

水道における化学物質の毒性、挙動
及び低減化に関する研究

報 告 書

平成 12 年度

水道における化学物質の毒性、挙動及び低減化に関する研究

(平成12年度、順不同、敬称略)

主任研究者	眞柄 泰基	北海道大学大学院工学研究科
分担研究者	国包 章一	国立公衆衛生院水道工学部
	相澤 貴子	国立公衆衛生院水道工学部
	安藤 正典	国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
	長谷川隆一	国立医薬品食品衛生研究所総合評価研究室
	西村 哲治	国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
	小泉 清	横浜市水道局水質課
	伊藤 禎彦	京都大学大学院工学研究科
	伊藤 雅喜	国立公衆衛生院水道工学部

農薬分科会

相澤 貴子	国立公衆衛生院水道工学部
安藤 正典	国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
西村 哲治	国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
類家 博治	八戸圏域水道企業団工務部
中村 一誠	神奈川県内広域水道企業団浄水部
吉崎 壽貴	大阪市水道局工務部水質試験所
高橋 清	仙台市水道局給水部水質検査課
埴岡 伸光	国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
森屋 一彦	佐久水道企業団佐久水道水質検査協議会
村井 伸顕	奈良県水道局桜井浄水場水質課
中川 喜雄	埼玉県企業局水質管理センター
井上 剛	福岡県南広域水道企業団施設部
中川 順一	東京都立衛生研究所環境保健部

マイクロキスティン分科会

国包 章一	国立公衆衛生院水道工学部
伊藤 雅喜	国立公衆衛生院水道工学部
近藤 文雄	愛知県衛生研究所
神野 透人	国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
中澤 裕之	星薬科大学
辻 清美	神奈川県衛生研究所生活環境部
秋葉 道宏	国立公衆衛生院水道工学部

1, 4-ジオキサン分科会

安藤 正典	国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
西村 哲治	国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
相澤 貴子	国立公衆衛生院水道工学部
庄司 成敬	神奈川県環境科学センター水質環境部
塩出 貞光	大阪市水道局工務部水質試験所
原口 公子	北九州市水道局浄水部水質試験所
汐崎 淳	阪神水道企業団管理部
川地 利明	北千葉広域水道企業団北千葉浄水場
大澤 英治	川崎市水道局浄水部

島垣 純
大野 浩一

東京都水道局水質センター企画調査課
北海道大学大学院工学研究科

非イオン界面活性剤分科会

安藤 正典
西村 哲治
相澤 貴子
庄司 成敬
塩出 貞光
原口 公子
汐崎 淳
川地 利明
大澤 英治
島垣 純
大野 浩一
田畑 彰久

国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
国立公衆衛生院水道工学部
神奈川県環境科学センター水質環境部
大阪市水道局工務部水質試験所
北九州市水道局浄水部水質試験所
阪神水道企業団管理部
北千葉広域水道企業団北千葉浄水場
川崎市水道局浄水部
東京都水道局水質センター企画調査課
北海道大学大学院工学研究科
国土環境株式会社環境創造研究所

有機化合物一斉測定方法分科会

安藤 正典
西村 哲治
中川 順一
伊藤 保
宇田川富男
嶋田 俊夫
加藤 信弥
寺嶋 勝彦
寺内 修
中野 淑雄
高木 博夫
中野 康晴

国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
東京都立衛生研究所環境保健部
大阪府水道部庭窪浄水場
東京都水道局水質センター検査課
横浜市水道局浄水部
仙台市水道局水質検査課
大阪市水道局工務部
千葉県水道局水質センター調査課
福岡地区水道企業団水質センター
国立環境研究所地域環境研究グループ
大阪府水道部水質管理センター

重金属分科会

眞柄 泰基
国包 章一
小泉 清
赤嶺 永正
高坂 恒
庄司 明
杉浦 美昭
林 広宣
伊藤 雅喜

北海道大学大学院工学研究科
国立公衆衛生院水道工学部
横浜市水道局水質課
沖縄県企業局水質管理事務所
札幌市水道局工務部
北千葉広域水道企業団北千葉浄水場
愛知県水質試験所
大阪市水道局水質試験所
国立公衆衛生院水道工学部

ハロ酢酸等親水性消毒副生成物分科会

相澤 貴子	国立公衆衛生院水道工学部
伊藤 禎彦	京都大学大学院工学研究科
井上 剛	福岡県南広域水道企業団施設部
浅見 真理	国立公衆衛生院水道工学部水質管理室
伊藤 睦雄	茨城県企業局水質管理センター
小林 健一	阪神水道企業団建設部
浅野 雄三	奈良県水道局桜井浄水場水質課
服部 和夫	大阪府水道部水質管理センター
鈴木 朗	横浜市水道局水質課
赤嶺 永正	沖縄県企業局水質管理事務所
亀井 翼	北海道大学大学院工学研究科
川地 利明	北千葉広域水道企業団北千葉浄水場
島垣 純	東京都水道局水質センター企画調査課

毒性評価分科会

長谷川隆一	国立医薬品食品衛生研究所総合評価研究室
西村 哲治	国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
伊藤 禎彦	京都大学大学院工学研究科

消毒リスク管理分科会

眞柄 泰基	北海道大学大学院工学研究科
国包 章一	国立公衆衛生院水道工学部
相澤 貴子	国立公衆衛生院水道工学部
安藤 正典	国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
西村 哲治	国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
小泉 清	横浜市水道局水質課
伊藤 禎彦	京都大学大学院工学研究科
浅見 真理	国立公衆衛生院水道工学部水質管理室
佐々木 隆	阪神水道企業団管理部
遠藤 卓郎	国立感染症研究所寄生動物部
土佐 光司	金沢工業大学環境系環境質保全コア
平田 強	麻布大学環境保健学部健康環境科学科
片山 浩之	東京大学大学院工学系研究科
堤 行彦	(株)クボタ 大阪上下水プラント技術
船水 尚行	北海道大学大学院工学研究科
大野 浩一	北海道大学大学院工学研究科

目次

総括研究報告書	1
(1) 未規制又は未監視の化学物質の存在状況等に係る研究	
分担研究報告書	7
I. 水系における農薬の挙動及び水道における存在状態の把握に関する研究	
1. はじめに	26
2. 実態調査結果	37
3. 本研究のまとめ	101
II. ミクロキスティンの水系における挙動及び水道における存在の状況調査	
1. 水道原水・浄水中のミクロキスティン、アトキシシン濃度の実態調査	103
2. Anatoxin-a の塩素処理による分解挙動及びその分解生成物の毒性に関する研究	108
3. ラット肝細胞のシグナル伝達及び遺伝子発現に対する Microcystin-LR の影響に関する研究	120
<添付資料> Toxic Cyanobacteria in Water 文献抄録	125
III. 1,4-ジオキサンの水道水源水域等における実態調査等	
1. はじめに	187
2. 実態調査	187
3. マーケットバスケット方式による1,4-ジオキサンの一日摂取量調査の予備研究	211
IV. 非イオン界面活性剤の発泡特性および実態調査等	
1. 非イオン界面活性剤分析法の検討	218
2. 界面活性剤の発泡特性	223
3. 実態調査	234
V. 有機化合物(農薬)の一斉分析法の開発	
1. WHO 検討対象6農薬の分析方法の検討	244
2. WHO 検討対象農薬の高速クロマトグラフによる分析方法の検討	257
(2) 浄水処理における除去・生成機構の理論的解明に係る研究	
分担研究報告書	263
I. 重金属等無機物質の浄水処理における挙動	
1. ホウ素試験方法についての検討	273
2. 鉛の溶出試験について	278
3. 水道における鉛のモニタリング及び制御	283
4. 水道用硬質塩化ビニル管等からの有機スズの溶出に関する研究	296
5. アンチモン除去に関する研究	315

II.	塩素処理、オゾン処理等における副生成物の生成実態及び生成機構と処理技術	
1.	ハロ酢酸低減化に関する処理技術	349
2.	ハロ酢酸の分析方法の検討	386
3.	ハロ酢酸の生成特性	394
4.	バイオアッセイからみた塩素処理水の指標副生成物に関する研究	414

(3) 毒性情報が不足している物質の毒性評価に係る研究

分担研究報告書	433
---------	-----

I.	毒性情報が不足している物質の毒性評価に係わる文献調査	
1.	ジオキサン	441
2.	エピクロロヒドリン (ECH)	443
3.	ヘキサクロロブタジエン (HCBD)	445
4.	考察	447
	<添付資料>	449
II.	水道水のリスクマネジメント分科会報告	
1.	水道水質に関わる健康リスクの発生構造等に関する考察	477
2.	消毒副生成物のリスク管理—トレードオフからリスク制御へ—	481
3.	水道水の微生物学的リスクと消毒副生成物によるリスクの検討フレームについて	489
4.	浄水処理技術における微生物リスクの管理	494
5.	リスク管理の概念に基づく原虫汚染問題の解釈とリスク回避策	505
6.	水道におけるクリプトスポリジウム問題に対する私見	510
7.	わが国における水道を原因とする感染症の集団発生事例	516
8.	水供給におけるクリプトスポリジウム起因のリスク計算手法	522
9.	クリプトスポリジウムによる断水の被害額算定	527
10.	バイオアッセイからみた塩素処理水の指標副生成物に関する研究	530
11.	活性分子種を産出する消毒副生成物のリスク評価に関するバイオアッセイ	535

総括研究報告書

水道における化学物質の毒性、挙動及び低減化に関する研究

主任研究者 眞柄 泰基 北海道大学大学院工学研究科 教授

研究要旨

2003年のWHO飲料水水質ガイドラインの全面改訂に対応し、我が国の水道水質に関する基準も全面的に見直す必要が生ずると考えられ、厚生省生活環境審議会水道部会水質専門委員会で調査研究の実施を指摘された事項を中心に研究を実施した。すなわち、(1)未規制又は未監視の化学物質の存在状況等に係る研究、(2)浄水処理における除去・生成機構の理論的解明に係る研究、(3)毒性情報が不足している物質の毒性評価に係る研究をそれぞれ実施した。

その結果、(1)の課題の研究では①フェノカルブ等の農薬、マイクロキスティンの水系における挙動及び水道における存在状況の把握、②非イオン界面活性剤等に由来する1,4-ジオキサン水道における存在状況の把握、③非イオン界面活性剤の発泡性に関する水道における限界濃度の定量、④有機化学物質の包括的一斉分析手法の開発を行った。(2)の課題では、①重金属等無機物質の凝集処理過程における挙動解明、②塩素処理、オゾン処理等消毒処理により生成される消毒副生成物の生成機構および化学物質の塩素処理による副生成物と化学物質の変化について明らかにする事ができた。また、(3)の課題では、①毒性情報が不足している物質の暴露量評価方法や②毒性試験に係る文献調査及び評価を行った。

分担研究者氏名

国包 章一	国立公衆衛生院 水道工学部 部長
相澤 貴子	国立公衆衛生院水道工学部 水質管理室長
安藤 正典	国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部 部長
長谷川隆一	国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 総合評価研究室長
西村 哲治	国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部 第3室長
小泉 清	横浜市水道局水質試験所所長
伊藤 禎彦	京都大学大学院工学研究科 助教授
伊藤 雅喜	国立公衆衛生院水道工学部 水道計画室長

全面改訂に対応し、我が国の水道水質に関する基準も全面的に見直す必要が生ずると考えられ、このため、未規制、未監視の化学物質の水道における存在状況の把握、浄水処理における除去・生成・制御機構の理論的解明、毒性情報の収集・評価といった化学物質に関する科学的情報、知見が必要となる。

WHOガイドラインは2003年の全面改訂までの間でも逐次改訂され、1998年の一部改訂(追補の刊行)に対応した我が国の水道水質に関する基準の見直しに必要となる科学的情報については、主任研究者が平成9年度厚生科学研究費補助金の交付を受けて実施した「WHO飲料水水質ガイドライン改訂に対応するための化学物質等に関する研究」により得られ、厚生省の生活環境審議会水道部会水質管理専門委員会での検討に活用されたところであるが、同委員会において一部の物質に関しては引き続き調査研究が必要とされたところである。

そこで、本研究においては、主に水質管理専門委員会で調査研究の実施が指摘され、また、2003年のWHOガイドラインの改訂に対応した基準の見直しに必要となる次の事項を中心

A. 研究目的

2003年のWHO飲料水水質ガイドラインの

に研究を実施した。

B. 研究方法

主任研究者及び分担研究者の他、水道事業者等技術者、研究者約60名の研究協力者からなる研究委員会を設置し、全国レベルでの実態調査等をおこなった。

C. 研究結果

(1) 未規制又は未監視の化学物質の存在状況等に係る研究では、①フェノアルブ等の農薬、ミクロキスティンの水系における挙動及び水道における存在状況の把握、②1,4-ジオキサンの水道における存在状況の把握、③非イオン界面活性剤の発泡性に関する水道における限界濃度の定量、④有機化学物質の包括的一斉分析手法の開発をする事ができた。

(2) 浄水処理における除去・生成機構の理論的解明に係る研究では、①重金属等無機物質の凝集処理過程における挙動解明、②塩素処理、オゾン処理等消毒処理により生成される副生成物の生成機構など明らかにすることができた。

(3) 毒性情報が不足している物質の毒性評価に係る文献調査及び評価をおこなった。また、水道水質管理を行う上で感染性微生物と化学物質の暴露量を評価した上で健康影響リスクをどのように制御と管理を行うべきかについて検討した。

D. 考察

未規制または未監視の化学物質の存在状況等に係る研究では、水質基準、監視項目およびゴルフ場農薬に指定されている農薬に加えて、内分泌攪乱化学物質としてリストアップされた7農薬と1998年のWHOガイドラインでドラフトされた7農薬を調査対象とした。農薬使用量は年々減少傾向にあり、内分泌攪乱化学物質7農薬も同様の傾向を示した。WHOガイドラインでドラフトされた7農薬についてはいずれも出荷量は少ないが、除草剤のジクロベニルだけが平成7年度比で約51%増加していた。検出される農薬は流域の特徴を反映し地域によって異なるが、検出濃度としては基準値や指針値を超過することはなかったが、多種類の農薬が低濃度で長期間検出される傾向がみられた。検出された総農薬の水道水のリスクをADIに基づく暫定最大許容摂取量(PMADI)への寄与率として計算すると、原水における各農薬検出最大値検出日では最大17%、検出平均値(検出したものの平均)でも最大6.8%であ

った。水道水質基準ではADIの10%を水の寄与率としていることから、水道水の安全性向上のためには検出農薬のADI値との比率の総和を10%以下とする水質管理の考え方を提案した。原水中に検出される農薬の処理技術としては粉末活性炭処理や高度処理が有効であったが、水溶性農薬の除去効率は低い結果であった。また、水稻農薬の一斉防除情報の収集など、農薬散布の事前情報の収集は水道の農薬汚染未然防止策として有効であった。

富栄養化が進み *Microcystis*, *Anabaena* の発生が認められる湖沼・貯水池を水源としている水道の原水・浄水を対象として、ミクロキスティン、アナトキシン濃度の実態調査を実施した。その結果、ミクロキスティンについては原水試料35検体中1検体からミクロキスティン-LR, RRが検出され、その濃度はそれぞれ0.59、0.95 $\mu\text{g/L}$ であった。浄水試料(35検体)からは検出されなかった。アナトキシン-a については原水・浄水の全試料(48検体)から検出されなかった。

塩素処理によるアナトキシン-a の分解挙動と、その分解生成物の毒性について検討した。その結果、アナトキシン-a を通常の浄水処理濃度範囲(2 mg/L 以下)で塩素処理した場合、短時間のうちにアナトキシン-a を分解するのは困難であることが明らかとなった。また、0.5 mg/L のアナトキシン-a 濃度を初期残留塩素濃度2 mg/L で6日間処理したところ、アナトキシン-a が有する急性毒性が消滅(LD₅₀; 4.0 mg/kg 以上)するとともに、分解生成物には変異原性は認められなかった。ミクロキスティン-LR によるラット肝細胞のシグナル伝達及び遺伝子発現に対するミクロキスティン-LR の影響を検討した。その結果、ミクロキスティン-LR、100 nM に曝露したラット肝細胞では60分後から ERK1/2 リン酸化の亢進が観察された。ミクロキスティン-LR によるラット肝細胞のシグナル伝達の攪乱が遺伝子発現に及ぼす影響についてはミクロキスティン-LR 曝露によって13種類の遺伝子の発現量が3倍以上増加し、逆に10種類の遺伝子の発現量が1/3以下に減少することが明らかになった。

界面活性剤の不純物として存在し、メチルクロロホルムの安定剤として利用されている1,4-ジオキサンは河川水や地下水から検出された。1,4-ジオキサンは工業用洗浄剤等にも高濃度で含有されていることが明らかとなり、工業用薬品使用者が1,4-ジオキサンの含有を認識しないで使用して排出されている可能性が高いことが推定される。水道原水中に存在した

場合、1, 4 ジオキサンは親水性であるため標準的な浄水処理での低減化は困難であることが明らかとなった。オゾンによってもその分解率は低かった。界面活性剤の発泡特性について調査した結果、ノニオン系の洗剤は、アニオン系に比べて発泡限界は低濃度であることが明らかになるとともに、水温が高い方が発泡性が強いことが明らかとなった。なお、水道原水のようにノニオン系やアニオン系が混合すると、発泡性には相乗効果があることが明らかとなった。このようなことから発泡特性と実際の環境動態を踏まえて界面活性剤の基準値を見直し、現在の基準値である 0.2mg/L 以下に定めることを検討する必要があるといえる。

WHO 飲料水ガイドラインに関するベルリン会議（2000年6月）のドラフトで取り上げられた農薬の中から、国内で登録されているものの、水道原水、浄水を対象とした分析法が確立されていない7種類について分析法を検討した。ジクロベニル、ジメトエート、アメトリン、ピリプロキシフェン、アミトラズ及びジアゾメタンによりメチル誘導体化したジクロロプロップの固相抽出・ガスクロマトグラフ質量分析法による一斉分析法を開発した。ジフルベンズロンについては、高速液体クロマトグラフ法による分析法を開発した。

鉛管を用いている給水管について400カ所の給水栓水の調査を行った。その結果、管内滞留水を排出した流水については、水道水質基準値である50ppbを超えることはなく、最大でも13ppbであった。管内滞留水についても水道水質基準値を超えることはなかった。しかし、WHO 水質ガイドラインである10ppbは3%を超えるという結果を得た。鉛は県濁態の鉛で存在する比率が高いことが明らかとなった。硬質水道用塩化ビニル管からスズが溶出することが明らかとなったが、その形態は試料によって異なることが明らかとなった。しかし、形態別測定値とスズ濃度とが一致しないことから、さらに、スズの溶出についての検討が必要であると考えられる。塩化ビニル管等からのスズ化合物についての知見が少なく、また、その毒性も十分に検討されていないことから、今後ともその検討調査が必要である。アンチモンについては凝集沈殿ろ過による除去性が低いことから、逆浸透膜法による処理実験を行った。アンチモンを含有する廃金属鉍山廃水の影響を受ける水道原水を用いて連続処理実験を行った果有効な処理方法であることが明らかになった。具体的な処理施設の計画・設計に資する長期的な実験を継続することが強く望まれ

る。

MX 塩素処理副生成物の9種類のハロ酢酸とMX、ならびにオゾン処理副生成物の臭素酸、ヨウ素酸を研究対象に、測定法、水源ならびに浄水過程と給配水過程における実態調査、低減技術等について検討した。実態調査より水源のハロ酢酸前駆物質の多くは人為活動に起因しており下水処理では十分に低減化ができないことから、それらは水道において制御をせざるを得ない現状が明らかになった。また、実態調査で検出頻度が高かった物質はジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、ジブromo酢酸、ブromokロロ酢酸の4物質であり、ジクロロ酢酸の暫定指針値超過率は全検体数に対して約0.6%であった。ハロ酢酸の挙動はTHMと類似することから水質監視と制御にTHMを代替指標に用いることができる水道も多いことが明らかになった。ハロ酢酸の低減化技術としては中間塩素処理、粉末活性炭処理、高度浄水処理(オゾン活性炭処理と粒状活性炭処理)、二酸化塩素処理が有効であり、水道におけるハロ酢酸制御は技術的には十分可能であると考えられた。

臭素酸の生成は、原水中の臭化物イオン濃度とオゾン注入率ならびに残留オゾン濃度が寄与するが、残留オゾンの制御とBAC逆洗水への塩素の添加によって、オゾン処理の目標を達成しつつ濃度は水道水中の残留塩素共存下で徐々に低減し、その傾向は染色体異常試験の結果と一致した。*in vitro* 試験の活用が水道の安全性を目指した水質管理の課題である。

WHO 飲料水ガイドラインの原案作成の内、日本が担当となった3物質について、その健康影響およびガイドライン値部分の原案を作成した。1,4-ジオキサンは遺伝毒性が弱いものの、多臓器発がん性を示すことから、線形多段階モデル法およびTDI法の両者を用いて値を誘導し、両者の値は54および48μg/Lとなり、近似した値であることから、それらを丸めた50μg/Lがガイドライン値としては適切であると結論した。エピクロロヒドリンは遺伝毒性があり、発がん性も認められているが、発がんはその最初の曝露部位で生じ、実際には組織障害性に基づく発がんと考えられることから、TDI法を用いてガイドライン値を誘導し0.4μg/Lとなった。ヘキサクロロブタジエンは遺伝毒性について結論は出ていないが、腎臓にのみ腫瘍が発現する。また、生殖毒性試験では低用量から母毒性が認められている。そこで、これらの毒性指標に基づいてTDI法でガイドライン値を誘導するといずれも6μg/Lとなった。なお、1,4-ジオキサンは今回初めてガイドライン値

案作成の対象となった物質、エピクロロヒドリンは新規に根拠となるデータはなく前回と同じガイドライン値、ヘキサクロボタジエンも新規に根拠となるデータはないもののガイドライン誘導法を変更したため、前回より10倍高い値となった。

E. 結論

WHO飲料水ガイドラインの改訂及び水道法に定める水質基準の見直しに際して生活環境審議会水道部会水質管理専門委員会で11年度に調査を要すると指摘された事項については、水道における毒性、挙動及び低減化に関する知見を得ることが出来た。

しかし、2003年には水道水質基準を大幅に再検討することとなっていることから、今後とも既存の水道水質基準に定められている項目ばかりでなく、新規物質についても調査を実施しなければならない。

F. 研究発表

Hu, J., Aizawa, T. and Magara, Y.: Analysis of Pesticides in Water with Liquid Chromatography / Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry, *Water Research*, 1999 ; 33(2) : 417-425.

相澤貴子：LC/MSを用いた水質分析—水中残留農薬の分析を中心に—、28回日本環境化学会講演会予稿集、1999；10. 34-39.

増田修一、胡建英、相沢貴子：オクタノール—水分係数を用いた低濃度残留農薬の粉末活性炭への吸着性評価、全国水道研究発表会、宮崎、1999；

西村和之、河本秀夫、伊藤光明、国包章一(1999)：マイクロシスチンの簡易測定手法に関する研究、水環境学会誌、22(3)、222-227.

神野透人、埴岡伸光、香川(田中)聡子、西村哲治、安藤正典、伊藤雅喜、北澤弘美、国包章一(1999)：ラット肝細胞によるオゾン処理 Microcystin-LR の生物評価、第5回日本環境毒化学会・バイオアッセイ研究会合同研究発表会、86

中野淑雄、西村哲治、高木博夫、中川順一、加藤信弥、宇田川富男、蜂屋滋、沖恒二、寺田勝彦、伊藤保、安藤正典：HPLCを用いたマイクロキステイン測定法の検討、第50回全国水道研究発表会、1999.5.

Hanioka, H., Jinnno, H., Tanaka-Kagawa, T., Nishimura, T. and Ando, M.: In Vitro Metabolism of Chlorotriazines: Characterization of Simazine, Atrazin, and Propazine Metabolism Using Liver Microsomes from Rats Treated with Various Cytochrome P450 Inducers. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 156, 195-205 (1999).

田畑彰久、亀井翼、眞柄泰基、「界面活性剤の発泡特性に関する研究」第34回水環境学会年会講演集(2000)

守田康彦、増田修一、胡建英、相沢貴子：NPEO界面活性剤の水処理性と発泡性に関する研究、全国水道研究発表会、宮崎、1999

澤田恵枝、増田修一、守田康彦、浅見真理、相沢貴子：非イオン界面活性剤(APE)の分析法について、全国水道研究発表会、宮崎、1999

相沢貴子、他：界面活性剤の水環境に及ぼす影響に関する調査、日本水環境学会、1999

Hanioka, H., Jinnno, H., Chung, Y.-S., Tanaka-Kagawa, T., Nishimura, T. and Ando, M.: Inhibition of rat hepatic cytochrome P450 activities by biodegradation products of 4-tert-octylphenol ethoxylate. *Xenobiotica* 29,873-883 (1999).

埴岡伸光、神野透人、香川(田中)聡子、西村哲治、安藤正典：ラット肝シトクロムP450に対する非イオン性界面活性剤 octylphenol ethoxylate 生分解物の影響、日本薬学会第119年会、1999.3.

神野透人、埴岡伸光、香川(田中)聡子、西村哲治、安藤正典：ラット肝細胞の性ステロイド代謝に対する非イオン性界面活性剤 octylphenol ethoxylate 生分解物の影響、日本薬学会第119年会、1999.3.

姜美娥、玉田真也、川崎睦男、亀井翼、眞柄泰基「逆浸透膜におけるヒ素およびアンチモンの除去機構に関する研究」、第34回水環境学会年会講演集、405、2000.3

大谷倫子、相澤貴子、他：水道水中のホウ素とその1日全摂取量への寄与、浅野孝、丹保憲仁監修、水環境の工学と再利用、北海道大図書刊行会、1999；306-320.

- 相澤貴子、澤田恵枝、浅見真理、野嶋義教：水中に存在するヒ素の化学形態別分離定量法と金属塩の影響、環境化学、1999；9(4)：899-907.
- 野嶋義教、澤田恵枝、浅見真理、相沢貴子：活性アルミナ吸着法及びNF膜ろ過法を用いたヒ素除去処理—原水の水質因子による影響の評価—、全国水道研究発表会、宮崎、1999
- 酒井徹志、井上嘉則、澤田恵枝、野嶋義教、浅見真理、相沢貴子、眞柄泰基：河川及び地下水中に存在するヒ素の化学形態別分離定量法及び既存定量法との比較検討、分析化学会、1999
- Takahashi Y., Ogawa M., Makita N., Nojima Y., Aizawa T., Magara Y. : The Removal of Arsenic with Coagulation and New Adsorbents, The 22 World Water Congress of IWSA. 1999
- Y. Sato, M. Aoki, A. Tabata, T. Kamei, Y. Magara: Environmental Risk Assessment of Hazardous Materials in Water System of Sapporo City, Japan, Pan-Asia Pacific Conference on Fluoride and Arsenic Research 公演集、p.26, Shenyang, China 1999
- 服部和夫、相澤貴子、眞柄泰基：実証プラントを用いた二酸化塩素の注入実験、水道協会雑誌、1999；68(8)：23-31.
- 相澤貴子：塩素代替消毒・酸化剤としての二酸化塩素の評価、造水技術、1999；25(3)：27-31.
- 浅見真理、相澤貴子：水中の臭素酸—毒性、生成および制御、Journal of Health Science、1999；45(6)：344-355.
- 相澤貴子：塩素処理の現状と課題、第27回日本環境化学会講演会予稿集、1999；19-25.
- 雨宮潤治、小笠原英城、浅見真理、相沢貴子：光触媒によるハロ酢酸類の分解性評価について、全国水道研究発表会、宮崎、1999
- Asami,M., Aizawa, T., Morioka, T. Nishijima, W., Tabata, A., Magara, Y : Bromate Removal during transition from Granular Activated Carbon (GAC) to Biological Activated Carbon (BAC), Water Research, 1999；33(12): 2797-2804.
- 伊藤禎彦、池田大助、鳥羽裕一郎：塩素処理水における発がんイニシエーション・プロモーション活性の変化過程、第34回日本水環境学会年会講演集、p.213, 2000.3
- 伊藤禎彦、鳥羽裕一郎、池田大助、住友恒：NMRによる塩素処理水中の芳香族塩素化合物の定量およびその有害性の実験的考察、環境衛生工学研究、Vol.13, No.3, pp.122-127, 1999.7.
- 住友恒、伊藤禎彦、山下基、池田大助：マウス繊維芽細胞を用いる形質転換試験結果の画像解析による評価方法、環境衛生工学研究、Vol.12, No.3, pp.181-185, 1998.7
- 住友恒、伊藤禎彦：水道水の消毒と変異原性の生成、土木学会環境工学委員会 用水・廃水の高度処理技術に関する研究小委員会、pp.7-12, 1998.3
- A. Hasegawa, A. Nishikawa, N. Kinoshita and R. Hasegawa: "3-Chloro-4-(Dichloromethyl)-5-Hydroxy-2(5H)-Furanone(MX):Toxicological Properties and Risk Assessment In Drinking Water" Reviews on Environmental Health. Vol14, No3, 103-120 (1999)
- 長谷川隆一、広瀬明彦、西川秋佳、紅林秀雄、江馬真、黒川雄二「ジクロロ酢酸の毒性評価と経口摂取による耐容一日摂取量の算定」水環境学会誌、Vol22, No10, 821-826 (1999)
- Hu,J. ,Morita,T. ,Magara,Y. ,Aizawa,T. (2000): Evaluation of reactivity of pesticides with ozone in water using the energies of frontier molecular orbitals, Water Research,Vol.34,(8) p.2215-2222
- 関口益男、浅見真理、相澤貴子：イオンクロマトグラフィー質量分析法(IC/MS)による親水性消毒副生成物の測定、第51回全国水道研究発表会講演集、p.542-543、2000.5
- M. Asami. T. Aizawa, S. Kunikane. Y. Magara, :Factors affected on formation of haloacetic acids in chlorination of organic substances. 1st World water congress of the international water association, poster, 2000. July.3-7, Paris
- 岩本卓治、浅見真理、相澤貴子：臭素酸イオン

の還元により発生するラジカルの測定、オゾン
研究発表会、2000.11、岐阜

浅見真理、岩本卓治、相沢貴子: 親水性酸化処
理副生成物からの OH ラジカルの検出、日本
水環境学会年会、2001.3、岐阜

伊藤禎彦、藪下登史子、仲野敦士、: 配水過程
における指標副生成物に関する実験的考察、
環境衛生工学研究、Vol.14, No.3, pp.193-198,
2000.7

Sadahiko Itoh, Daisuke Ikeda, Yuichiro
Toba, and Hisashi Sumitomo, Changes of
Activity Inducing Chromosomal Aberrations
and Transformations of Chlorinated Humic
Acid, Water Research, 2001 (in press)

Meea Kang, Mutsuo Kawasaki, Shinya
Tamada, Tasuku Kamei, Yasumoto Magara,
Effect of pH on the removal of arsenic and
antimony using reverse osmosis membranes,
Membranes in Drinking and Industrial
Water Production, proceedings Volume 1,
p489 - 494, October 3-6, Paris, France,
2000

Masaki Itoh, Shoichi Kunikane and
Yasumoto Magara, Evaluation of
nanofiltration for disinfection by-products
control in drinking water treatment,
Membranes in Drinking and Industrial
Water Production, proceedings Volume 2,
p41 - 52, October 3-6, Paris, France, 2000

Yuko SATO, Michiko AOKI, Mio NAGAI,
Akihisa TABATA, Tasuku KAMEI and
Yasumoto MAGARA: Impact of Arsenic from
Hot-Spring on Drinking Water and Effect of
Treatment, 12th IWA - ASPAC Regional
Conference and Exhibition, Technical
Papers p241-246, November 5-9, Chiangmai,
Thailand, 2000

Meea KANG, Shinya TAMADA, Mutsuo
KAWASAKI and Yasumoto MAGARA, The
Application of Reverse Osmosis membrane
for the Removal of Arsenic in Drinking
Water, 12th IWA - ASPAC Regional
Conference and Exhibition, Technical
Papers p450-455, November 5-9, Chiangmai,
Thailand, 2000

姜美娥、大野浩一、亀井翼、眞柄泰基、アニオ

ンカラムを用いた無機アンチモンの分離及び
定量に関する研究、第35回日本水環境学会年
会講演集、p272、岐阜、2001.3

(1) 未規制又は未監視の化学物質
の存在状況等に係る研究

分担研究報告書

水道における化学物質の毒性、挙動及び低減化に関する研究
—— 未規制又は未監視の化学物質の存在状況等に係る研究 ——
(水系における農薬の挙動及び水道における存在状態の把握に関する研究)

主任研究者 眞柄 泰基 北海道大学大学院工学研究科 教授
分担研究者 相澤 貴子 国立公衆衛生院水道工学部 水質管理室長

研究要旨 未規制または未監視の化学物質の存在状況等に係る研究では、水質基準、監視項目およびゴルフ場農薬に指定されている農薬に加えて、内分泌攪乱化学物質としてリストアップされた7農薬と1998年のWHOガイドラインでドラフトされた7農薬を調査対象とした。農薬使用量は年々減少傾向にあり、内分泌攪乱化学物質7農薬も同様の傾向を示した。WHOガイドラインでドラフトされた7農薬についてはいずれも出荷量は少ないが、除草剤のジクバコルだけが平成7年度比で約51%増加していた。検出される農薬は流域の特徴を反映し地域によって異なるが、検出濃度としては基準値や指針値を超過することはなかったが、多種類の農薬が低濃度で長期間検出される傾向がみられた。検出された総農薬の水道水のリスクをADIに基づく暫定最大許容摂取量(PMADI)への寄与率として計算すると、原水における各農薬検出最大値検出日では最大17%、検出平均値(検出したものの平均)でも最大6.8%であった。水道水質基準ではADIの10%を水の寄与率としていることから、水道水の安全性向上のためには検出農薬のADI値との比率の総和を10%以下とする水質管理を提案した。

原水中に検出される農薬の処理技術としては粉末活性炭処理や高度処理が有効であったが、水溶性農薬の除去効率は低い結果であった。また、水稻農薬の一斉防除情報の収集など、農薬散布の事前情報の収集は水道の農薬汚染未然防止策として有効であった。

A. 研究目的

内分泌攪乱化学物質としてリストアップされた農薬の中から使用量が多い、ベンゾエピン、マテオン、メシル、ベノシル、カガリル、アラクロール、トリフルリンの7項目、ならびに1998年WHOガイドラインにドラフトされた農薬、ジメトエト、ジフルベンズロン、アミトラス、アマトリン、ジクロルプロップ、ピリプロキシフェン、ジクバコルの7項目とこれまでも調査対象としてきた基準項目(4項目)、監視項目(1

5項目)、ゴルフ場使用農薬(26項目)、調査対象地域において未規制ではあるが使用量の多い農薬(46項目)について、全国ならびに8水道事業体が所属する都道府県別使用実態調査と水道原水、浄水における検出実態調査を行った。また、水道における農薬汚染への対応策としては、原水中に検出される農薬の活性炭吸着処理など処理技術による低減効果を評価し、また、水稻農薬の一斉防除情報の収集など農薬

散布事前情報の収集の効果についても検討した。また、検出された農薬に対する水道水のリスクを ADI に基づく暫定最大許容摂取量 (PMADI) への寄与率として評価とした。

B. 研究方法

農薬調査は 8 水道事業体において行い、農薬使用量調査は「農薬要覧」(日本植物防疫協会編)を用いて最近の 5 年間(平成 7 年～11 年)の全国ならびに調査対象都道府県の農薬出荷量を殺虫剤、殺菌剤、除草剤別に各出荷量上位 50 物質をリストアップした。また、実態調査で検出された農薬が上位 50 位までに入っていない場合は、その農薬の順位と使用量を調べ、追加することとした。また、調査地域の農薬使用量について、より詳細な情報が農協の販売量等から入手できた場合は、それらの情報も追加した。農薬検出実態調査は水源の状況、水道原水、浄水場の処理工程、農薬の使用時期を考慮して行った。農薬の処理性については粉末活性炭処理の効果を実施設において実測した。

本研究の過去の調査では、水道における農薬の検出傾向は散布時期付近に多種類、かつ低濃度で一定期間検出される傾向が認められている。農薬の検出濃度は個々には基準値や指針値を超過するものではなくても、多種類の農薬が低濃度検出された場合には農薬総量が水道水のリスクを高める可能性がある。そこで検出農薬の ADI から成人 (50 kg) の暫定最大許容摂取量 (PMADI) を求め、各農薬濃度の飲料水を 1 日 2 l 飲料すると仮定して農薬暴露総量の PMADI との比率に基づき検出農薬濃度のリスク評価を行った。

C. 研究結果

平成 11 年度「農薬要覧」による調査では、殺虫剤、殺菌剤、除草剤、その他の農薬の全国出荷総量は 338,000 t で、平成 10 年度 365,000 t に比べ減少傾向が認められた。農薬出荷総量は統計を採り始めた平成 7 年度に比べると

年々減少する傾向が認められ、平成 11 年度農薬出荷総量は平成 7 年度比で約 25% 減少していた。内分泌攪乱化学物質 7 農薬の中で出荷量が多いのは、トリフルリン (261 t)、加バリン (250 t)、トリフルリン (184 t) であったが、いずれも減少傾向にあった。WHO ガイドラインでドラフトされた 7 農薬についてはいずれも出荷量は少ないが、唯一除草剤のジメチルは出荷量が増加傾向にあり、平成 11 年度は 101 t が出荷され、平成 7 年度比で約 51% 増加していた。

基準項目、監視項目、ゴルフ場使用農薬、基準等の設定が無く地域において使用量の多いその他の農薬について全国経年変化を調べた結果、殺虫剤で出荷量が増加している農薬はなかったが、出荷量の多い農薬は D-D、MEP、アセフト、ダイジリン、DDVP であった。また、減少傾向にあった農薬は BPMC、ベンゾカブであった。

殺菌剤で出荷量の多い農薬は TPN、イブトリン、アライト、キャタンであり、また、出荷量が増加傾向にあった農薬はダゾメット、セルル、減少傾向にあった農薬はピロリンであった。

除草剤で使用量の多い農薬はペンディメタリン、グリホサト、ベンチカブ、メネソット、ダイムロンが、出荷量が増加傾向はグリホサト、DUMC、2,4-D、減少傾向はメネソット、ベンチカブ、エスプロカブ、ジクワットであった。また、8 水道事業体が属する都道府県別農薬出荷・使用量は農薬の使用目的を反映して地域ごとに異なった。

8 水道事業体における農薬検出実態調査では内分泌攪乱化学物質 7 農薬については、原水でベンゾエピンを除く 6 農薬が検出され、検出最大値はトリフルリンの $0.27 \mu\text{g/L}$ であった。浄水では、トリフルリン、加バリン (NAC)、アラクロール、トリフルリンの 4 農薬が検出され、検出最大値はトリフルリンの $0.27 \mu\text{g/L}$ であった。

WHO ドラフト 7 農薬については原水、浄水共にすべて不検出であった。

基準項目農薬の原水からの検出状況は、ダイジリン、チオベンカブが検出され、検出最大値はチオベンカブ

の $2.10 \mu\text{g/L}$ 、検出率で 33.5%であった。また、浄水ではシメジンが検出されたが、検出最大値 ($0.07 \mu\text{g/L}$)、検出率 (2.9%) は共に原水より低かった。監視項目農薬の原水からの検出状況は、CNP を除く 14 農薬が検出され、検出最大値はベンゾジンの $7.01 \mu\text{g/L}$ 、検出率の高い農薬は、ベンゾジン (65.7%)、イプロキサゾール (54.5%) であった。浄水では、イプロキサゾール、CNP を除く 13 農薬が検出され、検出最大値はベンゾジンの $1.36 \mu\text{g/L}$ 、検出率の高い農薬は、ベンゾジン (41.4%)、BPMC (27.3%) であった。ゴルフ場使用農薬の原水からの検出状況は 15 農薬が検出され、検出最大値は DEP の $3.0 \mu\text{g/L}$ 、検出率の高い農薬は、フルトラニル (29.5%)、ペンタクロン (20.1%)、浄水では 10 農薬が検出され、検出最大値はフルトラニルの $0.82 \mu\text{g/L}$ で検出率は 14.4% であった。

その他の農薬の検出状況は、原水では 21 農薬が検出され、検出最大値はピロキサゾールの $3.9 \mu\text{g/L}$ 、検出率の高い農薬は、ピロキサゾール (41.2%)、プロフェジン (33.7%)、プロキサゾール (44.9%) であった。浄水では、12 農薬が検出され、検出最大値はピロキサゾールの $3.1 \mu\text{g/L}$ 、検出率の高い農薬は、プロキサゾール (33.0%)、MEP ホリン (43.6%)、ダイアジンホリン (38.5%) であった。

水道事業体で農薬に対する迅速な対応をとるためには近辺の農薬散布情報を入手することが必須となる。水稻農薬の一斉防除情報が入手可能となったケースでは、散布当日から翌日にかけて散布した MPP 濃度が上昇し、水田から排水が流入する河川で $8.5 \mu\text{g/L}$ 、水道原水取水地点では最高で $0.57 \mu\text{g/L}$ 検出された。このケースにおける浄水場の対応としては、一斉散布情報の提供を受け、水田から河川への流出のパターンが把握できていないことから、当面、散布後の 1 週間以内に強い降雨があった場合、粉末活性炭を 12 時間程度注入する措置を採っている。

各水道事業体では農薬検出時に水道水の安全性を高めるために農薬除去を目的とした粉末活性炭処理を実施しているケースは多い。処

理水の農薬管理目標値は、浄水中の農薬を定量下限値以下とするケースが多いが、農薬の物性によって除去率は異なり、平均で 70~80% であった。また、農薬の活性炭吸着処理においては水中に mg/L レベルで共存する有機物と競合するため、原水中の有機物濃度が高い程、農薬の活性炭吸着性が低下する傾向が認められた。

取水施設で粉末活性炭約 5mg/L 程度し、浄水場まで長時間 (3 時間 20 分) 接触処理すると農薬の処理性は向上し、原水中で検出された農薬 7 種類のうち、イプロキサゾール、イプロキサゾール、プロキサゾールは 80~100%、シメジリン、イプロキサゾール、メチルセト、フルトラニルは 100% 除去できた。

D. 考察

本研究における農薬検出実態調査では、水道における農薬の検出傾向は散布時期付近、または降雨時に高く検出する傾向が観察された。また検出時には多種類の農薬が低濃度で一定期間検出される傾向も認められた。

水道が農薬汚染に対する迅速な対応をとるには、水稻農薬の一斉防除情報などを関連団体から事前に入手できれば、河川での対象農薬検出調査や粉末活性炭注入などの対応が採りやすくなることが示唆された。

また、これまでの調査では農薬検出濃度は単独では基準値や指針値を超過するケースは認められていないが、検出農薬総量としては数十 $\mu\text{g/L}$ を超えるケースも観測されている。農薬の ADI は各農薬で異なるため、検出濃度が高いから水道水のリスクが高いというわけではない。そこで各農薬毎に定められている ADI から成人 50kg として暫定最大許容摂取量 (PMADI) を求め、PMADI に対する飲料水量 2 l を基準とした飲料水からの総農薬摂取量の寄与率を計算した。8 水道事業体の原水における各農薬検出最大値検出日と検出平均値 (検出したものの平均) から PMADI に対する比率は前者では最大 17%、後者でも最大 6.8%

であった。また、高度処理水を含めた8水道事業体の浄水の各農薬検出最大値検出日と検出平均値（検出したものの平均）から PMADI に対する比率を求めると前者では最大 5.2%、後者でも最大 2.1%であった。

WHO ガイドラインや我が国の水道水質基準設定において、通常の農薬では PMADI の 10%を飲料水からの寄与率としていること、通常の浄水処理では農薬の除去率は 10~20%しか望めないことから、検出農薬総量として水道水のリスク管理を行い、リスクの高い時期には少なくとも粉末活性炭注入程度の処理は必要であると考えられた。

E. 結論

農薬実態調査を行った結果、年々散布農薬の種類が変化している状況が認められた。今後使用量が刻々と変化する農薬に対応して詳細な検出実態調査を行うためには、水源河川流域での使用農薬数量、散布時期を事前に把握する体制を作る必要がある。

農薬分析法については使用農薬の変動や新規農薬に対応できる分析法及び定量下限値の改善等、検査技術の確立が必要である。

現在の基準値等は、農薬原体の基準であり、農薬分解生成物に対する基準はない。水道水から暴露される農薬のリスクを評価するには、環境中あるいは塩素処理による分解生成物の実態及び毒性も考慮の対象とすべきである。

水道水質の安全性向上のためには農薬総暴露量に関する水質管理上の指標の設定が必要である。現在ではTDI値の設定がない農薬もあるが、検出農薬のADI値に基づく農薬暴露総量とPMADIとの比率が10%以下を目標値とし、これを超過する時期には粉末活性炭処理や高度浄水処理による水質管理を提案する。

F. 研究発表

1. Hu, J., Morita, T., Magara, Y., Aizawa, T. (2000): Evaluation of reactivity of

pesticides with ozone in water using the energies of frontier molecular orbitals, Water Research, Vol.34,(8) p.2215-2222

分担研究報告書

水道における化学物質の毒性、挙動及び低減化に関する研究
—— 未規制又は未監視の化学物質の存在状況等に係る研究 ——
(ミクロキスティンの水系における挙動及び水道における存在状況調査)

主任研究者 眞柄 泰基 北海道大学大学院工学研究科 教授
分担研究者 国包 章一 国立公衆衛生院 水道工学部 部長
分担研究者 伊藤 雅喜 国立公衆衛生院 水道工学部 水道計画室長

研究要旨 富栄養化が進み *Microcystis*、*Anabaena* の発生が認められる湖沼・貯水池を水源としている水道の原水・浄水を対象として、ミクロキスティン、アナトキシン濃度の実態調査を実施した。その結果、ミクロキスティンについては原水試料 35 検体中 1 検体からミクロキスティン-LR、RR が検出され、その濃度はそれぞれ 0.59、0.95 $\mu\text{g/L}$ であった。浄水試料 (35 検体) からは検出されなかった。アナトキシン-a については原水・浄水の全試料 (48 検体) から検出されなかった。

塩素処理によるアナトキシン-a の分解挙動と、その分解生成物の毒性について検討した。その結果、アナトキシン-a を通常の浄水処理濃度範囲 (2 mg/L 以下) で塩素処理した場合、短時間のうちにアナトキシン-a を分解するのは困難であることが明らかとなった。また、0.5 mg/L のアナトキシン-a 濃度を初期残留塩素濃度 2 mg/L で 6 日間処理したところ、アナトキシン-a が有する急性毒性が消滅 (LD_{50} ; 4.0 mg/kg 以上) するとともに、分解生成物には変異原性は認められなかった。

ミクロキスティン-LR によるラット肝細胞のシグナル伝達及び遺伝子発現に対するミクロキスティン-LR の影響を検討した。その結果、ミクロキスティン-LR、100 nM に曝露したラット肝細胞では 60 分後から ERK1/2 リン酸化の亢進が観察された。ミクロキスティン-LR によるラット肝細胞のシグナル伝達の攪乱が遺伝子発現に及ぼす影響についてはミクロキスティン-LR 曝露によって 13 種類の遺伝子の発現量が 3 倍以上増加し、逆に 10 種類の遺伝子の発現量が 1/3 以下に減少することが明らかになった。

A. 研究目的

富栄養化が進み *Microcystis*、*Anabaena* の発生が認められる湖沼・貯水池を水源としている水道の原水・浄水を対象として、ミクロキスティン、アナトキシン濃度の実態調査を実施した。また、塩素処理によるアナトキシン-a の分解

挙動と、その分解生成物の毒性について検討した。さらに、ミクロキスティン-LR によるラット肝細胞のシグナル伝達の錯乱が遺伝子発現に及ぼす影響を明らかにした。

B. 研究方法

1. 水道原水・浄水のマイクロキスティン、アナトキシン濃度の実態調査

調査地点は、マイクロキスティンについては霞ヶ浦、印旛沼、相模湖、琵琶湖の水源から取水している7浄水場の原水・浄水を、アナトキシンについては霞ヶ浦、印旛沼、相模湖から取水している3浄水場の原水・浄水である。調査期間は、水源に *Microcystis*、*Anabaena* の発生が認められると予想される平成12年8月から11月とし、調査頻度は、原則として月2回とした。

分析項目は、マイクロキスティンについてはマイクロキスティン-LR、RR、YR 及び *Microcystis* の群体又は細胞数とし、アナトキシンについてはアナトキシン-a 及び *Anabaena* 群体、細胞数とした。試料の前処理及び分析は、マイクロキスティン-LR、RR、YR が、固相抽出-HPLC/UV 法、アナトキシン-a が固相抽出-HPLC/蛍光分析法により定量を行った。

2. アナトキシン-a の塩素処理による分解挙動及びその分解生成物の毒性に関する研究

(1) アナトキシン-a の塩素処理

初期残留塩素濃度 1~20 mg/L の次亜塩素酸ナトリウム溶液 50 mL に、濃度が 0.08~1.6 mg/L の anatoxin-a を添加し、25 °C で最長 6 日後までの分解挙動を調べた。

(2) 分解生成物の急性毒性試験

初期残留塩素濃度 2 mg/L の次亜塩素酸ナトリウム溶液 4 L に、anatoxin-a 塩酸塩 2.0 mg (anatoxin-a として 1.6 mg) を添加し、25 °C で 6 日間反応させた。反応は、アスコルビン酸ナトリウム 7 mg を添加することにより停止させた。反応液は凍結乾燥後、毒性試験用試料とした。また、アナトキシン-a を添加しないブランクについても、同様に操作を行った。

実験動物は ddY 系雄マウス (体重 22.0~27.5 g) を 31 匹用いた。投与量は、塩素処理分解物は 1.0、2.5、5.0 mg/kg、アナトキシン-a は 200、400、600、800 µg/kg とした。注射量は、

1.0 mg/kg の場合、100 µg/mL の試験液を次式に従い腹腔内に注射した。

(3) 分解生成物の変異原性試験

(2) で調製した毒性試験用試料にメタノール 0.6 mL を添加し、変異原性試験用溶液 (820 µg/mL) とした。Anatoxin-a は 1.0 mg に対してメタノール 1.25 mL を添加した。変異原性試験は高感度 Ames 法に準じて行なった。

3. ラット肝細胞のシグナル伝達及び遺伝子発現に対する Microcystin-LR の影響に関する研究

(1) ラット肝細胞の培養およびリン酸化タンパク質の検出

無血清 Williams' E 培地中で一晚培養したラット肝細胞に MCLR (20 nM あるいは 100 nM) を曝露し、一定時間 (10 分~6 時間) 経過後に肝細胞 Lysate を調製した。得られた Lysate を SDS-PAGE で分離してセミドライ法で PVDF メンブランに転写し、リン酸化タンパク質に特異的な抗体を用いる Western Blot 法により ERK1/2、SAPK/JNK、IκB、STAT1 及び STAT3 の検出を行った。

(2) cDNA Microarray によるラット肝細胞の遺伝子発現解析

20 nM MCLR に 24 時間曝露した肝細胞及び未処理肝細胞から RNeasy Mini Kit を用いて抽出した Total RNA を鋳型として逆転写反応を行い、Aminoallyl-dUTP を取り込ませた。得られた cDNA を Cy3 (MCLR 処理群) あるいは Cy5 (未処理群) で蛍光標識した後に、Atlas™ Glass Rat 1.0 Microarray 上で競合ハイブリダイゼーションを行った。蛍光シグナルの検出および定量には GenePix 4000、GenePix Pro 3.0 を使用した。

C. 研究結果

1. 水道原水・浄水のマイクロキスティン、アナトキシン濃度の実態調査

(1) ミクロキスティン

マイクロキスティンについては原水試料 35 検体中 1 検体からマイクロキスティン-LR、RR が検出され、その濃度はそれぞれ 0.59、0.95 $\mu\text{g/L}$ であった。浄水試料 (35 検体) からは検出されなかった。マイクロキスティンが検出された原水試料には *Microcystis* 細胞数が約 9 万個/mL 存在した。

(2) アナトキシン-a

アナトキシン-a については原水・浄水の全試料 (48 検体) から検出されなかった。原水中に *Anabaena* が認められた水源は、印旛沼、霞ヶ浦であり、印旛沼では *Anabaena* 細胞数が 8 月 28 日に 78000 個/mL 存在した。

2. アナトキシン-a の塩素処理による分解挙動及びその分解生成物の毒性に関する研究

(1) アナトキシン-a の塩素処理による分解挙動

初期残留塩素濃度 0.5~20 mg/L の次亜塩素酸ナトリウム溶液 50 mL に、アナトキシン-a を濃度が 0.8 mg/L となるように添加して反応を行なった。その結果、初期残留塩素濃度 20 mg/L で処理した場合には、1 時間後にはその残存率が 15%にまで急速に減少したが、その後の減少は遅く、3 時間後に 11%、5 時間後に 10%、それに 21 時間後においても 7%が残存していた。初期残留塩素濃度が 0.5、1 mg/L の場合には 20 mg/L と比べて減少が遅く、5 時間後でそれぞれ、90%、60%が残存し、21 時間後においてもそれぞれ、37%、30%が残存していた。

次に、アナトキシン-a の濃度を 1/2 (0.4 mg/L) にし、初期残留塩素濃度 1~20 mg/L で処理したが、その分解挙動はアナトキシン-a 濃度が 0.8 mg/L の場合とほぼ同様であった。例えば、初期残留塩素濃度 2 mg/L で処理した場合の残存率は、3 時間後で 84%、1 日後で 52%、3 日後で 18%、それに 6 日後で 2%であった。また、アナトキシン-a の残存率が 1%以下になるまでに要する時間は、初期残留塩素濃度 20 mg/L で 3 日間、5 及び 10 mg/L で 5 日間となり、

初期残留塩素濃度が 1 及び 2 mg/L では 6 日後でも残存率が 5 及び 2%であった。以上の結果より、通常の浄水処理濃度範囲 (2 mg/L 以下) では、短時間のうちにアナトキシン-a を分解するのは困難であることが明らかとなった。

アナトキシン-a (0.4 mg/L) を初期残留塩素濃度 2 mg/L で 5 日間処理したときの反応液を ESI-LC/MS で分析した結果、アナトキシン-a (分子量 165) のピーク (保持時間 4.2 分) は減少し、代わりにアナトキシン-a と同じ分子量を持つと考えられるピーク (保持時間 2.2 分)、さらには、分子量が 181 と考えられるピークが 2 本 (保持時間 3.4 分と 5.2 分) 検出された。

(2) 急性毒性

アナトキシン-a、アナトキシン-a の塩素処理分解生成物及びブランク (アナトキシン-a を加えないで同様に塩素処理を行なったもの) について、マウスによるバイオアッセイを行なった。その結果、アナトキシン-a の LD_{50} 値が 400 $\mu\text{g/kg}$ を示したのに対して、その塩素処理分解生成物の LD_{50} 値は 4.0 mg/kg 以上であり、アナトキシン-a の急性毒性は消滅していることが明らかとなった。

(3) 変異原性

アナトキシン-a、アナトキシン-a の塩素処理分解生成物及びブランクについて、Ames 変異原性試験を行なった。アナトキシン-a については TA98 と TA100 の両菌株で、S9mix による代謝活性時及び非代謝活性時で試験した結果、いずれも変異原性を示さなかった。また、塩素処理分解生成物について TA98 菌株と TA100 菌株の非代謝活性時で試験した結果、変異原性を示さなかった。

3. ラット肝細胞のシグナル伝達及び遺伝子発現に対するマイクロキスティン-LR の影響に関する研究

(1) ラット肝細胞の培養およびリン酸化タンパク質の検出