

<報文>

AIQSを用いた異常水質原因特定事例について*

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 ②AIQS ③GC-MS/MS ④農薬 ⑤エンドスルファン

要 旨

異常水質発生時には迅速な原因究明が求められており、多種類の化学物質を迅速かつ確実に測定できる分析法が望まれている。近年、多種類の化学物質を迅速に測定する手法の一つとして自動同定定量システム（AIQS）が開発されている。今回、令和5年9月に発生した川西町魚類へい死事例について、AIQS-GC/MSを活用し原因物質の特定を試みた。結果、河川からコイの急性毒性値96hLC50：0.1 µg/Lを大きく上回る濃度で、平成22年に農薬登録が失効したエンドスルファンが検出された。

1. はじめに

異常水質とは、油・薬品の流出や悪質排水等により、通常の水質を著しく逸脱し、魚類のへい死、悪臭、上水道障害等を引き起こしている河川等の状況をいう。このような状況が発生した際、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。しかしながら、時間とともに河川は流下するため原因物質が希釈や化学変化を受ける可能性があることや、社会で使用される化学物質の種類は年々増加しておりそれらを監視・分析する体制の整備には時間や高度な技術が必要となることから、異常水質の原因物質を特定することは非常に困難である。我々はこれまで、この分析上の問題点を解決するため多成分一斉分析手法の構築に努めてきた¹⁻²⁾が、より多種類の化学物質を迅速かつ確実に測定できる分析法が求められている。

近年、網羅的な化学物質の分析手法として、自動同定定量システム（AIQS: Automated Identification and Quantification System, 以下AIQS）のデータベース（以下DB）を用いたターゲットスクリーニング分析が注目されている³⁻⁶⁾。この分析手法は、装置性能を常に規定された状態に保ったうえで試料を測定し、データベースに登録されている化学物質情報（保持時間、マススペクトル、

検量線）を利用することによって、標準物質を使用せず同定・定量するもので、すなわち、標準物質の入手や検量線の作成などを省略して化学物質の同定や定量ができるため、先述の問題点を大幅に改善することができる。本システムは門上らによって開発が進められ、現在約1000物質がデータベースに登録されており、災害時や災害後の環境モニタリングに活用されている⁷⁾。また、多くの自治体でAIQSの導入は進んでおり⁸⁻¹⁰⁾、緊急時だけでなく平時のモニタリングにも活用されている。

本報では、このAIQSを活用することによって、R5年度に川西町で発生した異常水質の原因物質を特定したので報告する。

2. 事案概要

令和5年9月12日13時頃、川西町役場から農業用水路でフナ等の小魚が数十匹へい死しているとの通報があった。現場確認を実施したところ、全長約20 cmのコイが数匹浮いており、中には水面近くを苦しむように旋回するという異常行動を示す魚を確認したが、異常の確認ができない魚も存在した。発生現場写真を図1に、周辺地図を図2に示す。発生現場の水路は幅約1.5 m、水深約0.4 mであり、大和川の数カ所から引き入れた水が現場の水路と合流し、寺川を経て大和川に合流する。田圃への引水の時期であり、水量は多め、色は無色透明、特異な臭気は無かった。現地にて簡易水質検査としてパック

*Investigation on the Causes of Abnormal River Water using Automated Identification and Quantification System

**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 異常水質発生現場周辺地図

(Map data ©2024 Googleを加工して作成)

テストを実施したところ、pH : 7, DO : 6 mg/L, 残留塩素 : 0~0.1 mg/Lであり、その他異常な値は認められなかった。同日17時半頃当センター検査部門に河川試料及びへい死魚類試料の搬入があり、原因物質の特定を依頼された。

3. 方法

3.1 同定試験内容

3.1.1 魚類解剖試験

へい死した魚類の搬入があったため、解剖を実施し、エラや内臓に異常が無いか確認した。い死魚類の死因推定は、新潟県の魚類へい死事案対応マニュアル¹¹⁾を参考とした。

3.1.2 農薬検査

農業用水路で発生した異常水質であるため、農薬によるへい死を疑い、現地の方に農薬使用状況の聞き取り調査を実施した。結果、スミチオン（有効成分¹²⁾ : フェニトロチオン）及びアルタパールフロアブル（有効成分¹³⁾ : マシン油, オキシ銅）の使用情報が得られたた

め、LC-MS/MSにてフェニトロチオンを含む農薬43成分（関東化学㈱製農薬混合標準液65含有農薬）を、HPLC-PDAにてオキシ銅の測定を実施することとした。LC-MS/MSの測定条件は既報¹⁾に従い表1のとおりとし、HPLC-PDAの測定条件は環水規121号付表2の方法に従い表2のとおり実施した。試料の前処理は既報¹⁾に準じ、図3のとおり実施した。

また、本年8月には街路樹周辺への除草剤散布に関する報道があり話題となった¹⁴⁾。そこで、当該製品の有効成分であるグリホサート、及び同種の除草剤であるグルホシネートについてICにて測定を実施した。ICによる測定は既報¹⁵⁾に従い表3のとおりとし、0.2 μmのフィルターでろ過後の試料を測定した。

3.1.2 AIQS-GC/MSを用いたスクリーニング分析及び標準液を用いた確認検査

原因物質が推定できないため、AIQS-GC/MSを用いたスクリーニング分析を実施した。スクリーニング分析の結果検出した一部の物質についてはさらに、標準液を用いて確認検査も実施した。AIQS-GC/MSの測定条件はマニュアルに従い表4のとおりとし、データ解析は西川計測㈱製AXEL for NAGINATA Version 1.2.8（以下NAGINATA）を使用した。NAGINATAを用いた自動判定は、その信頼度をR.T.やQT比等から5段階で評価しているが、本調査では信頼度が最も高いと判定された化合物のうち、本手法の定量下限値 : 0.01 μg/Lを超えてDB定量されたものを抽出した。試料の前処理は、河川試料はマニュアル¹⁶⁾に従い図4のとおり、魚類エラ試料に関しては石原ら¹⁷⁾の報告を改変し図5のとおり実施した。

3.2 試薬

残留農薬試験用農薬混合標準液65（ゴルフ場農薬LC/MS対象43種混合）は関東化学㈱製、オキシ銅標準品は富士フィルム和光純薬㈱製残留農薬試験用（99.0+%）、グリホサート標準物質は富士フィルム和光純薬㈱製（96.0+%）、グルホシネートアンモニウム標準品はDr. Ehrenstorfer製（97.5%）を用いた。標準品は、残留農薬試験用農薬混合標準液65はメタノールで、オキシ銅標準品はメタノールに溶解し1000 mg/Lの標準原液を作製後アセトニトリルで、グリホサート標準物質及びグルホシネートアンモニウム標準品は超純水に溶解し1000 mg/Lの標準原液を作製後超純水で、それぞれ適宜希釈し検量線用混合標準液を作成した。AIQS/NAGINATAクライテリアサンプルMixⅢ及びAIQS/NAGINATA内部標準Mixは林純薬㈱製を用いた。

アセトン、ヘキサン、アセトニトリル、ジクロロメタン、硫酸ナトリウムは残留農薬・PCB試験用、メタノー

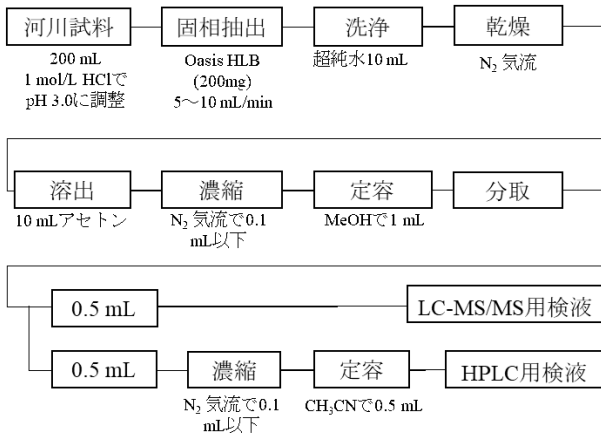


図3 LC-MS/MS及びHPLC-PDA試料前処理方法

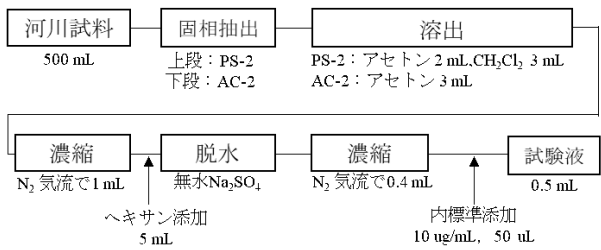


図4 AIQS-GC/MS 試料前処理方法 (河川)

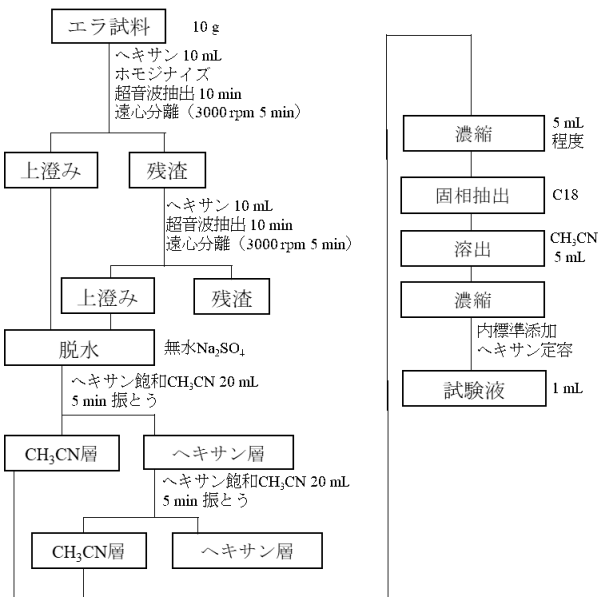


図5 AIQS-GC/MS 試料前処理方法 (魚類エラ)

表1 LC-MS/MS測定条件

LC-MS/MS	
LC system	Acquity UPLC system (Waters)
カラム	ACQUITY UPLC HSS C18 Φ2.1 mm × 100 mm, particle size 1.7 µm
移動相	A : 5 mM Ammonium acetate (aq) B : Methanol
グラジエント条件 (移動相A)	95% (0 min) → 95% (0.7 min) → 70% (1.5 min) → 30% (8.5 min) → 5% (10.5 min) → 95% (12 min)
流速	0.4 mL/min
カラム温度	40 °C
注入量	1 µL
MS/MS system	
MS/MS system	Xevo TQ MS (Waters)
イオン化法	ESI-Positive, ESI-Negative
キャピラリー電圧	0.5 kV (Positive, Negative)
イオン源温度	150 °C
脱溶媒温度	600 °C
脱溶媒ガス	Nitrogen, 1000 L/hr

表2 HPLC-PDA測定条件

HPLC-PDA	
HPLC-PDA	Alliance e2695 (Waters)
カラム	RS-pak DE-413 Φ4.6 mm × 150 mm, particle size 3.5 µm
移動相	50 mM KH ₂ PO ₄ (pH3.2) : CH ₃ CN = 48 : 52
流速	0.8 mL/min
カラム温度	40 °C
注入量	40 µL
検出器	2998 PDA detector (Waters)

表3 IC測定条件

IC	
IC	ICS-2100 (Thermo Fisher Scientific)
カラム	Dionex IonPac™ AS20 4×250 mm
溶離液	EGC III KOH
グラジエント条件 (KOH)	10 mM (0 min) → 10 mM (15 min) → 20 mM (20 min) → 40 mM (20.1 min) → 40 mM (30 min) → 10mM (30.1 min)
サブレッサー	Dionex ADRS 600
流速	1 mL/min
カラム温度	30 °C
注入量	50 µL
検出器	ECD

表4 GC-MS/MS測定条件

GC-MS/MS	
GC system	Trace 1310 (Thermo Fisher Scientific)
カラム	DB-5MS (Agilent) 長さ : 30 m, 内径 : 0.25 mm, 膜厚 : 0.25 µm
カラム温度	40 °C (2 min) - 8°C/min - 310°C (5 min)
注入口温度	250°C
注入方法	スプリットレス (パージオフ時間 : 1 min)
注入量	1 µL
キャリアガス	ヘリウム
MS/MS system	
MS/MS system	TSQ9000 (Thermo Fisher Scientific)
トランスファーライン温度	300°C
イオン源温度	230°C
イオン化法	EI
スキャン範囲	33 amu ~ 600 amu
チューニング法	DFTPPチューン
	Target Mass (amu) Ratio(%)
	50 1
	69 100
	131 45
	219 55
	414 2.4
	502 2

ルはLC-MS分析用、リン酸二水素カリウム、リン酸、塩酸は試薬特級を用いた（以上、富士フィルム和光純薬(株)製）。10 mol/l酢酸アンモニウム溶液は(株)ニッポンジーン製を、2NA(EDTA/2Na)は(株)同仁化学研究所製を用いた。超純水は、小松電子(株)製うるびゅあKE-0147Aで作製した。

3.3 器具、装置

固相カートリッジはOasis® HLB Plus(225 mg), Sep-Pak® Plus PS-2(300 mg), Sep-Pak® Plus AC-2(300 mg)を（以上、Waters製）、メンブレンフィルターはADVANTEC製DISMIC®-25HP（孔径0.20 μm）を用いた。超音波抽出装置はブランソン・ウルトラソニックス・コーポレーション製BRANSONIC®5510J-DTHを、ホモジナイザーはKINEMATICA製Polytron PT 10-35Gを使用した。

LC-MS/MSはWaters製ACQUITY UPLC及びXevo TQ MSを、HPLC-PDAはWaters製Alliance e2695及び2998 PDA

Detectorを、ICはThermo Fisher Scientific製ICS-2100を、GC-MS/MSはThermo Fisher Scientific製Trace 1310及びTSQ 9000を使用した。

4. 結果

4.1 魚類解剖試験結果

搬入された魚類は体色の変化や出血等はなく、油分の付着も見られなかった。大型のフナを解剖した結果、エラに異物や損傷は見られなかったが、ピンク色に退色していることを確認した（図6）。ただし、小型のフナのエラに関しては暗褐色であり、異常は確認できなかった。また、内臓を確認したところ大型・小型共に病変は確認できなかった（図7）。本結果より、化学物質によるへい死が疑われた。

4.2 農薬測定結果

LC-MS/MS, HPLC-PDA及びICにて農薬成分を測定した結



図6 へい死魚類のエラ



図7 へい死魚類の内臓

表5 AIQS-GC/MS 河川試料測定結果

物質名	用途等	DB定量濃度 (μg/L)
コレステロール	体組織	3.9
フタル酸ジエチルヘキシル	可塑剤	2.0
イソプロチオラン	農薬	1.1
α-エンドスルファン	農薬	0.84
フタル酸ジブチル	可塑剤	0.67
エンドスルファンサルフェート	農薬	0.51
β-エンドスルファン	農薬	0.44
ピロキロン	農薬	0.41
リン酸 トリス(1-クロロ-2-プロピル)	難燃剤	0.35
フタル酸ジメチル	可塑剤	0.26
フサライド	農薬	0.25
β-シトステロール	植物組織	0.19
β-コレスタノール	体組織	0.17

物質名	用途等	DB定量濃度 (μg/L)
フェリムゾン	農薬	0.14
スクアラン	体組織	0.12
フルトラニル	農薬	0.10
フタル酸ジイソブチル	可塑剤	0.09
ベンゾフェノン	紫外線吸収剤	0.08
プロマシル	農薬	0.05
ジエチルトルアミド	農薬	0.03
2-フェノキシエタノール	防腐剤	0.03
2,6-ジ-tert-ブチル-1,4-ベンゾキノ	酸化防止剤	0.03
アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)	可塑剤	0.03
チフルザミド	農薬	0.02
ガラクトリド	香料	0.02

AIQS自動同定の信頼度が5のものかつDB定量濃度が0.01 μg/L以上のものを抽出して記載

DB定量濃度はブランク差引後の値

表6 エンドスルファン定量結果

	河川 (µg/L)		魚類エラ (mg/kg-wet)	
	標準液定量	AIQS定量	標準液定量	AIQS定量
α-エンドスルファン	1.1	0.84	0.77	0.61
β-エンドスルファン	0.89	0.44	0.80	0.36
エンドスルファンサルフェート	0.55	0.51	0.27	0.10

果、河川中から定量下限値を上回って検出された物質は、イソプロチオラン（殺菌剤）：0.25 µg/L及びシメコナゾール（殺菌剤）：0.08 µg/Lのみであった。それぞれのコイの急性毒性（96hLC50）は、イソプロチオラン：11,200 µg/L¹⁸⁾、シメコナゾール：9,080 µg/L¹⁹⁾とされている。今回検出した値は急性毒性値を大幅に下回っており、これらが原因物質とは考えられなかった。

4.3 AIQS-GC/MSを用いたスクリーニング分析及び標準液を用いた確認検査

AIQS-GC/MSを用いたスクリーニング分析を実施した結果、河川中から表5に示す25種の化学物質が同定された。調査対象が農業用水路であるためか、殺菌・殺虫剤系の農薬が主に検出されたが、その中に平成22年に農薬登録が失効された²⁰⁾エンドスルファン（別名：ベンゾエピン、殺虫剤）が含まれていた。なお、エラ試料からも同様にエンドスルファンが検出された。

そのため、エンドスルファンの標準液を用いて確認試験を実施した。標準液及びAIQS-DBを用いたエンドスルファンの定量結果を表6に示す。エンドスルファンの魚毒性は非常に高く、コイの急性毒性値は最も低い値で96hLC50：0.1 µg/Lとされている²¹⁾。また、代謝物であるエンドスルファンサルフェートは親化合物と同等の毒性があることが知られている²²⁾。今回、河川試料からエンドスルファンを合計2.5 µg/L検出し（α、β、代謝物合計値、以下同）、魚類エラ試料からも合計1.7 mg/kg-wetを検出した。河川中からコイの急性毒性値を上回る濃度でエンドスルファンを検出し、エラからもエンドスルファンを検出したことや、エンドスルファンが原因事例の場合、生存している魚類は旋回遊泳することが特徴と知られている²³⁾ことから、本事例の原因物質はエンドスルファンと断定し、所管課に結果を報告した。また、各定量結果を比較したところ、AIQS-DBによる定量結果は標準液定量結果に比べて同程度～1/3の範囲内に収まっており、AIQS-DBを用いた定量が異常水質特定検査に適用可能であることがわかった。

5. まとめ

令和5年9月に発生した川西町魚類へい死事例について、AIQS-GC/MSを活用し原因物質の特定を試みた。結果、河川からコイの急性毒性値96hLC₅₀：0.1 µg/Lを大

きく上回る濃度で、平成22年に農薬登録が失効したエンドスルファンが検出された。さらに、魚類エラ試料においてもAIQS-GC/MSを活用することができた。標準液定量結果とAIQS-DBによる定量結果を比較したところ、同程度～1/3の範囲内に収まっており、AIQS-DBを用いた定量が異常水質特定検査に適用可能であることがわかった。

本事例の結果は、農林関係部局や市町村にも情報提供を行い、住民への周知を依頼した。このように、販売・使用が禁止されている農薬の検出事例を関係課と共有することで、農薬の適正使用の啓発や水質事故の未然防止に役立つと考えている。

6. 謝辞

本論文をまとめるにあたり、ご指導とご助言をいただきました国立環境研究所中島大介先生及び中山崇先生に厚く御礼申し上げます。また本調査は、令和4年度から令和6年度にかけて実施している国立環境研究所Ⅱ型共同研究「災害時等における化学物質の網羅的簡易迅速測定法を活用した緊急調査プロトコルの開発」の援助を受けて行われたことを付記し、謝意を表します。

7. 引用文献

- 1) 浦西洋輔, 浦西克維, 山下浩一: 奈良県内河川(紀の川水系)におけるゴルフ場使用農薬の環境実態調査. 奈良県景観・環境総合センター研究報告, **6**, 15-20, 2018
- 2) 浦西洋輔, 浦西克維, 川辺千明, 山下浩一: 紀の川水系における農薬残留実態調査. 奈良県景観・環境総合センター研究報告, **7**, 17-25, 2019
- 3) 門上希和夫, 棚田京子, 種田克行, 中川勝博: 有害化学物質一斉分析用ガスクロマトグラフィー/質量分析法データベースの開発, BUNSEKI KAGAKU, **53**, (6), 581-588, 2004
- 4) Kadokami K., Tanada K., Taneda K., Nakagawa K.: Novel gas chromatography-mass spectrometry database for automatic identification and quantification of micropollutants. *Journal of Chromatography A*, **1089**, 219-226, 2005
- 5) Kadokami K. and Ueno D.: Comprehensive Target Analysis for 484 Organic Micropollutants in Environmental Waters by the Combination of Tandem Solid-Phase Extraction and Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry with Sequential Window Acquisition of All Theoretical Fragment-Ion Spectra Acquisition. *Analytical Chemistry*, **91**, 7749-7755, 2019
- 6) 陣矢大助, 岩村幸美, 門上希和夫, 楠田哲也: 固

- 相抽出法とGC-MS自動同定定量データベース法による水試料中半揮発性化学物質の包括分析法の開発. 環境化学, **21**, (1), 35-48, 2011
- 7) 中島大介, 鈴木剛, 中山祥嗣, 白石不二雄, 新田裕史, 小山陽介, 柳下真由子, 宮脇崇, 中島寛則, 木村淳子, 門上希和夫: 自動同定定量システム(AIQS)を活用した災害時の環境モニタリング～東日本大震災での活用と技術的展開～. 環境化学, **29**, (3), 129-137, 2019
- 8) 梅澤真一, 佐藤侑介, 高坂真一郎, 中曾根佑一, 井上俊, 町田仁: 全自動同定・定量データベースを用いた群馬県内河川中農薬流出実態の解明. 群馬県衛生環境研究所年報, **48**, 35-37, 2016
- 9) 北将大, 佐々木正人, 藤井堅亘, 岡正人: GC/MSを用いた県内河川における化学物質の網羅分析に関する研究. 岐阜県保健環境研究所報, **28**, 1-10, 2020
- 10) 川口豊太, 内藤宏孝: GC/MS自動同定定量システム(AIQS)による県内河川水中の化学物質のスクリーニング分析. 愛知県環境調査センター所報, **50**, 7-15, 2022
- 11) 新潟県: 魚類へい死事案対応マニュアル(令和4年4月)
- 12) ㈱理研グリーン: 理研スミチオン乳剤安全データシート(2023年9月20日改定)
- 13) 日本農薬㈱: アルタパールフロアブル安全データシート(2023年8月7日改定)
- 14) 日産化学株式会社: 街路樹周辺への除草剤散布に関する報道について, 2023年8月2日, https://www.roundupjp.com/information/pdf/info230802_1.pdf (2024. 3. 25アクセス)
- 15) 平井佐紀子: イオンクロマトグラフによるグリホサートの分析について, 第33回奈良県公衆衛生学会抄録(2012)
- 16) 環境省水・大気環境局水環境課: AIQS-GCによるスクリーニング分析法暫定マニュアル(令和5年3月)
- 17) 石原宏明, 齊藤弘毅, 宮崎康平, 内田大智, 西島遥, 武千尋, 木野世紀: GC/MSによる魚体エラ中の迅速な農薬一斉分析法の開発. 熊本県保健環境科学研究所報, **49**, 55-63, 2019
- 18) 環境省: 水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料, イソプロチオラン <https://www.env.go.jp/content/900544377.pdf> (2024. 3. 25アクセス)
- 19) 環境省: 水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料, シメコナゾール <https://www.env.go.jp/content/900544651.pdf> (2024. 3. 25アクセス)
- 20) (独法)農林水産消費安全技術センター: 登録・失効農薬情報 <https://www.acis.famic.go.jp/toroku/sikkouseibun.htm> (2024. 3. 25アクセス)
- 21) 水生生物保全水質検討会: 「水生生物の保全に係る水質目標について」, 平成14年8月 <https://www.env.go.jp/council/09water/y094-01/mat09.pdf> (2024. 3. 25アクセス)
- 22) 平成25年度第3回薬事・食品衛生審議会薬事分科会化学物質安全対策部会化学物質調査会化学物質審議会第127回審査部会第134回中央環境審議会環境保健部会化学物質審査小委員会配布資料1-1, 平成25年6月28日
- 23) 富田比菜, 細井健太郎, 山村貞雄, 大森真貴子, 高岡真司: 高知県における魚類へい死事故事例及びその特徴について, 平成29年度全国環境研協議会第52回日本水環境学会併設研究集会抄録(2018)