

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：82405

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K14266

研究課題名（和文）生活や農畜産活動から排出される化学物質をマーカーとした地下水の由来と汚染源の推定

研究課題名（英文）Identification of origins and pollution sources of ground water using chemical substance markers discharged from living, agriculture, and livestock activities

研究代表者

竹峰 秀祐 (Takemine, Shusuke)

埼玉県環境科学国際センター・化学物質・環境放射能担当・専門研究員

研究者番号：40512380

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、浸透水が生活系、畜産系、もしくは農業系のいずれに由来するかを判断するマーカー候補物質を選定し、それらのLC/MS/MSでの一斉分析法を確立した。確立した分析法で地下水や河川等の試料を分析し、マーカー候補物質を検出・定量した。土壌バッチ・カラム試験を実施し、マーカー候補物質の土壌浸透性について調べた。その結果、マーカー候補物質は土壌に浸透しやすく、マーカーとして適していることを確認した。硝酸性窒素濃度が高い地域の湧水のモニタリング調査から、人工甘味料は生活系の浸透水のマーカーとして有効であり、ネオニコチノイド系殺虫剤は農業系の浸透水のマーカーとして有効であることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マーカー物質を測定し各種浸透水の影響を個別に判断する手法は、地下水の由来ならびに汚染源を把握するための一つの方法となり得ることを示した。我が国での地下水保全上の課題の一つとして、環境基準の超過率が最も高い硝酸性窒素等による汚染が挙げられている。本手法は、既存の化学分析法では判別が困難であった複合汚染の場合の汚染源の把握に利用できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, candidates of marker compound for identifying whether leachates are derived from domestic waste water, agriculture, or livestock, were selected and its analytical method by LC/MS/MS was developed. The candidates of marker compound in ground water and river water could be detected and determined by the method. Soil batch and column tests were conducted to confirm leachability of the candidates of marker compound. The results indicated that the candidates of marker compound were leachable in soil and suitable for makers. It was confirmed that an artificial sweetener was applicable for the marker of leachates from domestic waste water and neonicotinoid insecticides were applicable for the marker of leachates from agriculture through monitoring of spring waters at areas where nitrate-nitrogen levels had been high.

研究分野：環境化学

キーワード：地下水 硝酸性窒素 マーカー LC/MS/MS 人工甘味料 動物用医薬品 ネオニコチノイド系殺虫剤

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

わが国では「水循環基本法」により「水循環基本計画」が策定され、健全な水循環系を確保し、水循環の視点において地下水挙動を把握した上で持続可能な地下水の保全と利用を図ることがこれまで以上に求められるようになった。地下水保全上の課題の一つとして、環境基準の超過率が最も高い硝酸性窒素等による汚染が挙げられる。硝酸性窒素等の高濃度汚染のほとんどは人間活動に起因する。主な汚染源として、過剰施肥等の農業系由来のもの、家畜排せつ物の不適正処理による畜産系由来のもの、下水の漏えいによる生活系由来のものが挙げられている¹⁾。これら汚染源に由来する水が地下に浸透し、硝酸性窒素等による汚染の原因となる。汚染対策を推進するためには、汚染源を的確に把握するため、地下水の由来を判別する科学的手法が必要である。

硝酸性窒素等による地下水の汚染を推定する科学的な手法として、地下水の各種イオン濃度を比較するイオンダイアグラム法や、窒素安定同位体比から地下水の由来を判別し、汚染源を推定する方法が提示されている。ただし、現在までのところ、これら既存の方法で汚染源を明確に判別できた例は少ない。この原因は、地下水が複数の種類の浸透水の影響を受けている場合、分析値が平均化され判別が困難になることが一つの要因として考えられる。

2. 研究の目的

日常生活や産業活動では、目的や用途に応じて種々の化学物質が使用・排出され、人為的影響を受けた水には何らかの人工化学物質が含まれることが多い。利用用途が限定される人工化学物質は、特定の浸透水にしか含まれないものがある。本研究では、生活系、農業系、および畜産系浸透水に特異的に含まれる人工化学物質をマーカーとして用いることで、地下水に対する各種浸透水の影響を個別に評価し、ひいては硝酸性窒素の汚染源推定への活用することが出来ると考えた。

そこで、本研究では、生活系、農業系、および畜産系の浸透水、それぞれを特徴づける人工化学物質マーカー候補物質(以下、マーカー候補物質)の選定と分析法の確立、地下水等でのマーカー候補物質の検出状況の確認、マーカー候補物質の土壌での挙動を把握するための試験の実施、硝酸性窒素等の高濃度地区におけるマーカー候補物質の適用性評価、並びに汚染源推定を目的として研究を行った。

3. 研究の方法

(1) マーカー候補物質の選定および分析法の検討

文献から、生活系、畜産系、および農業系の浸透水の特徴づけ、水溶性が高く、国内流通量の多い人工化学物を調べ、それらをマーカー候補物質として選定した。

選定したマーカー候補物質について、LC/MS/MSによる一斉分析法を検討した。

(2) 地下水中のマーカー候補物質の測定

平成30～令和元年度に採取した埼玉県内の井戸から採取した地下水試料(174検体)をマーカー候補物質の測定に供した。地下水試料を固相抽出法で前処理を行った後、LC/MS/MSでマーカー候補物質を測定した。

(3) 河川や下水処理場での人工甘味料の調査

埼玉県内河川での調査

人工甘味料(スクラロースおよびアセスルファム)が生活系マーカー物質として有効か更なる検証を行うため、埼玉県内の38地点の河川水(荒川流域および利根川流域)を2019年4月に採取し、測定に供した。また、逆流がなく流域人口が計算できた荒川流域の調査地点(19地点)において人工甘味料と生活排水混入率の相関を調べた。生活排水混入率は、生活排水量を河川流量の年間平均で除することで算出した。生活排水量は試料採取地点の上流の流域人口から推計した。流域人口は、試料採取地点上流の排水処理施設の処理人口に下水道に接続していない流域人口を加えたものとした。この流域人口と1人当たりの汚水量(250L/人・日)の積を生活排水量とした。

日本の河川における調査

日本各所の河川83地点で採水し、101試料(冬季:46試料、夏季:55試料)を得た。試料を固相抽出後、測定対象物質をLC/MS/MSで測定した。測定対象物質はスクラロースに加え、人工甘味料のアセスルファムとした。

下水処理場での調査

下水処理場での各処理工程で採水し、人工甘味料濃度を測定した。更に、放流水を1時間ごとに採水し、人工甘味料濃度の時間変動を調べた。

(4) マーカー候補物質の土壌中の挙動に係る試験

土壌吸着バッチ試験および土壌カラムリーチング試験を実施した。対象物質はスクラロース、アセスルファム、スルファメトキサゾール、ジノテフラン、クロチアニジン、およびイミダクロプリドとした。試験土壌は、園芸用の赤土および黒土を自然乾燥した後、2mmのふるいを通してのものを使用した。土壌吸着バッチ試験:OECD 106を参考に試験を行った。PP瓶に各種土壌

を任意の量を加え、0.01 M CaCl₂を加えた。対象物質を添加した後、恒温槽で試料を 48 時間振とうした。浸とう後、ただちに水相を分取し、ろ過した後、LC/MS/MS で測定した。

土壌カラムリーチング試験は OECD 312 を参考に試験を行った。黒土を内径 4cm、長さ 30 cm のガラスカラムに充填し、土壌カラムとした。土壌カラムの入口に対象物質を添加したのち、0.01 M CaCl₂ を約 0.2 mL/min の流速で 700 mL 程度送液した。浸透水をフラクションコレクターで分取し、LC/MS/MS で測定した。比較用として塩化物イオンを添加し、同様の試験を行った。
(5) 硝酸性窒素等の高濃度地域における高頻度モニタリング

過去の調査から硝酸性窒素濃度が高かった (5 mg/L 以上) 埼玉県内の湧水を対象として調査を行った。地点は 6 地点 (日高・坂戸地域: 3 地点、入間・狭山地域: 3 地点) とし、毎月採水を行った。LC/MS/MS を用いてマーカー候補物質の濃度を測定した。IC を用いイオン成分 (陰イオン: Cl⁻、SO₄²⁻、NO₃⁻、NO₂⁻、陽イオン: Na⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺) 濃度を測定した。HCO₃⁻ は、アルカリ度を滴定法で測定し、換算係数を乗じて算出した。加えて pH を測定した。

4. 研究成果

(1) マーカー候補物質の選定および分析法の検討結果

生活系は人工甘味料 2 種 (スクラロース、アセスルファム) を、畜産系は動物用医薬品 3 種 (スルファメトキサゾール、スルファジミジン、スルファジメトキシシン) を、農業系はネオニコチノイド系殺虫剤 5 種 (ジノテフラン、アセタミプリド、クロチアニジン、チアクロプリド、イミダクロプリド) をマーカー候補物質に選定した。

水試料を固相抽出法で前処理を行った後、LC/MS/MS でマーカー候補物質を測定する方法を確立した。人工甘味料は HILIC モードで測定を行い、サルファ剤およびネオニコチノイド系殺虫剤は逆相モードで測定する条件とした。検量線の r^2 は全物質ともに >0.99 であった。添加回収試験の回収率は、89% (スルファメトキサゾール) ~ 103% (クロチアニジン) となった。検出下限値は 0.5 ng/L (アセスルファム) ~ 5 ng/L (スクラロース) となった。

(2) 地下水中のマーカー候補物質の測定結果

地下水 174 検体から、スクラロース (115/174)、アセスルファム (152/174)、スルファメトキサゾール (11/174)、スルファジメトキシシン (2/174)、ジノテフラン (71/174)、クロチアニジン (27/174)、イミダクロプリド (17/174) が検出された。検出頻度の高かったスクラロース、アセスルファム、およびジノテフランの濃度のヒストグラムを図 1 に示す。図 1 の、a) の行は概況調査井戸 (埼玉県内をスクリーニング的に調査している井戸) から採取した地下水試料のデータを示し、b) の行は継続監視井戸 (過去に硝酸性窒素等の汚染の基準超過が認められ、継続的に監視している井戸) から採取した地下水試料のデータを示している。スクラロース、アセスルファム、およびジノテフランの検出率および濃度分布は、概況調査井戸に比べて継続監視調査井戸で高かった。これら物質は、硝酸性窒素汚染と関係があることがうかがえた。

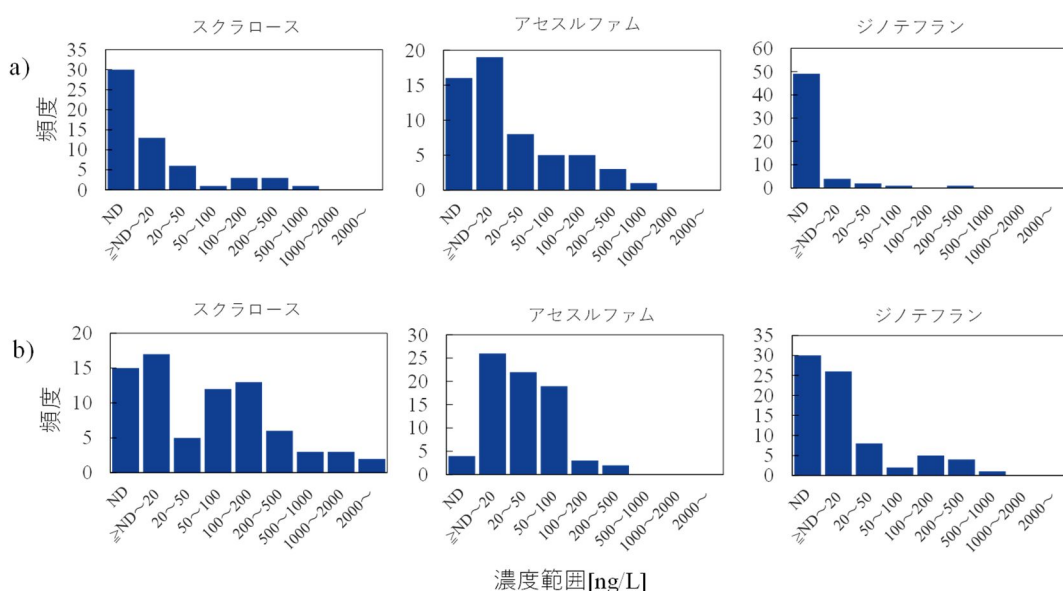


図 1 地下水中のマーカー候補物質濃度のヒストグラム、a) 概況調査井戸 (n=57)、b) 継続監視調査井戸 (n=117) ”ND”は不検出を示す

(3) 河川や下水処理場での人工甘味料の調査 埼玉県内河川での調査結果

人工甘味料のスクラロースおよびアセスルファムが、38 地点中 37 地点から検出された。検出されなかった 1 地点は、山間部の人がほとんど住んでいない地域であり、生活排水の流入がない地点であった。また、上流に下水処理場がない地点において人工甘味料が検出されたことから、浄化槽等からの生活排水が流入している地点でも人工甘味料が検出されることを確認した。最高濃度は、スクラロースは 14 $\mu\text{g/L}$ 、アセスルファムは 2.9 $\mu\text{g/L}$ であった。スクラロースの最大濃度が検出された地点は、生活排水混入率が最も高かった地点であった。

図 2 に生活排水混入率と人工甘味料濃度の散布図を示す。スクラロース濃度と生活排水混入率の間に正の相関 ($r = 0.96$, $p < 0.01$) が認められた。一方、アセスルファムでは相関は認められなかった ($r = -0.136$, $p > 0.05$)。生活排水混入率と相関が高いスクラロースは、生活系マーカー物質として有効であることを確認した。

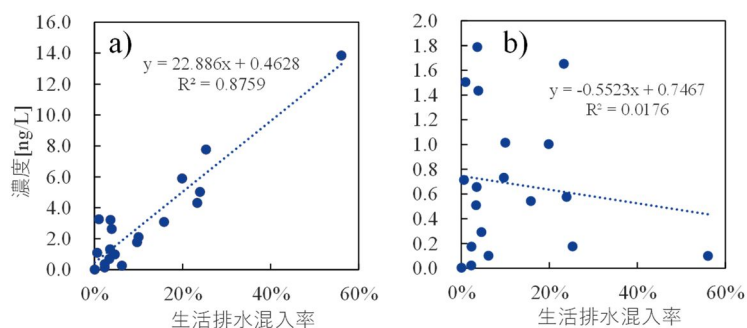


図 2 人工甘味料濃度と生活排水混入率、a)スクラロース、b)アセスルファム

全国の河川水の調査結果

スクラロース濃度と生活排水混入率の間に正の相関 ($r = 0.88$, $p < 0.01$) が認められ、アセスルファム濃度と生活排水混入率の間には相関 ($r = 0.087$, $p > 0.05$) は認められなかった。これは、埼玉県 of 河川を対象とした結果と同様であり、スクラロースは全国でも利用可能な生活系マーカー物質となることを確認した。

下水処理場での調査結果

スクラロースは、9.3 $\mu\text{g/L}$ ~ 13 $\mu\text{g/L}$ で検出され、処理過程で濃度の変動はほとんど見られなかった。アセスルファムは流入水では 27 $\mu\text{g/L}$ であったが、反応槽で大幅に濃度が低下しており、放流水では 2.0 $\mu\text{g/L}$ であった。

1 時間ごとに採水した放流水中のスクラロースは平均 $12 \pm 1.1 \mu\text{g/L}$ 、アセスルファムは平均 $2.2 \pm 0.66 \mu\text{g/L}$ で検出され、スクラロース、アセスルファムともに顕著な濃度の時間変動は見られなかった。また、放流水中のスクラロース濃度は、年間需要量から推定した生活排水中のスクラロース濃度 (11 ~ 15 $\mu\text{g/L}$) と概ね一致し、排出されたスクラロースは、下水処理場で分解されることなく放出されていることが示唆された。

(4) マーカー候補物質の土壌中の挙動に係る試験結果

土壌吸着バッチ試験の結果を表 1 に示す。添加量の 20% 以上の吸着が認められた固液比の実験結果から K_d を算出した。スクラロースは、赤土および黒土とも固液比 1:1 でも吸着が認められなかったため、 K_d が算出できなかった ($K_d < 0.25$)。スクラロースは土壌にほとんど吸着されないと考えられる。ほかの物質の K_d の範囲は、赤土で 0.40 (ジノテフラン) ~ 11 (クロチアニジン)、黒土で 0.54 (アセスルファム) ~ 18 (クロチアニジン) となった。

土壌カラムリーチング

試験結果：浸透水から、スクラロース、アセスルファムが検出された。ほかの物質は、浸透水から検出されなかったため、土壌カラムに留まっていることや分解していることが考えられる。また、スクラロースおよびアセスルファムは、塩化物イオンの溶出液量と大きく変わらず、極めて土壌に浸透しやすいことを確認

表 1 K_d の算出結果

土壌	スクラロース	アセスルファム	スルファメトキサゾール
赤土	<0.25	1.1	2.3
黒土	<0.25	0.54	9.5

土壌	ジノテフラン	クロチアニジン	イミダクロプリド
赤土	1.7	11	3.8
黒土	4.7	18	16

した。

(5) 硝酸性窒素等の高濃度地域における高頻度モニタリング結果

今回の調査地点は、地形及び地質から、いずれも「崖線タイプ」の湧水と考えられた。また、2015年農林業センサス作付けデータ²⁾および埼玉県主要作物基準施肥量³⁾から、採水地点付近の農業および施肥の状況を調査した。作付面積が多く、施肥量が多い作物は、栗および白菜(日高・坂戸地域)、茶(入間・狭山地域)であった。

湧水の硝酸性窒素濃度の基準超過(>10 mg/L)はなかった。湧水と河川水のpHおよびイオンバランスを比較した結果、河川からの涵養の影響は少なく、雨水の浸透水の影響が大きい湧水と考えられた。

日高・狭山地域では、人工甘味料のスクラロースおよびアセスルファム、ネオニコチノイド系殺虫剤のジノテフランが検出された。また、スクラロース濃度と硝酸性窒素濃度の変動が一致した地点があった(図3 a))。その地点は、スクラロース濃度の濃度が高い場合は、生活排水の影響の指標であるCl⁻およびNa⁺濃度も高い傾向にあり、生活排水が混入していることが裏付けられた。採水地点周辺は公共下水道が未整備の地域であることから、浄化槽等の生活排水が浸透したと考えられる。加えて、3地点ともジノテフランも検出されており、施肥(硫酸アンモニウム)の影響の指標となるSO₄²⁻濃度も比較的高いことから、農地からの浸透水の影響がある湧水であることが示唆された。

入間・狭山地域では人工甘味料のスクラロース、アセスルファム、およびネオニコチノイド系殺虫剤のジノテフラン、クロチアニジンが検出された。硝酸性窒素濃度とSO₄²⁻濃度の変動が一致していた地点があり(図3 b))。茶業で使用されることが多いクロチアニジンが検出されており、茶畑からの窒素の溶脱の影響があると考えられる。また、降雨が多く、農地からの浸透水の量が増加すると考えられる夏季に、スクラロース濃度が低下していた。農地からの浸透水と生活排水の混入割合の変化を反映したと考えられる。

これらから人工甘味料は生活系の浸透水のマーカーとして有効であり、ネオニコチノイド系殺虫剤は農業系の浸透水のマーカーとして有効であることを確認した。マーカー物質を測定し各種浸透水の影響を個別に判断する手法は、地下水の由来ならびに汚染源を把握するための一つの方法となり得ることを示した。

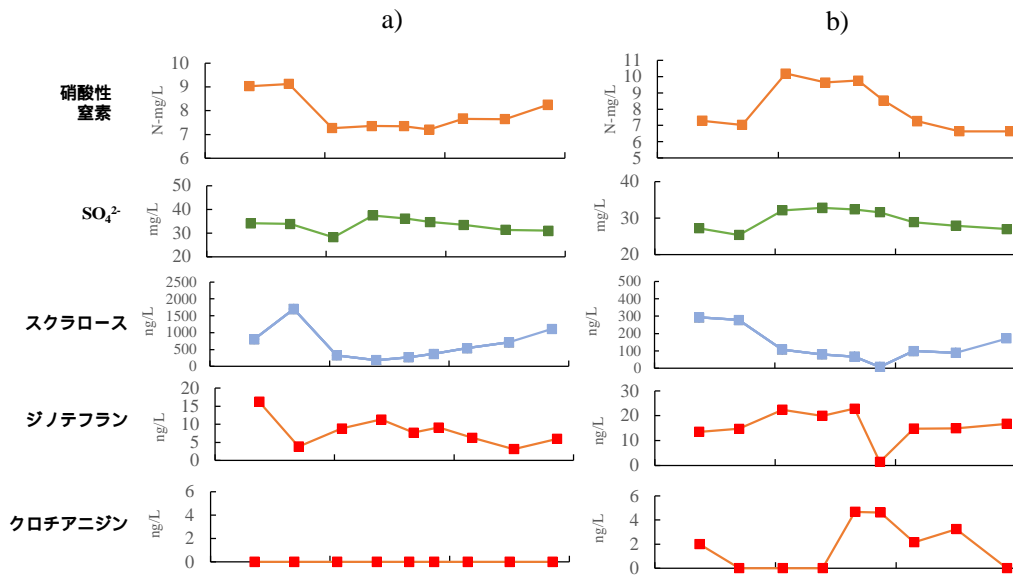


図3 モニタリング結果抜粋、a) 日高・狭山地域の湧水、b) 入間・狭山地域の湧水

【参考文献】

- 1) 環境省、硝酸性窒素等による地下水汚染対策マニュアル
- 2) 政府統計の総合窓口 (e - S t a t) 2015年農林業センサス、<https://www.e-stat.go.jp/>
- 3) 埼玉県農林部農業支援課、主要農作物施肥基準 (2013)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 柴森咲紀、竹峰秀祐、見島伊織
2. 発表標題 全国の河川における人工甘味料の実態と下水マーカ-としての有効性
3. 学会等名 第24回日本水環境学会シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹峰秀祐
2. 発表標題 LC-QToFMS を用いた地下水試料のキャラクタリゼーションと環境分子マーカ-の探索
3. 学会等名 第24回日本水環境学会シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹峰 秀祐、磯部 友護
2. 発表標題 土壌中の親水性化学物質の吸着および浸透挙動
3. 学会等名 第29回環境化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柴森咲紀、竹峰秀祐、見島伊織、三小田憲史
2. 発表標題 河川・下水処理場の人工甘味料の実態および下水マーカ-としての評価
3. 学会等名 第23回日本水環境学会シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柴森咲紀、竹峰秀祐、池田和弘、見島伊織
2. 発表標題 下水処理場における人工甘味料の挙動と放流水濃度の時間変動
3. 学会等名 第55回日本水環境学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹峰秀祐、大塚宜寿、野尻喜好、柿本貴志
2. 発表標題 人工化学物質をマーカーとして用いた地下水の汚染源特定
3. 学会等名 日本環境化学会 第28回環境化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹峰秀祐、大塚宜寿、野尻喜好、柿本貴志
2. 発表標題 地下水中人工化学物質マーカーを用いた硝酸性窒素の起源の解析
3. 学会等名 日本水環境学会 第22回日本水環境学会シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shusuke Takemine, Nobutoshi Ohtsuka, Kiyoshi Nojiri, Takashi Kakimoto, and Yuichi Horii
2. 発表標題 Identification of groundwater pollution sources using artificial compounds as marker
3. 学会等名 SETAC North America 40th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹峰秀祐
2. 発表標題 地下水汚染源推定のための人工甘味料の分析
3. 学会等名 第21回日本水環境学会シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 S. Takemine, M. Motegi, Y. Horii
2. 発表標題 Analysis of artificial sweeteners by hydrophilic interaction chromatography
3. 学会等名 The SETAC North America 39th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関