に伴う変異原性の変動

(1)～(3)節にてPTPWsの浄水処理性を示した。凝集沈澱処理と活性炭吸着処理では、対象物質が物理的に「除去」されるため、これらの処理法における「残存率の低下」は、そのまま「塩素処理後に発現する変異原性の低減」を意味することになる。これに対し、オゾン処理は質変換を伴う「分解」処理である。すなわち、オゾン処理における「残存率の低下」は、さらなる分解生成物への変換を意味するため（実処理にて完全無機化まで反応が進むことはないと考えられる）、

単純に「変異原性の低減」につながるわけではないことに注意が必要である。従って、オゾン処理による生成物の変異原性（あるいは塩素処理後に発現する変異原性）を詳細に調べる必要がある。そこで本研究では、変異原性物質生成能の大きい3-methyl-4-nitrophenol (3M4NP, 殺虫剤 fenitrothionの分解物) のオゾン処理、オゾン-塩素処理における変異原性の変動を次のように実験的に調べた。10 mg/Lの3M4NP水溶液をオゾン処理し、経時的にサンプリングした。これらの試料に次亜塩素酸ナトリウムを、24時間接触後の遊離残留塩素濃度が0.1~1 mg-Cl₂/Lになるように添加して24時間塩素処理を行った。塩素処理前後の試料を固相抽出し (Waters PS2およびAC2カートリッジによる) 、3M4NP濃度を測定するとともに、*Salmonella typhimurium* TA98およびTA100株を用いたAmes試験により変異原性を評価した。

図(3)-49にオゾン処理に伴う3M4NP濃度の変動を示す。オゾン処理に伴い3M4NP濃度は減少し、30 minのオゾン処理によりほぼ完全に消失した (○)。また、いずれのオゾン処理時間でも、オゾン処理後に24時間の塩素処理を行うと3M4NPは塩素と反応して完全に消失した (●)。

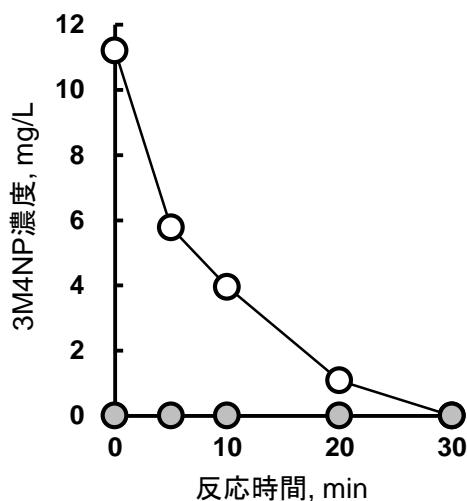
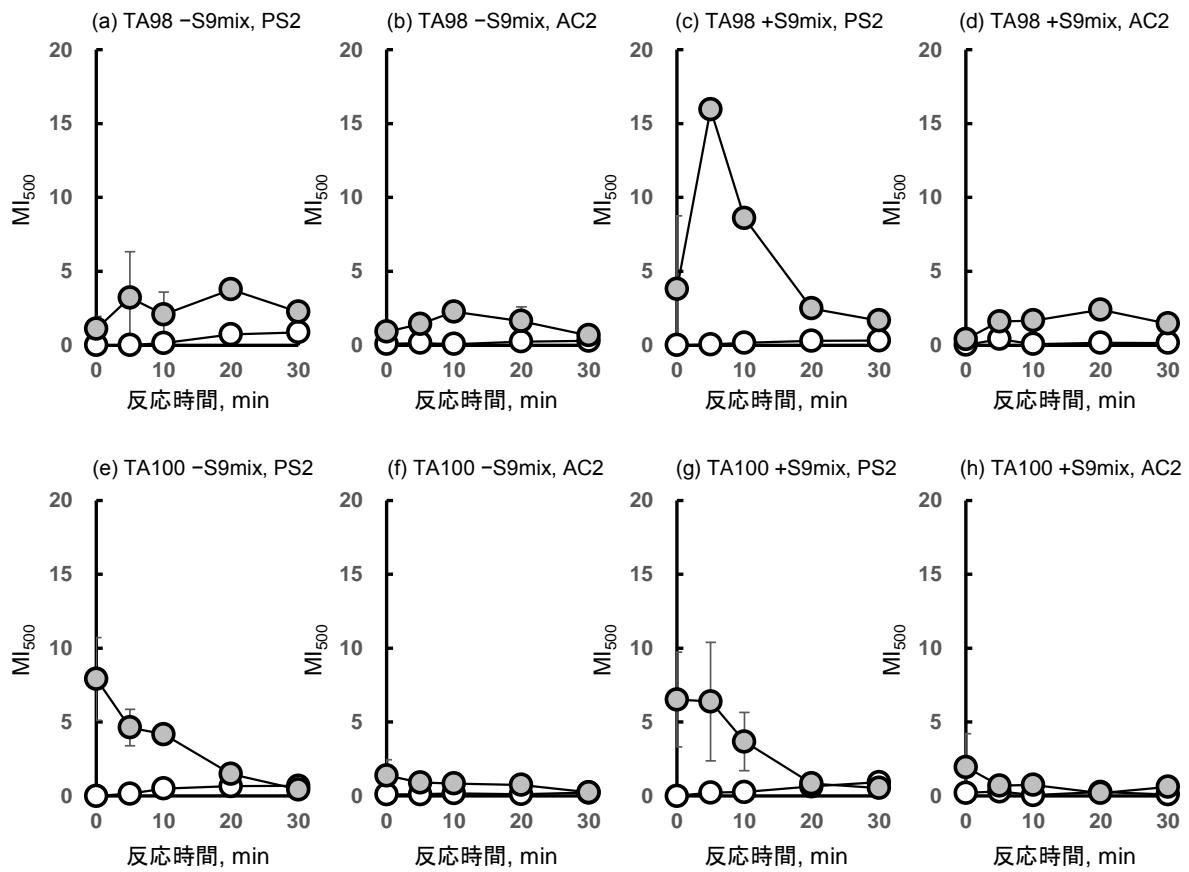
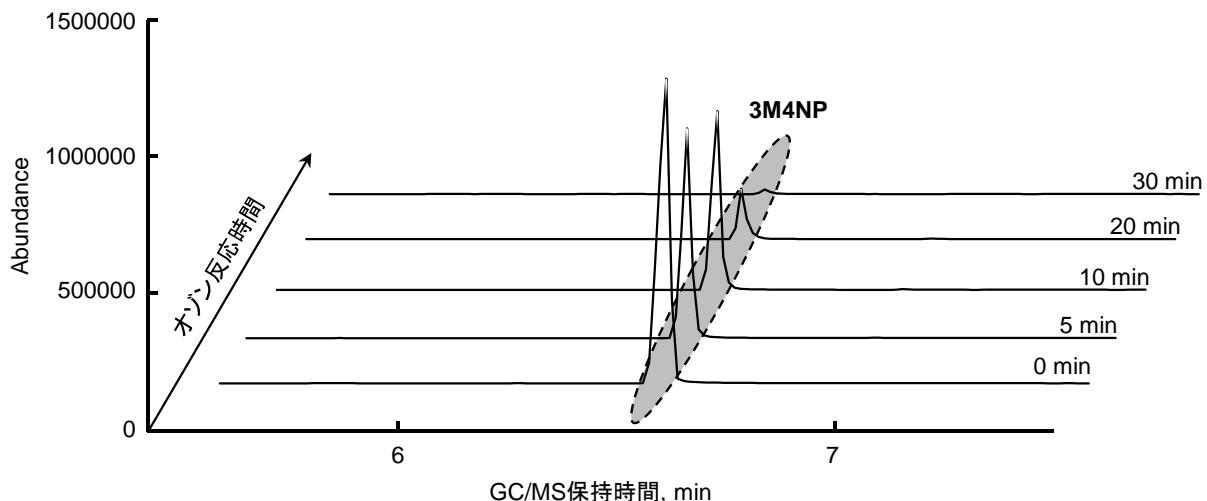


図 (3)-49 オゾン処理に伴う3M4NP濃度の変動、白丸: 塩素処理前、黒丸: 塩素処理後

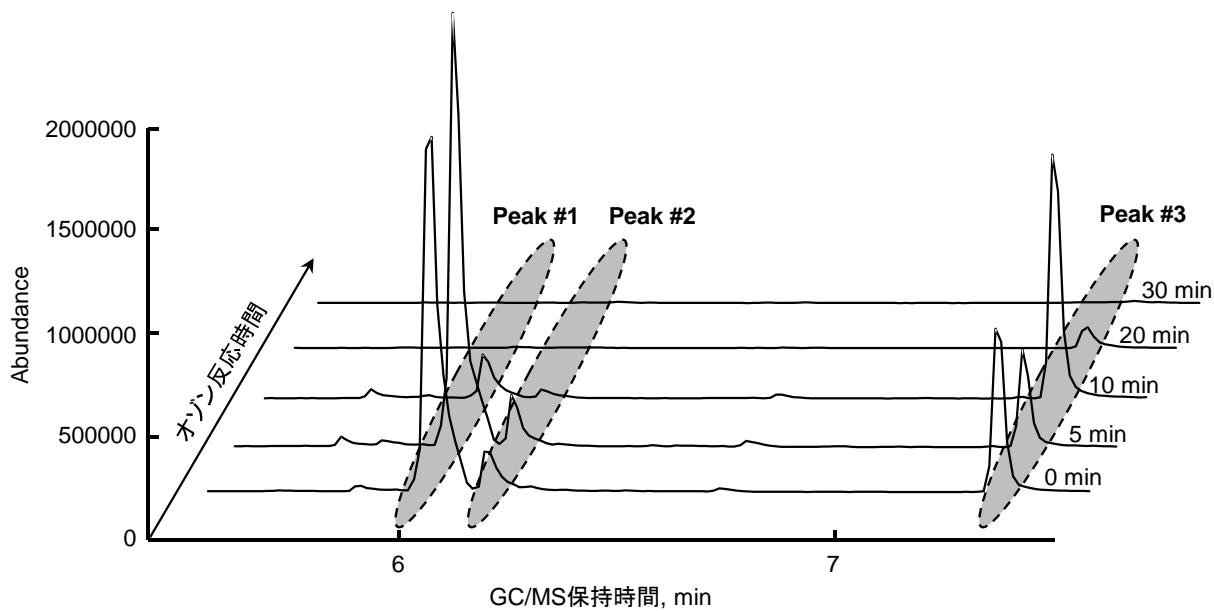


図(3)-50 3M4NP水溶液のオゾン処理に伴う変異原性の変動、白丸: 塩素処理前、黒丸: 塩素処理後

塩素処理前後の試料の変異原性を図(3)-50に示す。図中の縦軸は、Ames試験により得られた結果から、初期3M4NP量として500 $\mu\text{g}/\text{plate}$ あたりの変異原性強度（復帰変異コロニー数／自然復帰コロニー数）を算出したものである。オゾン処理後の試料は、いずれも変異原性を誘発しなかった（○）。すなわち、3M4NPは、オゾン処理により変異原性を誘発する物質へとは変換されないことが分かった。一方、オゾン処理を行わなかった試料を塩素処理すると、代謝活性化の有無に関わらず、TA100株に対する変異原性が誘発され（図(3)-50(e)と(g)のt=0における●）、既存の報告とも一致した^{3, 4)}。このことは、3M4NPが塩素処理により変異原性を誘発する物質へと変換されたことを意味する。しかしながら、オゾン反応時間の増加に伴いこの変異原性は減少し、30 minのオゾン処理でほぼ消失した。すなわち、塩素処理の前にオゾン処理を行うことにより、3M4NPの塩素処理により発現する変異原性を低減することが可能であることが示された。また、図(3)-50(c)に示すように、5 minのオゾン処理により、塩素処理後に+S9mix条件下においてTA98株に対する変異原性が増加した。すなわち、5 minのオゾン処理により、3M4NPは+S9mix条件下においてTA98株に対して変異原性物質生成能を持つ物質へと変換されたと判断された。しかしながら、この変異原性も、オゾン処理時間を長くすることにより低減可能であり、30 minのオゾン処理によりほぼ消失することが分かった。以上より、3M4NPに対するオゾン処理により、塩素処理後の変異原性を低減することが可能であることが示された。



図(3)-51 オゾン処理に伴う3M4NP水溶液のGC/MS TICチャートの変動(PS2カートリッジを用いた抽出)



図(3)-52 オゾン-塩素処理に伴う3M4NP水溶液のGC/MS TICチャートの変動(PS2カートリッジを用いた抽出)

図(3)-51にオゾン処理後サンプルのGC/MS TICチャートを示す。保持時間6.6 min頃のピークは3M4NPであり、オゾン処理に伴いその強度が減少した。また、3M4NPのピーク以外には大きなピークは観察されなかった。一方、オゾン-塩素処理後のサンプルのGC/MS TICチャートにはいくつかの未知ピークが観察された(図(3)-52)。これらのピークは、3M4NPあるいはそのオゾン処理生成物から、塩素処理により生成された物質によるものであり、図(3)-50にて示された変異原性を誘発する物質を含む可能性がある。そこで、これらのピークの大きさと、観察された変異原性をプロットし、その相関を調べた。

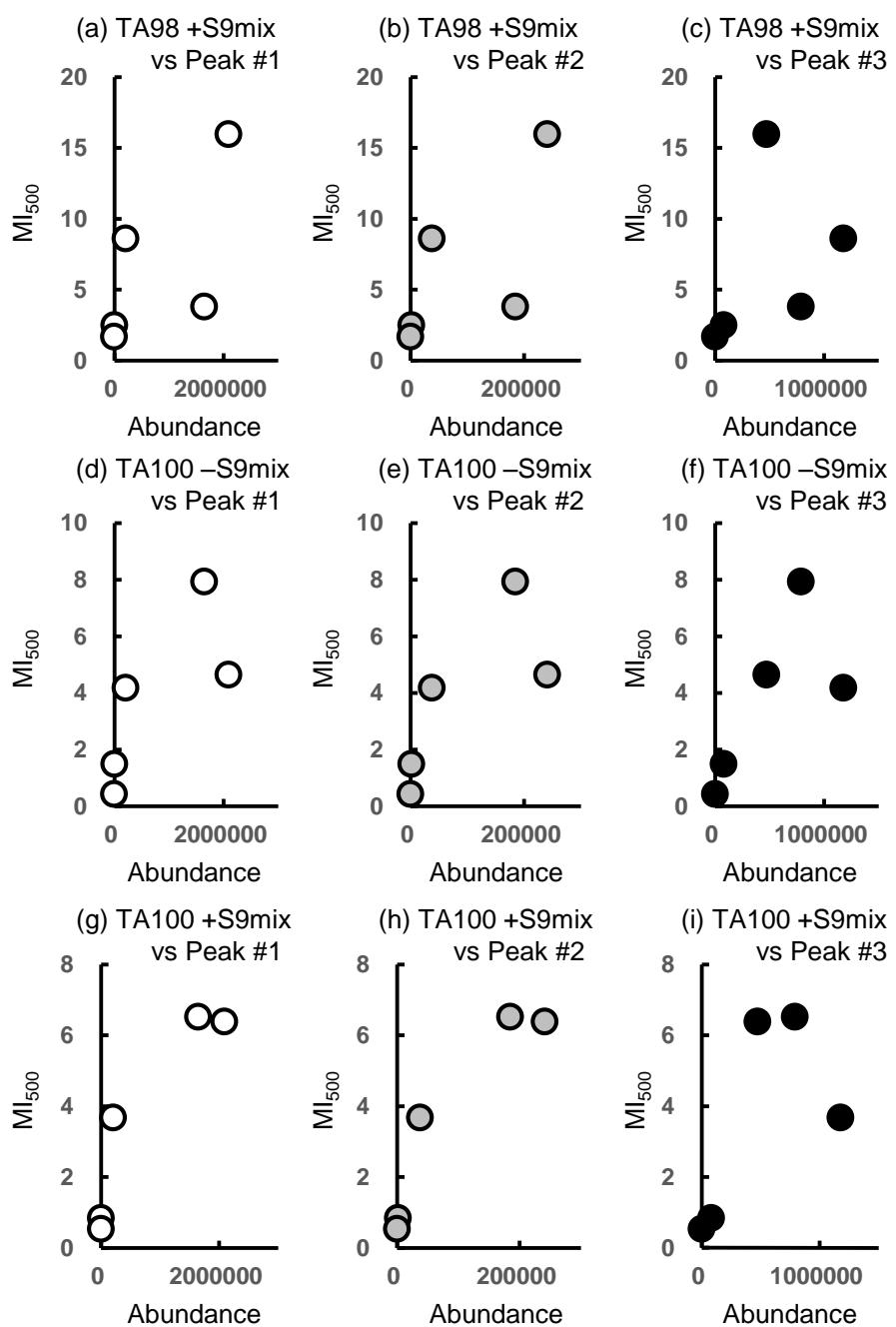
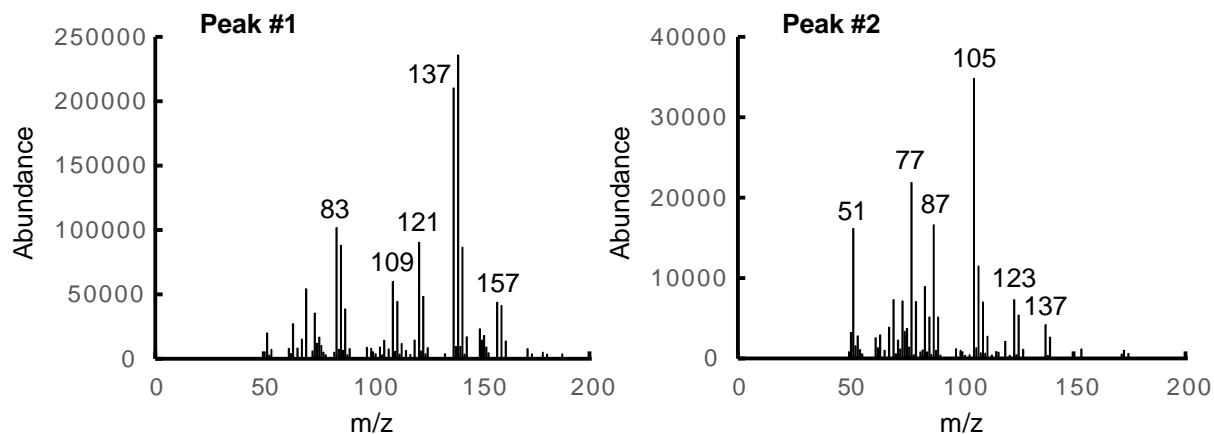


図 (3)-53 3M4NP水溶液をオゾン-塩素処理した際に誘発された変異原性の強さと未知ピーク面積値の相関

表 (3)-2 3M4NP水溶液をオゾン-塩素処理した際に誘発された変異原性の強さと未知ピーク面積値との間の相関に対する決定係数

	#1	#2	#3
TA98, +S9 mix	0.44	0.48	0.15
TA100, -S9 mix	0.57	0.58	0.50
TA100, +S9 mix	0.85	0.88	0.38

図(3)-53にプロットを、表(3)-2に決定係数の一覧を示す。+S9mix条件下でTA98株に対して誘発された変異原性はいずれのピーク面積値とも相関が低く、これらのピークのみでは説明ができないと判断された。-S9mix条件下でTA100株に対して誘発された変異原性もいずれのピークとも相関が低く、説明が困難であった。一方、+S9mix条件下でTA100株に対して誘発された変異原性は、ピーク#1とピーク#2の面積値とある程度の相関があり、これらの物質が誘発された変異原に寄与しているかもしれない想像し得た。



図(3)-54 3M4NP水溶液をオゾン-塩素処理した際に検出された未知ピークのマススペクトル

図(3)-54にピーク#1とピーク#2のマススペクトルを示す。マススペクトルより、ピーク#1の物質の分子量は157、ピーク#2の物質の分子量は137と推定された。現段階ではそれぞれの物質の構造推定には至っていないが、同位体ピーク比から推察すると、ピーク#1の物質には塩素原子が3つ、ピーク#2の物質には塩素原子が2つ含まれている可能性が考えられた。我々の研究グループでは、すでに3M4NPの塩素処理により生成される変異原性に寄与する物質としてchloro-5-hydroxy-2-nitrobenzoic acid（分子量216）を報告しているが⁵⁾、いずれのピークとも一致しなかった。chloro-5-hydroxy-2-nitrobenzoic acidはLC/MSで検出されていたのに対し、本研究ではGC/MSによる分析のみを行っていたためであると考えられた。

(5) 浄水処理性マップ

以上のようにして得られたPTPWs（変異原X）の浄水処理性情報と、地理情報を組み合わせることにより、浄水処理性マップを作成した。

表(3)-3 塩素処理後に誘発される3M4NPの変異原性の浄水処理による除去性

農薬分解生成物名	凝集沈殿	活性炭	オゾン
3M4NP	×	○	○

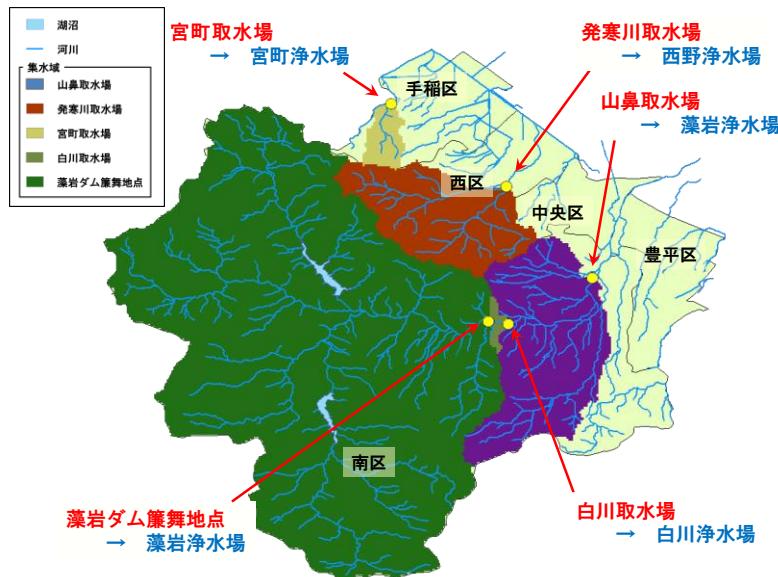
まず、表(3)-3に示すように、変異原Xの浄水処理性を表にまとめた（3M4NPを例として示す）。この表での処理性とは、塩素処理後に誘発される変異原性が、それ以前に行われる単位処理により低減可能か否かを示したものである。物理的な処理法である凝集沈殿処理と活性炭処理では、「物質の除去」は「塩素処理後に誘発される変異原性の除去」と理解されるが、質変換を

伴うオゾン処理と促進酸化処理では、「物質の除去」は単純に「塩素処理後に誘発される変異原性の除去」には結びつかない。表に示したオゾン処理と促進酸化処理での除去性は、これらの処理後に塩素処理を行った際に、変異原性が削減可能か否かを表すものである。

表(3)-4 札幌市の浄水場が所有する処理プロセス

処理場名	凝集沈殿	活性炭	オゾン
白川浄水場	○	○	×
藻岩浄水場	○	○	×
西野浄水場	○	○	×
宮町浄水場	○	○	×

次に、対象地域（ここでは札幌市）の浄水処理場が有する単位処理プロセスを調べ、表(3)-4のようにまとめた。札幌市には4つの浄水場が存在し、いずれの浄水処理場も、凝集沈殿処理と活性炭吸着処理をプロセスとして所有しているが、オゾン処理プロセスは導入されていないことが分かった。表(3)-3と表(3)-4の情報を組み合わせることにより、各処理場で対象物質を処理することが可能か否かを判断できる。ここでは、各浄水処理場とも3M4NPを除去可能な活性炭吸着処理を所有しているため、札幌市内のいずれの浄水場も3M4NPを除去可能であると判断された。



図(3)-55 3M4NPの浄水処理性マップ(札幌市)

さらに、地理情報を基に、対象地域（ここでは札幌市）の河川の流域図を作成した。また、浄水場の取水口の位置を流域図中で特定し、札幌市内の浄水場にて取水される原水の流域を特定した。最後に、上述の各浄水場での対象物質の処理可能性を流域図に組み込むことにより、3M4NPが流入しても、その下流の浄水処理場で処理可能である流域を特定した（3M4NPの浄水処理性マップ、図(3)-55）。このような図を、各農薬原体から生成される分解物（すなわち変異原X）ごとについて作成して重ね合わせることにより、親農薬を使用可能な流域を特定することが可能とな

る。

(6) 変異原性物質生成能と浄水処理性

表(3)-5に、サブテーマ(1)にて「変異原性物質生成能が高い」と判断された物質（変異原性物質生成能 > 100 net rev./μmol）の浄水処理性を示す。なお、ここでは質変換の伴わない「物理的な除去」である凝集沈殿処理と活性炭処理での除去率を示している。表に示すとおり、変異原性物質生成能の高いいずれの物質も、凝集沈殿では除去されないが、活性炭吸着処理では、5 mg/Lの活性炭との60 minの接触により60%以上除去することができることが分かった。活性炭添加量を増加することにより、さらなる除去率の向上も期待できるであろう。

一方、活性炭処理で除去率の低いいずれの物質も、変異原性物質生成能が小さいことが分かった（表(3)-6）。すなわち、本研究で対象としたPTPWsには（あるいは農薬原体にも）、「変異原性物質生成能が高いにも関わらず浄水処理で除去できない物質」は含まれていないことが示された。

表 (3)-5 変異原性生成能の高い物質の浄水処理性

物質名	変異原性生成能 net rev./μmol	凝集沈殿除去率 %	活性炭除去率 ^{a)} %
3M4NP	2,000	0	63
Carbendazim	410	0	83
Fenitrooxon (MEP-oxon)	390	0	82
Thiophanate-methyl	370	0	63
Malathion	260	0	74
2-Aminobezimidazole	260	0	80
Fenitrothion	170	0	93
2-Aminothiophenol	120	0	94

^{a)} 60 min接触時

表 (3)-6 浄水処理性の低い物質の変異原性生成能

物質名	変異原性生成能 net rev./μmol	凝集沈殿除去率 %	活性炭除去率 ^{a)} %
Dimethyl phosphate	5	0	0
Trimethyl phosphate	7	0	0
Diethyl phosphate	N ^{b)}	0	1
D-(-)-Tartaric diethyl ester	12	0	8
Diethyl malate	13	0	14
2-Isopropyl-6-methyl-pyrimidine-4-ol	21	0	16

^{a)} 60 min接触時, ^{b)} 変異原性生成能なし

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

農薬をはじめとする化学物質の環境リスク評価を行う際に、その分解物までを含めたリスクを対象にすることは、環境リスク評価の研究分野において最もホットな話題のひとつであり、基本

的な評価の考え方やツールの開発が検討課題に挙がっている。このようなニーズのもと、サブテーマ1では、農薬やその環境中での分解物が浄水処理場で塩素処理を受けた際に変異原性を発現し得ることが示され、それらの物質の発がん性を評価することの必要性が提示された。サブテーマ3では、これらの農薬や農薬分解物が、浄水処理場にて塩素処理を受けるまでの間に行われる浄水処理にて除去可能か否かを、ラボスケールプラントを用いて実験的に調べた。その際、わが国の浄水場にて広く一般的に用いられている凝集－沈殿－砂ろ過処理のみならず、活性炭吸着処理、オゾン処理などの高度処理を含め、農薬や農薬分解物の広範な処理性の評価を試みた。その結果、本研究で対象とした26種の農薬分解物は、いずれも凝集沈殿処理では除去することはできなかったが、その多くは活性炭吸着処理により除去可能であることが示された。但し、サブテーマ1にて「変異原性生成能が高い」と判断された物質は、いずれも5 mg/Lの活性炭との60 minの接触により60%以上除去することができ、活性炭添加量の増加により、さらなる除去率の向上も期待できると判断された。また、活性炭処理で除去率の低い物質は、いずれも変異原性生成能が小さいことが分かった。すなわち、本研究で対象とした農薬分解物には（あるいは農薬原体にも）、「変異原性生成能が高いにも関わらず浄水処理で除去できない物質」は含まれていないことが示された。農薬原体の浄水処理性については国内外を問わずすでに多くの先行研究があり、知見が集積されていると考えられるが、その環境変化体の浄水処理性について調べた研究はほとんどなく、どのような処理でどの程度除去可能かといった基礎的な情報が全く不足しているのが現状である。一部の農薬分解物については、水道水質基準の中での監視が求められていることからも、農薬分解物の処理性の把握についての社会的ニーズは大きい。したがって、本研究にて農薬分解物の浄水処理性を広範に明らかしたことには、科学的意義が極めて高い。

（2）環境政策への貢献

＜行政が既に活用した成果＞

特に記載すべき事項はない。

＜行政が活用することが見込まれる成果＞

サブテーマ3では、農薬分解物あるいは農薬原体の浄水処理性と、地理情報を組み合わせることにより、浄水処理性マップの作成を試みた。作成されたマップを用いることにより、その親農薬を使用可能な流域／使用を控えることが推奨される流域を視覚的に捉えることができる。幸いにも、本研究で対象とした農薬分解物には「変異原性生成能が高いにも関わらず浄水処理で除去できない物質」は含まれなかつたが、今後、対象物質を増やすことにより、そのようなリスクの高い農薬分解物が現れるかもしれない。このような物質が現れた場合、農薬の使用による水質汚濁を理由としての当該農薬の登録保留権を環境大臣は有するが、全面的な登録保留ではなく、処理が困難な流域のみでの登録保留や、他農薬の推奨などの可能なオプションについての議論に、本研究の成果が用いられることが期待される。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 本田詩歩、松下 拓、松井佳彦、白崎伸隆、高梨啓和、亀屋隆志、近藤貴志：第46回日本水環境学会年会（2012）
「殺虫剤フェニトロチオンの加水分解生成物の浄水処理性」
- 2) 松下 拓、本田詩歩、松井佳彦、白崎伸隆、高梨啓和、亀屋隆志、近藤貴志：環境科学会2012年会（2012）
「フェニトロチオン加水分解物3-メチル-4-ニトロフェノールの浄水処理性の評価」
- 3) 本田詩歩、松下 拓、松井佳彦、白崎伸隆、高梨啓和、亀屋隆志、近藤貴志：第47回日本水環境学会年会（2013）
「殺虫剤フェニトロチオン分解物の酸化処理における変異原性の変動」
- 4) 松下 拓、森本絢子、松井佳彦、白崎伸隆、高梨啓和、亀屋隆志、近藤貴志：環境科学会2013年会（2013）
「農薬分解生成物の浄水処理性評価」

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) シンポジウム、セミナー等の開催（主催のもの）

特に記載すべき事項はない。

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

- 1) F. AHNERT, H. A. ARAFAT and N.G. PINTO: Adsorption, **9**, 311–319 (2003)
“A Study of the influence of hydrophobicity of activated carbon on the adsorption equilibrium of

- aromatics in non-aqueous media”
- 2) J.J. HU, T. MORITA, Y. MAGARA and T. AIZAWA: Water Research, **34**(8), 2215–2222 (2000)
“Evaluation of reactivity of pesticides with ozone in water using the energies of frontier molecular orbitals”
 - 3) M. KISHIDA, H. TAKANASHI, H. KOFUNE, T. NAKAJIMA and A. OHKI: Journal of Water Environment Technology, **6**(1), 19–33 (2008).
“Mutagen formation potential of composite samples prepared by biodegradation of agricultural chemicals”
 - 4) M. KISHIDA, Y. KATO, H. TAKANASHI, T. NAKAJIMA, A. OHKI, Y. MIYAKE and T. KAMEYA: Journal of Water Environment Technology, **8**(3), 185–191 (2010)
“Production of trichloromethylphenol from organophosphorus pesticide fenitrothion by chlorination”
 - 5) H. TAKANASHI, K. ABIRU, H. TANAKA, M. KISHIDA, T. NAKAJIMA, A. OHKI, T. KONDO, T. KAMEYA and T. MATSUSHITA: Journal of Water Environment Technology, **10**(4), 437–447 (2012)
“Production of chloro-5-hydroxy-2-nitrobenzoic acid through chlorination of 3-methyl-4-nitrophenol, a typical hydrolysate of fenitrothion”

Collection of Supporting Data to Amend Agricultural Chemicals Regulation Law in Registration of Agricultural Chemicals Causing Water Pollution

Principal Investigator: Hirokazu TAKANASHI

Institution: Kagoshima University
 1-21-40 Korimoto, Kagoshima-City, Kagoshima 890-0065, JAPAN
 Tel: +81-99-285-8336 / Fax: +81-99-285-8339
 E-mail: takanashi@apc.kagoshima-u.ac.jp

Cooperated by: Faculty of Environment and Information Sciences, Yokohama National University
 Department of Environmental Engineering, Hokkaido University

[Abstract]

Key Words: Pesticide, Pesticide Transformation Products in Water environments (PTPWs), Chlorination By-Products, Mutagen, Mutagen Formation Potentisl (MFP) Simultaneous Measuring, Environmental Monitoring, River Water, Drinking Water Treatment, Coagulation, Sedimentation, Activated Carbon Adsorption, Ozonation

Pesticides may undergo various reactions such as hydrolysis, photolysis and biodegradation in water environments, producing pesticides transformation products in water environments (PTPWs). The PTPWs and their parent pesticides are to be chlorinated in waterworks and may produce further transformation products which may be mutagenic.

Thus in the present study, a PTPW list consisting of 683 PTPWs of 159 pesticides was compiled by reviewing 12,269 scientific papers and some reports and books. The mutagen formation potential (MFP) of 23 pesticides and 63 PTPWs were tested with the Ames assay to study the MFP changes through the transformations. A model pesticide, (*E*)-1,3-dichloropropene (DCP), a component of the nematocide D-D, was chlorinated in phosphate buffer solution to explore a produced mutagen. 1,3-dichloroacetone was identified as a mutagenic chlorination by-product of DCP.

Simultaneous measuring methods for pesticides and their PTPWs were developed by using GC/MS and LC/MS/MS followed by a common pretreatment method of solid-phase extraction and nitrogen purge concentration. The database consisted of retention time, ionization mode and mass spectrum for 37 pesticides and 63 PTPWs were established. Using these methods, the environmental monitoring of 311 water samples taken at 42 river spots of the official monitoring spots and agricultural areas were carried out. It was observed that the PTPWs appeared after the detection of their parent pesticides

and that they disappeared after the parent pesticides was disappeared. There were many cases that PTPWs were detected at higher frequencies and higher concentrations than those of their parent pesticides at official environmental monitoring spots and water resources. Therefore, PTPWs should be focused as new trace pollutants in water environments.

Removals of 26 PTPWs and 15 pesticides during conventional/advanced drinking water treatment processes were investigated by using laboratory-scale treatment plants. The PTPWs studied in the present study tended to be more difficult to be removed during the coagulation–sedimentation, activated carbon adsorption and ozonation processes than the pesticides; 3 PTPWs could be removed neither by the coagulation–sedimentation nor by the activated carbon adsorption. However, any compounds posing high MFP could be removed by the activated carbon adsorption, and the compounds that were not removed by the treatment were revealed to have no or very low MFP. Overall, high-risk compounds, i.e. compounds that posed high MFP but could not be removed during the drinking water treatment, were not included in the PTPWs and pesticides tested in the present study so far.