

2 水の衛生管理

【問題点】

幼児のみならず大人にとっても飲料水の安全性は欠くことのできない要素です。通常の水道水を使用している場合は、飲料水による感染症や化学物質による中毒が発生することはまず考えにくいのですが、以下のような場合などに留意が必要です。

- 1) 施設が独自の水源を用いている場合
- 2) 施設の受水槽、配管の管理が不十分な場合
- 3) プール、手洗い、歯磨きなどに使われる場合
- 4) 遠足で外の湧水などを利用する場合
- 5) くみ置きの水を用いる場合
- 6) 運動時の水分補給

【事例】

1 埼玉県の子育園の大腸菌O157感染事例

1990年10月埼玉県の子育園の園児及びその保護者ら319人が腸管出血性大腸菌O157:H7 (VT1、VT2) による下痢症を起こし、園児が5名入院、2名が死亡する事件がおきました。

園児182人、子育園職員13人、園児家族169世帯710人、職員家族10世帯36人、子育園業務以外の事業及び園主催運動会参加者等127人、合計1,068人を調査した結果、患者は319人(29.9%)でした。患者319人のうち、下痢は312人(97.8%)、腹痛は153人(48.0%)、発熱は99人(31.0%)、嘔気・嘔吐は62人(19.4%)及び粘血便は40人(12.5%) (重複回答あり)であり、死亡した2人は、腎障害を起こし亡くなられたと考えられています。

園のし尿処理は、2つの全曝気型浄化槽(7人槽と50人槽)で行われており、園全体の汚水は給水源から約5m離れた汚水タンクに集まり、園外に排出されていました。この汚水タンクは2つの円筒状コンクリート管をモルタルで継いだものであり、破損が発見され、毎分8Lで漏水していたことが確認されました。

幼稚園には、県営水道も入っていましたが、大部分は消毒器のついていない井戸水が使用され、無届けでした。園児の水飲み場等9カ所の検査の結果、5カ所から大腸菌血清型（O8:H9、O18:H42、O55:H12及びO148:H28）が検出され、1カ所から腸管出血性大腸菌O157:H7が検出されました。

汚水がその近くに設置されていた井戸に漏入し、これを常時飲用していた園児が運動会を境に増幅的に発症し、集団性を呈したものと推定されました。園児、園児家族等の症状の有無は、幼稚園での飲水と関連が認められました。

2 受水槽の管理、配管の管理

井戸ではなく、水道を用いている場合でも受水槽の管理を怠れば、水質低下は真逃れません。厚生労働省の集計では、比較的大きな（容量10m³超の）貯水槽でも法定検査受検率は約81%（10m³以下の場合約3%）であり、そのうち約36%で何らかの指摘事項が見られています。特に水質異常（約170件）、汚水流入（約40件）、動物等の死骸が見られる（約40件）など、衛生上の問題があったケースも年間1,000件前後見られています。老朽化した配管を用いている場合は漏水などの懸念もあります。

また、給水管の材質に鉛管を用いている場合は、滞留水（例えば、月曜日の朝一番の水）に基準値以上の鉛が含まれている場合があります。

3 長野県のプールにおける感染事例

クリプトスポリジウムは、塩素消毒が効かない、飲料水から感染する病原体として、10年ほど前から広く知られるようになりましたが、プールや噴水など水に関する施設（親水施設）での感染はほとんど知られていないのが現状です。

2004（平成16）年8月末、長野県のプールなどの運動施設を持つホテルの利用客が、下痢・発熱・腹痛などの消化器症状を起こす事例がおきました。74名の発症者の便からクリプトスポリジウムが検出されました。また、詳細な検査の結果、プールのろ過装置内の砂や子どもの汚物を洗った流し場のマットからもクリプトスポリジウムが検出されました。クリプトスポリジウム症は、感染から発症まで約1週間かかるため、施設利用後、地元に戻り発症した患者は複数県にまたがりました。

最終的には、水泳合宿で来ていた千葉県内のスポーツクラブの（ホテル利用以前に感染していた）発症者複数名の糞便によって汚染されたプール水及び流し場の汚染による集団感染であり、流しで容器に作った飲料も感染の拡大に寄与したと考えられました。

さらに、別のプールを介して二次感染したと考えられる集団事例も起こりました。上記のスポーツクラブが長野県での合宿終了後に使用していた千葉県内10カ所のプール水についてクリプトスポリジウムの自主検査を行なったところ、2カ所から検出されました。長野での合宿に参加せず、これら2つのプールを利用した人からも下痢、腹痛、発熱などの患者が出ており、保健所が調査した結果、症状のあった48名のうち、検査を行なうことのできた6名中2名の便からクリプトスポリジウムが検出されました。

4 遠足で外の湧水などを利用する場合

遠足で自然を満喫できる機会は貴重ですが、清澄に見える湧き水にも注意が必要です。川の上流のトイレ、野生生物による汚染、山あいのワサビ田など汚染原因の影響を全く受けない湧水を探す方が困難と言わねばなりません。神社の清水などにも注意が必要です。

5 運動時の水分補給

子どもやスポーツ選手にとって、運動時の水分補給は非常に重要です。暑い夏など、少し外にいるだけで、脱水症状を起こすことがあります。こまめに水分補給を行う必要があります。

【問題点への対応】

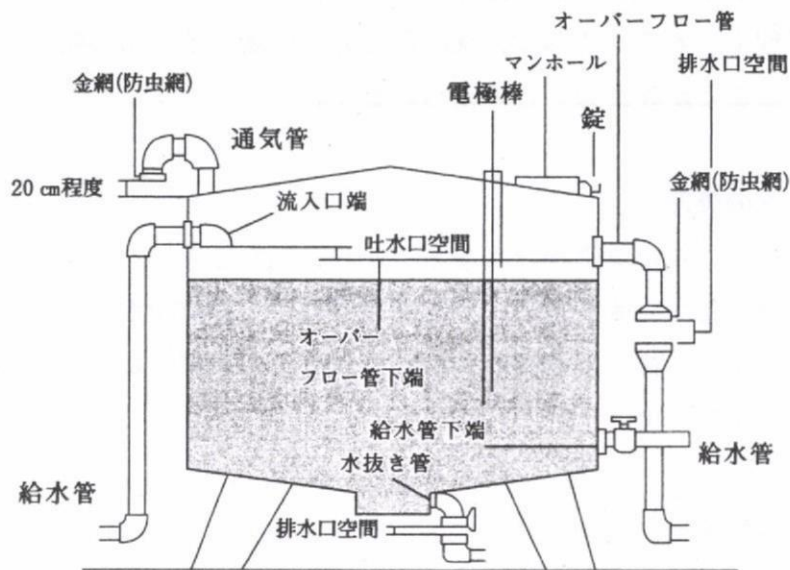
1 井戸水の管理

井戸水の飲用については厚生労働省や都道府県等から「飲用井戸等衛生対策要領」が出されており、それらに基づき自家用水道の水質検査を行う必要があります。検査結果によっては、水道への転換を図るなどの対応が必要です。また、特に乳児に対する配慮が必要な項目として、微生物に関する項目の他、メトヘモグロビン血症をおこすことがある硝酸・亜硝酸性窒素濃度が基準値以内であることを確認する必要があります。井戸水の水質検査を受けていない場合は、地域の保健所等にご相談下さい。

2 受水槽の管理

施設の受水槽の管理については、定期検査を受け、外観の点検や内部の清掃を正しく行うことが必要です。受水槽は一般的には下のような構造になっており、マンホールや金網は外部からも点検が可能ですので、ご参考にして下さい。

〔受水槽の構造〕



3 配管の管理

一般的な水道を用いている場合は、水質上の問題はまず考えにくいのですが、施設の立地上、配水管網の末端である場合など、水質の劣化が見られる場合もあります。また、休み明けの朝など、使われていない蛇口の水では、消毒効果が残っていない場合もあります。配管中のさびによる赤水対策等のためにも、長い配管の先の蛇口は、朝しばらく開けて、植木の水やりに使うなどの工夫をするとよいでしょう。

4 プールについて

アメリカでは、1993年の水道水を介したミルウォーキーにおける大規模な集団感染症発生事件が有名ですが、1991～2002年までに起こったクリプトスポリジウムによる集団感染症発生事例のうち、飲料水による事例12件に対し、水浴び場などの親水施設での事例は50件と圧倒的に多くなっています。また、英国、オーストラリア等でも親水施設を介した事例が見られています。

クリプトスポリジウム症の患者は下痢などの症状が消失した後も2～4週間にもわたり便からクリプトスポリジウムを排泄することとも言われていますので、下痢の症状があるときはもちろん、回復後しばらくの間は、プールへの入水を控えさせるようにしましょう（アメリカではプールの使用を症状消失後2週間は禁止しています）。また、クリプトスポリジウム以外による下痢症の場合にも、下痢中及び回復後3～4日はプールの使用を控えるようにする必要があります。

また、長野の事例では、子どもの汚物を洗った流しで容器に飲料を作ったことから、蛇口の取手を介し、容器の混合時に病原体が広まった可能性も指摘されており、衛生管理上、トイレ、掃除、洗濯などの洗い場と飲料用の蛇口は共用しないように努めることが望ましいと考えられます。

5 くみ置き水の管理

煮沸するなどして残留塩素がなくなってから、ふたを開けたまま放置したり、口をつけた容器のまま放置すると、空気中や容器からの雑菌が入り込み水質が劣化しやすくなります。特に乳製品が含まれる飲料など栄養分が多く含まれる水では一層の留意が必要です。

6 運動時の水分補給

特に暑い日には、こまめに水分補給を行って下さい。特に子どもは夢中になって遊んでいるので、時々休憩時間を設ける、声をかけるなど、水分が十分取れるように準備・指導して下さい。

【まとめ】

飲料水に関する問題のうち、施設側の管理、幼児等に関する注意による部分について記述してきました。一般的な水道を用いている場合は十分な管理と水質検査が行われていますので、水質上の問題はまず考えにくいのですが、受水槽や配水管中での水質の劣化が見られる場合もあります。水質の状況や使用上の留意点などについて、日頃から水道局や自治体の衛生部局に確認し、必要な検査や助言を受けること、そして何よりも水質について関心を持ち、十分な管理を行うことが望ましいと思います。

また、災害時の避難場所になっている場合や、家族が迎えにくることが困難な場合に備えて、非常時用の水の確保、排泄場所の確保も、もう一度確認しておきましょう。

子ども達は水遊びが大好きです。園児達が安心して蛇口の水が飲めるように、十分な管理をお願いします。

(浅見 真理)

(69) 我が国における飲料水健康危機事例の分析

山田 俊郎^{1*}・秋葉 道宏¹・浅見 真理¹・島崎 大¹・国包 章一²

¹国立保健医療科学院水道工学部 (〒351-0197埼玉県和光市南2-3-6)

²静岡県立大学環境科学研究所 (〒422-8526静岡県静岡市駿河区谷田52-1)

* E-mail: t-yamada@niph.go.jp

我が国の飲料水による健康危機の現状と課題を明らかにするため、飲料水による健康危険情報として厚生労働省に報告された事例を対象に、その内容について分析を行った。平成9年から平成19年3月までの過去10年間の健康危険情報は1,018件あり、うち実際に健康被害が生じた事例は27件、被害人数は2,328人であり、毎年発生していた。水道の種別によって報告事例の特徴が異なり、規模の大きい水道では健康被害事例は少ないが、原水汚染事故により、給水停止や取水停止などの影響を受けやすい傾向にある。これに対して、未規制の飲用井戸や小規模な飲料水供給施設および専用水道では健康被害事例が多く、上水道や簡易水道に比べて健康被害の発生率も高いことから、これらの適切な管理が今後重要であると考えられる。

Key Words: waterborne disease, drinking water, risk management, health hazards, water supply

1. はじめに

水道は、我が国においてその普及率が97.2% (平成18年3月31日現在)¹⁾に達し、国民の安全で安心な生活に不可欠なライフラインである。我が国における水道水は諸外国と比較すると極めて高いレベルで安全が確保されている状況にあるが、水道で事故が生じた場合、多量の水が連続的に流れるという性格上、その影響は短時間で広範囲に及ぶ可能性がある。その結果、集団感染等の重大な健康被害事例となり得るため、水道における事故防止に万全を期する必要がある。また、特に飲用井戸等や小規模な飲料水供給施設等において、飲料水による健康被害事例は毎年数件生じており^{2) 3)}、利用者の健康障害が懸念されている。我が国では水源から給水栓までの各過程で問題となる事項(リスク要因)を把握評価し、それらを重点的に管理する「水安全計画」の導入が進められているが、そのリスク要因の抽出・把握には、過去の事故事例を分析する作業が不可欠となる。また、水系感染症としてクリプトスポリジウムなど耐塩素性病原微生物による汚染やウイルスによる汚染など、新たな飲料水汚染リスクが広く知られるようになり、近年の飲料水による健康危機事例の動向を整理し把握する必要がある。

厚生労働省は、国民の健康に係わる危機管理の基本的な枠組みである「健康危機管理基本指針」に基づき、

「飲料水健康危機管理実施要領」を平成9年3月に定めた。これは、飲料水を原因とする国民の生命、健康の安全を脅かす事態に対して行われる健康被害の発生予防、拡大防止等の危機管理の適正を図ることを目的としている。水道水のみならず、飲用井戸、未規制小規模施設の水も対象としており、水質異常によって生命、健康の安全を脅かす事態が生じている又は生ずるおそれがある場合に厚生労働省が対応すべき措置等が定められている。また、異常が生じた飲料水の種類やその水源、浄水方法、被害状況、推定される原因等の情報を厚生労働省に報告する方法も同時に定められており、飲料水健康危機管理実施要領が制定された平成9年度から、都道府県の衛生部局や水道事業者等によって飲料水健康危機に関する情報が厚生労働省に連絡されている⁴⁾。

本研究は、飲料水による健康を脅かす状況を把握して、日本における水道等の飲料水に係る健康危機の実態を明らかにすることを目的としている。飲料水健康危機管理実施要領に基づいて平成9年度から平成18年度に厚生労働省に報告された、10年間の飲料水に係る健康危機事例内容を整理し、最近の我が国における飲料水健康危機の状況や被害レベルについて分析を行った。

2. 方法

(1) 飲料水健康危機事例内容の整理

平成9年度から18年度末まで飲料水危機管理実施要領に基づいて、厚生労働省にメール及びFAX等で報告された飲料水健康危険情報について、下記の項目につき整理を行い、過去10年間の健康危機事例の内容について検討した。飲料水危機管理実施要領で対象としている事象は、1) 原水水質異常、2) 水道施設又は簡易専用水道における事故、3) 飲料水を原因とする食中毒又は感染症の発生、4) 水道法による認可等の規制が直接及ばない小規模水道や飲用井戸等における水質異常、のいずれかが原因となつて、国民の生命、健康の安全を脅かす事態が生じている又は生じるおそれがあるもの、とされている。発生事象が飲料水健康危機に相当するか否かの判断は、当事者である都道府県の衛生部局や水道事業者等に委ねられている。

a) 水道の種類

健康危機事例が生じた対象の水道を、上水道事業（上水道）、簡易水道事業（簡易水道）、水道用水供給事業（用水供給）、専用水道、未規制小規模施設、貯水槽水道、その他、の8つに分類した（表-1）。地下水汚染等により危険物質が検出された事例で周囲の飲用井戸への影響が考えられた事例は未規制小規模施設の事例とした。また、ダム湖における汚染事例や、河川管理者等による水質調査で耐塩素性病原微生物が検出された事例や、工場敷地内における地下水汚染検出事例など、特定の水道への影響が示されていない事例については“その他”として分類した。

表-1 水道の種類

	内容
上水道事業 (上水道)	計画給水人口5001人以上の水道事業
簡易水道事業 (簡易水道)	計画給水人口が101人以上5000人以下の水道事業
水道用水供給事業 (用水供給)	水道事業者に対し水道用水を供給する事業
専用水道	寄宿舎、社宅等の自家用水道等で101人以上の居住者に給水するもの又は1日最大給水量が 20m^3 を超えるもの
未規制小規模施設	給水人口が100人以下の飲料水供給施設、および自家用井戸を含む飲用井戸等
貯水槽水道	水道事業者から水の供給を受けるビル等の給水設備
その他	水源となる河川やダム湖等

b) 原因物質

健康危機事例の原因物質について、化学物質・病原微生物・濁度及び色度・異臭味・その他の5つに大別した。また、原因物質が詳しく特定できたものについてはその物質名毎に集計した。

c) 対応等

危機発生時に、水道事業者等が行った対応について、給水停止又は使用停止・飲用禁止又は煮沸勧告等の用途制限・取水停止・その他の措置・対応なし・不明の6つに分類した。その他の措置は、給水停止や取水停止に該当しない活性炭注入や浄水処理方法の是正・変更、水運用の変更等を対象として集計した。給水停止又は使用停止・飲用禁止又は煮沸勧告等の用途制限・取水停止・その他の措置まで、危機発生時に通常の管理とは異なる対応を行った事例以外を対応なしの事例として集計した。

d) 被害規模

報告事例において、健康被害が生じた患者数および給水停止または用途制限等によって影響を受けた人口を影響人数として集計した。報告事例の中には、影響を受けた戸数のみ記録された事例があり、平成19年総務省統計局の第56回日本統計年鑑に記載されている都道府県別1世帯当たり人員を戸数に乗じて影響人数を求めた。

(2) 飲料水健康危機事例の被害レベルの評価

飲料水健康危機実施要領で厚生労働省に報告された情報の危機レベルは様々であり、飲料水によって大規模な患者が発生した水系感染症事例から、日常的な管理によって対応が可能な比較的軽微な水源汚染事故まで、事例の緊急性や重篤度に大きく異なる。そのため、報告された危機事例の被害の影響の重篤度による類型化（カテゴリー化）について検討をおこなった。さらに、各カテゴリーにおける水道の種類毎の影響度を比較するための評価方法について検討し、事例ベースによる飲料水健康危機の影響について相対評価を行った。

3. 結果と考察

(1) 過去10年間の飲料水健康危機事例の内容と傾向

a) 事例件数とその傾向

平成19年3月末までに厚生労働省への報告数は861件であった。1件の報告に複数の事例や複数の浄水場における被害事例が含まれており、それらを計数した事例数としては1018件であった。以降、事例数を対象として考察を行う。平成9年から平成18年度までの飲料水に係る健康危機事例の件数を図-1に示す。病原微生物等に関連する事例については、クリプトスポリジウムおよびジアルジアの耐塩素性病原微生物の原水における検出事例とそれ以外の事例に分けて示した。飲料水健康危機管理実施要領の策定当初は数が少ないが、平成12年度以降は毎年100件程度の事例となり、年々件数が増加する傾向が見られる。策定当初は実施要領およびその内容について周

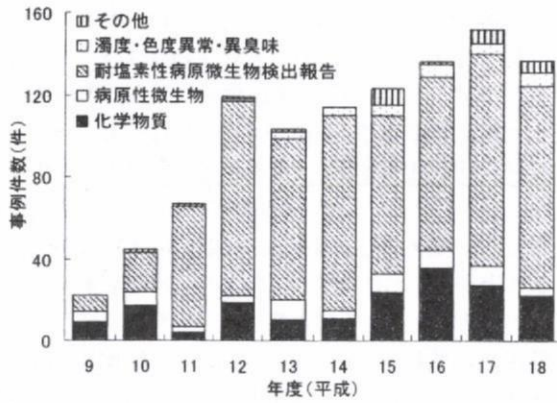


図-1 飲料水健康危機管理要領に基づく年度別報告事例数

知られていなかったことが原因として考えられる。10年間の事例の内訳は、病原微生物等に関連するものが781件（77%）、化学物質等に関連するものが179件（18%）、濁度・色度の異常が24件（2%）、異臭味の被害報告が7件（36件）と、大半が病原微生物等による事例である。病原微生物等が原因の事例781件のうち、9割以上に当たる718件の事例がクリプトスポリジウムおよびジアルジアといった耐塩素性病原微生物が原水または水源となる河川水中に検出された事例であった。これらの事例では、浄水場においてろ過池出口の濁度が0.1以下を確保されており、また給水区域内で集団下痢症等感染症の報告がなく、通常の浄水管理で対応することができたものである。飲料水健康危機管理実施要領では、浄水のみならず原水中に検出された場合についても健康危機事例として報告対象となっていることや、水道事業者だけでなく河川管理者等も原水となる河川水における耐塩素性病原微生物の検査をしており、検出された場合に関係機関に連絡されること等の理由で報告数が多くなっていると考えられる。原水中に耐塩素性病原微生物が常に一定レベルで検出されることが確認され、また浄水処理過程では常に濁度の監視など耐塩素性病原微生物汚染に対して適切な管理が行われている場合は、過去に耐塩素性病原微生物が原水中に検出されていないところで初めて検出される事例や検出される濃度（単位水量あたりの個数）が急激に増加するといった突発的な事故事例と比べて危機レベルが低いと考えられ、危機レベルの位置づけや事例の集計方法などを検討することが今後の課題であるといえる。

事例の報告は、関東地方および近畿地方の水道事業者からの報告件数が目立つ。これは、耐塩素性病原微生物の原水中での検出情報によるもので、過去に検出された場所（主に河川）で定期的に検査が行われ、その結果が逐次報告されていることが要因であり、耐塩素性病原微

表-2 水道種類別の事例数と健康被害事例数

	事例数 (A)	うち耐塩素性病原微生物検出事例 (B)	(A-B)	健康被害事例	被害人数 (合計)
上水道	684	568	116	1	10
簡易水道	103	42	61	3	157
用水供給	95	86	9	0	0
専用水道	20	0	20	5	1025
未規制小規模施設	58	1	57	15	913
貯水槽水道	4	0	4	3	223
その他	54	21	33	0	0
合計	1018	718	300	27	2328

生物検出報告を除いた事例数では、都道府県あたり10件前後であり、地域性による偏りは見られなかった。

水道種類別の事例件数について表-2に示す。

事例件数は上水道が684件と最も多い。大半は原水の汚染事例で、耐塩素性病原微生物による原水中の検出情報が568件と83%を占め、前述したように検査体制があり定期的に結果が報告されていることや、河川下流域に上水道が多いため上流からの汚染の影響を受けやすいということが要因として考えられる。耐塩素性病原微生物の検出報告を除いた全300事例のうち4割近くが上水道における事例であり、上水道において多くの健康危機が発生している。

健康被害のあった事例は27件あり、未規制小規模施設が15件と最も多い。過去10年間で、専用水道において5件、簡易水道において3件の健康被害が発生した事例があったが、専用水道では被害人数が1025人と多く、一つの事故における影響が大きい特徴があった。上水道は危機事例数に対して健康被害の発生の割合が低く、他の水道と比べて水質管理が適切に行われているため健康被害

表-3 事例の原因物質の内訳（件）：病原微生物

	件数	うち健康被害事例の件数
病原微生物に関する危機事例 計	781	24
耐塩素性病原微生物	749	0
(内訳)		
原水検出報告のみ	718	0
給水停止を行った事例	17	0
飲用制限等を行った事例	4	0
取水停止・その他の措置	10	0
耐塩素性病原微生物以外	32	24
(内訳)		
病原大腸菌	7	5
ウイルス(ノロウイルスなど)	4	4
カンピロバクター	3	3
不明・その他	18	12

表-4 事例の原因物質の内訳 (件) : 化学物質

	事例件数
化学物質に関連した危機事例	179
油類	44
農薬	8
その他の有機化合物	58
テトラクロロエチレン	14
トリクロロエチレン	11
1,4-ジオキサン	6
シス-1,2-ジクロロエチレン	5
PCB	4
トルエン	4
フェノール	4
1-ジクロロエチレン	3
四塩化炭素	3
ジクロロエタン	3
ダイオキシン	3
ベンゼン	2
キシレン、クロロホルム他	7
無機物質	63
ヒ素	20
臭素酸	13
シアン	6
水銀	5
ウラン	4
ホウ素	3
次亜塩素酸ナトリウム	2
塩化物イオン	2
マンガン	2
硝酸・亜硝酸	2
塩素酸、クロム、モリブデン他	6
その他	7

が生じていないと示唆される。水道毎の事例内容の詳細については後述する。

b) 飲料水健康危機事例の原因物質

表-3に飲料水健康危機事例の原因物質のうち、病原微生物に関連したものの内訳を示す。前述したように、耐塩素性病原微生物が原水において検出された事例が多く報告されているため、ほとんどが耐塩素性病原微生物による事例に占められるが、検出報告事例を除いた場合は、耐塩素性病原微生物に関連した事例は31件とそれ以外の32件の計63件となる。飲料水を介して耐塩素性病原微生物によって健康被害が生じた事例は過去10年には報告されていない。耐塩素性病原微生物以外の病原微生物で、複数事例の原因となったものは、病原大腸菌(7件)、ウイルス(4件、うちノロウイルス3件、ロタウイルス1件)、カンピロバクター(3件)であった。これらの健康被害事例の発生数は年度によって変化は見られず、毎年0~5件生じているが、ウイルスによる健康被害事例は平成15年度以降に発生しており、今後も注意を払う必要がある。

表-4に化学物質に関連した原因物質の内訳を示した。飲料水を介して健康を脅かす化学物質は様々であり、油流出事故やそれに伴うPCB汚染など人為由来のものからヒ素、水銀など自然由来と考えられるものまであり、飲料水健康危機管理上、飲料水となる原水にどのようなリスクが存在しているか地域や事業者が個別に状況を把握する必要がある。過去10年間に化学物質が原因で健康被害が発生した事例は2件あり、次亜塩素酸ナトリウムの過剰注入による被害事例と、配管の誤接続による実験用水の飲料水中への混入による被害事例であった。表-2で示したように、健康被害事例は過去10年で27件あり、病原微生物による事例が24件、化学物質による事例が2件で、健康被害が生じた事例の大半は病原微生物による事例であった。残りの1件はクロスコネクションによって農業用水が飲料水に混入した事例である。

c) 飲料水健康危機への対応

表-5に、耐塩素性病原微生物の検出事例を除いた事例について、危機発生時に水道事業者や行政担当者等が行った対応を水道毎に示した。全300件のうち222件(74%)は何らかの対応を行っており、給水停止または使用停止の事例(71件)および飲用制限や煮沸勧告等用途制限の事例(66件)と6割が日常生活に影響を伴う事例であった。取水停止を行った件数は48件、活性炭投入など通常処理以外の対応を行ったものが37件あり、17件の不明を除く残り61件については通常の業務内で対応した事例であった。

表-5 各水道の飲料水危機への対応

	給水 停止	用途 制限	取水 停止	その 他の 措置	対応 なし	不明	計
上水道	24	10	36	17	20	9	116
簡易水道	21	13	9	5	11	2	61
用水供給	3	1	0	3	2	0	9
専用水道	6	8	3	2	1	0	20
未規制小規模施設	16	31	0	1	8	1	57
貯水槽水道	1	3	0	0	0	0	4
その他	0	0	0	9	19	5	33
	71	66	48	37	61	17	300

(2) 各水道における健康危機事例の内容

a) 上水道における事例

上水道全体で684件の報告があり、うち病原微生物に関する事例が85%(580件)、化学物質に関する事例が66件、濁度・色度異常による被害が14件、異臭味に関する事例が7件、その他が17件である。

病原微生物に関する事例は4件を除いてクリプトスポ

リジウムおよびジアルジアの耐塩素性病原微生物に関する事例(576件)であり、その大半は原水中からの検出のみの報告(568件)であった。耐塩素性病原微生物に関する事例では健康被害が生じたものはなかったが、給水停止を行ったものは5件あり、うち4件は浄水工程にろ過施設がなく消毒のみを有する施設における浄水中からの検出事例である。耐塩素性病原微生物以外の4事例は、浄水場に入出入りする職員の赤痢菌や病原大腸菌の感染報告であり、直接浄水に影響する事例はなかった。上水道において、原水の耐塩素性病原微生物汚染のリスクは高い状況にあるが、浄水中への流出はほとんどなく、また浄水が汚染された場合においても健康被害が発生していないことから、病原微生物に関するリスクに対して適切な管理が行われていると考えられる。

化学物質に関する事例のうち、給水停止は12件、用途制限は2件、取水停止は31件、活性炭投入、オイルマット敷設等のその他の措置が5件であった。6件は自然由来と考えられる水銀等の検出事例であるが、56件は上流域における事故等による水源汚染事例であり、危機管理に原水汚染のリスクの把握が重要であることが示唆される。4件は浄水工程で発生し、消毒剤に含まれた臭素酸による汚染事例等であった。上水道における健康危害事例としては1件の報告あり、農業用水とのクロスコネクションが原因で発生した蛇口水から濁りが発生した事例であった。クロスコネクションによる事例は全体で7件あり、うち5件は上水道からの報告であった。健康被害は少ないが、数ヶ月以上飲用に適していない水が供給されていたと考えられる事例もあった。安全安心な水道水を供給するという点では、配水過程における事故防止対策も重要である。

b) 簡易水道における事例

簡易水道全体で103件の報告があった。うち病原微生物に関する事例が85%(88件)、化学物質に関する事例が33件、濁度・色度異常による被害が8件、その他が4件である。

事業者が給水停止など何らかの対応を行った事例は56件あり、給水停止は21件、用途制限は13件、取水停止は9件、その他は11件で、対応としては給水停止が最も多かった。給水停止の約半数の10件は、耐塩素性病原微生物による原水または浄水における検出事例で、うち8件が塩素消毒のみの浄水施設における検出事例である。その他に、上流域における汚染事故や、大雨による急激な濁度上昇によって給水停止となる場合が見られ、上水道に比べて頻度が多い傾向にある。

凝集処理での不具合など、浄水工程で発生した事例は、15件あり、そのなかで健康被害に至らなかったものの消毒剤が未注入であったものや、残留塩素濃度が基準値を

大幅に下回っていた事例が複数件あった。健康被害事例は簡易水道において3件あり、カンピロバクターによる食中毒事例が2件、ノロウイルスによる事例が1件で、全ての事例において、塩素剤の未注入など消毒の不備が指摘された。消毒は健康被害防止の観点から極めて重要な浄水工程であり、適切な管理を維持することが求められる。

c) 用水供給における事例

用水供給から報告された健康危機事例は95件あり、うち9割(86件)が耐塩素性病原微生物の原水中での検出情報で、関東、近畿地方の流域の大きい水系にある事業者からの報告であった。その他の9件は、集中豪雨による濁水被害や上流における事故による原水の化学物質汚染事例などが主であり、給水停止に至る事例が3件あった。健康被害事例はなかったが、給水停止や利用制限による影響された人口は5万~50万人の規模であり、事故が発生した場合の影響が大きい。

他に、塩素酸目標値超過事例、浄水場工事が原因で浄水中に化学物質が混入した事例があった。

d) 専用水道における事例

専用水道では20件の報告があり、病原微生物に関する事例が6件、化学物質に関する事例が13件、その他が1件という内訳である。上水道、簡易水道、用水供給と比べて耐塩素性病原微生物に関する事例は少なく1件のみ表流水を原水とする施設において報告があった。

健康被害が発生した事例は5件あり、クロスコネクションによる浄水への化学物質の混入事例(患者1人)の事例を除き、残り4件は病原微生物汚染による食中毒事例である。病原微生物の汚染経路や排出源などは不明であるが、4件とも塩素消毒処理のみの施設で消毒に不備があった。被害者数は4件で1024人と極めて多く、消毒の必要性が改めて示唆される。

専用水道における事例の多くは地下水を水源としており、13件の化学物質に関する事例のうち、ヒ素や水銀、ウランといった自然由来による原水汚染事例が半数(7件)あった。その他に分類した1件は、水源に農業を投入するという予告があり、安全のため取水停止が行われた事例である。平成18年には学校の水道施設に異物が投入された事件もあり、テロや犯罪に対する対応の検討も今後の課題である。

e) 貯水槽水道における事例

貯水槽水道で4件の事例があり、クロスコネクションによる事例をのぞく3件は健康被害事例であった。1件は冷水器のロタウイルスによる汚染事例、1件は原因未特定の食中毒事例、1件は次亜塩素酸ナトリウム過剰注入による健康影響事例である。いずれも学校において発生した事例で、3件の被害者数は223人であり、1件あたり

の被害発生人数が多い。貯水槽水道はその管理に問題が多いことが従来指摘されており⁹⁾、健康被害につながる事例は多いと考えられる。今回報告された事例は健康被害など重篤な被害が発生したために顕在化したものと考えられ、実態解明に向けて調査等が必要である。

f) 未規制小規模施設における事例

給水人口が100人以下の水道法適用外の小規模飲料水供給施設や飲用井戸（未規制小規模施設）において、全体で58件の報告があり、うち病原微生物に関する事例が23件（40%）、化学物質に関する事例が33件（57%）、濁度・色度異常による被害が1件、その他が1件である。

病原微生物に関する事例23件のうち、耐塩素性病原微生物に関連した事例は6件であった。これらは、水源を表流水としたものであり、表流水等を原水とした飲料水供給施設では、耐塩素性病原微生物の汚染リスクを常に考慮する必要がある。未規制小規模施設で健康被害が生じた事例15件の全てが病原微生物による食中毒事例で、被害者は910人におよんだ。6件が病原大腸菌による事例で、ノロウイルスによる事例2件のほか、カンピロバクターやボツリヌス毒素による被害事例があった。これら健康被害が生じた事例の8件は原水を貯水するなど未処理で使用していた事例で、残りの7件は、浄水工程として塩素消毒を有していたが、被害発生時には設備の不調や薬剤不足によって消毒が適切に行われていなかった。過去に生じた飲料水起因の集団感染の多くも井戸水の消毒不備による事例であり⁶⁾、健康被害防止には消毒が不可欠であり、また消毒のための施設管理の徹底も必要である。

化学物質に関する事例33件のうち、18件は周辺工場からの地下水汚染の影響をうけて使用停止や飲用停止となった事例で、飲用井戸などは周辺の状況を把握し、定期的に水質検査を行うことも健康危機管理上必要であるといえる。

g) その他

その他の健康危機事例として、河川管理者等による水質調査で耐塩素性病原微生物が検出された事例（21件）や、工場事業者等による地下水汚染検出事例（8件）などがあり、水源ダムへのテロ行為の予告事件（1件）も含まれた。

(3) 水道事業毎の被害レベルの評価

a) 健康危機事例の被害内容による類型化

過去10年間に報告された飲料水健康危機事例は、感染症等の健康被害が発生するに至った事例、健康被害には至らないが給水停止等より生活に支障が出た事例、定期検査等により水質異常が確認されたが通常管理の中で対応できた事例等など、内容は多岐にわたっており、それ

ぞれ被害の重篤度は異なる。そこで、健康被害や社会生活への影響の大きさを考慮して飲料水健康危機事例を結果の影響の大きさによって5つのカテゴリーに分類した（表-6）。

表-6 健康危機事例の被害程度による分類

分類	内容	例
カテゴリー1	健康被害が生じた事例	死亡・発症・感染
カテゴリー2	日常生活への影響が重篤な事例	給水停止
カテゴリー3	生活被害が生じた事例	用途制限・飲用制限
カテゴリー4	何らかの対応を行ったが、日常生活への影響までに至らなかった事例	取水制限・粉末活性炭投入等
カテゴリー5	異常等が確認されたが、通常管理の中で対応した事例	定期検査等のモニタリング

カテゴリー1は、最も健康リスクの重篤度が高い事例として、感染症等の健康被害が発生するに至った事例とした。カテゴリー2及びカテゴリー3については、生活被害が発生するに至った事例を被害の重篤度から「給水停止」（水道水の供給が停止した事例）と、「用途制限」（飲用制限等には及んだが生活用水としての供給は継続した事例）の2つに分類し、前者をカテゴリー2、後者をカテゴリー3とした。カテゴリー4は、取水停止や活性炭注入等の危機対応は行ったが、生活被害には至らなかった事例とし、カテゴリー5は、原水で病原微生物が検出される等の異常は確認されたが、濁度管理の徹底等通常の管理の中で対応できた事例とした。これまで対象とした事例について、各カテゴリーに分類される件数を表-7に示す。全体として上位から下位にかけて数が増加する

表-7 飲料水健康危機事例のカテゴリー別件数

カテゴリー*	上水道	簡易水道	用水供給	専用水道	貯水槽水道	未規制小規模施設
1	1	3	0	5	3	15
2	24	21	3	6	1	16
3	10	13	1	8	3	31
4	53	14	3	5	0	1
5	597	55	88	1	0	10
(事例件数)**	684	103	95	20	4	58

*表-6参照

**重複があるため事例件数は必ずしも各カテゴリーの和と一致しない。

分布が見られたが、水道毎によってカテゴリに分類される事例件数の分布は異なり、専用水道や未規制小規模施設においては、一様な分布または上位カテゴリに多い分布傾向となった。

b) 被害レベルの評価

前述したカテゴリ1, 2, 3について危機事例の発生状況を定量的に評価し、各水道間で比較検討するため、給水人口に対する過去10年間における健康危機事例の被害人数または影響を受けた人数（影響人数）の比を指標（評価値）として求めた。用水供給および簡易専用水道については事例数が少なく、上水道、簡易水道、専用水道、未規制小規模施設を評価の対象とした。給水人口として、平成17年度末時点での統計値⁷⁾を用いた。未規制小規模施設の対象人口は、平成17年度の日本の総人口より上水道、簡易水道、専用水道の給水人口を引いた値を用いた。また、カテゴリ2および3の影響人数については、対象の18%の事例で情報が得られなかったため、同じカテゴリに含まれる事例の被害人数の平均値を用いて外挿した。カテゴリ2および3における事例1件あたりの被害人数にはばらつきがあったが、各カテゴリにおける最大値または最小値で外挿して得られた評価値は、最大で平均値を用いた評価値の2.5倍程度であり、得られた結果の傾向に影響しなかったため、平均値を代表値として用いた。

水道毎の被害レベル評価結果を図-2に示す。過去10年間の被害人数の総和を用いたため、10で割り便宜的に1年当たりとした値を評価値として用いた。健康被害であるカテゴリ1における評価値は、専用水道、未規制小規模施設、簡易水道、上水道という順になり、水道の規模が大きいほど評価値は小さくなる傾向にあり、すなわち健康被害が発生する状況は低いことが示唆された。特に上水道は、過去10年間で生活被害が発生した事例が1件だけであったため、他の水道と比べて極めて低い値となった。専用水道での健康被害事例は、件数としても多くまた1事例における被害人数が多い傾向にあるため、高い評価値となった。健康被害事例という観点においては、未規制小規模施設だけでなく、専用水道の管理も重要である。カテゴリ2および3については、上水道、専用水道、簡易水道、未規制小規模施設の順となり、水道規模が大きくなると評価値が大きくなる傾向があった。給水人口の多い水道では一度給水停止が発生するとその影響が大きいため、被害が規模に応じて影響していることが結果に反映されていると考えられる。また、上水道や簡易水道については、カテゴリ2と3に比べてカテゴリ1の評価値が小さく、水質に何らかの異常が発生した場合において、給水停止や用途制限によって健康被害を回避するように管理が行われていることが伺える。

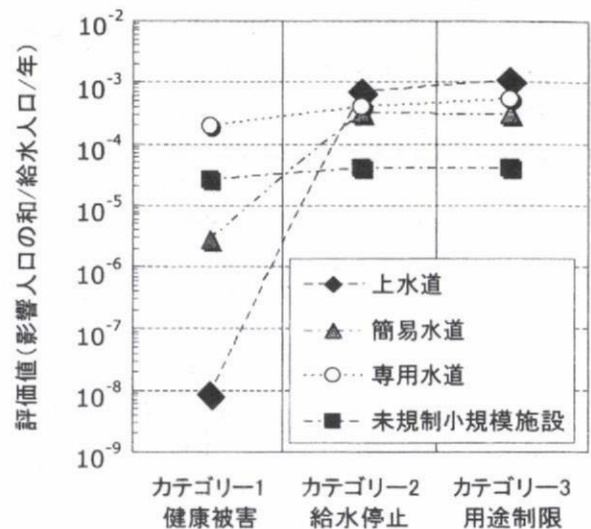


図-2 給水人口に対する過去10年間で飲料水危機事例において影響を受けた人口の和の比。1年あたりに換算した数値を評価値として示した。給水人口は平成17年度末の値を使用した。

一方、専用水道や未規制小規模施設の評価値は各カテゴリとも同程度であった。上水道や簡易水道に比べて直接健康被害につながる事例が多いことや、健康被害に至るまで水質異常を検知することができないことも要因として考えられ、これらの日常的な監視体制などの管理手法を検討する必要がある。

今回、水道事業者や都道府県等によって厚生労働省に報告されたものに基づいて検討しており、必ずしも全ての事例が把握されていないため、得られた結果は過小評価されている可能性がある。また事例数や被害の程度は日常的な検査体制や報告の体制によって大きく影響を受けるため、顕在化していない事例を把握・推定することが実際の状況をより正確に把握するために必要である。

4. まとめ

我が国における水道を含めた飲料水による健康危機の現状と課題を明らかにすることを目的に、厚生労働省に飲料水による健康危険情報として収集された事例を対象にその内容について分析を行った。平成9年から平成18年3月までの過去10年間の健康危機事例は1,018件あり、うち直接健康被害が生じた事例は27件で被害人数は2,328人であった。水道の種別によって生じている危機事例の特徴が異なり、それぞれの特徴にあわせた危機管理を検討することが必要であることが示唆された。規模の大きい水道において、健康被害事例は少ないが原水事

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 YAMADA¹, Michihiro AKIBA¹, Mari ASAMI¹, Dai SHIMAZAKI¹ and Shoichi KUNIKANE²

¹Dept. of Water Supply Engineering, National Institute of Public Health

²Institute 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⁻¹. 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
Hiroshi 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 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°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 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 ng ml^{-1} for

MPP, 0.1 ng ml^{-1} for MPP-sulfoxide, 1 ng ml^{-1} for MPP-sulfone, 0.25 ng ml^{-1} for MPP-oxon, 1 ng ml^{-1} for MPP-oxon-sulfoxide, and 0.5 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 μm particle size. The column oven temperature was 40°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 ml min^{-1} and the injection volume was 10 μl . 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 l min^{-1} ; gas temperature 350°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 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°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°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 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 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 mg l^{-1} . With stirring at 20°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 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°C .

Sodium hypochlorite solution was added to an aqueous solution of 0.01 mg l^{-1} MPP, to a final concentration of free chlorine of 5 mg l^{-1} . The solution was maintained at 20°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-thienylthiocholine-iodide (MTTC) (2.0 mM) were prepared. A 0.25 mM chromogen solution of 5, 5'-dithiobisnitrobenzoic acid (DTNB) was prepared in 0.1 mol l^{-1} phosphate buffer (pH 7.4). All chemicals were purchased from Wako Pure Chemical Industries, Ltd. They were stored at 4°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°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⁻¹, 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⁻¹ for MPP, 0.1 ng ml⁻¹ for MPP-sulfoxide, 1 ng ml⁻¹ for MPP-sulfone, 0.25 ng ml⁻¹ for MPP-oxon, 1 ng ml⁻¹ for MPP-oxon-sulfoxide, and 0.5 ng ml⁻¹ 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⁻¹, 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 ⁻¹)	Correlation coefficient	LOD (ng ml ⁻¹)	LOQ (ng ml ⁻¹)
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

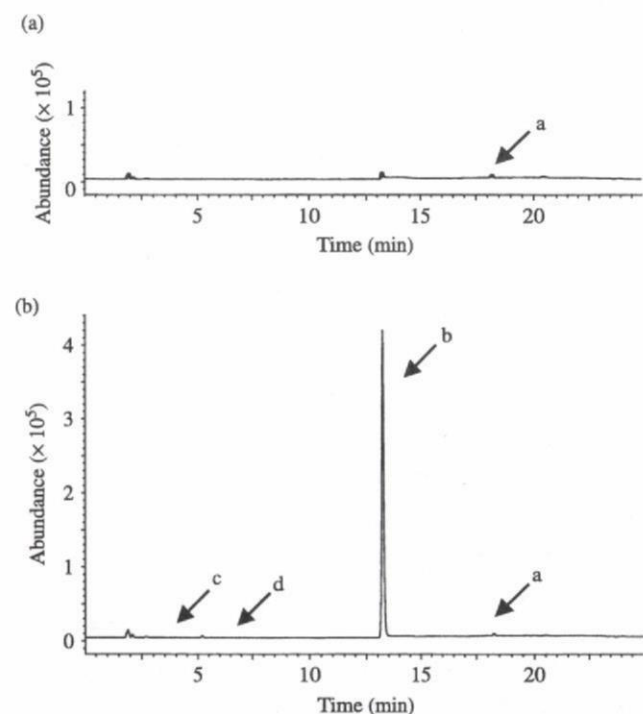


Figure 1 | Chromatograms of MPP and its products in water (a) 0 hr, (b) after 48 h. a: MPP, b: MPP-sulfoxide, c: MPP-oxon-sulfoxide, d: MPP-oxon-sulfone.

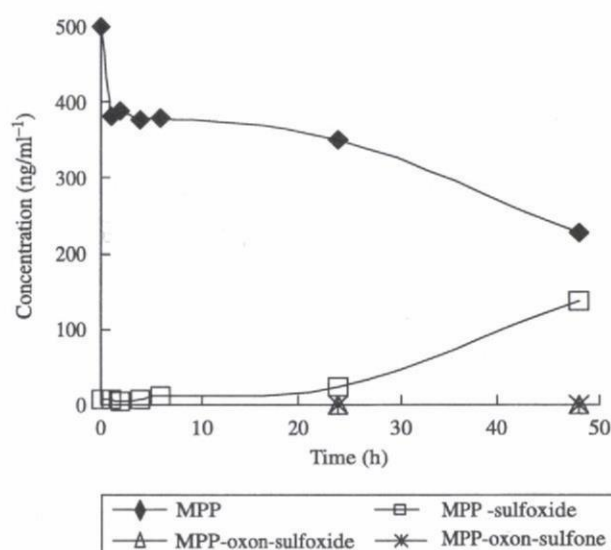


Figure 2 | Behaviour of MPP in water.

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 σ 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

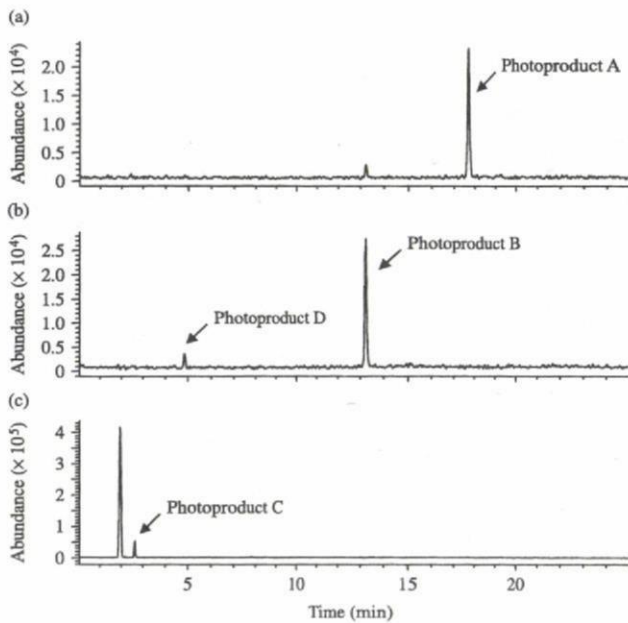


Figure 3 | Chromatograms of MPP and its products irradiated for 120 s. (a) m/z : 279, positive mode, (b) m/z : 295, positive mode, (c) m/z : 141, negative mode.

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.

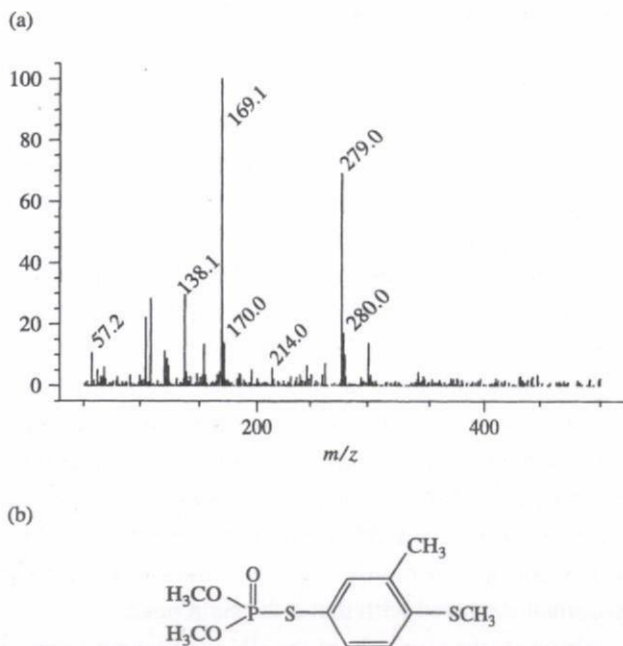


Figure 4 | Photoproduct A. (a) MS spectrum, (b) chemical structure.

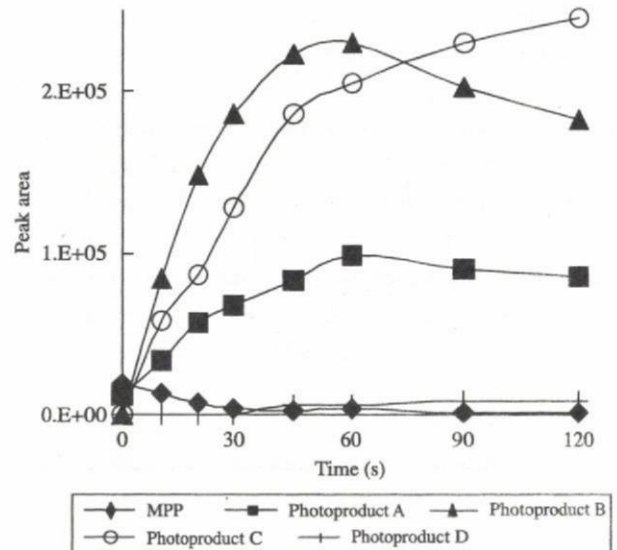


Figure 5 | Time-dependent behaviour of MPP and its products treated by light irradiation.

MPP behaviour under conditions of chlorination

MPP standard solution was added to purified water to a final concentration of 0.001 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 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 mg l^{-1} after 48 hours.

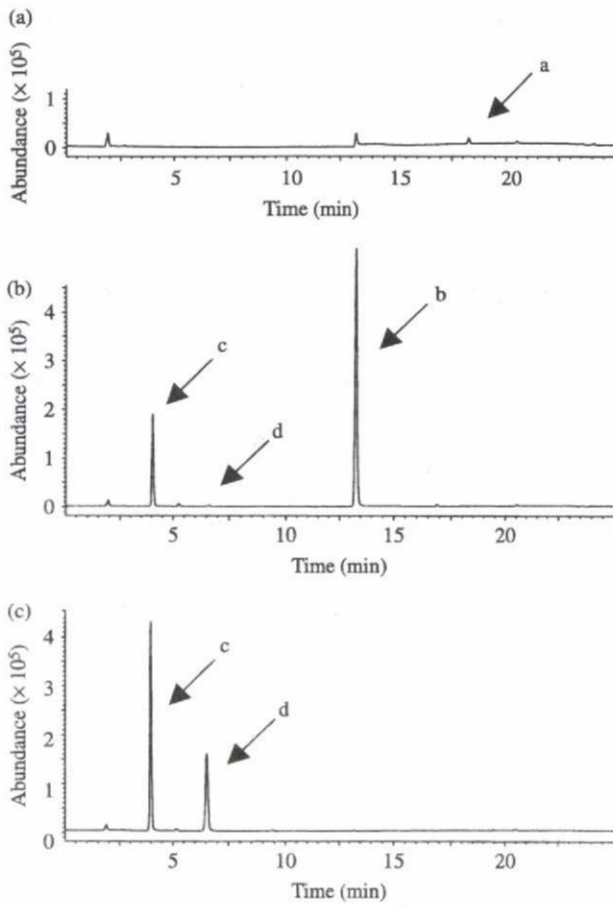


Figure 6 | Chromatograms of MPP and its products after chlorination. (a) 0 min, (b) 5 min, (c) 120 min. a: MPP, b: MPP-sulfoxide, c: MPP-oxon-sulfoxide, d: MPP-oxon-sulfone.

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

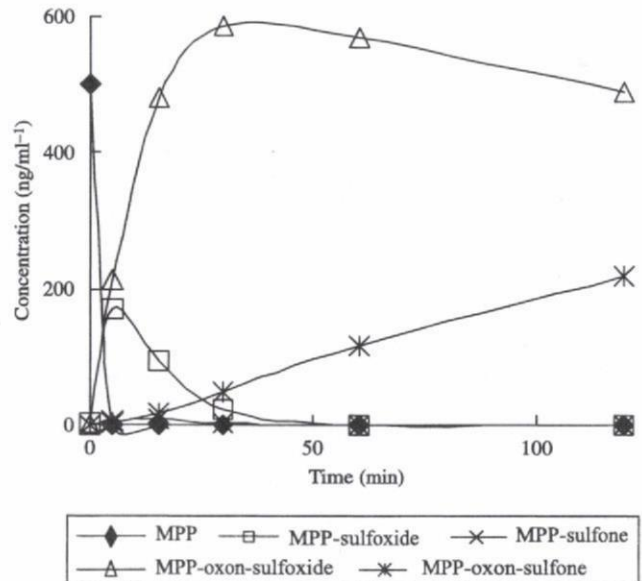


Figure 7 | Time-dependent behaviour of MPP and its products after chlorination.

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

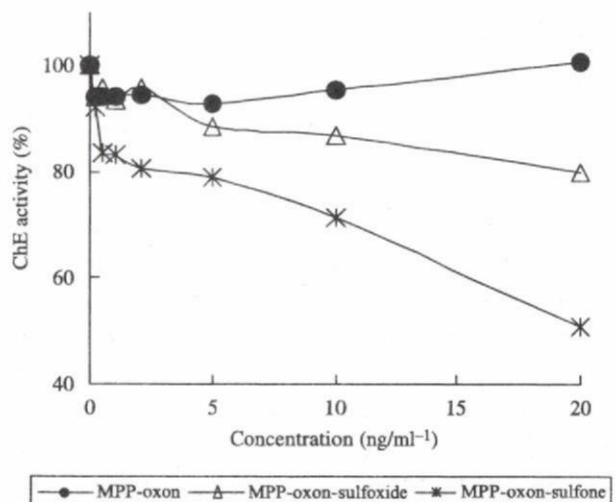


Figure 8 | Comparison of ChE inhibitory activities. The concentration at the beginning of the reaction was defined as 100%.