

故の影響を受けやすいため、給水停止や用途制限などの影響を受ける傾向にあるが、健康被害事例は未規制小規模施設および専用水道で多く、上水道や簡易水道に比べて健康被害の発生が高いことが示唆され、これらの水道における適切な管理を進めることが重要であると考えられる。危機事例報告の多くは耐塩素性微生物の原水中における検出事例であり、飲料水の健康危機の適切な管理のために危機管理情報の対象に関する検討も今後の課題である。

謝辞：本研究の一部は、厚生労働科学研究費補助金「飲料水に係る健康危機の適正管理手法の開発に関する研究」により実施した。また本研究のデータの集約作業には、平松尚司氏（愛知県健康福祉部）、唐谷栄起氏（大阪市水道局）、西澤博氏（仙台市水道局）、雪本博志氏（独立行政法人水資源機構）、石田智治氏（呉市水道局）黒子裕史氏（横浜市水道局）の協力を得た。ここに記して謝意を表します。

#### 参考文献

- 1) 日本水道協会: 平成 17 年度水道統計 施設・業務編, p33, 2006.
- 2) 笈川和男: 使用水による事故事例, 水, Vol. 39, pp. 89-95, 1997.
- 3) 山田俊郎, 秋葉道宏: 最近 10 年間の水を介した健康被害事例, 保健医療科学, Vol. 56, pp. 16-23, 2007.
- 4) 立川裕隆: 飲料水質管理の課題, 保健医療科学, Vol. 56, No. 93, pp. 32-36, 2007.
- 5) 早川哲夫: 貯水槽施設, 特に未規制の小規模施設の実態把握と設置者を対象とする管理運営マニュアルの策定に関する研究研究報告書, pp. 14-19, 2006.
- 6) 保坂三継: 水道における事故例と背景, 水道の病原微生物対策, pp. 139-146, 丸善, 2006.
- 7) 日本水道協会: 平成 16 年度水道統計 施設・業務編, 2005.

(2008. 5. 23. 受付)

## Analysis of Health-Related Incidents Attributable to Drinking Water in Japan

Toshiro YAMADA<sup>1</sup>, Michihiro AKIBA<sup>1</sup>, Mari ASAMI<sup>1</sup>, Dai SHIMAZAKI<sup>1</sup> and Shoichi KUNIKANE<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Water Supply Engineering, National Institute of Public Health

<sup>2</sup>Institute for Environmental Science, University of Shizuoka

This study aims at demonstrating health-related incidents caused by drinking water contamination, which occurred in the past ten years of 1997 through 2006 in Japan, and analyzing their risk levels. The information used in this study is those reported to the Ministry of Health, Labour and Welfare according to the "Guidelines for the Implementation of Health Risk Management of Drinking Water". In the last ten-year period, there were 27 health-related incidents involving 2,328 cases in Japan among totally 1,018 incidents reported. The risk levels of health-related incidents were higher at small and private water supply systems compared to those at large water supply systems. Adequate management of small and private water supply system is necessary to prevent health-related incidents caused by drinking water contamination.

## The behaviour and cholinesterase inhibitory activity of fenthion and its products by light and chlorination

Maiko Tahara, Reiji Kubota, Hiroyuki Nakazawa, Hiroshi Tokunaga and Tetsuji Nishimura

### ABSTRACT

We established a method for quantitative analysis of fenthion (MPP) and its related compounds in water samples, using solid-phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry. With this method, the values of the limit of quantification ranged from 0.2 to 100 ng l<sup>-1</sup>. Using this method, we examined the fate of MPP in water and the products produced by light irradiation and chlorination. MPP decreased gradually and reached 50% of the initial concentration after 48 hours in water. In particular, MPP-sulfoxide was formed. With light irradiation, MPP decomposed immediately into MPP-sulfoxide, *O,O*-Dimethyl *S*-[3-methyl-4-(methylthio)phenyl]phosphorothioate and other compounds. With chlorination, MPP decomposed into MPP-sulfoxide, MPP-sulfone, and their oxons. The concentration of oxons increased in a time-dependent manner. In their effects on organisms, MPP, MPP-sulfoxide and MPP-sulfone showed weak inhibitory activity to cholinesterase, whereas their oxons showed strong activity. It is feared that MPP and its products exist in environmental water and are produced by the disinfection treatment process. Comprehensive evaluation of the toxicity of MPP and its related compounds is important in order to understand the effects of MPP on ecosystems and human health.

**Key words** | ChE activity, chlorination, light irradiation, MPP, oxidized products, water

Maiko Tahara  
Reiji Kubota  
Hiroyuki Tokunaga  
Tetsuji Nishimura (corresponding author)  
Division of Environmental Chemistry,  
National Institute of Health Sciences,  
Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501,  
Japan  
Tel.: +81-3-3700-9346  
Fax: +81-3-3700-9346  
E-mail: nishimur@nihs.go.jp

Hiroyuki Nakazawa  
Department of Analytical Chemistry,  
Faculty of Pharmaceutical Sciences,  
Hoshi University,  
Ebara 2-4-41, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8501,  
Japan

### INTRODUCTION

Fenthion (MPP) is an organophosphorus pesticide used in modern agriculture primarily as an insecticide for paddy fields. Monitoring of pesticides in natural water used as a source of drinking water has been performed at various places in Japan. Results showed that MPP was detected in natural water closely situated to paddy fields. In addition, the MPP-related compounds, such as MPP-sulfoxide and MPP-sulfone, were also detected in natural water without use as pesticide (Wang *et al.* 1987; Nagafuchi *et al.* 1994; Tsuda *et al.* 1998). Compounds in natural water are affected by environmental conditions such as irradiation by sunlight, the concentration of hydrogen ions and oxygen, microorganisms, and so on. They are also modified and oxidized through the disinfection processes of water treatment plants. Similarly, pesticides in the environment may also be affected by

environmental and artificial factors. There is concern about the fate of pesticides in water sources, and their effect on ecosystems and human health (Tsuda *et al.* 1997).

In this work, we describe the methods developed for simultaneous quantitative analysis of MPP and related compounds in water samples using solid-phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometric detection. We then examined the fate of MPP in water treated by light irradiation and chlorination. Because organophosphorus pesticides commonly inhibit nervous system cholinesterase (ChE) activity, resulting in adverse effects on organisms (Jokanović 2001), we investigated the effect of MPP and its products on ChE activity using an *in vitro* bioassay (Tahara *et al.* 2005), in order to assess how human health might be affected.

## EXPERIMENTAL

### Chemicals and reagents

MPP and MPP-sulfoxide were purchased from Wako Pure Chemical Industries, Ltd (Osaka, Japan). MPP-sulfone, MPP-oxon, MPP-oxon-sulfoxide, and MPP-oxon-sulfone were purchased from Dr Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany).

Standard solutions were prepared individually in acetone at concentrations of  $1,000 \text{ mg l}^{-1}$  for MPP and MPP-sulfoxide, and  $100 \text{ mg l}^{-1}$  for MPP-sulfone. The three oxon solutions were purchased at  $10 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$  in acetonitrile solution. All standard solutions were stored at  $-20^\circ\text{C}$ . The working solutions were freshly prepared for every use by dilution of the standard solution with acetonitrile and/or 0.15% acetic acid, as necessary.

High quality acetone, acetonitrile, acetic acid, sodium hypochlorite solution, and L(+)-ascorbic acid sodium salt were purchased from Wako Pure Chemical Industries, Ltd. Laboratory water was purified by a Milli-Q gradient A10 and Elix with EDS polisher system water-purification (Millipore, Bedford, Massachusetts). Methanol was not used in this study, because transesterification of organophosphorus pesticides may occur in methanol (Hong & Pehkonen 1998).

### Solid-phase extraction

Compounds in water samples were extracted and concentrated with solid-phase extraction (SPE) cartridges. The cartridges were equilibrated with 5 ml acetonitrile and 5 ml water, respectively. Extraction of water samples was carried out with a  $10 \text{ ml min}^{-1}$  flow rate using an automatic concentrator, Sep-Pak Concentrator Plus (Waters, Milford, Massachusetts). Air was then passed through the cartridges for 5 min. The compounds were eluted from the cartridges with 5 ml acetonitrile. The eluted solutions were concentrated to less than 0.3 ml under a gentle nitrogen stream, and for liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS) samples 0.15% acetic acid was added to a final volume of 1.0 ml. The final solution for LC/MS analysis was composed of 0.15% acetic acid/acetonitrile (v/v = 7:3).

Standard solutions in acetonitrile were spiked into 500 ml purified water, for final concentrations of  $50 \text{ ng ml}^{-1}$  for

MPP,  $0.1 \text{ ng ml}^{-1}$  for MPP-sulfoxide,  $1 \text{ ng ml}^{-1}$  for MPP-sulfone,  $0.25 \text{ ng ml}^{-1}$  for MPP-oxon,  $1 \text{ ng ml}^{-1}$  for MPP-oxon-sulfoxide, and  $0.5 \text{ ng ml}^{-1}$  for MPP-oxon-sulfone. The recovery of compounds from water samples was performed using three cartridges: Oasis HLB Plus Extraction Cartridge, Sep-Pak Plus PS-2 Cartridge, and Sep-Pak Plus C18 Cartridge (Waters). The blank consisted of 500 ml of purified water.

### Analysis with LS/MS

The target compounds were analysed by LC/MS for qualitative and quantitative analysis.

LC was carried out using an Agilent 1100 series (Agilent, Waldborn, Germany) instrument equipped with a Rheodyne Model 7750 injector. The analytical column was Zorbax Eclipse XDB-C18 (Agilent), 4.6 mm i.d.  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$  particle size. The column oven temperature was  $40^\circ\text{C}$ . Mobile phases were 0.15% acetic acid (A) and acetonitrile (B) with the following gradient programme: maintaining 70% A for 5 minutes; by a linear gradient from 70% A at  $t = 5$  minutes to 30% A at  $t = 20$  minutes; maintaining 30% A for 5 minutes. The flow rate was set to  $1.0 \text{ ml min}^{-1}$  and the injection volume was 10  $\mu\text{l}$ . The MS system was an Agilent 1100 series (Agilent) quadrupole equipped with an electrospray ionization (ESI) source. The instrument was operated in scan mode and the positive and negative ionization mode of selected ion monitoring (SIM) mode. The operating conditions for ESI were nebulizer gas (nitrogen) 60 psi; drying gas (nitrogen) flow  $10 \text{ l min}^{-1}$ ; gas temperature  $350^\circ\text{C}$ . Capillary voltages were 4,000 V for positive and 2,000 V for negative. The fragmentor voltage was kept at 200 V. The scan mode was 50–500 m/z.

### Extraction of MPP and its products from water

MPP standard solution was added to purified water to a final concentration of  $0.001 \text{ mg l}^{-1}$ . Strict pH adjustment was not performed but the extraction was conducted in neutral conditions. After stirring at room temperature for 5 minutes, a 500 ml sample was taken for the original water sample, reaction time at 0 hour. With stirring at  $20^\circ\text{C}$ , 500 ml samples were taken at 1, 2, 4, 6, 24 and 48 hours. MPP and its products were extracted by SPE. The operations were done at room temperature, around  $25^\circ\text{C}$ .

### Light irradiation

Photolysis experiments were performed in purified water using an original laboratory photoreactor. An ultraviolet (UV) GL6 lamp (National, Osaka, Japan) with electrical power at 6 W and maximum wavelength of 254 nm was located at the centre of the reactor. The characteristics of this lamp were suitable to evaluate the effect in a narrow wavelength range because about 90% of the energy is concentrated in 254 nm spectrum. MPP solution of concentration  $1 \mu\text{g ml}^{-1}$  was put in a standard rectangular quartz cell (1 cm pathlength) and placed at a distance of 17 cm from the light source. MPP solutions were irradiated by UV light (254 nm) for 10, 20, 30, 45, 60, 90 and 120 seconds in the short irradiation experiment, and for 1, 2, 5, 10, 20 and 30 minutes in the long irradiation experiment. Sample solutions were analysed directly by LC/MS.

A  $250 \text{ mg l}^{-1}$  MPP solution was irradiated by UV light for 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 and 4 hours for the detection of ChE inhibitory activity. The products were also analysed by LC/MS direct injection.

### Chlorination

We examined the behaviour of MPP and its products in chlorine water to investigate the effect of chlorination on MPP in water treatment plants, using sodium hypochlorite solution, which was generally used as a disinfectant providing an effective barrier to many pathogens, especially bacteria at treatment plants.

The chlorination experiment for the examination of MPP behaviour was carried out at low MPP concentration having regard to the real-world situation. The preparation of samples for the evaluation of chlorination products was performed at high MPP concentration on the basis of the sensitivity of bioassay and the yield of products.

MPP standard solution was added to purified water to a final concentration of  $0.001 \text{ mg l}^{-1}$ . After stirring at room temperature for 5 minutes, a 500 ml sample was taken for the original water sample, reaction time at 0 hour. A sodium hypochlorite solution was then added to a final concentration of free chlorine of  $1 \text{ mg l}^{-1}$ . With stirring at  $20^\circ\text{C}$ , 500 ml samples of solution were taken at the reaction times of 5, 15, 30, 60 and 120 minutes for the short exposure experiment, and 1, 2, 4, 6, 24, 48 and 72 hours for the long exposure experiment.

A 1 ml solution of sodium ascorbic acid ( $10 \text{ g l}^{-1}$ ) was added to the sample solutions to eliminate chlorine. MPP and its products were extracted by SPE. The operations were done at room temperature, around  $25^\circ\text{C}$ .

Sodium hypochlorite solution was added to an aqueous solution of  $0.01 \text{ mg l}^{-1}$  MPP, to a final concentration of free chlorine of  $5 \text{ mg l}^{-1}$ . The solution was maintained at  $20^\circ\text{C}$  for 0.5, 1, 2, 4 and 24 hours. Chlorine was eliminated in the sample solutions by sodium ascorbic acid. MPP and its products were concentrated 250-fold by SPE.

### Evaluation of ChE activity

Stock solutions of ChE (Wako Pure Chemical Industries, Ltd) dissolved in water ( $1,250 \text{ IU l}^{-1}$ ) and 5-methyl-2-thenoyl-thiocholine-iodide (MTTC) ( $2.0 \text{ mM}$ ) were prepared. A  $0.25 \text{ mM}$  chromogen solution of 5, 5'-dithiobisnitrobenzoic acid (DTNB) was prepared in  $0.1 \text{ mol l}^{-1}$  phosphate buffer (pH 7.4). All chemicals were purchased from Wako Pure Chemical Industries, Ltd. They were stored at  $4^\circ\text{C}$ . The sample solutions were prepared in water. A solution of ChE and each appropriate sample were uniformly mixed in a ratio of 4:1, so that each sample contained 7 mIU ChE. MTTC substrate solution ( $63 \mu\text{l}$ ) was added to  $7 \mu\text{l}$  of each sample containing ChE in a 96 microwell plate, and  $280 \mu\text{l}$  of the DTNB chromogen solution was added. The plate was incubated at  $37^\circ\text{C}$  for 7 minutes, and the absorbance was measured at 405 nm using an Ultrospec Visible Plate Reader II 96 (Amersham Biosciences, Tokyo, Japan). All experiments were performed in triplicate wells.

The mechanism of colour development is as follows: active ChE enzymatically cleaves the substrate MTTC to release thiocholine. The released thiocholine reacts with the chromogen DTNB to generate a yellow product, quantifiable at 405 nm by UV absorption, and which is impeded when ChE activity is inhibited (Karahasanoglu & özand 1967; Tahara *et al.* 2005).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Calibration curves and limit of detection by LC/MS

The following six compounds were targeted for examination: MPP, MPP-sulfoxide and MPP-sulfone (containing an

oxidized thio-methyl group); MPP-oxon, MPP-oxon-sulfoxide and MPP-oxon-sulfone (three oxon forms containing P = O moiety oxidized P = S moiety of the characteristic structure for organophosphorus pesticides).

The experiments were performed using two methods: liquid chromatography with mass spectrometric detection (LC/MS) or gas chromatography with mass spectrometric detection (GC/MS). As a result of the comparison of sensitivity for detecting MPP and five related compounds, we selected the LC/MS method. The analytical conditions established for LC/MS were as shown above in the Experimental section. The target compounds were analysed in the positive and negative ionization SIM mode for qualitative and quantitative analysis by detection of the signal from the more abundant daughter ions. The daughter ion was identified in the scan mode during the acquisition of the mass spectrum. The selected ion and ionization modes are summarized in Table 1. Calibration curves were determined from the results of measurements of seven concentrations of standard solutions in the SIM mode. Standard curves show excellent linearity with correlation coefficients higher than 0.999 for all six compounds. This indicates that the established analytical conditions performed well in quantitative analysis of these compounds.

The value of limit of detection (LOD) was calculated as three times the standard deviation of the slope of the calibration curve. LOD values obtained using LC/MS for MPP, MPP-sulfoxide, MPP-sulfone, MPP-oxon, MPP-oxon-sulfoxide and MPP-oxon-sulfone were 10, 0.02, 0.2, 0.05, 0.2 and 0.1 ng ml<sup>-1</sup>, respectively. Concentration ranges

and LOD values for the six compounds are summarized in Table 1. With LC/MS, low concentrations of the six compounds were measured at high accuracy.

#### Limit of quantification and recovery test by LC/MS

The value of the limit of quantification (LOQ) was determined at 10 times the value of the standard deviation and the lowest concentration that provided relative standard deviations (RSDs) of 10% or less in the recovery test. LOQ values obtained were 50 ng ml<sup>-1</sup> for MPP, 0.1 ng ml<sup>-1</sup> for MPP-sulfoxide, 1 ng ml<sup>-1</sup> for MPP-sulfone, 0.25 ng ml<sup>-1</sup> for MPP-oxon, 1 ng ml<sup>-1</sup> for MPP-oxon-sulfoxide, and 0.5 ng ml<sup>-1</sup> for MPP-oxon-sulfone.

The results of a comparison of recovery tests on extracting six compounds from tap water using three different types of solid-phase extraction cartridge showed that average recovery by the Oasis HLB Plus was 60.0–90.4% (RSD 1.2–9.8%), Sep-pack PS-2 58.3–83.9% (1.0–10.1%) and Sep-pack C18 39.8–86.1% (0.5–10.0%). There were discrepancies in recovery rates among the three cartridges. Oasis HLB Plus was selected to extract all the target compounds in these experiments, because it obtained satisfactory recovery rates for simultaneous analysis of all tested compounds.

#### The behaviour of MPP in water

MPP was added to purified water at a final concentration of 0.001 mg l<sup>-1</sup>, and the behaviour of MPP and its products in water was examined at reaction times of 1, 2, 4, 6, 24 and 48

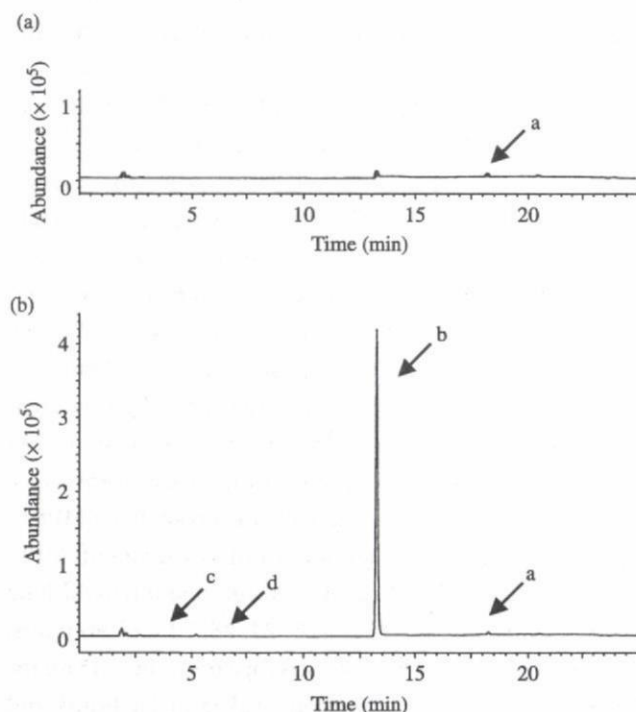
**Table 1** | Analytical conditions in SIM mode of MPP and related compounds by LC/MS (P: positive mode)

Compound	MW	Monitor ion	Retention time (min)	Range (ng ml <sup>-1</sup> )	Correlation coefficient	LOD (ng ml <sup>-1</sup> )	LOQ (ng ml <sup>-1</sup> )
MPP	278	279 P	18.3	10–1,000	0.999	10	50
MPP-sulfoxide	294	295 P	13.3	0.02–5	0.999	0.02	0.1
MPP-sulfone	310	311 P	16.9	0.2–20	0.999	0.2	1
MPP-oxon	262	263 P	16.2	0.05–10	0.999	0.05	0.25
MPP-oxon-sulfoxide	278	279 P	4.0	0.2–20	0.999	0.2	1
MPP-oxon-sulfone	294	295 P	6.6	0.1–20	0.999	0.1	0.5

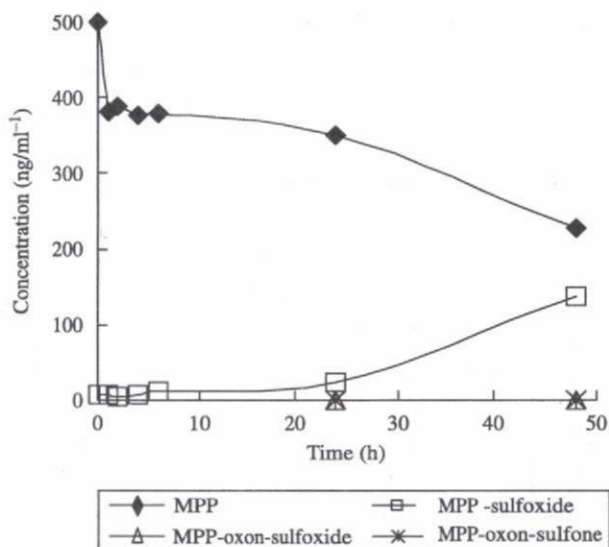
hours. The solution pH was about 6.0 after addition of MPP and was not changed during the reaction time. Though MPP itself decreased gradually, MPP-sulfoxide was formed immediately in water and its concentration increased in a time-dependent manner. At 48 hours, MPP-oxon-sulfoxide and MPP-oxon-sulfone were detected at low levels (Figure 1). The concentration of MPP and its products was calculated using the standard curve determined by the value of the peak area obtained by SPE (Figure 2). After 24 hours, 70% of MPP remained, and 5% of MPP changed to MPP-sulfoxide. After 48 hours, 50% of MPP remained and 30% was changed. We could not detect residual MPP. It was speculated that the residual might have decomposed to other products. Chemical hydrolysis played an important role in the behaviour of MPP in an aqueous environment.

### The behaviour of MPP exposed to UV

The photochemical transformation of MPP in water was studied after irradiation with UV light, because compounds in natural water are irradiated by sunlight. No change was observed under dark conditions within the timescale of these



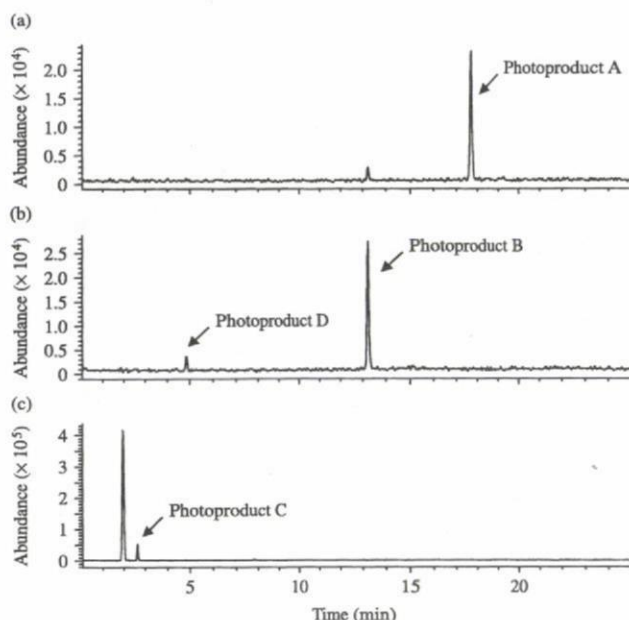
**Figure 1** | Chromatograms of MPP and its products in water (a) 0 hr, (b) after 48 h. a: MPP, b: MPP-sulfoxide, c: MPP-oxon-sulfoxide, d: MPP-oxon-sulfone.



**Figure 2** | Behaviour of MPP in water.

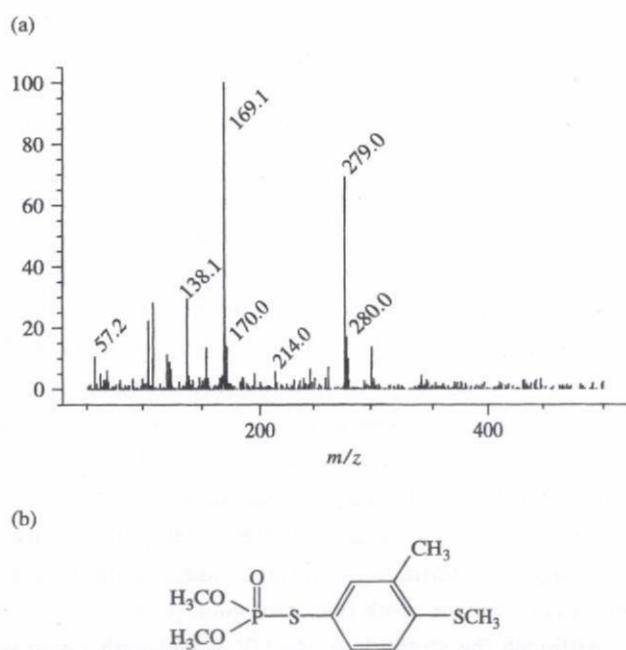
experiments. Following irradiation, MPP itself disappeared rapidly, and four main photoproducts were confirmed on the chromatogram (Figure 3). Some photoproducts of MPP have already been reported (Chukwudebe *et al.* 1989; Minelli *et al.* 1996; Huang & Mabury 2000; Hirahara *et al.* 2003; Torrisi & Sortino 2004). Two products among them were found in purified water. One identified product was MPP-sulfoxide, according to mass spectral information. It was directly produced by the oxidative reaction of MPP. The other product, detected at a 17.6 minute retention time, showed the formation  $M + H^+ = 279$ . It was presumed to be *O*, *O*-Dimethyl *S*-[3-methyl-4-(methylthio)phenyl]phosphorothioate by the fragment ions of the mass spectrum (Figure 4). It was formed by the isomerization of thiono-thiolo (e. g.  $RO-P = S \rightarrow RS-P = O$ ) (Lacorte & Barceló 1994; Torrisi & Sortino 2004; Zamy *et al.* 2004). It involves the lowest excited singlet state of the pesticide and a  $\sigma$  cation as the key intermediate in the photodecomposition of MPP (Torrisi & Sortino 2004). Both products were detected at their highest concentration at 1 minute (Figure 5). These products were also confirmed by light irradiation using a chemical lamp (6 W, maximum wavelength 352 nm). Some minor peaks were present. However, we were not able to elucidate their structure from mass fragment information. The area values of these peaks were small compared with that of the main peak.

Although the strength of the UV wavelength range of sunlight is usually weak, the solar spectral intensity is typically

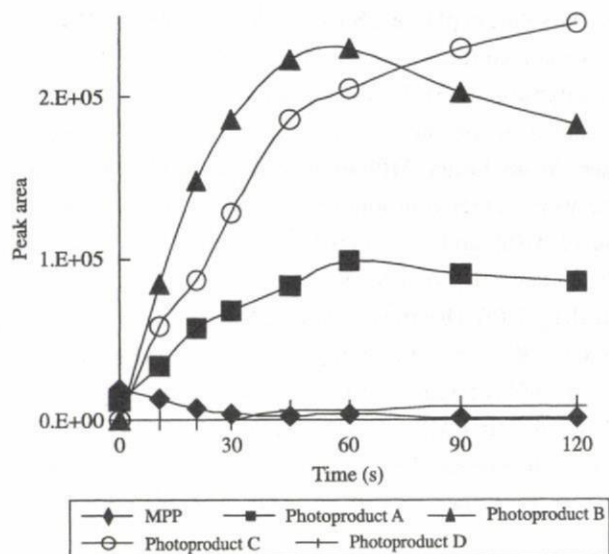


**Figure 3** | Chromatograms of MPP and its products irradiated for 120 s. (a)  $m/z$ : 279, positive mode, (b)  $m/z$ : 295, positive mode, (c)  $m/z$ : 141, negative mode.

sufficient, to break down chemical bonds of the molecule. There is a report that MPP degrades much faster under sunlight conditions than in darkness (Lartiges & Garrigues 1995). Therefore, there is concern that these compounds are formed in the environment.



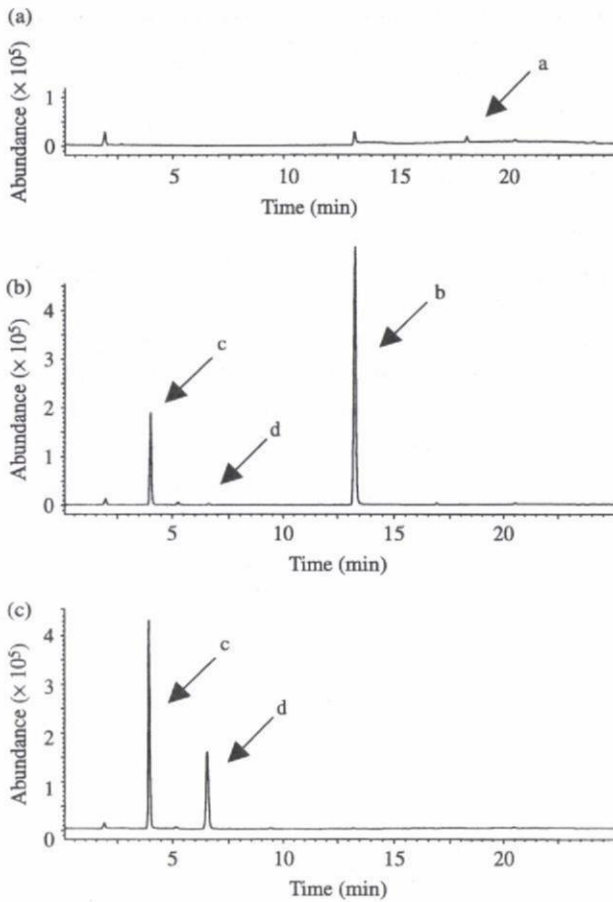
**Figure 4** | Photoproduct A. (a) MS spectrum, (b) chemical structure.



**Figure 5** | Time-dependent behaviour of MPP and its products treated by light irradiation.

### MPP behaviour under conditions of chlorination

MPP standard solution was added to purified water to a final concentration of  $0.001 \text{ mg l}^{-1}$ . A 500 ml sample of the solution was taken as the original water sample, reaction time at 0 h, after stirring at room temperature for 5 minutes. A sodium hypochlorite solution was added so that the concentration of free chlorine was  $1 \text{ mg l}^{-1}$ . The solution pH was about 6.0 after addition of MPP to purified water and changed to about 8.0 when the chlorine was added. However, it was resulted to get to 6.0 with the reaction time. In water containing chlorine, MPP was undetectable within 5 minutes after contact with chlorine. MPP-sulfoxide and MPP-sulfone were detectable immediately, and increased in parallel with the decrease of MPP. The concentration of these products peaked at 5 and 15 minutes, respectively. Each compound was then gradually converted to its oxon form (Figure 6). The rates of conversion from MPP-sulfoxide and MPP-sulfone to their oxon forms were slow in comparison with the rate of conversion from MPP to MPP-sulfoxide and MPP-sulfone. In this experiment, MPP-oxon was undetectable. As a result of chlorination in the long exposure experiment of 1, 2, 4, 6, 24, 48, 72 and 96 hours, MPP-oxon-sulfoxide almost disappeared by 48 hours. MPP-oxon-sulfone concentration peaked at 24 hours and maintained the same concentration level until 48 hours. The concentration of free chlorine was  $0.79 \text{ mg l}^{-1}$  after 48 hours.



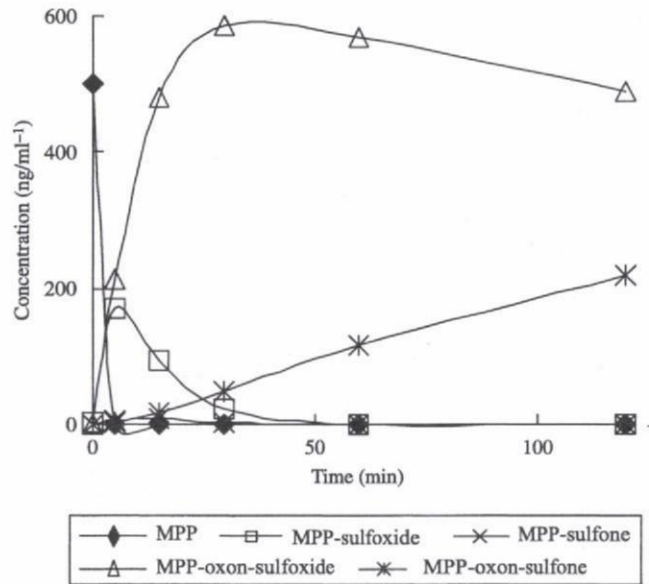
**Figure 6** | Chromatograms of MPP and its products after chlorination. (a) 0 min, (b) 5 min, (c) 120 min. a: MPP, b: MPP-sulfoxide, c: MPP-oxon-sulfoxide, d: MPP-oxon-sulfone.

The concentration of MPP and detected products in the short exposure experiment was calculated using the standard curve determined by the value of peak areas obtained by SPE (Figure 7). The results indicate that under chlorination conditions, MPP changed to related compounds and converted primarily into MPP-oxon-sulfone after 48 hours.

If MPP exists in sources of drinking water, and is not eliminated sufficiently at water purification plants, it will come into contact with chlorine. MPP is rapidly oxidized to MPP-sulfoxide and MPP-sulfone, and their oxons may persist in drinking water.

**ChE inhibition activity**

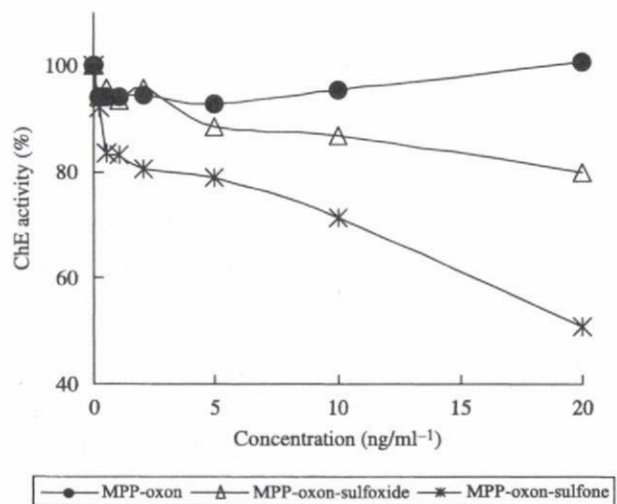
It is known that ChE, a key neuroregulatory enzyme, is targeted and inhibited by organophosphorus pesticides and



**Figure 7** | Time-dependent behaviour of MPP and its products after chlorination.

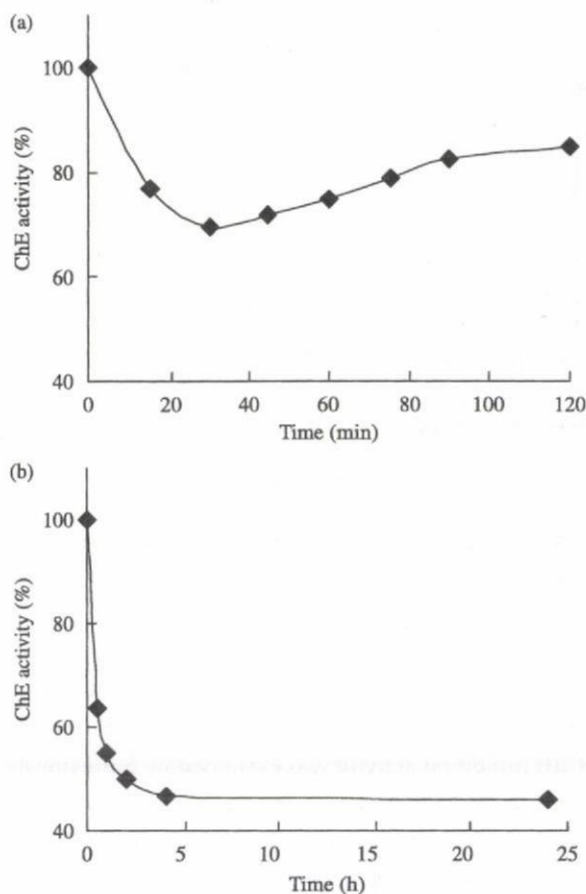
their active metabolites, causing acute toxicity (Rodnitzky 1975; Soliman *et al.* 1982; Nagymajtényi *et al.* 1988). In this study, ChE inhibition activity was examined by a previously established *in vitro* method that uses MTTC as an indicator of ChE activity, in order to evaluate the effect of MPP and related compounds on organisms.

MPP, MPP-sulfoxide and MPP-sulfone showed weak inhibitory activity. However, the oxon forms showed a high inhibitory effect at ng levels. The inhibition by oxons



**Figure 8** | Comparison of ChE inhibitory activities. The concentration at the beginning of the reaction was defined as 100%.





**Figure 9** | Effect of reaction products mixture on ChE activity. (a) light irradiation, (b) chlorination. The activity at the non-treated MPP solution was defined as 100%.

strengthened with the degree of oxidation, in the following order: MPP-oxon, MPP-oxon-sulfoxide and MPP-oxon-sulfone (Figure 8). Concentrations of chlorpyrifos oxon, diazinon oxon, EPN oxon and fenitrothion oxon causing 20% inhibition were, respectively, 1.1, 8.9, 140 and 330 ng ml<sup>-1</sup> (Tahara *et al.* 2005); and concentrations for MPP-oxon-sulfoxide and MPP-oxon-sulfone were 5.4 and 0.32 ng ml<sup>-1</sup>, respectively. The inhibitory activities of MPP-oxon-sulfoxide and MPP-oxon-sulfone are high compared with other oxons of organophosphorus pesticides. Therefore, the potential for adverse effects of MPP is high, because MPP is changed to MPP-oxon-sulfoxide and MPP-oxon-sulfone.

We also studied the ChE inhibition activity of MPP solutions irradiated by UV or treated with chlorine. The treated solutions may contain mixtures of MPP and its reaction products. The results in solutions from both treatments showed

strong ChE inhibitory activity in comparison with the non-treated MPP solutions (Figure 9). Photodegradation reactions may result in the formation of products with a high acute toxicity. The next step would be to isolate photodegradation products and elucidate their toxicity.

## CONCLUSIONS

The present work has shown that MPP converts easily to the oxidized compounds, MPP-sulfoxide, MPP-sulfone and their oxons by photo-irradiation and by treatment with chlorine in water. In an aquatic environment, MPP may be changed by passing through different physical, chemical and biological processes. It is important to control MPP and its reaction products, in order to protect human health and the ecosystem, because these compounds have adverse effects on organisms.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by Grants-in-Aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan (H16-Kenka-Ippan-066).

## REFERENCES

- Chukwudebe, A., March, R. B., Othman, M. & Fukuto, T. R. 1989 Formation of trialkyl phosphorothioate esters from organophosphorus insecticides after exposure to either ultraviolet light or sunlight. *J. Agric. Food Chem.* **37**, 539–545.
- Hirahara, Y., Ueno, H. & Nakamuro, K. 2003 Aqueous photodegradation of fenthion by ultraviolet B irradiation: contribution of singlet oxygen in photodegradation and photochemical hydrolysis. *Water Res.* **37**, 468–476.
- Hong, F. & Pehkonen, S. 1998 Hydrolysis of phorate using simulated environmental conditions: rates, mechanisms, and product analysis. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 1192–1199.
- Huang, J. & Mabury, S. A. 2000 The role of carbonate radical in limiting the persistence of sulphur containing chemicals in sunlit natural waters. *Chemosphere* **41**, 1775–1782.
- Jokanović, M. 2001 Biotransformation of organophosphorus compounds. *Toxicology* **166**, 139–160.
- Karahasanoglu, A. M. & Özand, P. T. 1967 Rapid test for serum cholinesterase. *J. Lab. Clin. Med.* **70**, 343–351.
- Lacorte, S. & Barceló, D. 1994 Rapid degradation of fenitrothion in estuarine waters. *Environ. Sci. Technol.* **28**, 1159–1163.
- Lartiges, S. B. & Garrigues, P. P. 1995 Degradation kinetics of organophosphorus and organonitrogen pesticides in different.

- waters under various environmental conditions. *Environ. Sci. Technol.* **29**, 1246–1254.
- Minelli, E. V., Cabras, P., Angioni, A., Garau, V. L., Melis, M., Pirisi, F. M., Cabitza, F. & Cubeddu, M. 1996 Persistence and metabolism of fenthion in orange fruit. *J. Agric. Food Chem.* **44**, 936–939.
- Nagafuchi, O., Inoue, T. & Ebise, S. 1994 Runoff pattern of pesticides from paddy fields in the catchment area of Rikimaru Reservoir, Japan. *Water Sci. Technol.* **30**, 137–144.
- Nagymajtényi, L., Dési, I. & Lorencz, R. 1988 Neurophysiological markers as early signs of organophosphate neurotoxicity. *Neurotoxicol. Teratol.* **10**, 429–434.
- Rodnitzky, R. L. 1975 Occupational exposure to organophosphate pesticides: a neurobehavioral study. *Arch. Environ. Health* **30**, 98–103.
- Soliman, S. A., Sovocool, G. W., Curley, A., Ahmed, N. S., El-Fiki, S. & El-Sebae, A. K. 1982 Two acute human poisoning cases resulting from exposure to diazinon transformation products in Egypt. *Arch. Environ. Health* **37**, 207–212.
- Tahara, M., Kubota, R., Nakazawa, H., Tokunaga, H. & Nishimura, T. 2005 Use of cholinesterase activity as an indicator for the effects of combinations of organophosphorus pesticides in water from environmental sources. *Water Res.* **39**, 5112–5118.
- Torrisi, S. & Sortino, S. 2004 New insights into the photoreactivity of the organophosphorus pesticide fenthion: a  $\sigma$  aryl cation as a key intermediate in the photodecomposition. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 5943–5949.
- Tsuda, T., Kojima, M., Harada, H., Nakajima, A. & Aoki, S. 1997 Acute toxicity, accumulation and excretion of isoprothiolane and its degradation products in killifish. *Water Res.* **31**, 323–327.
- Tsuda, T., Kojima, M., Harada, H., Nakajima, A. & Aoki, S. 1998 Pesticides and their oxidation products in water and fish from rivers flowing into lake Biwa. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **60**, 151–158.
- Wang, T. C., Lenahan, R. A. & Tucker, J. W. Jr 1987 Deposition and persistence of aerially-applied fenthion in a Florida estuary. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **38**, 226–231.
- Zamy, C., Mazellier, P. & Legube, B. 2004 Phototransformation of selected organophosphorus pesticides in dilute aqueous solutions. *Water Res.* **38**, 2305–2314.

First received 27 April 2007; accepted in revised form 25 July 2007

[報 文]

# 塩素反応生成物を含めた有機リン系農薬のための 水道水の安全性評価

Safety Assessment of Tap Water for  
Organophosphorus Pesticides Including Products by Chlorination

田原麻衣子\* 久保田領志\* 中澤 裕之\*\*  
徳永 裕司\* 西村 哲治\*

有機リン系農薬は、環境中や浄水工程の間に、より有害影響の強いオキソン体を生成することが懸念される。本研究では、24種について塩素処理を行ない、反応生成物が急性毒性の標的であるコリンエステラーゼ(ChE)に及ぼす影響を評価した。その結果、すべて塩素と速やかに反応し、そのなかで、ChE阻害活性が増強された農薬は反応生成物の有害リスクが高いと考えられ、原体とともに評価する必要性が明らかとなった。また、反応前後のChE阻害活性を比較し、それぞれの農薬の急性毒性に対する評価対象物質が明確となった。さらに、ChE阻害活性と水道水質基準の水質管理設定項目の目標値を用いてリスク評価を行なった。

本研究により、水質管理における有機リン系農薬の浄水工程での挙動把握および有害影響評価の優先順位を明示できた。これらの結果より、使用実態を含めた総括的評価が可能となり、水道水の安全性への迅速な評価および緊急時対応のための有益な情報となると示唆される。

**Key words** : 有機リン系農薬, リスク評価, 水質管理, ChE阻害活性, 目標値, オキソン体

## 1. はじめに

散布や吸着土壌からの流出により水道原水に流入した農薬は、環境中や浄水工程において塩素に

曝露されることにより反応生成物を生じると考えられる<sup>1)2)</sup>。有機リン系農薬のヒトへの主要な急性毒性は、コリンエステラーゼ(ChE)阻害作用として発現されることが知られており<sup>3)</sup>、有機リン

\* Maiko TAHARA, Reiji KUBOTA, Hiroshi TOKUNAGA, Tetsuji NISHIMURA, 国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1, Division of Environmental Chemistry, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501 Japan (E-mail: nishimur@nihs.go.jp)

\*\* Hiroyuki NAKAZAWA, 星薬科大学薬品分析化学教室

系農薬のチオノ型(P=S)は、塩素やオゾンによる酸化反応を受けてオキソン型(P=O)に変化した結果、ChE阻害作用が増強される<sup>4)5)</sup>。そのため、水道浄水処理でのオキソン体の生成挙動と健康への影響が懸念される。しかし、水道水質基準の水質管理目標設定項目101農薬および検討対象農薬第2候補群、第3候補群のチオノ型有機リン系農薬のうち、標準品としてチオノ型原体およびそのオキソン体の両方が市販されている農薬は10種のみで(平成19年6月現在)、それ以外のオキソン体は市販されていないため、評価は明確に行なわれていない。

そこで、本研究では、オキソン体が市販されていない14種のチオノ型有機リン系農薬において塩素処理を行ない、反応生成物がChE活性に及ぼす影響を、バイオアッセイにより評価した。さらに、オキソン体が入手可能な10種においてChE活性を測定し、ChE阻害と水道水質基準の水質管理目標設定項目に示されている目標値<sup>6)</sup>を用いたリスク評価を行なった。

## 2. 実験

本研究で用いた有機リン系農薬は、イソキサチオン、イソフェンホス、EPN、クロルピリホス、ダイアジノン、トルクロホスメチル、フェニトロチオン(MEP)、フェンチオン(MPP)、ブタミホス、プロチオホスの10種原体、およびそのオキソン体、さらに、ピリダフェンチオン、ベンスリド(SAP)、メチダチオン(DMTP)、アニロホス、ジメトエート、マラチオン、フェントエート(PAP)、エチルチオメトン、ピペロホス、シアノホス(CYAP)、クロルピリホスメチル、ピリミホスメチル、ジクロフェンチオン(ECP)、ホキシムの14種原体とした。MPPに関しては、類縁化合物であるMPPスルホキシド、MPPスルホン、およびそれらのオキソン体の計6種で検討を行なった。

### 2.1 試薬・試料

MPPスルホン、MPPオキソン、MPPオキソンスルホキシド、MPPオキソンスルホンおよびアニロホスはDr. Ehrenstorfer GmbH製、クロルピリホス、トルクロホスメチルおよびモノクロトホ

スはジーエルサイエンス(株)製、クロルピリホスオキソン、ブタミホスオキソンおよびトルクロホスメチルオキソンは林純薬工業(株)製を用いた。その他の有機リン系農薬の原体およびオキソン体は、和光純薬工業(株)製の残留農薬試験用を使用した。以下の溶媒はすべて和光純薬工業(株)製とし、アセトン5000は残留農薬・PCB試験用を、次亜塩素酸ナトリウムは食品添加物を、アスコルビン酸ナトリウムは特級、ジメチルスルホキシド(DMSO)は生化学用を用いた。精製水は、日本ミリポア(株)製Elix純水装置システムより得た水を使用した。

### 2.2 塩素反応試料の作製

塩素反応は、農薬1 mg/l水溶液に、遊離塩素の初期濃度が1 mg/lとなるよう次亜塩素酸ナトリウムを添加し、20℃の恒温槽中で5、10、20、30、60、120分まで反応させた。反応後、その塩素反応液にアスコルビン酸ナトリウムを添加して塩素を除去し、活性化した固相カートリッジ Oasis HLB Plus(Waters社製)に流速10 ml/minで通水した。カートリッジを通気脱水後、吸着成分をジクロロメタンで抽出し、窒素ガス気流下で乾固直前まで濃縮を行なった。試料はDMSO 1 mlに溶解した。

### 2.3 ChE活性を用いた生体影響評価

生体影響は、急性毒性の指標であるChE活性を指標として評価した。

測定は、われわれが確立した *in vitro* 手法を用いた<sup>7)</sup>。以下に概略を記述する。ChEと基質とするヨウ化5-メチル-2-テノイルチオコリンを反応させると、チオコリンを遊離し、チオコリンが発色液とする5,5-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸)と反応して黄色を呈するため、波長405nmにおける吸光度を測定する。この方法は簡便で、短時間に測定できる *in vitro* 手法である。このChEに、農薬原体または塩素反応液から固相カラムを用いて抽出・濃縮した試料を曝露する。その後、ChE活性阻害物質を含まないブランクにおけるChE活性を100%とした相対%で、原体、塩素反応生成物単体または混合体の活性阻害強度を比較し、評価した。ヒト血漿由来のコリンエステラーゼ、基質液であるヨウ化5-メチル-2-テノイルチオコリン、および発色液である5,5-ジチオビス(2-ニトロ安

息香酸)は和光純薬工業(株)製を使用した。プレートリーダーは、アマシャム バイオサイエンス(株)(現GEヘルスケアバイオサイエンス(株))製Ultraspec Visible Plate Reader IIを用いた。

### 3. 結果および考察

#### 3.1 農薬原体のChE活性

本研究で対象とする、14種のチオノ型原体におけるChE活性を検討した。8種においてはChE阻害活性をほとんど示さなかったが、その他6種は原体のチオノ型(P=S)の構造においてもChE阻害活性を示し、ピリダフェンチオンおよびPAPは10mg/lの反応液濃度で約50%の最大阻害が認められた(図1)。ピペロホス、アニロホス、ホキシム、およびクロルピリホスメチルの4種は、10mg/lの反応液濃度ではほぼ完全にChEの活性を阻害した。

#### 3.2 ChE活性を指標とした塩素反応生成物の評価

塩素反応後、固相カートリッジで抽出および濃縮した試料に含まれる塩素反応生成混合物におけるChE阻害活性を検討した。塩素と反応させていない農薬1mg/l水溶液を同様に抽出および濃縮して得られた試料を用いて測定したChE活性を、塩素反応時間0分として図2に示す。

その結果、ピリダフェンチオン、ピリミホスメチル、クロルピリホスメチルおよびホキシムの4農薬では、塩素反応に伴うChE活性の阻害増強がみられた。この結果は、塩素反応生成物が関与していると示唆され、急性毒性評価に関しては、原体で阻害活性があり、反応により阻害がさらに増強したピリダフェンチオン、クロルピリホスメチルおよびホキシムについては、原体と反応生成物両者の把

握が必要であることが明らかとなった。原体に関してChE阻害活性はみられないが、反応により阻害作用が新たにみられたピリミホスメチルについては、原体よりもむしろ反応生成物の把握に重点を置く必要があると考えられる。また、原体でChE阻害活性がみられ、反応前後でChE阻害活性に大きな変化のなかったアニロホスやPAPは原体および生成物の相加量の把握が必要である。阻害活性がみられず、塩素反応後もChE阻害活性が認められなかった農薬に関しては、ChE活性による急性毒性の評価の優先順位は下位と考えることができる。このように、塩素反応前後のChE阻害活性を比較することにより、急性毒性におけるそれぞれの農薬の評価対象物質の違いが明らかとなった。

#### 3.3 目標値およびChE阻害活性を用いたリスク評価

原体とオキシソンのリスク評価は、それぞれの

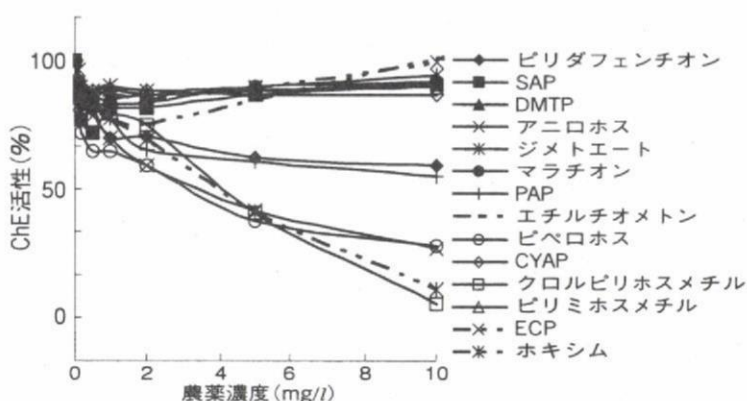


図1 14種チオノ型原体におけるChE活性

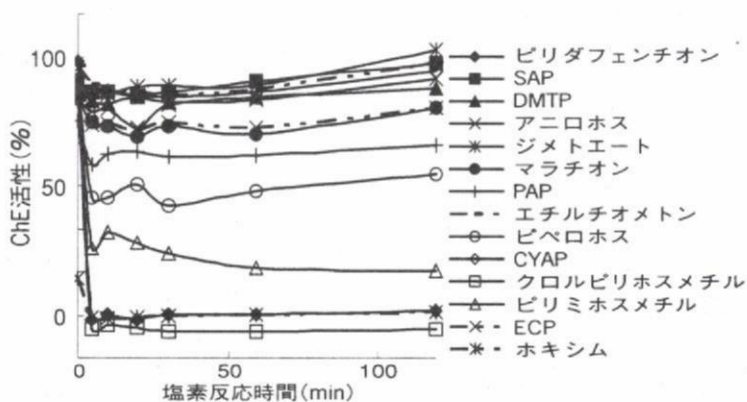


図2 塩素反応に伴うChE活性の変化

原体における目標値とChE活性20%阻害濃度より、以下の有害リスクの算出式により数値化し、両者を比較した。

$$\text{リスク率} = \frac{1/100\text{目標値}^*}{\text{ChE活性20\%阻害濃度}} \dots\dots(1)$$

\*：目標値＝

$$\frac{\text{ADI} \times \text{体重}(50\text{kg}) \times \text{飲料水の寄与率}(10\%)}{1 \text{日に飲用する水の量}(2\text{l})}$$

目標値は、水道水質基準の水質管理目標設定項目の101種農薬(平成19年8月現在)にそれぞれ定められており<sup>6)</sup>、この値と実際の検出濃度との相対比の総和である検出指標値が、浄水で1を超えないことが規定されている<sup>8)</sup>。

$$DI = \sum \frac{DV_i}{GV_i}$$

ここに、DIは検出指標値、DV<sub>i</sub>は農薬iの検出値、GV<sub>i</sub>は農薬iの目標値である。

本評価では、測定上の目安とされている目標値の1/100の濃度とChE活性の濃度比によって評価した。ChE活性は、阻害が強い農薬ほど濃度に対する活性変化が大きく、50%阻害濃度では農薬ごとの差が小さいこと、阻害活性の低い農薬は50%阻害濃度が求められないこと、環境水中の実際の農薬存在濃度は低く、検討を行なううえで実態に近い濃度で評価すること、などの観点から、ChE阻害の評価にはChE活性20%阻害濃度を用いた。

#### 3.4 塩素反応前後でのリスクの変化

オキソン体標準品が市販されている10種の農薬について、前述の14種の農薬と同様に生成物反応挙動の評価を行なった。10種は塩素と反応することで、速やかに主生成物としてオキソン体に変化した<sup>9)</sup>。よって、これら10種については、反応前である原体と生成物であるオキソン体の標準品を用いてChE活性を測定し、ChE活性20%阻害濃度をそれぞれ求めた。MPPに関しては、塩素反応により主反応としてMPP→MPPスルホキシド→MPPオキソンスルホンと反応するため<sup>10)</sup>、MPPの反応生成物はMPPオキソンスルホンとして算出した。

検討の結果、表1に示すように、イソフェンホスを除く9種は原体からオキソン体に変化することで有害作用の増大がみられた。リスクは、クロ

表1 塩素反応による反応前後のリスクの比較

農薬	原体の目標値 (mg/l)	原体	オキソン体
クロルピリホス	0.03	0.34	779.22
イソキサチオン	0.008	0.38	175.82
MPP	0.001	0.32	89.29
ダイアジノン	0.005	0.08	16.05
EPN	0.006	-	1.22
トルクロホスメチル	0.2	-	1.12
プロチオホス	0.004	-	0.88
ブタミホス	0.01	0.14	0.27
MEP	0.003	0.03	0.26
イソフェンホス	0.001	0.01	-

ルピリホスが最も高く、原体とオキソン体のリスクを比較すると、オキソン体は原体の約2,300倍の作用があることがわかった。クロルピリホス、イソキサチオン、MPPおよびダイアジノンの4種については、作用が200倍以上ととくに高かった。つまり、浄水中の農薬を原体量のみで評価すると、検出指標値が1を下回っても、有害作用の強い生成物が浄水に存在するおそれがあり、安全性を十分に保証できていないこともあることに注意すべきである。とくに、有機リン系農薬の場合にはオキソン体の評価も考慮しなければいけないことが本研究でも明らかになった。

目標値は、1日許容摂取量(ADI)や飲用する水の寄与を考慮して算出され<sup>7)</sup>、ADIは原体自体の有害影響作用と、体内で酸化されてオキソン体に変化した後発現する有害影響評価を合わせて評価されている。したがって、反応生成物のオキソン体を評価に加えることが重要であることが認識されていたが、これまでその手法が示されていなかった。前述の式(1)で求めた数値により、塩素反応による反応前後、およびそれぞれの物質における水からヒトへの急性有害リスクの相対評価が可能となった。これらの結果より、ChE活性阻害を指標とした塩素反応生成物の有害影響の違いを数値化することで、リスクを明瞭にし比較することができた。

#### 3.5 オキソン体標準品のない有機リン系農薬のリスク評価

3.4で作用の強かった農薬は塩素と速やかに反

応し、塩素反応時間5分でChE阻害活性が100%になった。このことから、3.2で検討したオキソン体標準品のない有機リン系農薬で同様の挙動を示し、反応生成混合物においてChE阻害活性が増強されたピリダフェンチオン、ピリミホスメチル、クロルピリホスメチルおよびホキシムに関して、反応生成物の有害リスクが高い農薬であると示唆される。ピリダフェンチオンは平成19年2月に失効になり実際の使用がなされていないものの、浄水から検出されるおそれがあり、現在(平成19年8月)も水道水質基準の水質管理目標設定項目の101種農薬に含まれているため、4つのなかでもとくに優先した評価が問われる。ピリミホスメチル、クロルピリホスメチルおよびホキシムに関しては、国内出荷量が少ないため、今後の検討対象農薬リストである第3候補群に分類されているが、優先して使用実態の地域性や検出事例を精査し、検討を行なうことが必要である。

#### 4. まとめ

検討対象の有機リン系農薬のなかで、塩素と速やかに反応し、反応生成混合物においてChE阻害活性が増強された農薬に関しては、浄水工程における反応生成物の有害リスクが高いと考えられ、原体の有害性に加えて、反応生成物の評価が必要であると示唆された。つまり、水質管理において、浄水工程での挙動把握および有害影響評価の優先性が高く、生成物の同定・定量による個々の評価が課題である農薬と考えられる。使用実態に、地域性や季節変動などの考慮すべき要因を有する農薬に対して水道水の安全性を迅速に評価していくには、有害影響の強い農薬について優先的に対応していかなければならない。

本研究において、リスクの数値化により、検討項目およびそれぞれの農薬における測定対象物質を検討する手法を提案し、24種の有機リン系農薬を考察した結果を示した。本研究は、広く使用されている有機リン系農薬について、使用実態を含めて生体有害影響を総合的に評価し、農薬の水質管理における検査項目の優先順位の検討および選定農薬の更新への提案に対する有益な情報を提供

するものである。

#### 謝辞

本研究は、厚生労働科学研究費補助金の援助を受けて行なった。ここに謝意を表する。

#### —参考文献—

- 1) Tsuda, T., Kojima, M., Harada, H., Nakajima, A., Aoki, S.: Pesticides and their oxidation products in water and fish from rivers flowing into Lake Biwa, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 60 (1) 151~158 (1998).
- 2) Roy, S., Kumar, R., Roy, S., Sharma, C. B.: Biodegradation of fenitrothion in soil, *Biomedical Chromatography*, 10(2) 60~64 (1996).
- 3) Amitai, G., Moorad, D., Adani, R., Doctor, B. P.: Inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase by chlorpyrifos-oxon, *Biochemical Pharmacology*, 56(3) 293~299 (1998).
- 4) 小野寺祐夫, 石倉俊治, 香川容子, 田中恵子: 塩素処理による水中有機物の化学変化(第1報)—P=S型有機リン系農薬からP=O型の生成—, *衛生化学*, 22(4) 196~205 (1976).
- 5) Jokanović, M.: Biotransformation of organophosphorus compounds, *Toxicology*, 166(3) 139~160 (2001).
- 6) 水質基準の見直しにおける検討概要, 農薬類の101項目の個別参考情報, 厚生労働省ホームページ (<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/kijun/dl/nouyaku.pdf>).
- 7) Tahara, M., Kubota, R., Nakazawa, H., Tokunaga, H., Nishimura, T.: Use of cholinesterase activity as an indicator for the effects of combinations of organophosphorus pesticides in water from environmental sources, *Water Research*, 39(20) 5112~5118 (2005).
- 8) 化学物質に係る水質基準, 水質基準の見直し等について(厚生科学審議会生活環境部会水質管理専門委員会報告), 厚生労働省ホームページ (<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2003/04/dl/s0428-4e.pdf>).
- 9) Tahara, M., Kubota, R., Nakazawa, H., Tokunaga, H., Nishimura, T.: Analysis of active oxon forms of nine organophosphorus pesticides in water samples using gas chromatography with mass spectrometric detection, *Journal of Health Science*, 52(3) 313~319 (2006).
- 10) Tahara, M., Kubota, R., Nakazawa, H., Tokunaga, H., Nishimura, T.: The behaviour and cholinesterase inhibitory activity of fenthion and its products by light and chlorination, *Journal of Water Supply: Research and Technology-AQUA*, 57(3) 143~151 (2008).

(原稿受付日; 2007年 8月18日)

(原稿受理日; 2007年11月19日)

# 水源汚染リスク管理のための流域汚染源解析の試みとその課題

鳥取大学工学部 ○増田貴則, 国立保健医療科学院 山田俊郎, 秋葉道宏  
鳥取大学工学部 田中春樹

Detection of Pollution Sources in Drinking Water Catchments for Risk Management of Drinking Water Pollution and its Problems, by Takanori MASUDA(Tottori Univ.), Toshiro YAMADA, Michihiko AKIBA(National Institute of Public Health), Haruki TANAKA(Tottori Univ.)

## 1.はじめに

水系感染症の罹患数は大幅に減少し、わが国の水道普及率は97.3%(2007年3月31日現在)に達している。しかし、依然として飲料水に起因する感染事故は発生しており、近年ではクリプトスポリジウムなど耐塩素性病原微生物による水源汚染も生じている。

水道に起因する健康被害の防止のために WHO は水安全計画の考え方を提唱しており(飲料水質ガイドライン第3版 2004年), リスク要因を重点的かつ総合的に管理する計画を立てることを水道事業者に求めている。また、厚生労働省は2004年に「水道ビジョン」を策定し、徹底した衛生管理を行えるような統合的な水質管理を実現することを目標として掲げている。その実現のために、各事業者等は統合的な水安全計画を策定し、水源から給水栓までのリスク管理を実行することが求められている。

しかしながら、水源流域のリスク要因情報が一元的に管理されていないことから、簡易水道やその他の小規模水道の事業者、管理者が自らリスク評価を行うことは、技術面、費用面ともに困難と思われる。

そこで、流域における水道水源の汚染要因情報を一元的に管理・解析する手段として地理情報システム(GIS)を用いることとし、一般に安価で利用可能な統計情報や地図情報を用いることで、水道水源汚染要因を抽出し、リスク解析を行う手法を開発中である<sup>1)</sup>。ここでは、その過程で得られた成果と課題について紹介する。

## 2.水源汚染要因のデータソースの整理

過去の汚染事例、水源管理事例を参考に、水源の汚染要因をリストアップした。リストアップした汚染要因を表1に示す。し尿起因、畜産・動物起因、医療起因、レクリエーション起因、災害起因の5種類に類別している。

これらの汚染要因の情報源として利用可能な統計や地図情報を探し出し、GISにデータベース化することを前提とし、位置情報を含むか否か、GISに収録する際の手間はどうかといった観点から情報源についての情報を整理した。このとき、全国のどの地域を対象としてもその情報源を容易に入手することができ、同じ解析ツールを用いてGIS上で取り扱えるよう、一般に安価で利用可能な統計や地図情報のみを汚染要因の情報源として整理した。

表1. 水源汚染要因

要因種別	要因		
し尿起因	下水処理場	農業集排水処理施設	漁業集排水処理施設
	し尿処理施設	コミュニティプラント	浄化槽
	CSO	し尿・濃縮汚泥還元農地	
	汚水・汚泥中間施設	下水汚泥処理施設・コンポスト施設	汚泥高速堆肥化施設
畜産・動物起因	畜舎・畜産集家・畜産糞尿処理施設	家畜糞尿還元農地	牧場
	動物園・サファリパーク	ペットショップ	野生動物
医療起因	病院	診療所	保健所・衛生検査所
	動物病院・獣医師・家畜保健衛生所	医療研究機関、病原微生物を扱う研究施設等	感染性廃棄物処理・処分施設
レクリエーション起因	キャンプ場	温泉	プール
災害要因	地滑り地域・地すり危険地域	活断層	浸水危険地域

この過程で明らかになったことと課題を整理すると以下の通りである。

- ・ 牧場や家畜糞尿の散布がされている農地に関する情報ソースが乏しく、位置および面的広がりを持定することができない。
- ・ 浄化槽については、市町村単位の浄化槽人口を示すデータソースは存在するが、それ以上の空間精度を保證するデータはみつからなかった。詳細な位置を把握することは無理にしても、一般の人口データと同程度の空間精度での集計データが望まれる。
- ・ 家畜頭数に関する情報は農業集落単位で集計されており、空間精度は高い。しかしながら、最新の統計では、秘匿とされるケースが増えており、汚染要因を把握し漏らす可能性がある。

他方、水道水源の情報源としては、各都道府県で整備されている「水道地図」を用いることができるが、以下のような問題点が残されている。

- ・ 水道地図では、水源の位置、種類、給水区域等が地図上に示されている。しかし、それ以外の属性データは収録されておらず、また、水源にID番号が振られていないため、水源と給水区域の関係性など不明瞭なところが数多く見られる。このため、水道統計や簡易水道統計、水道台帳との照合もできない。

## 3.水源汚染解析機能の開発

地下水汚染の調査範囲や影響半径が500m~1km程度であると言われていることを鑑み、地下水を水源としている各水道水源より半径500m, 1kmの2段階で、GISの同心円解析(マルチバッファリング)機能を用い



て、汚染要因を抽出する機能を開発した。また、表流水・伏流水を水源とするものについては、GISのサーフェース解析機能およびネットワーク解析機能を用いて水源から上流に位置する汚染要因を抽出し、汚染要因から水源までの距離・流下過程を考慮してリスク解析する機能を開発中である。流域の汚染源管理の影響をリスクとして評価することで、汚染源と水道の統合的管理が可能になるものと考えている。

ところで、一般に、降雨に起因するノンポイント汚染流出の場合、降雨事象とからめて、その非定常性をモデル化することが求められる。一方、病原微生物による汚染の場合、不適切な汚水処理や感染症、災害の発生に起因するため、面源、点源にかかわらず、すべての汚染現象を確率的事象として適切にモデル化していく必要があると思われる。特に、牧場や農地からの病原微生物流出は降雨の影響も受けるため、非定常かつ確率的な現象としてモデル化することが求められる。各汚染事象の生起確率および非定常性をモデル化するに足る調査データを収集していくことが重要である。また、作成されたモデルの精度評価のため、実測値との比較を行う必要もあり、モデル適用地域での調査も必要と考えられる。

これに加えて、河川流下途中での農業用水や工業用水等としての河川水利用による流量減少の影響についても考慮する必要がある。特に、農地で利用される場合には、農地は汚染のノンポイントシンク、かつ、ノンポイントソースである。現象として複雑な上に、農業用排水の情報が不足しているため、現象を再現するモデル化が困難と思われる。一層の情報整備と研究が必要と思われる。

#### 4. 汚染源抽出の適用例

鳥取県を対象に、水道地図と汚染要因情報のGISデータベース化を行い、汚染源解析システムの適用を行った。その結果、近傍に汚染要因を複数箇所以上もつ水源が同定され、その場所を地図上に表示することができた。要因抽出の結果を整理し、各水源が半径1km以内に汚染要因をいくつもつかをヒストグラムとして示したものを図1に示す。また、図2に汚染要因の数の内訳を要因種別にしたものを示す。半数以上の水源で、半径1km以内に汚染要因が3つ以上存在しており、し尿起因と災害起因が全汚染要因の7割を占めることが示されている。

これらの水源が常時汚染されるわけではないが、相対的にリスクの高い水源を同定することができることを示している。しかし、ここでは市町村単位で集計された浄化槽数を用いたため、ほぼ全ての水源の汚染要因として浄化槽が抽出されてしまった。また、現在開発中のため結果を示すことはできないが、牧場のように本来面源であるが情報が存在しないために点源として整備せざるを得ない汚染要因については、上流解析の際

に正しく検出されないといった問題点が生じている。汚染要因の空間精度を向上させることが重要である。

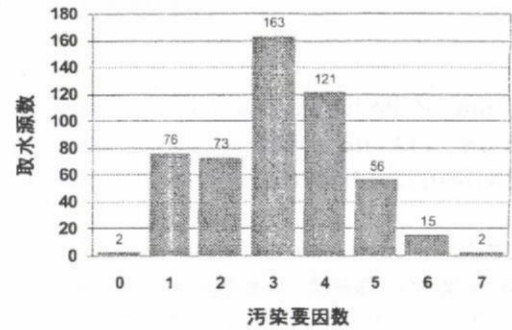


図1 取水源1km以内の汚染要因数

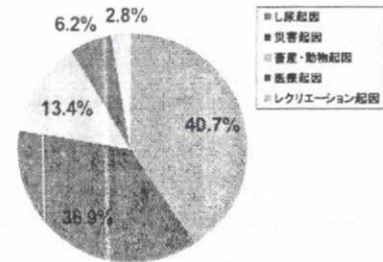


図2 汚染要因の種類

#### 5. 今後の展望

本システムは、水道や飲料水供給施設の管理者が自らの水源の汚染要因を容易に把握することを目的として開発しているものである。一方で、都道府県や保健所など広域の行政・保健衛生担当者が自らの地域の汚染要因を把握し、地域間のリスク比較を行うことで相対的に脆弱な水源を同定し、保健衛生・防災行政に役立てることも想定している。今後は解析の手順をツール化し、担当者が容易に使える形での提供を考えていく必要がある。

また、本解析手法は他地域への適用が容易となるよう一般に利用可能な情報ソースを用いているが、自治体や流域によっては、本システムをベースに、より空間精度の高い情報に差し替えることで、詳細な解析を行うことも可能と考えられる。

なお、抽出された汚染要因の情報をどのように可視表現するかについては、現段階では十分に検討していない。今後はユーザーの立場から、どういった情報を表示することが望ましいのか検討を加える必要がある。

#### 謝辞

本研究の一部は、平成19年度厚生労働科学研究費補助金「飲料水に係る健康危機の適正管理手法の開発に関する研究」により実施した。

#### 参考文献

- 1) 秋葉道宏, 山田俊郎, 増田貴則: 地理情報システムを活用した飲料水危機管理手法の開発, 飲料水に係る健康危機の適正管理手法の開発に関する研究 平成19年度報告書

## 一般に利用可能な情報のみと GIS を用いた飲料原水の汚染リスク要因の抽出

鳥取大学工学部 正会員 増田貴則, 細井由彦  
 国立保健医療科学院 正会員 山田俊郎, 秋葉道宏  
 鳥取大学大学院工学研究科 学生会員 ○田中春樹

### はじめに

厚生労働省は飲料水による健康被害の発生予防と拡大防止を図るため、平成9年に「飲料水健康危機管理実施要領」を策定し、水道水だけではなく水道法非適用の小規模水道水や飲用井戸水を原因とする健康危機事象を対象として、事故などがあった場合の対応等の措置を定めた。この実施要領に基づいて、飲用井戸や簡易水道における大腸菌やノロウイルスなどによる集団感染が報告されており、その報告件数、影響人口は多数に渡っていることから、適切な発生予防策を講じることが求められる。また、WHOにより、水道水に起因する健康被害の未然防止のために水安全計画の考え方が提唱されている。水安全計画の策定では、水源から給水栓までの水道システム全体を通して水道事業者がリスク要因を重点的かつ総合的に管理する計画を立てることが求められている。これらのことから、過去の健康危機事例を分析するとともに、水源流域のリスク要因について抽出・把握する必要があると思われるが、リスク要因情報が一元的に管理されていない現状では、水道事業者や小規模水道管理者自らがリスクを主体的に評価することは技術面・費用面で困難と思われる。

そこで本研究では、水道水源流域におけるリスク要因に関する情報を一元的に管理する手段として地理情報システム(GIS)を用いることとし、一般に利用可能な統計やデータベース、電話帳、地図データ等のみを情報源として、水道および小規模水道を対象とした病原微生物による飲料水汚染リスク要因を把握する手法を開発することとした。

### 研究方法

水道水源流域の汚染状況、汚染の発生源の情報について、特に病原微生物による原水汚染リスク要因(し尿起因、畜産・動物起因、医療起因、移動源起因、災害起因)の把握をGIS上で行う際に利用可能と考えられるデータベースや統計情報を収集・整理した。汎用的な利用、簡易な手続きで利用することを念頭に、全国規模で調査されており、かつ、一般に入手しやすいものを対象に整理を行った。さらにGISで活用する際の取込み方法についても整理し、取込んだ後のフィーチャー種類、属性値、元データの更新頻度等の情報を整理した。また、これらの情報を基にGISの解析機能を用いて病原微生物によるリスク要因の存在する水源を抽出し地図上に可視化する手法を開発した。

### 結果と考察

本研究では、鳥取県を対象に情報整備を行い、各水源の汚染リスク要因の抽出を行った。以下に結果を示す。

#### A. 鳥取県の水道の現況

鳥取県の総人口 616,805 人のうち給水人口は 599,735 人であり、水道普及率は 97.2%となっている。水道種別別給水人口は、上水道 489,582 人(79.4%)、簡易水道 105,405 人(17.1%)、専用水道 4,748 人(0.8%)、飲料水供給施設 4,784 人(0.8%)、飲用井戸等 12,286 人(2.0%)となっている(鳥取県の水道の現況 2005)。簡易水道 213 施設(平成 16 年度末)のうち、給水人口が 500 人以下の施設数は 163 施設あり、専用水道や飲料水供給施設などの小規模水道が 160 ヵ所程度存在している。図 1 に鳥取県の水道の種類についての分布図を示す。

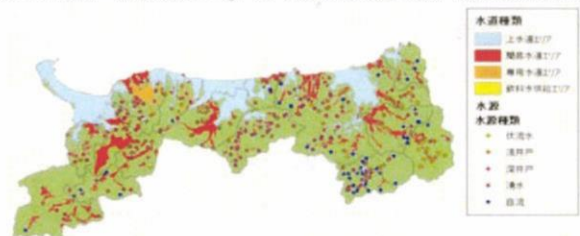


図 1 鳥取県の水道と水源の種類分布

キーワード: 水道, 地理情報システム, GIS, 飲料原水, 病原微生物, リスク評価

連絡先: 鳥取市湖山町南 4-101, TEL:0857-31-5318, FAX:0857-31-0882

B.汚染リスク要因の抽出・可視化

水源のリスク要因として下水処理場を対象とし、1km 以内の区域に下水処理場が存在する水源とその下水処理場の放流水の大腸菌群数(MPN/100ml)を地図上に図示したものを示す(図 2)。水源 508 か所うち 11 か所の水源が該当しており、鳥取県東部地域に放流水大腸菌群数が高い値を示す水源が集中していることが明らかとなった。また、該当した水源に対する下水処理場の放流水大腸菌群数を棒グラフで表示したものを示す(図 3)。その結果、上水道水源が 4 か所、簡易水道水源が 5 か所、飲料水供給施設水源が 2 か所該当していることが明らかとなった。

つぎに、水源のリスク要因として農業集落排水処理施設を対象とし、同様に農業集落排水施設の処理人口をグラフ化したものを地図上に示し、水道種類別の農業集落排水施設の処理人口を棒グラフ化したものを図 4 と図 5 に示す。水源から 1km 以内に農業集落排水処理施設が立地している水源は、合計 107 か所が該当しており、その大部分は農業集落施設の処理人口 1000 人以下となっているが、一部で 2000 人を超えるような水源があることを把握することができた。その他の事例として、畜産と病院を対象として分析した結果を示す(図 6,図 7)。畜産については乳用牛・肉用牛が飼育している頭数についてグラフ化し、病院は病床数についてグラフ化したものを地図上で示す。

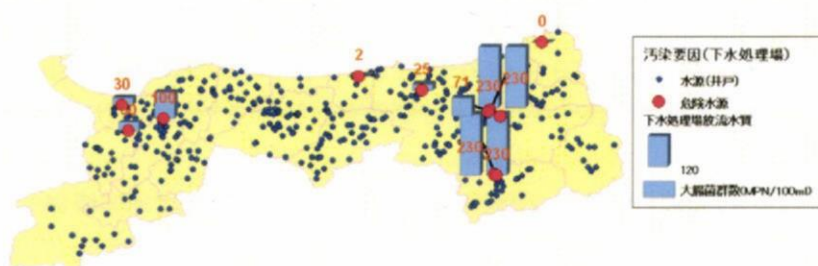


図 2 1km 以内に下水処理施設が存在する水源の分布

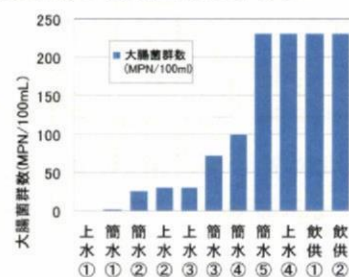


図 3 1km 以内の下水処理場の放流水水質

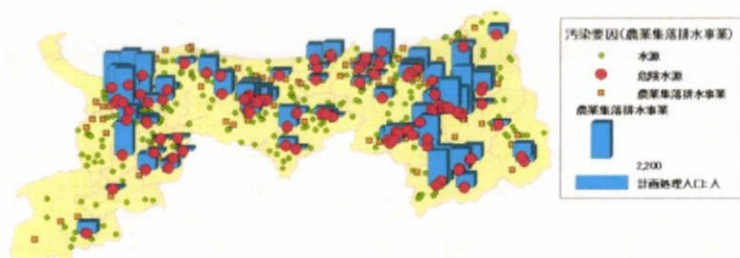


図 4 1km 以内に農業集落排水施設が存在する水源の分布

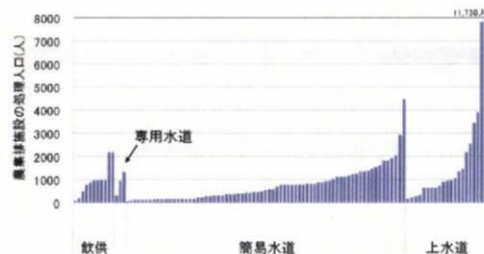


図 5 1km 以内の農業集落排水施設の処理人口

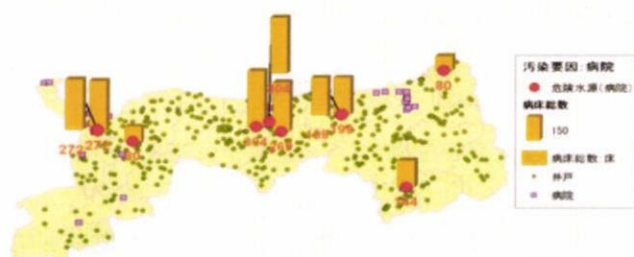


図 6 1km 以内に病院が存在する水源の分布



図 7 1km 以内に家畜(肉用牛・乳用牛)が存在する水源の分布

まとめと課題

一般に利用可能なデータのみを用いて GIS により汚染リスク要因を抽出・視覚化する手法を開発した。その結果、視覚的に県内の状況を把握し、水源ごとにさらされている汚染リスク要因の種類とその要因の大きさを明示的に示すことができた。また、地域間・水源間の汚染リスク要因を視覚的に比較することができた。今後は、このシステムに飲料水健康危機データベースから抽出した事例を結合し、施設の周辺地域の汚染要因の可視化や情報抽出を行い、危機事例地域の状況を分析するとともに、他地域への適用の容易性、操作の簡便性を維持しつつ、原水汚染リスクを評価する手法を開発する予定である。

本研究の一部は、平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金「飲料水に係る健康危機の適正管理手法の開発に関する研究」により実施した。