

令和7年度産業保安等調査研究事業

(化学物質規制対策

(大学・公的研究機関と連携した化学物質管理

高度化推進事業

(パッシブサンプリング技術を用いた水環境に
おける化学物質存在状況評価手法の確立)))

調査報告書

令和8年2月

静岡県公立大学法人

1. 事業目的

令和2年8月の化学物質審議会物質選定小委員会報告書において、モニタリング事例が少ない物質や新たに化管法の対象となる物質を中心に、様々な媒体による分析法の開発の必要性が指摘されている。水環境は水道の原水となることや、様々な生物が生育していることから、ヒトへの健康と生態系保護の観点から、水環境の化学物質汚染実態を把握することは重要である。しかし、水環境における化管法第一種および第二種指定化学物質やその候補物質の存在状況における知見は不足している。

水環境の化学物質を調査するために、グラブサンプリング（いわゆる採水）が実施されているものの、グラブサンプリングは課題が多い。この課題とは、スポット濃度しか得られない、サンプルの輸送コストが高い、サンプルの保管性が悪いなどである。特に、降水などの気象条件によって日内濃度変動が10倍以上になる農薬などの物質について、グラブサンプリングによる調査はリスクを過小評価する可能性が指摘されている。

グラブサンプリングの弱点を克服したサンプリング手法として、パッシブサンプリング法が開発されてきた。パッシブサンプリング法は、サンプラーを水環境に一定期間浸漬することで、浸漬期間中の化学物質の平均濃度を算出することができる手法である。パッシブサンプリング法の利点は、サンプリング頻度が比較的少ない（e.g., 1ヶ月間に1回）こと、輸送コストが低いこと、サンプルの保管性が高いこと、化学物質を濃縮するため低濃度物質を定量できることなどである。

そこで本研究では、化管法第一種指定物質および第二種指定物質のうち、水環境への移行性が高いと考えられる親水性化学物質について、パッシブサンプリングによるモニタリング手法を開発する。パッシブサンプリングによって水環境中の化学物質濃度を定量するためには、化学物質がサンプラーに捕集される速度を示すサンプリングレート（ R_s ; $L \cdot d^{-1}$ ）が必要である。化学物質について固有の値である R_s を得るため校正試験を実施する。さらに、幅広い物性の化学物質について一定の R_s を有するパッシブサンプラーを開発し、将来における指定化学物質の増加に備える。化学物質の分析には、精確性・定量性が高いガスクロマトグラフ質量分析装置（GC-MS/MS）・液体クロマトグラフ質量分析装置（LC-MS/MS）に加え、必要に応じて、数百種類以上の化学物質を同時定量可能な自動同定定量システム付きガスクロマトグラフィー（AIQS-GC）等を用いる。

2. 実験方法

2.1 対象化合物のスクリーニング

第一種指定物質および第二種指定物質から、パッシブサンプラーによって捕集可能な物質を選定した。

2.2 パッシブサンプラーの構成

パッシブサンプラーとして、親水性物質への適用例が豊富な極性有機化合物積算サンプラー(POCIS)を用いた (Fig. 1)。POCIS は、吸着剤を膜で挟み、金属リング (内径=54 mm) で固定したサンプラーである。吸着剤はHLB (220 mg)、膜はポリエーテルスルホン(PES)膜とポリテトラフルオロエチレン(PTFE)膜を用いた。PES 膜と PTFE 膜を用いた POCIS をそれぞれ、PES-POCIS、PTFE-POCIS とした。

2.3 試薬など

ジノテフラン、チアメトキサム、イミダクロプリド、クロチアニジン、アセタミプリド、チアクロプリド、トリフルメゾピリム、エチプロールおよびフィプロニルは、富士フィルム和光純薬株式会社 (大阪) より購入した。スルホキサフロル、フルピラジフルロン、フルピリミンおよびニテンピラムは、林純薬工業株式会社 (大阪) より入手した。これらは LC-MS/MS を用いて分析した。LC-MS/MS における内部標準として、アセタミプリド- d_3 、クロチアニジン- d_3 、ジノテフラン- d_3 、イミダクロプリド- d_3 、ニテンピラム- d_3 、チアメトキサム- d_3 およびチアクロプリド- d_3 (いずれも林純薬工業) をそれぞれ 10 mg L^{-1} 含有するアセトニトリル混合溶液を使用した。

農薬混合標準溶液 (WQ 1-2 および WQ 5) は富士フィルム和光純薬株式会社より購入した。これらは GC-MS/MS を用いて分析した。GC-MS/MS による分析の内部標準として、ジアジノン- d_{10} 、ジクロロボス- d_6 、EPN- d_5 、エスフェンバレレート- d_7 、フェントロチオン- d_6 、イソキサチオン- d_{10} 、クロルピリホス- d_{10} 、イソプロチオラン- d_4 、エトフェンプロックス- d_5 およびジエトフェンカルブ- d_7 (林純薬工業) を各 20 mg L^{-1} 含有するアセトン溶液を使用した。

農薬分析用グレードのアセトンおよびメタノールは関東化学株式会社 (東京) より購入し、ジクロロメタンは富士フィルム和光純薬株式会社より入手した。超純水 ($18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$) は Direct-Q UV3 (Millipore、米国) を用いて調製した。

2.4 校正試験

POCIS のサンプリングレート ($R_s ; \text{L d}^{-1}$) を算出するため、Yabuki ら (2016) の方法に準拠して校正試験を実施した。4 台の POCIS デバイスを、それぞれ農薬標準溶液 (200 ng L^{-1}) 1.5 L を含むガラス製ビーカー (内径 170 mm 、高さ 90 mm) に設置した。攪拌にはマグネチックスターラーと攪拌子 (直径 $40 \text{ mm} \times$ 長さ 14 mm) を用いた。実験は遮光条件下、室温 ($25 \text{ }^\circ\text{C}$) で実施した。POCIS の曝露期間は 1、3、7、10、21 および 28 日間とし、溶液中の濃度を一定に保つため、農薬標準溶液は毎日交換した。吸着剤を回収し、メタノール (10 mL) およびアセトン (5 mL) を用いた通液抽出を行った。溶媒の流速は 1 mL min^{-1} とした。得られた抽出液は乾固後、アセトン 1 mL に再溶解し、内部標準溶液

を添加して分析用試料とした。

R_s は、次の線形方程式をフィッティングすることによって求められた。

$$CF_t = \frac{m}{C} = R_s t \quad (1)$$

ここで、 CF_t (L) は濃縮係数、 m (μg) は吸着剤中に捕集された農薬量、 C ($\mu\text{g L}^{-1}$) はガラスビーカー中の農薬濃度、 t (d) は設置時間を表す。

2.5 機器分析

エレクトロスプレーイオン化 (ESI) モードで動作する液体クロマトグラフ (1260 Infinity II LC System, Agilent Technologies, Ltd.) にタンデム質量分析計 (6470 Triple Quadrupole, Agilent Technologies, Ltd.) を接続した LC-MS/MS を用いた。分離には Kinetex® Biphenyl カラム (粒径 2.6 μm 、細孔径 100 Å、内径 2.1 × 長さ 100 mm、Phenomenex、米国) を使用した。

電子衝撃イオン化 (EI) および多重反応モニタリング (MRM) モードで動作するガスクロマトグラフ (7890B GC System, Agilent Technologies, Ltd.) にタンデム質量分析計 (7010B Triple Quadrupole, Agilent Technologies, Ltd.) を接続した GC-MS/MS を用いた。分離には DB-5MS カラム (膜厚 0.25 μm 、長さ 30 m、内径 0.250 mm、Agilent Technologies, Ltd.) を使用した。

2.6 野外調査

野外調査を、日本の静岡県の吉田川および大阪府の飛鳥川において実施した。静岡での調査は 2023 年 7 月および 8 月、ならびに 2024 年 5 月および 6 月に実施され、大阪での調査は 2024 年 7 月から 9 月にかけて実施された。POCIS デバイスは保護用キャニスターに固定し、各河川に三連で設置した。なお、野外調査は本事業前に実施した。

本年度に、野外調査で得られたサンプルを分析した。HLB 吸着剤に吸着した農薬は、メタノール (10 mL) およびアセトン (10 mL) で抽出し、その後窒素気流下で乾固した。内部標準溶液を添加し、試料は -20°C で保存した。POCIS サンプルングから算出される農薬濃度 (C_p ; ng L^{-1}) は、以下の式により計算した。

$$C_p = \frac{m_f}{R_s t_f} \quad (2)$$

ここで、 m_f (ng) は現地試験において吸着剤上に回収された農薬量、 t_f (d) は設置期間を示す。

POCIS 設置期間中にグラブサンプルを採取した。各試料から 1 L の水をあらかじめ洗浄した褐色ボトルに移した。水温 ($^\circ\text{C}$)、pH、電気伝導率 (mS m^{-1}) は、ガラス電極式 pH メーター (HORIBA 社、京都、日本) を用いて測定した。グラブサンプルは、マニホール

ドを用いて流速 10 mL min^{-1} で 220 mg の HLB 吸着剤に通水し、農薬を HLB に吸着させた。吸着した農薬は、メタノール (10 mL) およびアセトン (10 mL) で抽出し、その後窒素気流下で乾固した。内部標準溶液を添加し、試料は -20°C で保存した。静岡および大阪におけるサンプリング頻度は、それぞれ 1 日 1 回および週 1 回であった。

3. 結果と考察

3.1 対象化合物

第一種指定物質および第二種指定物質から親水性物質 65 種を選定した。第一種指定物質から選定した化合物は、フィプロニル、メトリブジン、ブタミホス、EPN、モリネート、ホスチアゼート、エトフェンプロックス、アトラジン、シアナジン、メトラクロール、ジフェノコナゾール、プレチラクロール、アラクロール、フラメトピル、チアメトキサム、クロチアニジン、シマジン、アセタミプリド、イミダクロプリド、チアクロプリド、テブコナゾール、カフェンストロール、トルクロホスメチル、イプロジオン、プロシミドン、プロピコナゾール、ジメトエート、チフルザミド、エスプロカルブ、シアノホス、ダイアジノン、クロルピリホス、イソキサチオン、フェニトロチオン、フェンチオン、イプロベンホス、クロロタロニル、フサライド、プロメトリン、シメトリン、カズサホス、シハロホップブチル、プロパルギット、ブタクロール、ブロマシル、PFOS、フェノブカルブ、ジメタメトリン、ジノテフラン、メプロニル、メトミノストロビン、ピリブチカルブ、ジクロルボス、りん酸トリス (2-エチルヘキシル)、りん酸トリス (2-クロロエチル)、りん酸トリトリル、りん酸トリフェニル、りん酸トリブチルであった。第二種指定物質から選定した化合物は、ニテンピラム、インダノファン、シプロジニル、テトラコナゾール、ジスルホトン、ジチオピル、ベンフルラリンであった。

3.2 サンプリングレート

PES-POCIS あるいは PTFE-POCIS の R_s が得られた化合物は、ニテンピラム、イミダクロプリド、ジメトエート、アセタミプリド、スルホキサフロル、プロポックスル、フルピラジフロン、チアクロプリド、トリフルメゾピリム、イソプロカルブ、キノクラミン、ピロキロン、メトリブジン、ホスチアゼート I、フルピリミン、メタラキシル、ジクロルボス、シメトリン、(Z)-ピリミノバックメチル、ブロマシル、シマジン、メチダチオン、シアナジン、(E)-メトミノストロビン、オリサストロビン、フラメトピル、(E)-ジメチルビンホス、(Z)-ジメチルビンホス、ベンフレゼート、アトラジン、シアノホス、フェノブカルブ、マラチオン、イソプロチオラン、シプロコナゾール、エチプロール、プロピザミド、ボスカリド、メトラクロール、フサライド、イプロジオン、メチルジムロン、アラクロール、パクロブトラゾール、プロパニル、シメコナゾール、アメトリン、ジメタメトリン、ピリダフェンチオン、カフェンストロール、メフェナセット、プロシミドン、ナプロパミド、イプロベンホス、ダイアジノン、プロモブチド、プロメトリン、テトラコナゾー

ル、インダノファン、メプロニル、フェントエート、テブコナゾール、プロピコナゾール 1、フルトラニル、ウニコナゾール P、テニルクロール、アニコホス、シプロジニル、フィプロニル、カズサホス、プレチラクロール、チフルザミド、イソフェンホス、ピリミホスメチル、フェニトロチオン、ピペロホス、クロルピリホス、ジフェノコナゾール I、ブタクロール、シンメチリン、ビフェノックス、エスプロカルブ、ブタミホス、ジチオピル、ブプロフェジン、ペンディメタリン、テルブカルブ、トリフルラリンなどの 88 化合物であった (Fig. 2)。

R_s が得られた化合物のうち、第一種指定物質あるいは第二種指定物質に指定される物質は、フィプロニル、メトリブジン、ブタミホス、ホスチアゼート、アトラジン、シアナジン、メトラクロール、ジフェノコナゾール、プレチラクロール、アラクロール、フラメトピル、シマジン、アセタミプリド、イミダクロプリド、チアクロプリド、テブコナゾール、カフェンストロール、イプロジオン、プロシミドン、プロピコナゾール、ジメトエート、チフルザミド、エスプロカルブ、シアノホス、ダイアジノン、クロルピリホス、フェニトロチオン、イプロベンホス、フサライド、プロメトリン、シメトリン、ブタクロール、ブロマシル、フェノブカルブ、ジメタメトリン、メプロニル、メトミノストロビン、ジクロルボス、ニテンピラム、インダノファン、シプロジニル、テトラコナゾール、ジチオピルなどの 43 化合物であった。

PTFE-POCIS では、ペンシクロン、トリフルミゾール、クロルニトロフェン、イーピーエヌ、オリサストロビン、ビフェノックス、ホサロン、ピリプロキシフェン、シハロホップブチル、ピラクロホス、エトベンザニド、エトフェンプロックスなどの化合物について R_s 値が得られた。これらのうち、EPN、エトフェンプロックス、シハロホップブチルは第一種指定物質あるいは第二種指定物質である。一方、これらの化合物については PES-POCIS を用いた場合には R_s 値が得られなかった (Fig. 3)。この結果は、疎水性の高い農薬 ($\log K_{ow} > 4$) が PES 膜と相互作用し、内部の HLB 吸着剤への輸送が制限されている可能性を示している。先行する拡散セル試験でも報告されているように、PTFE 膜は PES 膜よりも吸着親和性が低い。したがって、PTFE 膜は、より広範な物理化学的特性を有する化合物を対象とした POCIS への適用に適していると考えられる。PTFE-POCIS の R_s 値は、エトフェンプロックスの 0.0252 L d^{-1} からエトベンザニドの 0.725 L d^{-1} の範囲であった (Figs. 2 and 3)。

PTFE-POCIS の R_s 値は、PES-POCIS の R_s よりも有意に ($p < 0.001$) 高かった (Fig. 3)。この差は、PES 膜と比較して PTFE 膜が薄いことに起因すると考えられ、これにより化学物質の移動がより促進されるためである。PTFE-POCIS および PES-POCIS の平均 R_s 値は、それぞれ 0.281 および 0.174 L d^{-1} であった。

3.3 グラブサンプリングの結果

本研究で対象とした農薬のうち、トリクロルホン、ベンフレゼート、ブロモブチド、フ

フェニトロチオン、フタリド、ジメタメトリン、ブタクロール、フルトラニル、メトミノストロビン (E)、プレチラクロール、イソプロチオラン、テブコナゾール、EPN、インダノファン、シハロホップブチル、ジノテフランは、比較的高濃度を示した (Fig. 4)。これらのうち、EPN、フェニトロチオン、ジメタメトリン、ブタクロール、メトミノストロビン (E)、プレチラクロール、テブコナゾール、インダノファン、シハロホップブチル、ジノテフランは第一種指定物質あるいは第二種指定物質である。農薬の総濃度は、大阪 (2024 年) で $421\text{--}2.27 \times 10^4 \text{ ng L}^{-1}$ 、静岡 (2023 年) で $5.83 \times 10^{-3}\text{--}830 \text{ ng L}^{-1}$ 、静岡 (2024 年) で $30.7\text{--}1.35 \times 10^3 \text{ ng L}^{-1}$ の範囲であった (Fig. 4)。農薬総濃度と降水量との間に相関は認められなかった。

静岡におけるジノテフラン、テブコナゾール、インダノファン、EPN、ブタクロール、プレチラクロールのピーク持続期間は 4 日未満であり、大阪における週 2 回のグラブサンプリングではこれらのピークを見逃した可能性が示唆された。高頻度サンプリングは短期間のピークを捉えることができるが、労力とコストを要し、長期モニタリングには適さない。そのため、農薬の時間加重平均濃度を把握するにはパッシブサンプラーが有用であると考えられた。

静岡および大阪における農薬のピーク発生時期は以下のとおりであった。フェニトロチオンは 5–8 月、イソプロチオランおよびブタクロールは 6 月上旬、プレチラクロールは 6 月中旬、プロモブチドは 6 月中旬–7 月、ジノテフラン、テブコナゾール、シハロホップブチルは 7 月下旬、フタリドは 7 月下旬–8 月、EPN は 8 月中旬であった。農薬組成の変化は、農業における農薬散布時期と一致していた (Iwafune *et al.* 2010)。

フェニトロチオン、ジノテフラン、プレチラクロールを除き、農薬濃度は影響を受ける種の割合が 5% となる濃度 (HC5) 値を下回っており、大阪および静岡における農薬の生態リスクは低いことが示された (Fig. 5)。この低リスクは、製造業者による低リスク農薬の開発、農家によるリスク低減の取り組み、および日本政府による厳格な規制に起因すると考えられる (Nagai *et al.* 2022)。種感受性分布 (SSD) に基づいて推定された HC5 値は、Nagai ら (2015) から取得した (Nagai and Taya 2015)。

大阪におけるフェニトロチオンおよびジノテフランの最大濃度は HC5 値を上回ったが、これら農薬の濃度の 90 パーセンタイル値は HC5 値を下回っており、フェニトロチオンおよびジノテフランの生態リスクは限定的であることが示された。フェニトロチオンおよびジノテフランの 90 パーセンタイル値はそれぞれ $2,130$ および $1,930 \text{ ng L}^{-1}$ であり、対応する HC5 値はそれぞれ $1,350$ および $3,680 \text{ ng L}^{-1}$ であった。

3.4 POCIS によるプレチラクロール汚染調査とリスク評価

グラブサンプリングの結果と一致して、大阪において POCIS により測定されたプレチラクロール濃度は、設置期間が 28 日間であった 2024 年 7 月 22 日に回収された試料を除き、HC5 値を上回っていた (Fig. 6)。

本研究では、日本の農業環境技術研究所が提供するテクニカルマニュアルおよび付属の.xlsx ファイル(Nagai 2016)を用いて、SSD) に基づく潜在影響割合 (PAF) を算出した。HC5 値を超過した試料のうち、最も長いサンプリング期間を示した 2024 年 8 月 19 日 (設置期間 23 日間) の試料 (Fig. 6) におけるプレチラクロール濃度は、PAF 値 16.1%に相当し、「中リスク」に分類された (Nagai 2016; Nagai *et al.* 2022)。

POCIS により測定されたプレチラクロール濃度は、大阪では 332 ng L⁻¹ (2024 年 7 月 22 日) から 68,200 ng L⁻¹ (2024 年 8 月 19 日)、静岡では 0.145 ng L⁻¹ (2023 年 8 月 8 日) から 54.0 ng L⁻¹ (2024 年 5 月 22 日) の範囲であった。グラブサンプリングの結果では、大阪におけるプレチラクロールの 90 パーセンタイル濃度 (2,920 ng L⁻¹) は HC5 値 (2,490 ng L⁻¹) を上回っていた。

3.5 POCIS の精度

グラブサンプリングにより測定された農薬濃度 (C_w ; ng L⁻¹) と POCIS サンプリングにより測定された濃度 (C_p) の間には、有意な相関が認められた (Fig. 7)。大阪および静岡において、 C_p/C_w 比が 0.1–10 の範囲に含まれたデータ点は、それぞれ 379 点および 420 点であり (Fig. 7 左図)、これは得られた C_p/C_w 比のそれぞれ 85%および 94%に相当した。静岡では、比較的高濃度の農薬試料 ($1.3 < \log C_p$) において、 $\log C_w$ および $\log C_p$ の値が C_p/C_w の 0.5–2 の範囲内に分布していた (Fig. 7 右図)。このことは、高濃度条件下での高頻度グラブサンプリングが、POCIS サンプリングおよびグラブサンプルの平均値と整合する結果を与えることを示している。

4. 結論

研究計画通り、本年度は、対象化合物を選定し、対象化合物の POCIS の R_s を得た。また、2023 年、2024 年に採取されたサンプルを分析した。その結果、第一種指定物質あるいは第二種指定物質のうち、E P N、フェニトロチオン、ジメタメトリン、ブタクロール、メトミノストロビン (E)、プレチラクロール、テブコナゾール、インダノファン、シハロホップブチル、ジノテフランが比較的高濃度で検出された。さらに、POCIS サンプルングの結果、プレチラクロール汚染の生態系へのリスクが比較的高かった。来年度は煩雑な校正試験を短縮可能な新規サンプラーの開発を実施する予定である。

Figures

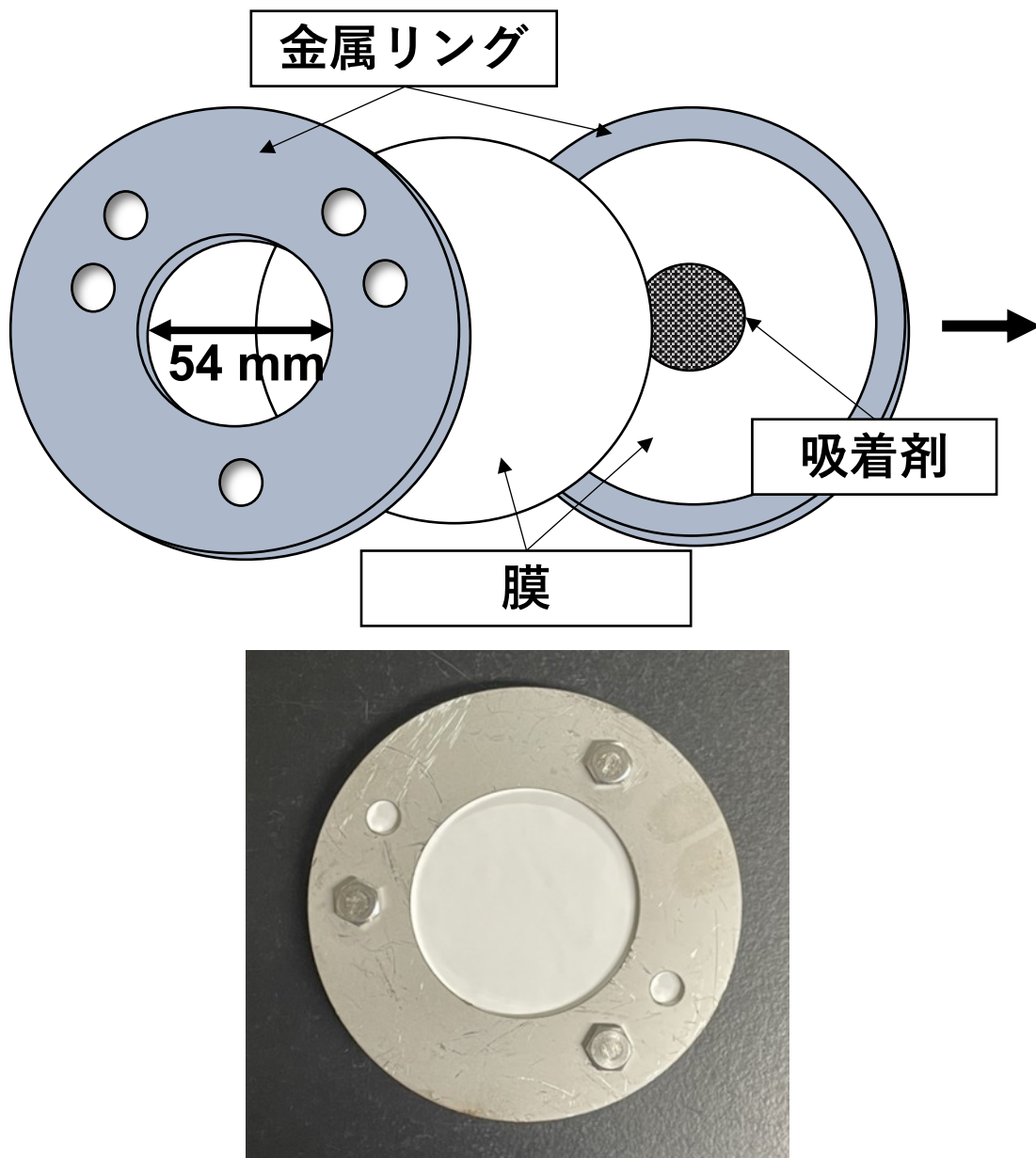


Fig. 1 極性有機化合物積算サンプラー(POCIS)の模式図(上)と写真(下)

論文投稿用の図であるため非掲載

Fig. 2 PES-POCIS および PTFE-POCIS のサンプリングレート ($L d^{-1}$)

論文投稿用の図であるため非掲載

Fig. 3 PES-POCIS および PTFE-POCIS のサンプリングレート ($L d^{-1}$) の比較
**** $p < 0.001$ 。

論文投稿用の図であるため非掲載

Fig. 4 グラブサンプリングによって得られた農薬の組成および総濃度

論文投稿用の図であるため非掲載

Fig. 5 現地試験においてグラブサンプリングにより得られた農薬濃度

論文投稿用の図であるため非掲載

Fig. 6 現地試験において、極性有機化学物質積算サンプラー（POCIS）により測定されたプレチラクロールの時間加重平均濃度。破線は5%有害濃度（HC5）を示す。*は不検出を示す。

論文投稿用の図であるため非掲載

Fig. 7 現地試験におけるグラブサンプリングによって得られた農薬濃度（ C_w ; ng L^{-1} ）と POCIS サンプリングによって得られた農薬濃度（ C_p ; ng L^{-1} ）の相関。試料数は3である。エラーバーは標準偏差（ $\pm 1 \text{ SD}$ ）を示す。左図は全データ、右図は静岡で採取された試料のうち $\log C_w$ 値が 1.3 を超えるデータを抽出したものである。実線は $y = x$ を示し、黒色破線は $y = x \pm 1$ 、紫色破線は $y = x \pm 0.3$ を示す。

References

Iwafune T, Inao K, Horio T, Iwasaki N, Yokoyama A, Nagai T. 2010. Behavior of paddy pesticides and major metabolites in the Sakura River, Ibaraki, Japan. *Journal of Pesticide Science* 35:114-123. DOI: 10.1584/jpestics.G09-49.

Nagai T. 2016. Analysis of species sensitivity distribution for ecological risk assessment of pesticides. In Sciences NIFA-E, ed.

Nagai T, Taya K. 2015. Estimation of herbicide species sensitivity distribution using single-species algal toxicity data and information on the mode of action. *Environmental Toxicology and Chemistry* 34:677-684. DOI: <https://doi.org/10.1002/etc.2828>.

Nagai T, Yachi S, Inao K. 2022. Temporal and regional variability of cumulative ecological risks of pesticides in Japanese river waters for 1990–2010. *Journal of Pesticide Science* 47:22-29. DOI: 10.1584/jpestics.D21-054.