

<報文>

大和川水系竜田川における河川緑色事案の原因究明について\*

浦西洋輔\*\*・高林泰斗\*\*・北岡洋平\*\*・平山可奈子\*\*・田原俊一郎\*\*

キーワード ①異常水質 ②公共用水域 ③HPLC-PDA ④発色剤 ⑤フルオレセインナトリウム

要 旨

当センターでは異常水質発生時、指導部門が現場確認、原因調査を行い、必要に応じて検査部門が原因物質の特定に努めている。今回、奈良県大和川水系竜田川において河川が鮮やかな緑色に染まるという事案が発生し、原因物質の特定を依頼された。搬入された試料の物性や先行事例等から原因物質をフルオレセインナトリウムと推定し、紫外線照射やHPLC-PDA、LC-MS/MSを用いて同定試験を実施した。結果、緑色河川水中から発色剤であるフルオレセインナトリウムを同定できた。本事案は朝5時頃に通行人からの通報で発覚し、同日12時過ぎに検査部門へ試料が搬入され、同日15時頃に検査結果を本庁所管課に報告するという、迅速に原因物質を究明した案件であった。

1. はじめに

異常水質が発生した際、本県では異常水質対応措置要領に基づき、関係機関と密に連携しつつ迅速に対応することが定められている。当センターにおいては異常水質発生時、指導部門が速やかに現場確認、原因調査、必要に応じて試料の採取を行い、検査部門が原因物質の特定に努めている。今回、河川が鮮やかな緑色に染まるという事案が発生し、迅速に原因物質を特定することができたため、詳細を報告する。

2. 事案概要

令和5年7月5日朝5時頃、通行人から竜田川が緑色を呈しているとの通報が市管理施設にあった。市及び当センターが原因調査をしたところ、竜田川上流のモチ川から鮮やかな緑色を呈する水が流れているのが確認された。発生現場付近の路上、フェンス及び護岸壁には茶褐色の物質が広範囲に付着しており、水をかけると明るい黄緑色を呈した。発生現場写真を図1に、周辺地図を図2に示す。近隣住民へのヒアリングでは、前日の19時頃は通常の河川であり緑色ではなかったとのことであった。現地にて簡易水質検査を実施した結果、有毒及び有害性、その他顕著な値は認められなかった。また魚のへい死等はなく、緑色河川中でも魚は通常どおり泳いでいることを確認した。同日10時40分頃当センター検査部門に上記事案の連絡があり、原因物質の特定を依頼された。試料は

同日12時過ぎに搬入された。

3. 原因物質の推定及び同定試験方法

3.1 原因物質の推定

上記事案概要及び搬入された試料から原因物質の推定を試みた。搬入された試料は、現場に付着した粉体、緑色に呈した異常水質河川水（以下、緑色河川）、異常水質発生現場上流の緑色に呈していない河川水（以下、上流河川）であった。試料の物性等は、①現地で採取した粉体は赤褐色であり、水に良く溶けること。②少量の水に溶かす（10000 mg/L程度）と黄赤色を呈するが、希釈する（1000 mg/L程度）と黄緑色を呈すること。③2011年にカナダにて河川が緑色に染まるという同様の先行事例があり、その際の原因物質がフルオレセインと報告されていること<sup>1)</sup>。④しかしながらフルオレセインは水に溶けない<sup>2)</sup>こと。これら①～④の特徴や先行事例から、水に良く溶ける本事案の粉体はナトリウム塩ではないかと考え、フルオレセインナトリウムが原因物質であると推定し同定試験を実施した。

3.2 試薬

フルオレセインナトリウム標準品、リン酸水素二ナトリウムは試薬特級を、アセトニトリルはLC/MS用を用いた（以上、富士フィルム和光純薬工業（株）製）。10 mol/L酢酸アンモニウム溶液は（株）ニッポンジーン製

\*Green color incident in the Tatsuta River of the Yamato River System and its Source Pollutant

\*\*Yosuke URANISHI, Taito TAKABAYASHI, Yohei KITAOKA, Kanako HIRAYAMA, Syun-ichiro TAHARA (奈良県景観・環境総合センター) Nara Prefecture Landscape and Environment Center



図1 緑色発生現場



図2 緑色発生現場周辺地図

(Map data ©2024 Googleを加工して作成)

を用い、精製水は超純水製造装置Milli-Q Reference (MERCK MILLIPORE製)により精製した超純水を用いた。フルオレセインナトリウム標準品を精製水に溶解させ、10000 mg/Lの標準原液を作製し、それを精製水で適宜希釈し1~100 mg/Lの標準液 (以下、標準液) を作成した。

### 3.3 同定試験方法

フルオレセインは紫外線 (UV) 照射によって蛍光することが知られている<sup>2)</sup>。そこで、FDK (株) 製ミニ蛍光灯SF343を用いて試料にUV (343nm) を照射し、蛍光の有無を確認した。

次に、HPLC-PDAにて測定を実施した。HPLC-PDAの測定方法はジーエルサイエンス (株) のアプリケーションノートを参考<sup>3)</sup>としたが、本手法は合成着色料18成分の一斉分析法であり、測定時間が50分と時間がかかることから、迅速に結果を得ることを目的に測定時間を10分に変更し、表1のとおりとした。試料

表1 HPLC測定条件

HPLC-PDA	Waters
Column	Inertsil ODS-4 Φ2.1 mm × 150 mm, particle size 5 μm
Mobile Phase	A: 10mM Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (pH6.9) B: CH <sub>3</sub> CN
Percentage of mobile phase A	10% (0 min) → 15% (10 min)
Flow Rate	0.8 mL/min
Column Temp	40 °C
Injection Volume	10 μL
Detector	PDA detector (200~700 nm)

表2 LC-MS/MS測定条件

LC-MS/MS	Acquity UPLC system (Waters)
LC system	ACQUITY UPLC system (Waters)
Column	ACQUITY UPLC BEH C18 Φ2.1 mm × 100 mm, particle size 1.7 μm
Mobile Phase	A: 0.01mol/L Ammonium acetate solution (aq) B: CH <sub>3</sub> CN
Percentage of mobile phase A	98% (0 min) → 40% (10 min) → 40% (12 min) → 98% (12.1 min) → 98% (15 min)
Flow Rate	0.25 mL/min
Column Temp	40 °C
Injection Volume	2 μL
MS/MS system	Xevo TQ MS (Waters)
Ionization mode	ESI-Positive
Capillary voltage	3.5 kV
Source temperature	150 °C
Desolvation Temp	300 °C
Desolvation gas	Nitrogen, 1000 L/hr
Monitor ion	Parent(m/z) > Daughter(m/z) 332.9 > 201.9 332.9 > 230.9

の前処理は、河川の呈色具合から1~10 mg/L程度と推定されたため濃縮や希釈は行わず、(株)アドバンテック社製メンブレンフィルター (孔径0.2 μm) によりろ過のみ実施した。

最後に、確認検査としてLC-MS/MSでも測定を実施した。LC-MS/MSの測定条件は表2のとおりとした。

## 4. 結果

### 4.1 UV照射

試料及び標準液にUVを照射した結果を図3に示す。UV照射により標準液及び緑色河川は蛍光を発生し、対照とした上流河川では蛍光を発生しなかった。本結果より、緑色河川はフルオレセインナトリウムと同様に、UV照射によって蛍光を発生することが判明した。

### 4.2 HPLC-PDA

HPLC-PDAによる測定においては、フルオレセインの吸収極大波長は490 nmであると知られている<sup>2)</sup>ことから、まず490 nmのクロマトグラムを確認した。結果、緑色河川と標準液のピークがR.T.: 6.9 minで一致し、対照とした上流河川では当該R.T.にピークは見られなかった。そこで、ピークが一致したR.T.: 6.9 minの吸光スペ

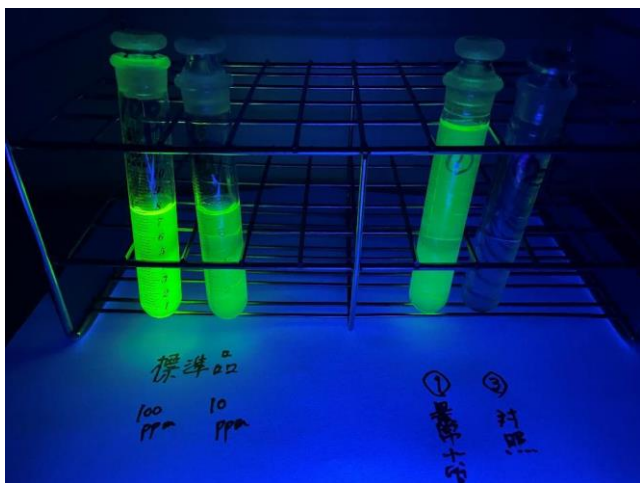


図3 UV照射結果

(左から、標準液100 mg/L, 標準液10 mg/L, 綠色河川, 上流河川)

クトル (200~700 nm) を確認した。HPLC-PDAの測定結果を図4に示す。目視でも綠色河川と標準液の吸光スペクトルは同一に思われたが、Waters社のスペクトルコントラストアルゴリズムを用いて比較・評価を行った結果、標準液と綠色河川とのスペクトルコントラストアングルは1°以下であったため、標準液と同一の化合物が綠色河川に含まれていると判断した。

これら4.1及び4.2の結果と現場状況及び原因物質の物性から、河川が綠色を呈した原因物質はフルオレセインナトリウムであると断定し、試料搬入日の15時頃本庁所管課に結果を報告した。本同定結果を基に所管課より同日19時30分に報道発表がなされ、物理化学的危険性、健康に対する有害性はほとんど無いフルオレセインナトリウムが竜田川綠色河川中より検出されたことを公表した。

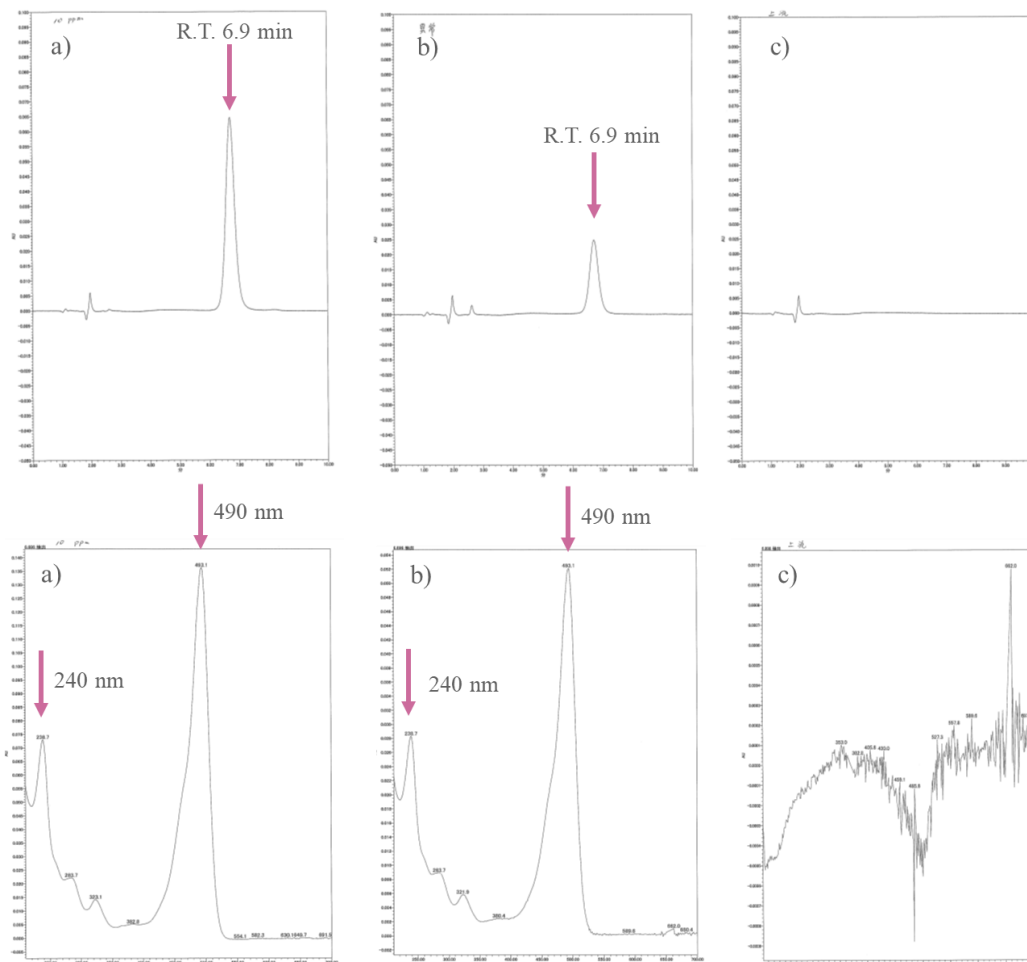


図4 HPLC-PDA測定結果

上図 吸収波長490 nmのクロマトグラム

下図 R.T. : 6.9 minの吸光スペクトル (200~700 nm)

a) 標準液10 mg/L, b) 綠色河川, c) 上流河川

### 4.3 LC-MS/MS

結果報告後、LC-MS/MSにて確認試験を実施した。LC-MS/MSにてフルオレセインの質量情報 ( $m/z$  332.9 > 230.9, 201.9) を確認した結果、標準液のピークと同一のR.T.において緑色河川でもピークが見られ、対照とした上流河川ではピークが見られなかったことから、フルオレセインナトリウムが緑色河川に含まれていることを確認できた。

### 5. まとめ

本事案の経過を表3にまとめた。本事案では、通報後数時間で原因物質の特定に至り、迅速な結果報告ができた。当センターは現場対応を行う指導部門と測定を実施する検査部門が統合されており、お互いの連携がスムーズであったことが今回の迅速な結果報告に繋がったと考えられる。また、日頃より機器分析に習熟し、分析手法を検討する等分析能力向上に努めていたことが、分析経験の無い物質の迅速な同定に役立ったと自負している。本事案は、平時とは明らかに異なる河川呈色であり、住民の多くを不安にさせるものであったが、原因物質を特定したことで、物理化学的危険性や健康に対する有害性は無いことを迅速に関係各所に共有することができ、県民の迅速な不安解消に役立てた案件であった。

表3 事案経過まとめ

令和5年7月5日	
5時00分頃	通行人より通報
↓	
10時40分頃	検査部門に連絡
12時00分頃	検査部門に試料搬入
↓	
15時00分頃	所管課に結果報告
↓	
19時30分頃	報道発表

### 6. 引用文献

- 1) CTV News : Green river caused by non-toxic substance, <https://bc.ctvnews.ca/green-river-caused-by-non-toxic-substance-1.591289> (2024.2.1アクセス)
- 2) 富士フィルム和光純薬 (株) : フルオレセイン, <https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/product/detail/W01W0106-0025.html> (2024.2.1アクセス)
- 3) ジーエルサイエンス (株) : PDA検出器を用いた着色料の分析, <https://www.gls.co.jp/viewfile/?p=LT002> (2024.2.1アクセス)