

えられるのである。

5.3 水道水のエストロゲン様作用試験のための試料調製方法

以上より、水道水のエストロゲン様作用試験を行うおとす場合には、天然有機物と微量汚染物質とを区別して扱う必要があると指摘できる。図5の実験結果からは、対象とする水において、原水中に含まれる塩素との反応で作用が低減するエストロゲン様作用物質の量、および塩

素との反応によって新たにエストロゲン様作用が生成するような前駆物質の量とを調べ、二つの方法のいずれか、または両者を使用する必要があることになる。例として、微量汚染物質が少ない清浄な湖沼水・河川水を考えると、フミン物質を中心とする天然有機物を主対象とすればよいことから、原水、塩素処理水ともにXAD7HPを用いる調製方法を使用すればよい。一方、下水処理水の放流な

どを受け微量汚染物質が比較的多く含まれる都市河川水の場合には、原水においてはOASIS HLBを用いた調製方法が適するが、塩素処理水にはXAD7HPを用いる調製方法を使用する必要があると推定できる。

ところで、フミン酸、フルボ酸の抽出はこれまでXAD樹脂を用いる方法が多量有機物の抽出を目的として固相抽出用カートリッジと加圧送液システムを用いる方法が普及してきている。フミン物質の抽出にもこのような固相カートリッジを用いることができれば、上記のように水道水の試験に二つの方法(OASIS HLB調製法、XAD7HP調製法)を併用することなく、1種類の固相で行える可能性がある。

このために著者らはまず、OASIS HLBに通水した後、水酸化ナトリウム水溶液で溶出させた試料を三次元蛍光分析に供することにより、琵琶湖水およびその塩素処理水中有機物がXAD7HPの場合と同様に回収できるかどうかを調べた(表8)。図8は、塩素処理水について三次元励起・蛍光スペクトルを示したものである。未濃縮の塩素処理水のほか、これをXAD7HPで濃縮した試料、およびOASIS HLBで濃縮した試料の測定結果であるが、いずれもほぼ同様のピークを示している。なお、両

樹脂ともDOCとしての回収率は約25%であった。2つの方法で塩素処理前の試料についても測定しているが、三次元励起・蛍光スペクトルの形状はほぼ同じであった。以上の結果から、OASIS HLBを用いて、XAD7HPを用いた場合と同様の濃縮が可能であると判断できた。

以上の試料調製の考え方をフローとして示したものが図9である。天然有機物とその塩素処理副生成物は主として水酸化ナトリウム水溶液によって溶出され、次いで、個別の化学物質とその塩素処理副生成物は主としてジクロロメタンによって溶出されると想定している。そこで、塩素処理水のエストロゲン様作用と典型的なエストロゲン様作用物質の回収性を評価し、本方法の有効性について検討した。

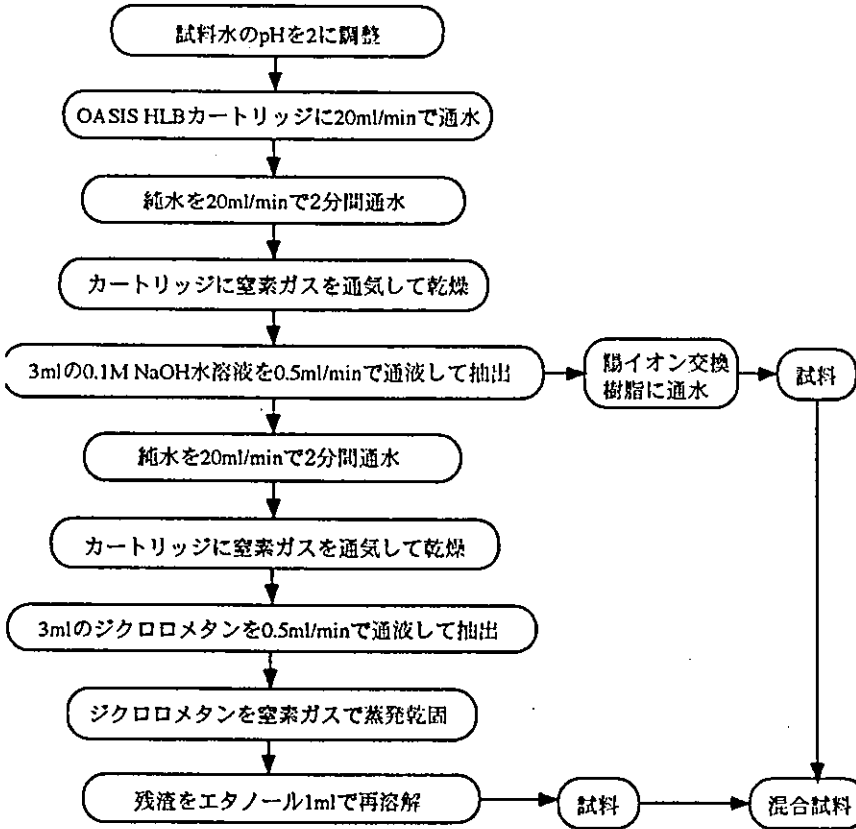


図9 OASIS HLBカートリッジを用いた固相抽出法による自然水とその塩素処理水のエストロゲン様作用の濃縮方法

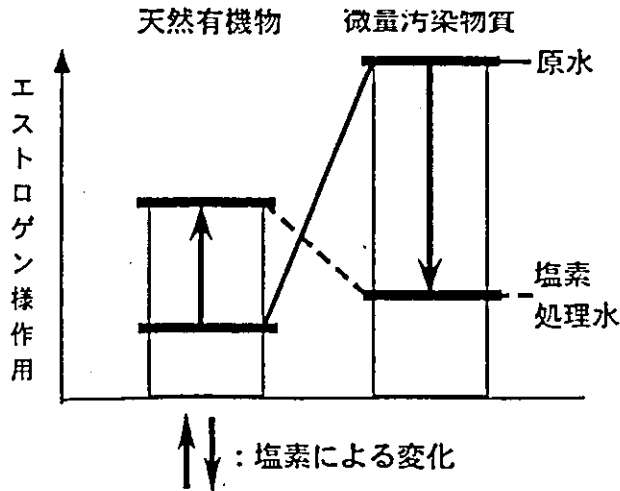


図7 エストロゲン様作用の構成成分と塩素による変化

理によってエストロゲン様作用が増大する物質と減少する物質があり、水道水のエストロゲン様作用にはこれらが混在しているのである。

以上の結果をふまえ、水中のエストロゲン様作用の構成成分と塩素による変化に関する概念を図7に示した。まず、フミン物質を中心とする天然有機物は塩素処理によってエストロゲン様作用が増大する。一方、微量汚染物質については、ビスフェノールAやノニルフェノールのように一時的に作用が増大する物質も報告されている(文献24,25)。もの、表4でも示したように多くの物質は作用が減少すると考えられる。すなわち、琵琶湖

水中には、塩素処理によってエストロゲン様作用が増大する物質と減少する物質があること、および、その塩素処理水のエストロゲン様作用とは、塩素によって増大した作用と低減した作用の和として現れるものであることを示している。

本研究で用いたXAD7HPを用いる方法は、フミン物質の濃縮を目的としており溶出液として水酸化ナトリウム溶液を使用している。これにより、図7のうち作用が増大する物質を主として回収したと推定できる。一方、OASIS HLBを用いる方法では、微量汚染物質の濃縮を目的とし溶出液としてジクロロメタンを使用している。これにより、図7のうち作用が減少する物質を主として回収したと推定できる。結果として、図5に示したように、塩素処理による影響が二つの調製法の間で逆に現れるものと考えられる。

ところで、この図式は、エストロゲン様作用に特有のものではないと著者は考えている。実は変異原性でも同様な現象はみられるのである。

水中にフミン物質を中心とする天然有機物があり、これと塩素が反応するとトリハロメタンやその他変異原性を有する有機塩素化合物などが生成する。一方、これとは別に、汚染が進んだ水域では、微量汚染物質として変異原性を有する化合物がすでに存在する場合もある。これ

と塩素が反応すると、塩素化された反応生成物が生成することが考えられるほか、化学物質が有していた変異原性が消失または低減する場合もある。塩素処理水の変異原性とは、やはり増大した変異原性と低減した変異原性の和であることみなすことができる。

事実、淀川水を塩素処理すると、その変異原性が低下したという報告がある(文献30)。天然有機物由来の副生成物によって新たに生じた変異原性よりも、汚染物質の変異原性が低下した効果の方が大

きかったと推定することができる。

ただ、変異原性試験の場合には、一般には、天然有機物由来の副生成物による変異原性が強いので、塩素処理によって変異原性が生成したという評価になることが多い。一方、エストロゲン様作用試験の場合には、 17β -エストラジオールをはじめとするホルモン物質そのものもあり、またそれぞれごく微量でエストロゲン様作用を示す。このことから、図7において、変異原性試験の場合よりも微量汚染物質の影響が大きく出るものと考

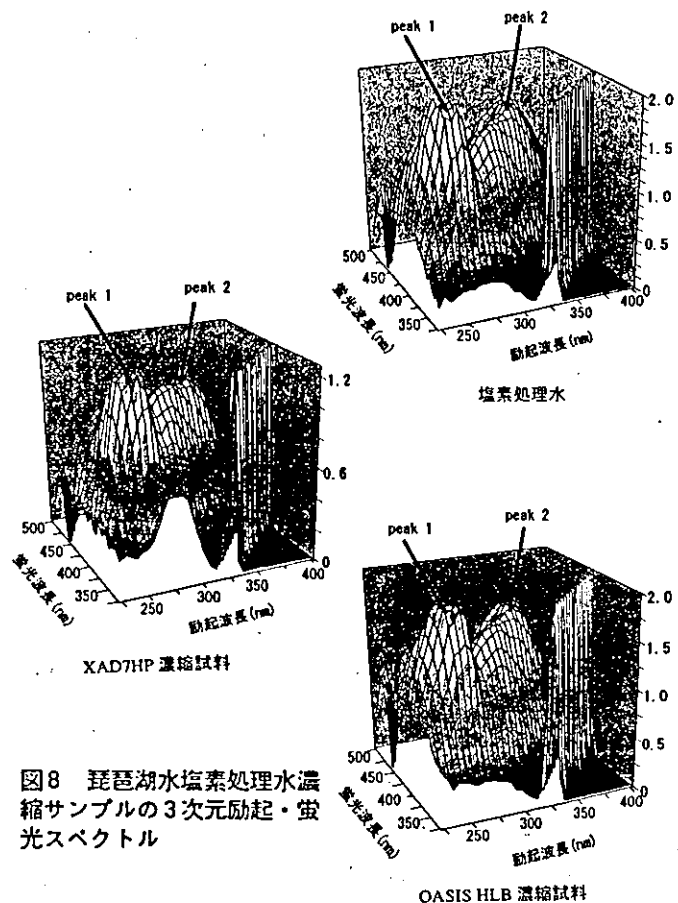


図8 琵琶湖水塩素処理水濃縮サンプルの3次元励起・蛍光スペクトル

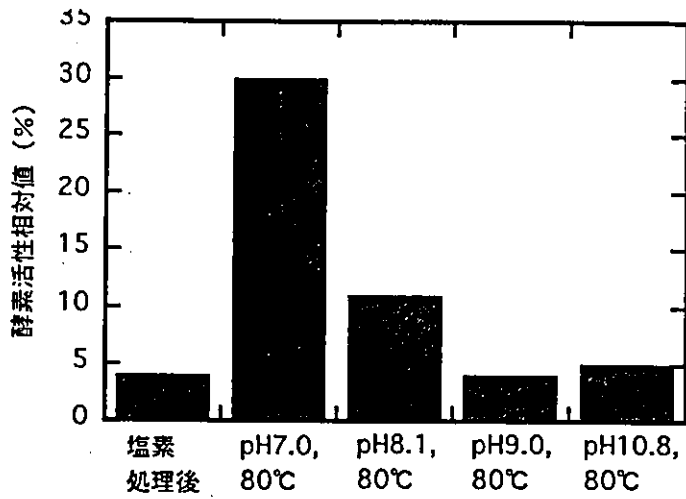


図14 加熱およびpH変化の影響

る。トリハロメタン濃度が増大するのと同様に、エストロゲン様作用は塩素消毒後に作用が増大する特性をもつことがわかったのである。pH7、10としたものともに増大したが、pH10としたものの方が速やかに増大している。pH10の方が塩素処理水中の有機物の加水分解が促進するたためであろうと考えられる。また、pH10の条件では、2日後に最大となった後、低減に転じている。

このような結果になるとは、実は予想していなかった。著者らは、これまでに塩素処理水について、変異原性を中心とするバイオアッセイを数多く行ってきている(文献33, 34)。塩素処理水の染色体異常誘発性すなわち変異原性は、生成した後低下していく。これは発がん過程のイニシエーション活性の指標となるものであるが、一方、プロモーション過程の指標として行っている(二段階)形質転換誘発性は、逆に次第に増大していく。しかし、その増大の程度は小さく、イニシエーション活性とプロモーション活性を合わせて測定できると考えられる非二段階形質転換誘発性は、染色体異常誘発性と同様に低下していく。すなわち、発がん性という生物に対する生理活性は低下しているのである。生物学的あるいは化学的に熟考したわけではないが、これらの経験をふまえ、塩素処理によって生成したエストロゲン様作用は、その

mg/l)に塩素を注入(1500 mg/l)した後、pH5で48時間静置して塩素処理水を作製する(文献32)。48時間後には残留塩素はなくなっている。その後この処理水のpHを変化させ、エストロゲン様作用の経時変化を測定した。結果を図13に示す。

エストロゲン様作用は次第に増大する結果となった。ここで重要な点は、残留塩素がすでにない水であるにもかかわらず、ただ静置するだけで、エストロゲン様作用が増大していったということであ

後低下していくのではないかと想像していた。結果は逆であった。

イニシエーション活性やプロモーション活性を示す副生成物と、エストロゲン様作用を示す副生成物とは、どう同じでどう異なるのか興味あるところである。

さて、先の検討を続けよう。加水分解の影響について触れたが、加水分解を促進するためにはpHを高めるほかに水温を高める方法がある。そこで塩素処理水のpHを変化させるとともに80°Cで1時間保温し、エストロゲン様作用の変化を測定した。結果を図14に示す。

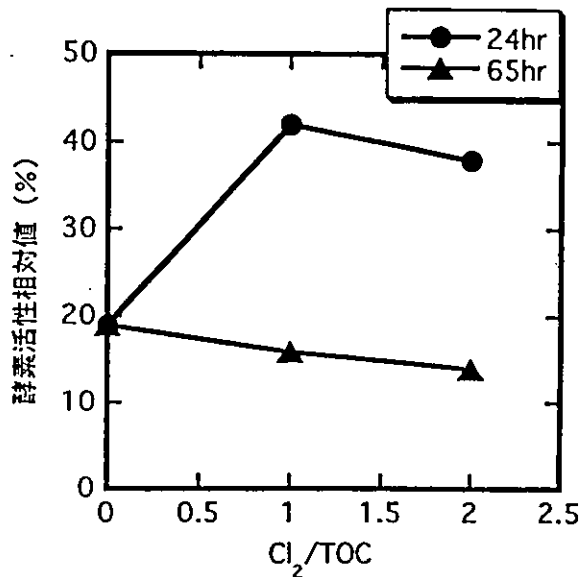


図15 塩素処理フミン酸のエストロゲン様作用に対する塩素注入率の影響

とも一致する現象である。次に、塩素注入率の影響を調べた結果を図15に示す。試薬フミン酸溶液のTOCに対して、塩素を1倍、2倍、4倍量添加して、エストロゲン様作用の経時変化を測定した。ただし塩素を4倍量添加したケースでは、残留塩素濃度が高く細胞毒性がみられたためアッセイを行うことができなかった。このため、図15は残留塩素の影響を受けなかったCl₂/TOC=1.2の結果を示している。なお、この実験は加水分解の影響を調べる目的ではないので、フミン酸溶液をpH7

後最大となった後、低減に転じたこと

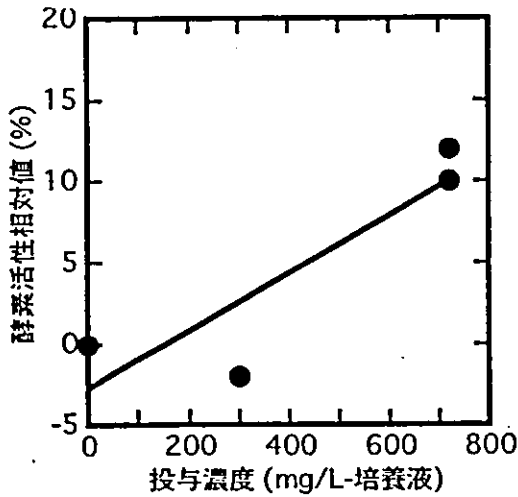


図11 ジクロロメタン抽出によるエストロゲン様作用の回収性

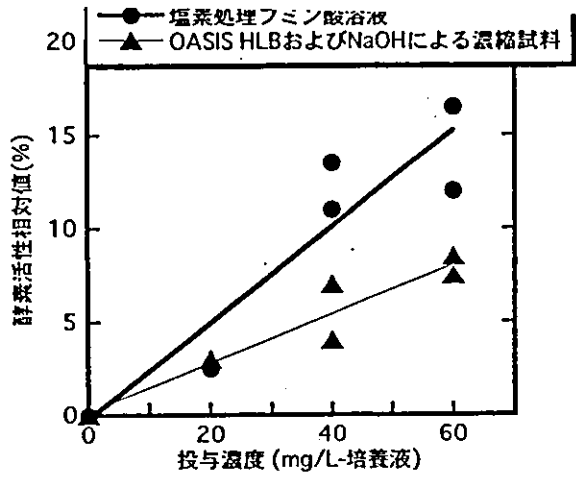


図10 塩素処理フミン酸溶液のエストロゲン様作用のOASIS HLBおよびNaOH抽出による回収性

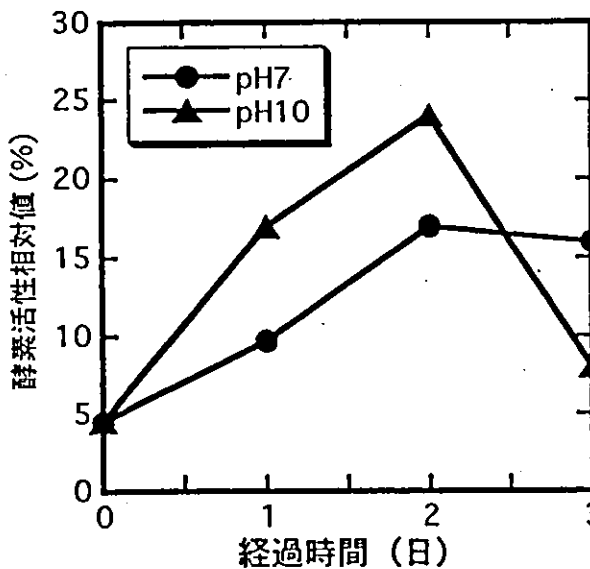


図13 塩素処理したフミン酸のエストロゲン様作用の変化

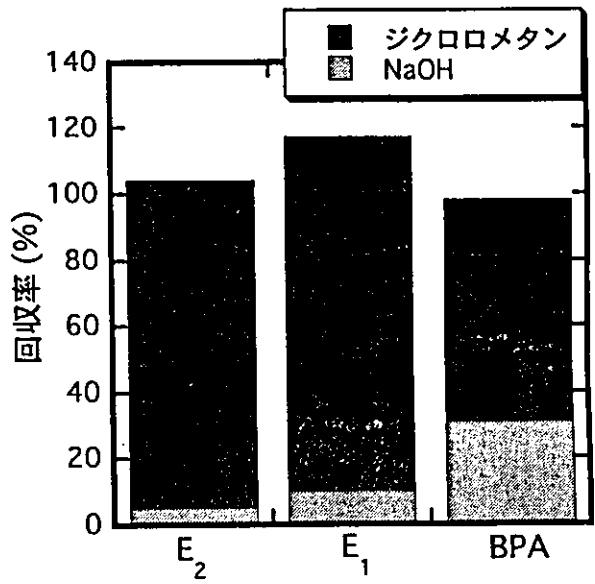


図12 典型的なエストロゲン様作用物質の回収性 (初期濃度: E₂, 0.0027 μg/l; E₁, 0.001 μg/l; BPA, 0.5 μg/l)

と、ジクロロメタン溶出試料では数百mg/lを投与してはじめてエストロゲン様作用が検出されていることがわかる。いかえると、水酸化ナトリウム水溶液を通液した後は、ジクロロメタンによって分離されるエストロゲン様作用物質はきわめて少ないというのである。すなわち、フミン酸の塩素処理によって生成

では50%程度の回収率が得られていることがわかる。なお、TOCとしての回収率は約23%であった。一方、図11は、水酸化ナトリウム水溶液を通液した後でジクロロメタンによって溶出させた試料のエストロゲン様作用を測定した結果である。横軸のスケールを図10と比較すると、ジクロロメタン

6 エストロゲン様作用生成能とその測定
6.1 エストロゲン様作用生成能の存在
(1) 塩素処理後のエストロゲン様作用の変化
図7に示したように、塩素処理によってフミン物質を中心とする天然有機物のエストロゲン様作用が高まり、トリハロメタン生成と同じ構図であることを指摘した。ここではフミン酸の塩素処理を行い、そのエストロゲン様作用の特性を把握するとともに、トリハロメタン生成の特性と比較してみた。
まず、試薬フミン酸溶液 (TOC 920

したエストロゲン様作用は、主として水酸化ナトリウム水溶液によって溶出されるということが出来る。
図12は、E₂、E₁、BPAの各水溶液に対して、図9の操作を行い、その回収性を調べたものである。大部分はジクロロメタンによって回収されている。水酸化ナトリウム水溶液とジクロロメタンによる回収量の両者を加算すると、これらの物質のほとんどが図9の調製方法で回収されることがわかった。
以上の検討より、図9に示した方法は、自然水とその塩素処理水のエストロゲン様作用を測定するための適当な方法であると判断した。

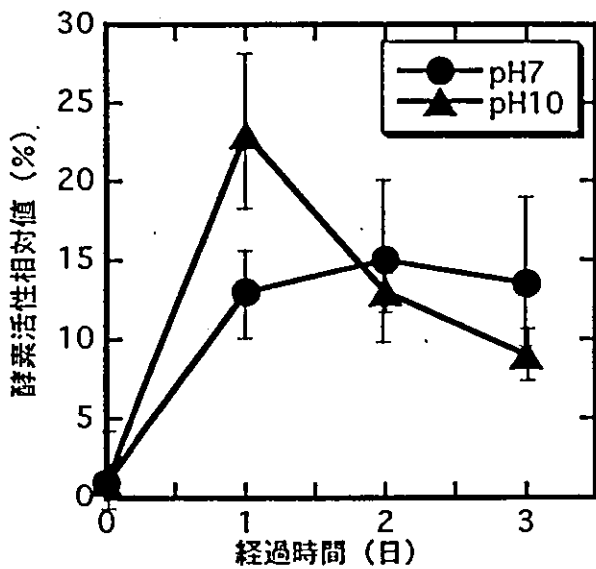


図17 琵琶湖水の塩素処理後のエストロゲン様作用の変化

次に、図17をみると、塩素処理水のエストロゲン様作用は、残留塩素がなくても次第に増大している。また、pH7よりもpH10の方がより速やかに増大すること、pH10では最大となった後は低減に転じていることがわかる。これらの傾向は、試験フミン酸を用いた結果である図13と定性的に一致している。

上述したように、

pH調整を行うこととした。以上より、ここでは反応時間と反応時のpHを検討対象とした。
図17は、琵琶湖水の測定結果である。測定は7回繰り返して行った。この図の経過時間ゼロとは、塩素を添加してから24時間後を意味しており、このときすでに残留塩素は検出限界以下となっている。この後pHを7または10に調整した上でエストロゲン様作用の経時変化を測定した。

まず、琵琶湖水原水の酵素活性相対値は平均11%であった。図17の経過時間ゼロのときの値は、塩素処理後の値を示している。図17に示すように、フミン物質を中心とする天然有機物と塩素とが反応すればエストロゲン様作用が増大するが、微量汚染物質が塩素によって分解されてそのエストロゲン様作用を失う効果の方が大きいものと考えられる。なお、個別の化学物質として図16の測定も行い、原水中の図16が塩素によって分解されている傾向を把握した。しかし、その濃度は1 ng/l以下と、ELISAによる定量・検出限界付近であり、測定値の信頼性は高いとはいえなかった。

次に、図17をみる

塩素処理を行った時点(図17の経過時間ゼロ)では、琵琶湖水のエストロゲン様作用は低減(ほぼ消失)したと評価されていた。しかし、その後、加水分解が進むにつれてエストロゲン様作用が増大していったのである。いったん塩素による分解作用を受けた個別の微量化学物質が再びエストロゲン様作用をもつようになるとは考えにくいので、やはり、図16に示したように、フミン物質を中心とする天然有機物由来のエストロゲン様作用中間体が、エストロゲン様作用をもつようになったものと推察される。そしてその値の大きさは、最大で、琵琶湖水原水(平均11%)の2倍以上に達している。

は、試料水のpH7、温度20℃、反応時間24時間とし、また、24時間後の残留塩素濃度が1~2 mg/lとなる条件で行うこととされている(文獻38)。この方法は化学的な最大値を求めようとするよりは、水道水の給配水過程で実際に出現しうる濃度を把握しようという意図がある。これに対して本実験では、pH再調整の影響だけを見ようとしたため、塩素添加後24時間で塩素がほぼ消費される条件としており、またエストロゲン様作用の最大値を把握するためにpHを10としている。したがって、今後、水道水の給配水過程で実際に出現しうるエストロゲン様作用の強さを把握しようとする場合には、上記のトリハロメタン生成能の測定条件と同様な条件で測定を行う必要がある。

一方、本研究による成果から指摘されるべき重要な点は、上述のように、エストロゲン様作用生成能は主としてフミン物質を中心とする天然有機物に由来すると考えられ、その作用の大きさは、本測定の場合、琵琶湖水原水の2倍以上であったという点である。すなわち、水処理後の残留有機物と塩素とが反応すればトリハロメタンが必ず生成するのと同様に、残留有機物と塩素との反応によりエストロゲン様作用が生成してくるという点で、水道水のエストロゲン様作用においても、いわゆるトリハロメタン問題と同じ構造の問題が存在するということが

とした上で塩素を添加し、塩素処理はpH 7の条件で行った。

図15をみると、エストロゲン様作用が最大になったのは $Cl_2/TOC=1$ 、24時間後である。 $Cl_2/TOC=0$ の場合とは、試薬フミン酸そのものもつエストロゲン様作用を意味するので、塩素との反応により作用が2.2倍に増大したことを示している。また、この増大した作用は、65時間後には低減している。

(2)エストロゲン様作用中間体と生成能
塩素処理水のエストロゲン様作用は、塩素処理後、加水分解が進むとともに増大する特性を有すること、また、加水分解がさらに進むと低減に転ずることがわ

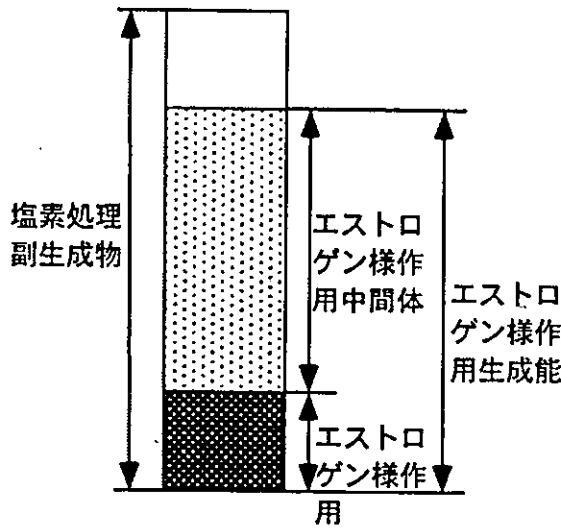


図16 水道水のエストロゲン様作用の構造

場合(文献35、36)、塩素で生成した全有機ハロゲン化合物のうち、トリハロメタンはごく一部を占めるにすぎない。全有機ハロゲン化合物の中にトリハロメタン中間体が存在し、残留塩素のない条件下であっても、時間とともにトリハロメタンに変わっていく。そして全体能とよばれている。この過程は反応速度とともに

かった。しかるに実際の水道水の配水過程のような中性、常温の条件を想定すると、エストロゲン様作用は増大する方向にあると考えて差し支えないだろう。これらのことを考慮した上で、水道水のエストロゲン様作用の構造を推定したものを図16に示す。

図13、図14に示す実験結果から、「エストロゲン様作用中間体」、「エストロゲン様作用生成能」として定義できる成分が存在しているものと推定した。つまり、塩素処理が終了した直後はエストロゲン様作用を示す成分は少ないが、「中間体」があり、時間とともにエストロゲン様作用を示すものに変わっていくと考えられるのである。

理解され、例えば、配水過程でトリハロメタン濃度が増大していく事実や、中間塩素処理の有効性と限界に関する説明が可能となっている。この意味において塩素処理水のエストロゲン様作用の特性は、トリハロメタン生成の構造と同一であるということが出来る。

なお、図7で示したように、水道水のエストロゲン様作用には、フミン物質を中心とする天然有機物由来するものと、微量化学物質由来するものがあり、塩素処理による変化方向が異なる。この議論では、少なくとも水道水中には、そのエストロゲン様作用の強さが次第に増大していくフミン物質由来する成分が存在するというのである。

一方、フミン酸の作用が塩素によって増大する理由については、塩素による塩素化または酸化作用の結果生成する物質の効果が大きいものと推定した。そこで、このエストロゲン様作用の特性と副生成物との関係についても一部検討を行った(文献37)。表3に示したように、副生成物の中で2,4,6-トリクロロフェノールにエストロゲン様作用があることを確認しており、クロロフェノール類の挙動を検討したが、クロロフェノール類は中間生成物であることから生成した後速やかに減少していき、エストロゲン様作用に対応しているとはいえない結果であった。

図13、図14、図15の結果を総合すると、水道水のエストロゲン様作用の強さを決定する要因としては以下をあげることができる。①塩素注入量、②反応時間、③反応時のpHおよび水温。図16に示す「エストロゲン様作用生成能」、すなわちその水のエストロゲン様作用のとりうる最大値を測定するためには、上記の条件を明らかにする必要がある。

6.2 水道原水のエストロゲン様作用生成能の測定

ここでは水道原水となる自然水を対象として、図9の手順で試料調製を行い、塩素注入後のエストロゲン様作用の変化を測定するとともに、エストロゲン様作用生成能を検出することを試みる。自然水としては琵琶湖水を用いた。

塩素処理水のエストロゲン様作用の強さを規定するとしてあげた3項目を検討する必要があるが、このうち塩素注入率については、図15で、注入率を $Cl_2/TOC=1$ と高めてもエストロゲン様作用の増大はみられなかった。したがって、ここでは $Cl_2/TOC=1$ 付近で行うことを基本とし、実際には塩素要求量も考慮して初期残留塩素濃度が 1 mg/l となるように塩素を添加した。また、加水分解の促進のためには、pHを高める方法と水温を高める方法とがあるが、エストロゲン様作用生成能測定のために高水温とするのは操作上簡便とはいえないため、ここでは

シム・ヒトシノケンシノ類編雑誌誌22号
キョウシキ 片袋5号誌録地・全国誌録誌
誌録' (2004).

④ Paul Harrison, Sadahiko Itoh,
Heinz Eugen Brauch, Guus IJpeelaar,
Marie-Laure Janex, Karl Linden,
Frans Schulting, and Bo N. Jaco-
bsen : Summary of Presentations
and Discussions on Endocrine Dis-
rupting Compounds (EDCs) in Drink-
ing Water, IWA Leading Edge Tech-
nology Conference, 26-28 May 2003,
Noordwijk, The Netherlands.(http://
www.iwahq.org.uk/template.cfm ?
name = technology2003),(2003).

⑤ Jason W. Birkett and John N.
Lester, eds. : Endocrine Disrupters
in Wastewater and Sludge Treatme-
nt Processes, 295p., Lewis Publishers,
(2003).

⑥ B. N. Jacobsen and A. I. Schafer,
eds. : IWA World Water Congress,
Melbourne 2002, Workshop on Endri-
cine Disrupters Proceedings, 63p.,
(2002).

⑦ M.-L. Janex, A. Bruchet, P.
Charles, M. Huber and T. Ternes :
On-going EU Research and Current
Experiences with Advanced Drink-
ing Water Treatment Processes for
EDC and Pharmaceutical Removal,

IWA Leading-Edge Conference on
Water and Wastewater Treatment
Technologies, Noordwijk/ Amster-
dam, The Netherlands, 26-28 May
2003, p. 29, (2003).

⑧ Terri Damstra, Sue Barlow,
Aake Bergman, Robert Kavlock,
Glen Van Der Kraak等 小林國昭・註
譯 : WHO環境ホルモンキャンペーン
国内環境衛生学物質の科学知現状と国際
会議 344 p., ヒク・リヤー・ヒク
(2004).

⑨ 環境省 : 内分泌環境化学物質 (内分泌
環境ホルモン) 問題と国ホモニ
ヤーク http://www.env.go.jp/chemi
/end/index.html

⑩ 国土材料学雑誌 : 水質基準の取組
時ととら (後編)' (2003).
⑪ 国土材料学雑誌 : 水質基準の取組と水
質基準の取組 : 水質基準の取組と
水質基準の取組' (2003).

⑫ World Health Organization :
WHO Guidelines for Drinking Water
Quality, The third edition (http://
www.who.int/water_sanitation_
health/),(2003).

⑬ 小林國昭等 : 内分泌環境化学物質
キャンペーン及びホルモンの環境衛生
(EDCs) 環境衛生誌' 環境衛生誌
誌録' 532p.(2001).
⑭ K.Waller, S. H. Swan, G. Delo-

reize, and B.Hopkins : Trihalometh-
anes in Drinking Water and Spont-
aneous Abortion, Epidemiology, Vol.
9, pp.134-140,(1998).

⑮ International Program on Che-
mical Safety : Environmental Health
Criteria, Disinfectants and Disinfe-
cant By-products,(1998).

⑯ Singer, P. C. : Formation and
Control of Disinfection By-products
in Drinking Water, American Water
Works Association,424 p.,(1999).

⑰ Introduction : Emerging Contami-
nants in Water, Environmental Engi-
neering Science, Vol. 20, No. 5,pp.
387-388,(2003).

⑱ S. Itoh, H. Ueda, T. Nagasaka, G.
Nakanishi, and H. Sumitomo, Evalua-
ting Variation of Estrogenic Effect
by Drinking Water Chlorination
with the MVLN Assay, Water Scie-
nce and Technology, Vol.42, Nos.7-8,
pp.61-69,(2000).

⑲ M. Pons, D. Gagne, J.C. Nicolas,
M. Mehtai, A New Cellular Model of
Response to Estrogens : Abiolumi-
nescent Test to Characterize (Anti)
Estrogen Molecules, BioTechniques,
Vol.9, No.4, pp.450-459, (1990).

⑳ E. M. Thurman and R. L. Ma-
lcolm : Preparative Isolation of Aqu-

atic Humic Substances, Environme-
ntal Science & Technology, Vol.15,
pp.463-466, (1981).

㉑ 田藤植雄' 長坂健雄' 中田昭' 野中
隆' 巨々生勢 : 水道水のホルモンの
作用の特性と制御性に関する研究
日本環境衛生学雑誌' Vol.37, pp.333-344
(2000)

㉒ 日本水道協会 : 生物起因の異臭味水
対策の指針 1999年版' 345.p,
(1999).

㉓ 平成10年度厚生科学研究費補助金
内分泌かく乱化学物質の水道水からの暴
露等に関する調査研究報告書' 5' の
W>JZト>ヤ' pp.206-228,(1999).

㉔ 天古洋子等' 環境衛生学' 東京市 田
中昭 : 粗水換えと酵母を用いた水中の
ホルモンの検出の研究' 環境衛生学
雑誌' Vol.36,pp.199-208,(1999).

㉕ K.Lenz, V. Beck, and M. Fue-
racker : Behavior of Bisphenol A
(BPA), 4-Nonylphenol (4NP) and 4-
Nonylphenol Ethoxylates (4NP1EO,
4NP2EO) in Oxidative Water Tre-
atment Processes, Pro-ceedings of
The 4th IWA Specialized Conference
on Assessment and Control of
Hazardous Substances in Water-ECO-
HAZARD 2003, Aachen, Germany,
14-17 Sep, 2003, pp. 5/1-5/7,(2003).
㉖ J. Hu, T. Aizawa, and S. Oo-

できる。

したがって、水道水の水質管理上は、水道水のエストロゲン様作用低減化のためには、現在リストアップされているような個別の微量汚染物質の除去に加えて、塩素接触前に、全有機炭素(TOC)、過マンガン酸カリウム消費量などとして測定される有機物の除去も重視すべきであると指摘しうる。

7 おわりに

本稿では、水道水のエストロゲン様作用の構造を把握するために行った研究を紹介した。以下に主たる成果をまとめるとともに、今後の微量汚染物質問題について補足することとした。

(1) 浄水処理過程での処理性

琵琶湖水から検出されるエストロゲン様作用は、凝集、さらに活性炭処理を経るにつれて低減し、活性炭処理後の作用はほぼ消失した。一方、塩素処理を行うと、エストロゲン様作用はいずれの水でも増大した。

(2) エストロゲン様作用が塩素処理で増大する理由

塩素処理によるエストロゲン様作用の増大要因については、塩素による塩素化または酸化作用の結果生成する物質の効果が大きいものと推察した。

(3) 水道水のエストロゲン様作用の特性と試料調製法

水道原水中には、塩素処理によってエストロゲン様作用が増大する物質(主として天然有機物)と減少する物質(主として微量汚染物質)があり、水道水のエストロゲン様作用にはこれらが混在していることを指摘した。すなわち、水道水のエストロゲン様作用とは、塩素によって増大した作用と低減した作用の和として現れるものである。

これらの成分を同時に濃縮する方法を確立した。すなわち、OASIS HLBカートリッジに通水した後、天然有機物とその副生成物を水酸化ナトリウム水溶液を通過して回収する。その後、個別の微量汚染物質とその副生成物をジクロロメタンを通過することによって回収する。両者を混合して、エストロゲン様作用試験のための試料とする。

(4) エストロゲン様作用中間体および生成能の存在とその測定
塩素処理水のエストロゲン様作用は、加水分解が進むとともに次第に増大するが、加水分解がさらに進むと低減に転じた。実用上は、「エストロゲン様作用中間体」、「エストロゲン様作用生成能」という成分を想定でき、塩素処理が終了した直後はエストロゲン様作用を示す成分は少ないが、「中間体」があり、時間とともにエストロゲン様作用を示すものに変わっていくと考えられた。これはトリハロメタンの生成特性と同一であることを

指摘した。

提示した試料調製法を用いて、琵琶湖水のエストロゲン様作用生成能、すなわちエストロゲン様作用の最大値の測定を試みた。エストロゲン様作用が最大となったのは以下の条件であった。塩素注入率・初期残留塩素濃度1 mg/l、pH7、20℃、暗所で24時間静置。その後、pHを10として24時間静置。最大に達したときの作用強度は、琵琶湖水原水の2倍以上であった。

(5) 水質管理上の課題

一連の研究から指摘されるべき重要な点は、水道水のエストロゲン様作用においても、いわゆるトリハロメタン問題と同じ構造の問題が存在することが明らかになったことである。すなわち、水処理後の残存有機物と塩素とが反応すればトリハロメタンが必ず生成すると同様、残存有機物と塩素との反応によりエストロゲン様作用が生成することを指摘した。

工学的立場からは、水道水のエストロゲン様作用低減化のためには、個別物質の除去に加えて、塩素接触前に、TOC、過マンガン酸カリウム消費量などとして測定される一般有機物をできるだけ除去しておくことが重要であるといえる。

(6) 今後の微量汚染化学物質問題の展望

本稿では内分泌攪乱化学物質をとりあげているが、生体に悪影響を及ぼす化学

物質については、重金属類をはじめとして歴史的にさまざまな物質および有害性が注目されてきた。この歴史的経緯から展望すると、今後は、発がんのような重篤なエンドポイントをもつものから、健康状態からの乖離を引き起こすものへ視点が生体シフトしていくとも考えられる。それらの化学物質は、何らかの生理活性作用を有し、生体の恒常性を攪乱するものであるということができよう(文献9)。このような物質群としては、内分泌攪乱化学物質、免疫毒性物質、残留医薬品、自然毒などがあげられる。

微量化学物質による水質汚染問題では、今後もさまざまな物質がクローズアップされ続けるだろう。それらに対応できる水処理技術を整備していく必要があるわけだが、同時に、ヒトの健康や生態系に対する重要度や対策の必要性を評価する手法も整備していく必要があるだろう。

参考文献

- 1) 平成10年度厚生科学研究費補助金…内分泌かく乱化学物質の水道水からの暴露等に関する調査研究報告書、(1998)。
- 2) 厚生科学研究費補助金生活安全総合研究事業…内分泌かく乱化学物質の水道水中の挙動と対策等に関する研究、平成11～13年度総合研究報告書、(2002)。
- 3) 厚生労働科学研究費補助金化学物質リスク研究事業…水道におけるフタル酸

- Kubo: Products of Aqueous Chlorination of Bisphenol A and their Estrogenic Activity, Environmental Science and Technology, Vol. 36, No. 9, pp. 1980-1987 (2002).
- 26) 伊藤植彦、中西岳、早坂剛幸: 塩素処理によるエストロゲン様作用の変化と試料調製法に関する実験的考察、水道協会雑誌 第72巻、第4号、pp. 10-20 (2003).
- 27) 赤塚靖、鎌田素之、武田誠、亀井翼、眞柄泰基、西原力: 水処理プロセスにおけるEstrogen活性の挙動に関する研究、第34回日本水環境学会年會講演集、p. 204.(2000).
- 28) H. Takigami, T. Matsuda, and S. Matsui: Detection of Estrogen-like Activity in Sewage Treatment Process Waters, Environmental and Sanitary Engineering Research, Vol. 12, No.3, pp.214-219, (1998).
- 29) 矢古宇靖子、高橋明宏、東谷忠、田中宏明: 下水処理場内でのエストロゲン様活性の挙動、第34回日本水環境学会年會講演集、p.419.(2000).
- 30) 佐谷戸安好、中室克彦、上野仁: 都市河川水とその塩素およびオゾン処理水の変異原性に関する研究、変異原性試験、Vol. 1, No. 1, pp.18-27.(1992).
- 31) 伊藤植彦、早坂剛幸、岡田朋之: 蛍光分析による琵琶湖水と塩素処理水中フミン物質の回収性の検討、用水と廃水、Vol.45, No.6, pp.24-28 (2003).
- 32) 伊藤植彦、吉村友希、岡田朋之、辻村泰聡: 水道水のエストロゲン様作用生成能の測定、水道協会雑誌(投稿中)
- 33) S. Itoh, D. Ikeda, Y. Toba, and H. Sunimoto: Changes of Activity Inducing Chromosomal Aberrations and Transformations of Chlorinated Humic Acid, Water Research, Vol.35, No.11, pp.2621-2628 (2001).
- 34) 伊藤植彦、仲野敦士、荒木俊昭: 塩素処理水の染色体異常誘発性・形質転換誘発性の変化過程と強変異原物質MXの指標性、水環境学会誌、Vol. 26, No. 8, pp. 499-505 (2003).
- 35) 丹保憲仁編著: 水道とトリハロメタン、技報堂出版、273p.(1983).
- 36) 梶野勝司: 塩素処理過程におけるトリノロンタン中間体の生成とトリノロンタン生成に及ぼす影響、水道協会雑誌、第51巻、第7号、pp.33-39 (1982).
- 37) 曾志紅: Behavior of Chlorophenols as Suspected Endocrine Disruptors in Chlorinated Water, 京都大学修士論文、56p.(2001).
- 38) 上水試験方法2001年版、日本水道協会(2001).
- 39) 特集 環境汚染物質による生体恒常性の攪乱、水環境学会誌、Vol.25, No.2, pp. 2-24.(2002).

雨

地球温暖化の影響予測

気象庁は地球温暖化予測情報を'04年度中に公表する。これに盛り込む研究が集まっている。

気象庁気候情報課の石原幸司係長らのグループは気象研究所が開発した地域気候モデルで、'81~'00年と100年後の2081~2100年の6~9月の気象を比較した。気候変動に関する政府間パネル(IPCC)によるシナリオのうち、温室効果ガスの排出が今後比較的基準で続くケースを採用した。

この間の月平均降水量は、北海道を除くほぼ全国で20%以上も増加し降水強度(1回に降る雨量)も、九州南部を除いて全国的に約20%増加する。特に北陸、山陰、九州北部ではより強くなる。

グループは日本気象学会(福岡市)で報告する。【国連防災世界会議の行動計画の事務局原案】10・6発表された。地球温暖化によって洪水や暴風雨災害の危険性が高まることへの対応策の強化などを盛り込んだ。発展途上国での被害の増加が予想される。災害被害軽減のための環境保全対策強化や先進国からの途上国支援の充実などを各国が取るべき行動として盛り込んだ。(福井新聞、'04・10・7、図も)

斜面林の染み込み方や衝撃力を人工雨を降らせ実験

防災科学技術研究所(つくば市)と筑波大は、同研究所の大型降雨実験施設で斜面に植えたヒノキに人工雨を降らせ、地面への染み込み方や衝撃力を計測する実験を公開した(10・15)。森林に降った雨水の動きを解明し、森林管理のモデルづくりや洪水予測に役立てる。

● Aqua えんぴつ



100年後に降水強度が高まる程、数値が高い
'81~'00年と2081~2100年の6~9月の降水強度比較

緩やかな斜面に地上16mから20mm/時の人工雨を30分間降らせた。初めは土に染み込んでいた雨が、徐々に地面に強く弾かれるようになり、最後は地表を流れる様子が観察できた。(茨城新聞、'04・10・16)

(25) 凝集フロックへの吸着原理に基づいた水道原水中の溶存態有機物の特性評価

Characterization of Dissolved Organic Matter (DOM) based on the adsorption principals onto coagulated floc

小松一弘*、中島典之*、古米弘明*

Kazuhiro KOMATSU*, Fumiyuki NAKAJIMA*, Hiroaki FURUMAI*

Abstract; Adsorption experiments using three types of model flocs and various DOM were conducted for the purpose of characterization of DOM based on the adsorption principals. The model flocs were (1) ferric oxide under pH=9.5 (Fe9.5) acting as the absorbent by ligand exchange, (2) ferric oxide under pH=6.5 (Fe6.5) as the absorbent both by ligand exchange and by charge neutralization, and (3) silica with cationic polyacrylamide (Si+C) as the absorbent by cation bridging. The DOM samples included lake water as well as amino acids, sugars, organic acids, protein, polysaccharide, humic acid, and lignin. The comparison of the DOM concentrations before and after the adsorption experiment indicated that DOM with low molecular weight was not adsorbed by all the model flocs. The adsorption potential of DOM was evaluated as the residual ratio of DOM after adsorption experiment in the case of 3.6g/L floc concentration. The potential varied among the DOM as lake water<lignin<albumin \approx starch \approx humic acid at the conditions of Fe9.5 and Fe6.5. Under the condition of Si+C, the potential was lower compared with Fe9.5 and Fe6.5 except for albumin. The selective adsorption of DOM with E_{260} was observed, and the selectivity was highest under the Si+C condition.

Keyword; Dissolved Organic Matter (DOM), model flocs, ligand exchange, charge neutralization, cation bridging

1. はじめに

我が国の浄水場は、濁質除去を目的として大半が凝集沈澱、急速砂ろ過方式を採用している¹⁾が、同方式のみの処理では溶存態有機物(DOM: Dissolved Organic Matter)の50%以上が残存することが確認されている^{2),3)}。残存したDOMは、消毒副生成物前駆物質、水道配管内における微生物再増殖の基質となるなど様々な問題を引き起こすため、上水処理において効果的な除去が求められている。そうした課題に対応するためには、除去対象であるDOMの特性評価を行わなくてはならない。

水道原水中に含まれるDOMの特性評価手法として、樹脂を用いた親水性/疎水性分画⁴⁾、UF膜を用いた分子量分画⁵⁾やGPC(Gel Permeation Chromatography)による分子量測定^{6),7)}、熱分解GC/MS⁸⁾や3次元励起蛍光スペクトル^{9),10)}による高分子有機物の特性評価などが挙げられ、それらを用いた凝集処理前後におけるDOMの特性変化の報告に関しても研究例が数多くある^{3),11),12)}。しかし季節変化などによる原水水質の変化に対応して、凝集処理によるDOM自体の除去効果を理解するには、凝集処理のメカニズムに着目したDOMの特性評価も行う必要がある。

凝集処理においてDOMが除去される過程は複雑で十分な解明には至っていないが、大部分は濁質成分の集合体である凝集フロックへの吸着作用により濁質と共に除去されるとされており¹³⁾、その吸着作用の基本原

*東京大学大学院工学系研究科都市工学専攻 (Dept. of Urban Engineering, Graduate School of Engineering, The University of Tokyo)

として主に①配位子交換¹⁴⁾、②荷電中和¹⁵⁾、③陽イオンによる架橋作用^{16),17)}が挙げられる。配位子交換は水和した凝集フロック表面上の水酸基とDOMが持つカルボキシル基が化学的に結合する現象である。また荷電中和は正に帯電している凝集フロックと負に帯電しているDOMが電氣的に結合する現象で、凝集処理過程でpHを下げるとDOM除去が促進されるのは、この原理によるためであるとされている¹³⁾。架橋作用は、特に凝集助剤としてポリマーを添加する際に働く作用で、負に荷電しているDOMとフロックに対して、正に荷電したポリマーが電氣的に結合することにより起こる。

本研究では、これらの凝集フロックへの吸着原理に基づいたDOMの特性評価を主たる目的とした。湖沼水中のDOMには、タンパク質や多糖類などの高分子化合物やフミン酸などの腐植物質が多く含まれていると考えられる。そのため本研究では、湖沼水だけではなく、タンパク質、多糖類、有機酸、フミン酸、リグニンなどをはじめとする標準物質もDOM試料として用いた。

2. 実験条件及び方法

2.1. モデルフロックの調整

使用したモデルフロックを表1に示した。それぞれのモデルフロックは10g/Lの懸濁液として作成し、Na₂CO₃でアルカリ度を40mgCaCO₃/Lに調整し、HClとNaOHで所定のpHにした。作成したモデルフロック懸濁液は2.3で示す方法でDOM試料に添加した。なお、DOMは一般に負に帯電していると言われている¹⁸⁾ので、以下に説明する実験条件は負に帯電しているDOMに対して想定される吸着作用である。

pH=9.5に調整した酸化第二鉄懸濁液を使用した系(以下Fe9.5)では、酸化第二鉄の結晶表面に露出した鉄原子に配位した水酸基と、有機物成分表面のカルボキシル基との配位子交換作用が想定される。pH=9.5は酸化第二鉄の等電点(pH=8前後¹⁵⁾)以上であるため酸化第二鉄は負に帯電しており、DOMを荷電中和によって吸着することはない。すなわちこの系において吸着されるDOMは、配位子交換作用のみによって凝集フロックへ吸着するDOMであると考えられる。

pH=6.5に調整した酸化第二鉄懸濁液を使用した系(以下Fe6.5)では、酸化第二鉄が正に帯電している。そのため、DOMは配位子交換作用と荷電中和作用によって吸着されると想定される。

モデルフロックとしてシリカのみを使用した場合、シリカは金属酸化物ではないことから配位子交換を起こしにくい上、pH=9.5の条件下では負に帯電していることから荷電中和も起こさない。しかしシリカとカチオン系ポリアクリルアミド(CPAM: Cationic Polyacrylamide)を添加した系(以下Si+C)では、CPAMによる架橋作用でDOMが吸着される。またCPAMは有機物であることから、過剰に添加すると残留することが考えられる。そのため、CPAMが最も効果的に働きつつも残留しないシリカ:CPAM比を予備実験において求めた。その結果、重量比でシリカ:CPAM=100:1と定めた。

表1:実験条件

実験条件名	モデルフロック	CPAMの添加	pH	想定される吸着作用
Fe9.5	酸化第二鉄 (和光 純度99.9%)	×	9.5	配位子交換
Fe6.5	酸化第二鉄 (和光 純度99.9%)	×	6.5	配位子交換、荷電中和
Si+C	シリカ (和光 純度99.9%)	○	9.5	架橋作用

*負に帯電しているDOMを想定

表 2: 使用した DOM 試料

低分子有機物

分類	使用物質	分子量
アミノ酸	グリシン	75
	アスパラギン酸	133
	リシン	146
ジペプチド	グリシルグリシン	132
単糖類	グルコース	180
二糖類	マルトース	360
有機酸	酢酸	60
	シュウ酸	90
	マレイン酸	116

高分子有機物

分類	使用物質
タンパク質	牛血清アルブミン(SIGMA 純度97-99%)
多糖類	水溶性デンプン(岸田化学 Lot No. D12119J)
その他	リグニン(東京化成工業 Lot No. G101)
	フミン酸(和光 Lot No. TWH6994)
	湖沼水(I沼 2002年12月採水)

2.2. DOM 試料の調整

用いた DOM 試料を表 2 に示した。多糖類の代表物質としてデンプン、タンパク質の代表物質としてアルブミンを使用し、単糖類、アミノ酸、有機酸も対象とした。それら以外に、水道原水に含まれているとされるフミン酸とリグニンも対象物質として使用した。さらに水道水源として利用されている I 沼湖沼水(採水月: 2002 年 12 月)も DOM 試料として使用した。

用意した試料は全て燃焼処理済み(600°C、4 時間)のガラス繊維ろ紙(Whatman 社 GF/F: 粒子保持能 0.7 μm)でろ過を施し、そのろ液を DOM 原液とした。DOM 原液は、I 沼湖沼水の濃度レベルである 3~5mgC/L になるよう希釈し、モデルフロックと同様の方法でアルカリ度、pH を調整した。作成した DOM 試料は 2.3 の吸着実験に供した。

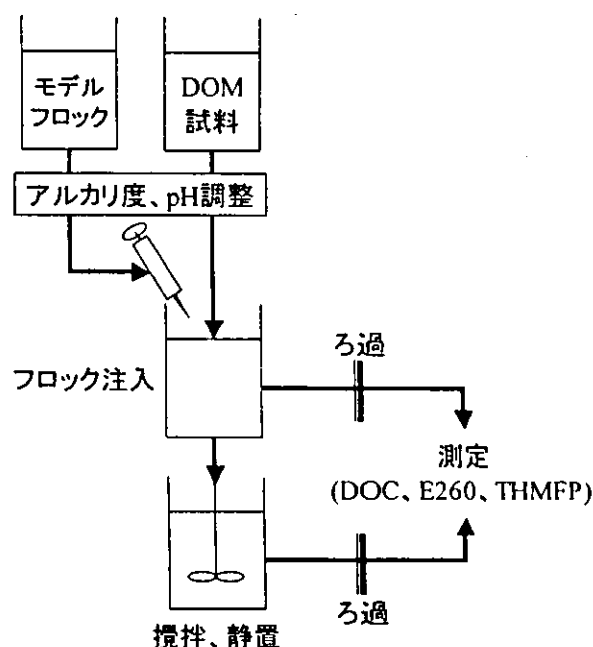


図 1: 吸着実験のフロー

2.3. 吸着実験及び測定方法

吸着実験のフローを図 1 に示した。500mL ビーカー 3 つに DOM 試料 250mL を入れ、それぞれにモデルフロック懸濁液を 5mL、60mL、140mL 添加 (フミン酸の場合、5mL、15mL、30mL、60mL、80mL、140mL と 6 段階に添加) 後、6 連ジャーテスター(杉山元理器社)で攪拌 (100rpm、6 時間) し、静置した。6 時間攪拌後には、吸着平衡に達しているとみなせることは予備実験にて確認した。その後、再びろ過を施してフロックを取り除き、吸着実験前の試料と吸着実験後の試料を測定に供した (モデルフロック懸濁液注入直後の DOM 濃度を初期濃度、6 時間攪拌、静置後の DOM 濃度を平衡濃度とし、平衡濃度/初期濃度を DOM 残存率と定義した。)。以上の吸着実験は 1 種類の DOM 試料に対し、表 1 に示した 3 種類の実験条件において行った。

DOM 濃度は、測定項目を DOC(Dissolved Organic Carbon)、E₂₆₀、THMFP(Trihalomethane Formation Potential)として評価を行った。ただし、E₂₆₀、THMFP の測定はフミン酸、リグニン、湖沼水に対してのみ行った。DOC は D-NPOC(Dissolved Non-Purgeable Organic Carbon)として測定し、E₂₆₀ は波長 260nm における紫外外部吸光度を測定した。THMFP は上水試験方法¹⁹⁾に準じて測定し、モル濃度として表記した。

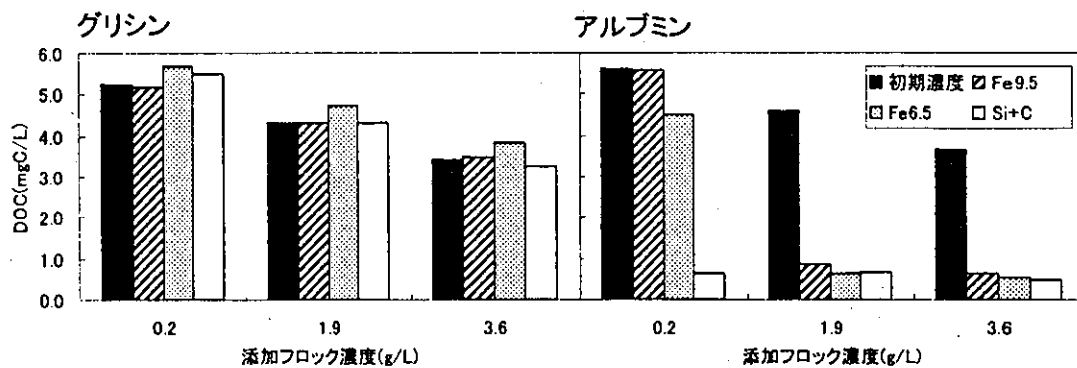


図 2: 吸着実験結果

3. 実験結果

3.1. フロク添加量と DOC の平衡濃度の関係

図 2 に DOM 試料としてグリシン、アルブミンを対象とした場合における吸着実験の結果を示した。まずグリシンについては、Fe9.5、Fe6.5、Si+C のいずれのモデルフロクを使用した場合においても、添加フロク濃度の増加に伴う DOC の濃度減少、すなわち吸着が見られなかった。グリシンに限らず、単糖類、二糖類、有機酸など低分子化合物においては吸着が見られることはなかった。ただし低分子化合物のうち、リシンの場合は、例外的に吸着が見られた(3.2 参照)。なお、吸着が起こらなかったと考えられるグリシンのデータにおいては、フロク添加量 0.2g/L、1.9g/L において平衡 DOC 濃度が初期 DOC 濃度を若干上回っている傾向が見られている。この原因として、不純物としてフロク中に含まれていた有機物の溶出や測定誤差等が考えられる。図 2 におけるアルブミンでは DOC の吸着による減少量を少し過小評価していることになるが、著しい濃度変化が観察されたことから、過小評価量は無視できると判断した。

一方、アルブミンについては添加フロク濃度の増加と共に DOC の濃度減少が確認でき、フロク添加濃度が 1.9g/L、3.6g/L の場合においては、モデルフロクの種類に依らず 1.0mgC/L 以下まで減少した。アルブミンに限らず、デンプン、フミン酸、リグニン、湖沼水など高分子化合物を対象とした場合では、添加フロク濃度の増加と共に吸着が促進される傾向が見られた。すなわち、低分子化合物ではモデルフロクの種類によらず吸着作用が見られなかったのに対し、高分子化合物ではいずれの場合においても吸着作用が見られた。本研究での吸着原理として想定しているのは、配位子交換、荷電中和、陽イオンによる架橋作用であるため、DOM の持つ物性のうち、カルボキシル基量と荷電量が吸着に大きな影響を与えると考えられるが、その他にも分子量が大きく影響していることが分かった。

3.2. 様々な DOM 試料の吸着特性

Fe9.5 において、DOM 試料としてフミン酸、デンプン、アルブミン、リグニンをういた場合の、添加フロク濃度と DOM 残存率との関係を、図 3 に示した。その結果、吸着による DOC の急激な濃度変化は、フミン酸で 2.4g/L 以下、デンプンで 1.9g/L 以下、アルブミンで 1.9g/L 以下、リグニンで 0.2g/L 以下の添加フロク濃度において見られることが分かった。またここでは示していないが、DOM 試料として湖沼水を用いた場合においても、1.9g/L 以下のフロク添加濃度において、DOC の急激な濃度変化が見られたことを確認している。すなわち、それ以上のフロク

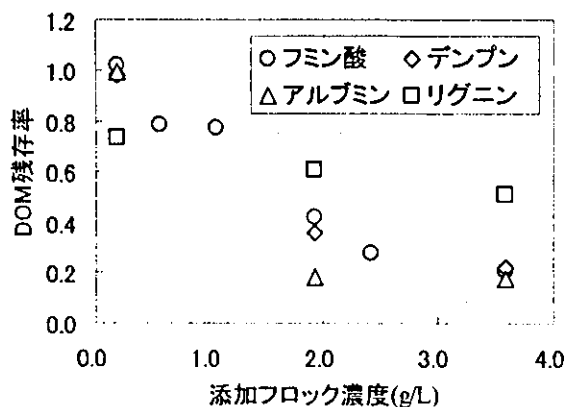


図 3: 添加フロク濃度と DOM 残存率の関係

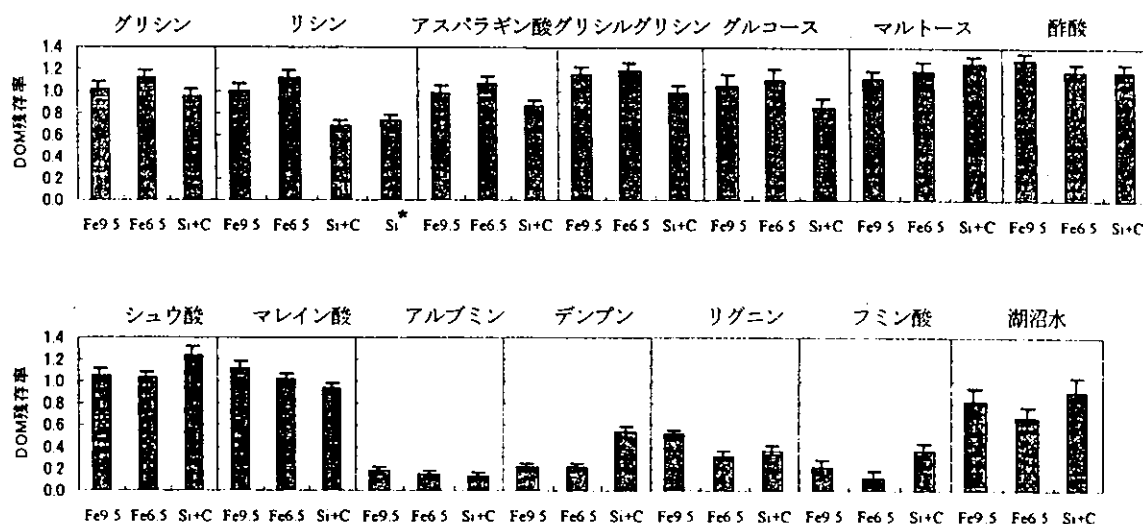


図4: フロック添加濃度 3.6g/L における DOM 残存率
 (*Si ではモデルフロックにシリカを使用、CPAM は無添加)

ク添加濃度(3.6g/L)における DOM 除去率(1-DOM 残存率)は、それぞれの DOM 試料が持つ吸着ポテンシャルを示しているといえる。

フロック添加濃度 3.6g/L における DOM 残存率について図 4 に示した(初期 DOC 濃度と平衡 DOC 濃度にはそれぞれ $\pm 0.1 \text{ mgC/L}$ の測定誤差があることを考慮して誤差範囲の表示も行った)。この値が低いことは、それぞれの DOM 試料が持つ吸着ポテンシャルが高いことを意味する。図 2 と同様に、ここでも一部の物質について平衡 DOC 濃度が初期 DOC 濃度より上昇する傾向が見られたが、吸着作用が起きたと考えられる有機物の平衡 DOC 濃度が明らかに初期 DOC 濃度より低いいため、少なくとも吸着が起きたかどうかを判断する上では問題ないと考えられる。

まず Fe9.5 と Fe6.5 について、低分子化合物であるアミノ酸、単糖類、有機酸はいずれも吸着作用を示していなかった。高分子化合物では、Fe9.5 でも Fe6.5 でも吸着ポテンシャルがリグニン < デンプン \approx アルブミン \approx フミン酸となった。しかしアルブミン、デンプン、フミン酸では Fe9.5 においても Fe6.5 においても DOM 残存率が 0.2 前後であったのに対し、リグニンでは Fe9.5 において約 0.5、Fe6.5 において約 0.3 と有意な差が見られた。また湖沼水においては、いずれのモデルフロックを使用した場合も、他の高分子化合物より高い DOM 残存率となり(Fe9.5 で約 0.8、Fe6.5 で約 0.6)、吸着ポテンシャルが比較的低いことが分かった。

次に Si+C について、低分子化合物にはいずれも吸着作用を示さなかったものの、リシンのみ DOM 残存率が 0.7 前後となっており、吸着作用が見られた。CPAM を添加しないシリカのみを用いた吸着実験(図 4 の Si)でも DOM 残存率が Si+C とほぼ同じ値を示した。リシンは等電点が例外的に高く(pH=9.7²⁰)、その他の DOM 試料とは違い、pH=9.5 において正に帯電している。すなわちリシンが Si+C において吸着されたのは、CPAM を介した架橋作用によるものではなく、負に帯電したシリカ自体との荷電中和によって吸着されたと考えられる。一方、Fe9.5 で荷電中和による吸着が起きなかったのは、酸化第二鉄(等電点 pH=8.0 前後¹⁵)に比べてシリカ(等電点 pH=3.0 前後²¹)の持つ負の荷電量が大きかったためであると考えられる。張²²はシリカと水酸化鉄について、コロイド滴定法による荷電量の測定を行っており、pH=9 においてシリカが遥かに高い負の荷電を持っていることを示している。この結果は、リシンを用いた吸着実験において、酸化第二鉄では見られなかった荷電中和による吸着が、シリカとの間では見られたことを説明することができる。

Si+C による吸着は Fe9.5 や Fe6.5 同様、高分子化合物に対しても見られた。アルブミンでは Fe9.5 や Fe6.5 とほぼ同じ値を示し、高い吸着ポテンシャルを示していた。一方、デンプン、フミン酸では Fe9.5 や Fe6.5 よりも吸着ポテンシャルが低かった。さらに湖沼水では殆ど吸着作用が見られなかった。

表 3: 吸着ポテンシャルに基づく DOM の類型化

	アルブミン	デンプン	リグニン	フミン酸	湖沼水
Fe9.5	0.18	0.22	0.51	0.21	0.81
Fe6.5	0.15	0.21	0.32	0.12	0.66
Si+C	0.13	0.53	0.37	0.36	0.90

フロック添加濃度 3.6g/L における残存率 □ 0.0-0.25 ▨ 0.25-0.50 ▩ 0.50-0.75 ■ 0.75-1.0

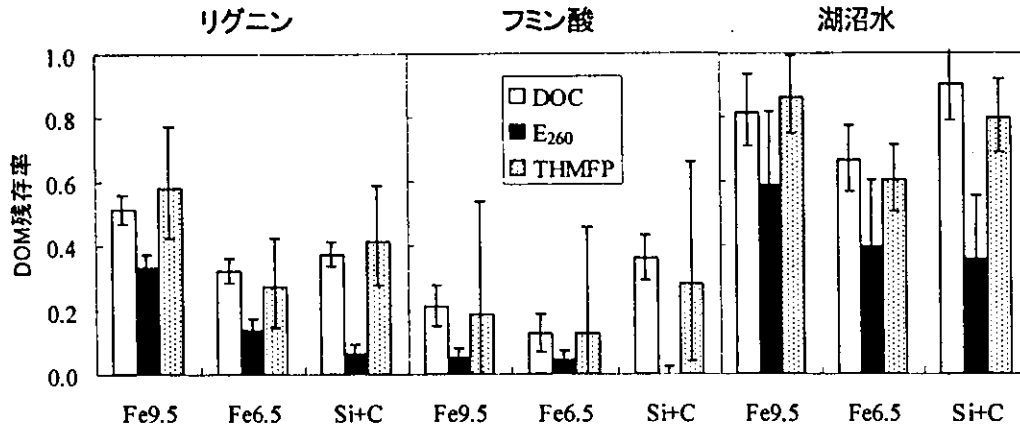


図 5: フロック添加濃度 3.6g/L における DOM 残存率

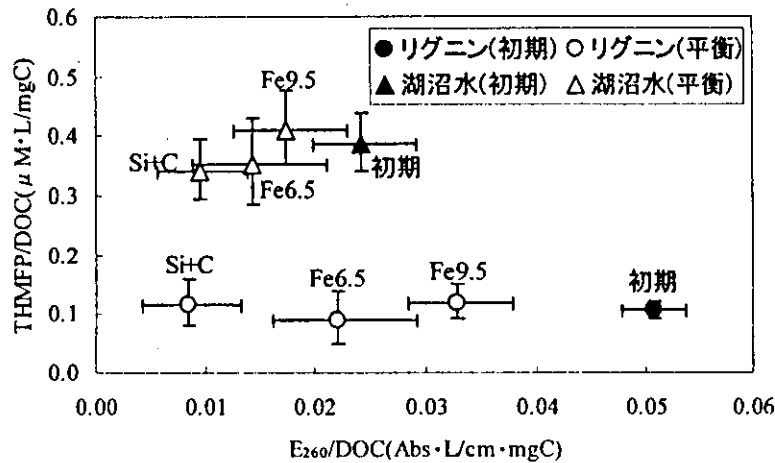


図 6: フロック添加濃度 3.6g/L における E_{260}/DOC と $THMFP/DOC$ の関係

高分子化合物について吸着ポテンシャルを表 3 にまとめた。アルブミンは、全ての実験条件で高い吸着ポテンシャルが見られたことから、配位子交換、架橋作用という吸着作用により吸着される有機物と分類できる。またデンプンは Si+C 以外で高い吸着ポテンシャルが見られたことから、架橋作用よりも、配位子交換もしくは荷電中和により吸着されやすい有機物であると分類できる。さらに I 沼湖沼水中の有機物は、いずれの吸着作用によっても吸着されにくい有機物であると分類できた。I 沼に含まれる DOM の分子量の平均値は約 1500 と比較的低いことが報告されており²³⁾、国内におけるその他の湖沼水に含まれる DOM も分子量 1000 以下の画分が高い割合を持つことが報告されている⁹⁾。すなわち、標準物質と湖沼水で明らかに結果が異なった理由の一つとして、湖沼水に含まれる低分子有機物についても、標準物質で観察されたように吸着ポテンシャルは低いと考えられることから、全体として湖沼水中有機物の吸着ポテンシャルが低くなったためと考えられる。また以上のようにモデルフロック

による吸着ポテンシャルの違いを整理し、それぞれの DOM に働く吸着作用を特徴付けることで、DOM を分類できた。今後、同様の解析を様々な DOM 試料に施してデータを蓄積することで、水道原水中に含まれる DOM を、凝集フロックへの吸着原理に基づいて類型化することが可能になると考えられる。

3.3. THM 前駆物質の吸着特性

リグニン、フミン酸、湖沼水の E_{260} 、THMFP のデータについても 3.2 と同様の考察を行った。誤差範囲の検討は E_{260} において $\pm 0.005 \text{ Abs/cm}$ 、THMFP において $\pm 0.04 \mu \text{ M} (\text{CHCl}_3 \text{ で } \pm 5 \mu \text{ g/L})$ とした。フロック添加濃度 3.6 g/L における DOM 残存率について、結果を図 5 に示した。その結果、測定項目に関わらず吸着ポテンシャルは湖沼水 < リグニン < フミン酸となった。またいずれの実験条件でも DOM として $\text{DOC} \cong \text{THMFP} < E_{260}$ の吸着ポテンシャルとなることが分かった。

フロック添加濃度 3.6 g/L における E_{260}/DOC と THMFP/DOC の関係を図 6 に示した。リグニンが有していた高いレベルの E_{260}/DOC はモデルフロックの添加によって有意に減少することが分かる。すなわち、 E_{260} 発現物質が選択的に吸着されたことを意味する。その選択性は特に Si+C で強く、Fe6.5、Fe9.5 の順となった。一方、いずれのモデルフロックを使用した場合においても、初期の THMFP/DOC との差が見られなかったことから、THM 前駆物質に関しては選択性が低いことが分かった。

湖沼水における E_{260} 発現物質の選択的吸着も概ね $\text{Fe9.5} < \text{Fe6.5} < \text{Si+C}$ となり、THMFP/DOC が初期のレベルと変わらなかったのはリグニンと同様の傾向であった。なお図には示していないがフミン酸でも同様に THMFP/DOC に変化がなく、 E_{260}/DOC に変化が見られた。

以上の結果より、湖沼水における E_{260} 発現物質の吸着は、CPAM による架橋作用で最も選択的に起きることが分かった。一方で、配位子交換のみによる吸着作用は、その選択性が最も低かった。なお、凝集処理によって E_{260} 発現物質が選択的に除去されることはこれまでに確認されてきている^{2),3)}。

また、いずれの吸着作用によっても図 5 に示す通り、THMFP の濃度減少は見られたものの E_{260} のような選択性は見られず、全有機物の指標である DOC と同様に減少していくことが分かった。すなわち THM 前駆物質が選択的には吸着されないことが伺えた。水道原水に含まれる有機物のうち、不飽和二重結合やベンゼン環を有する有機物が E_{260} 発現物質とされ、THMFP との相関が確認されている²⁴⁾。しかし凝集フロックへの吸着原理に基づいた特性評価によって、THM 前駆物質全てが E_{260} を発現するわけではなく、吸着された有機物に比べて、残存している THM 前駆物質には E_{260} 非発現性の物質がより多く含まれていることが示唆された。

4. 結論

湖沼水や様々な標準物質を DOM 試料として、3 種類のモデルフロックを使用した吸着実験を行い、凝集フロックへの吸着原理に基づいた DOM の特性評価を行った。その結果、以下の知見を得ることができた。

- 1) DOM 試料として高分子化合物を使用した場合、モデルフロックの種類によらず吸着作用が見られたのに対し、低分子化合物ではいずれのモデルフロックを使用した場合でも吸着作用が見られなかった。ただし低分子化合物の中でもリシンのみシリカによる吸着が見られた。これはリシンが例外的に $\text{pH}=9.5$ において正の荷電を持っていたためであると考えられる。
- 2) フロック添加濃度 3.6 g/L における DOM 残存率から、それぞれの DOM 試料が持つ吸着ポテンシャルを考察した。Fe9.5 と Fe6.5 では吸着ポテンシャルがリグニン < デンブリン \cong アルブミン \cong フミン酸となった。それらのうち、リグニンのみ Fe9.5 と Fe6.5 とで有意な差が見られた。
- 3) Si+C による吸着ポテンシャルは、アルブミンにおいて Fe9.5 や Fe6.5 とほぼ同じ値を示したものの、デンブリン、フミン酸では Fe9.5 や Fe6.5 よりも低かった。
- 4) I 湖沼水においては、いずれのモデルフロックを使用した場合も、他の高分子化合物より低い吸着ポテンシャルを示した。これは湖沼水に含まれる低分子有機物の吸着ポテンシャルが低かったことにより、全体と

して湖沼水の吸着ポテンシャルが低くなったためと考えられる。

- 5) 吸着実験前後における E_{260}/DOC と $THMFP/DOC$ の結果から、モデルブロックによる E_{260} 発現物質の選択的吸着が観察され、その選択性は $Fe_{9.5} < Fe_{6.5} < Si+C$ となった。

<参考文献>

- 1) 佐藤敦久, 眞柄泰基 (1996): 上水道における藻類障害, 技報堂出版
- 2) Kimberly, B.A., Morteza, A. (2000): Conventional and optimized coagulation for NOM removal, *J. of AWWA.*, 92(10), pp44-58
- 3) K. Komatsu, F. Nakajima, H. Furumai, P. B., Thapa, O. Miki (2002): Characterization of Removed Dissolved Organic Matters (DOMs) in Iron Coagulation by Spectrofluorimetry and Pyrolysis GC/MS analysis, the Proceedings of ENVIRO 2002 / IWA World Water Congress, e21283
- 4) A. Imai, T. Fukushima, K. Matsushige and K. Y. Hwan (2002): Characterization of dissolved organic matter in effluents from wastewater treatment plants, *Wat. Res.*, 36(4), 859-870
- 5) 中島典之, 古米弘明, 小松一弘, 中川博之 (2000): 貯水池内溶存有機物の分子量分布およびトリハロメタン生成能の季節変動, 水道協会雑誌, 69(4), pp.31-38
- 6) Amy G. L., Sierka R. A., Bedessem J., Price D., Tan L. (1992): Molecular size distributions of dissolved organic matter, *J. of AWWA.*, 84(6), pp67-75
- 7) 中島典之, 古米弘明, タパ・パッタ・バドゥール (2001): ダム湖底泥溶出水のトリハロメタン生成能と溶存有機物分子量分布, 用水と廃水, 43(7), pp5-11
- 8) Abbt-Braun G., Frimmel F. H., Schulten H. R. (1989): Structural investigations of aquatic humic substances by pyrolysis-field ionization mass spectrometry and pyrolysis-gas chromatography / mass spectrometry. *Wat. Res.* 23(12), pp1579-1591
- 9) 福島武彦, 中島俊之, 今井章雄, 松重一夫, 尾崎 則篤 (2001): EEMS による水中溶存有機物の特性解析, 水環境学会誌, 24(10), pp686-692
- 10) 小松一弘, 中島典之, 古米弘明 (2002): 低栄養塩濃度条件下における *Microcystis aeruginosa* 産生有機物の SUVA 及び励起蛍光マトリクスによる特性評価, 水環境学会誌, 25(11), pp.743-749
- 11) D. W. Page, J. A. van Leeuwen, K. M. Spark, D. E. Mulcahy (2003): Application of pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry for characterization of dissolved organic matter before and after alum treatment, *J. of Anal. And App. Pyrol.*, 67(2), pp247-262
- 12) Widrig, D.L., Gray, K.A., Mcauliffe K.S. (1996) Removal of algal-derived organic material by preozonation and coagulation: monitoring changes in organic quality by pyrolysis-GC-MS, *Wat Res.*, 30(11), 2621-2632
- 13) James, K.E., John, E.T. (1999): Enhanced coagulation: US requirements and broader view, *Wat. Sci. Tech.*, 40(9), pp63-70
- 14) Baohua G., Jurgen S., Zhihong C., Liyuan L., John F. M. (1995): Adsorption and desorption of different organic matter fractions on iron oxide, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 59(2), pp219-229
- 15) Eun K. K., Harold W. W. (2001): Effect of cationic polymer additives on the adsorption of humic acid onto iron oxide particles, *Colloids and surfaces*, 194, pp123-131
- 16) Brian B., David D., Rob F., Simon K. (2001): Cationic polymer and clay or metal oxide combinations for natural organic matter removal, *Wat. Res.*, 35(11), pp2669-2676
- 17) Mustafa Bob, and Harold W. Walker: Enhanced adsorption of natural organic matter on calcium carbonate particles through surface charge modification, *Colloids and surfaces*, No.191, pp17-25, (2001)

- 18) W. Stumm, J. J. Morgan (1996): Aquatic chemistry, John Wiley & Sons, INC.
- 19) 日本水道協会(2001): 上水試験方法
- 20) H. Hart (2001): 基礎有機化学 第13刷, 培風館
- 21) 近藤精一、石川達雄、安部郁夫 (1999): 吸着の科学, 丸善
- 22) 張元月 (2003): 塩化第二鉄による凝集処理制御方法に関する研究, 山梨大学博士論文
- 23) Phatta Bahadur Thapa (2001): Characterization of natural organic matter in reservoirs by multi-analytical approaches, 東京大学博士論文
- 24) 福島武彦, 今井章雄, 松重一夫, 井上隆信, 小澤秀明(1997)湖水溶存有機物の紫外吸光度:DOC比の特性とそれの水質管理への応用, 水環境学会誌, 20(6), pp397-403

of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 4267-4274 (1998).

[発表論文]

- a) Nakamura, Y., Tsuji, S. and Tonogai, Y.: Method for analysis of tannic acid and its metabolites in biological samples: Application to tannic acid metabolism in the rat. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 331-339 (2003)

[関連する発表論文]

- b) Nakamura, Y., Kaihara, A., Yoshii, K., Tsumura, Y., Ishimitsu, S. and Tonogai, Y.: Effects of the oral administration of green tea polyphenol and tannic acid on serum and hepatic lipid contents and fecal steroid excretion in rats. *J. Health Sci.*, **47**, 107-117 (2001).
- c) Nakamura, Y. and Tonogai, Y.: Effects of grape seed polyphenols on serum and hepatic lipid contents and fecal steroid excretion in normal and hypercholesterolemic rats. *J. Health Sci.*, **48**, 570-578 (2002).
- d) Nakamura, Y., Tsuji, S. and Tonogai, Y.: Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. *J. Health Sci.*, **49**, 45-54 (2003).

3. 生体側から見た生理活性物質の構造と関連遺伝子の構造解析

(1) エストロゲン受容体結合化学物質の構造と親和性との関係

環境衛生化学部 西村哲治, 金子裕美,
平川江美, 安藤正典
大阪大学大学院薬学研究科 西川淳一, 西原 力

[目的]

我々の生活環境には種々多様な合成化学物質が存在している。これらの化学物質は経口、経皮もしくは経気道により吸収されて、健康に影響を及ぼしていると考えられる。その中で、生体で産生されている内因性ホルモンの作用を促進もしくは阻害する化学物質は、内分泌系に影響を及ぼすことにより、生体が恒常性を保つ機能をかく乱するだけでなく、次世代への影響も懸念され、大きな問題となっている。

内因性ホルモンは標的器官の細胞内特異的受容体と結合し、標的器官を特徴付ける遺伝子の転写発現を制御している。本研究では、この機構を利用して作製されたエストロゲン α 受容体遺伝子組換え酵母株を用いる内分泌かく乱化学物質評価試験系であるTwo-Hybrid Systemにより、エストロゲン受容体との親和性を調べ、化学物

質の内分泌かく乱性と構造との関係について検討をおこなった。

酵母Two-Hybrid Systemは、ヒトエストロゲン α 受容体のリガンド結合部位とGAL4DNA結合領域の融合タンパク質、GAL4転写活性領域とヒトコアクチベーターTIF II転写活性促進領域の融合タンパク質を発現し、GAL4タンパク質のDNA結合配列と β -ガラクトシダーゼ遺伝子およびそのプロモーターを含む構築プラスミドを持つ遺伝子組換え酵母株を用いる試験系である。細胞内に取り込まれた化学物質は、ヒトエストロゲン α 受容体のリガンド結合部位と結合した結果、構築遺伝子の遺伝子産物である β -ガラクトシダーゼを誘導産生する。産生された β -ガラクトシダーゼの活性を測定することにより化学物質のヒトエストロゲン α 受容体との親和性を評価する。

[方法]

試験方法は、従法に従って行った¹⁾。対数増殖期にある試験酵母に、ジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解した供試化学物質をDMSOの最終濃度が1%になるように添加し、30℃で4時間曝露した。曝露後、細胞膜を破壊し、細胞質画分を遠心により分離回収し、2-ニトロフェニル- β -D-ガラクトシドを発色基質として細胞質画分に含まれる β -ガラクトシダーゼの活性を測定した。

[結果及び考察]

1. フェノール類のエストロゲン受容体への親和性と構造
検討した11種のフェノール類(Fig.1)については、5種類にエストロゲン様活性が認められた。4-*tert*-オクチルフェノールでは 10^{-7} M以上 3×10^{-5} M以下の濃度範囲で、4-*tert*-ベンチルフェノールでは 10^{-6} M以上 10^{-5} M以下の濃度範囲で、4-*sec*-ブチルフェノールおよび4-*tert*-ブチルフェノールでは 10^{-5} M以上 3×10^{-4} M以下の濃度範囲で、ビスフェノールAでは 10^{-6} M以上 3×10^{-4} M以下の濃度範囲でエストロゲン様活性が認められた(Table.1)。これらの結果から次の2点が推論される。(1) フェノール、3-*sec*-ブチルフェノール、2-*tert*-ブチルフェノールおよび2-*sec*-ブチルフェノールではエストロゲン様活性が検出されなかったことから、ベンゼン環に結合する水酸基に対してパラ位に何かが結合した構造をとることがエストロゲン α 受容体と親和性を持つための要素である。(2) 4-*n*-オクチルフェノールおよび4-*n*-ノニルフェノールでは活性が検出されなかったことから、パラ位に結合する側鎖の構造は直鎖のアルキル基ではエストロゲン α 受容体との結合親和性が低い。生理活性物質である17 β -エストラジオールの構造上に類似の構造を当てはめることが出来ることから、これらの推論を支持することができるものと考えられる。水酸

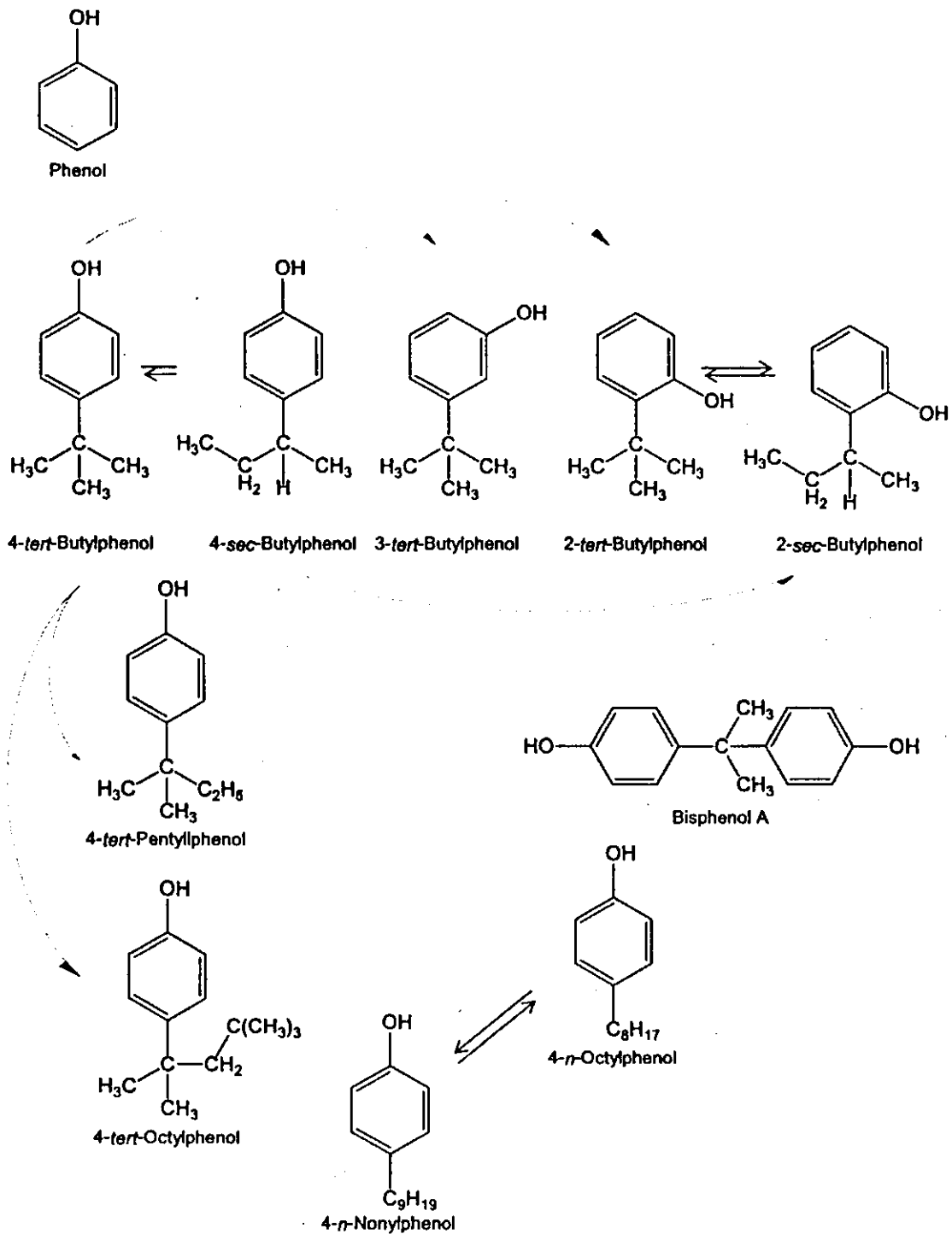


Fig.1 Structures of phenol derivatives

基に対してパラ位に分岐したアルキル基等の構造を持つ、エストロゲン様活性が認められた5物質については、4-*tert*-オクチルフェノールでは 10^{-5} M、4-*tert*-ペンチルフェノールでは 10^{-5} Mで、4-*sec*-ブチルフェノールでは 3×10^{-4} M、4-*tert*-ブチルフェノールでは 10^{-4} MおよびビスフェノールAでは 10^{-5} Mの暴露濃度で、エストロゲン様活性が最大となった。エストロゲン様活性の最大活性が得られる濃度については、*sec*-ブチル基>

tert-ブチル基>*tert*-ペンチル基=*tert*-オクチル基の順に高い暴露濃度を必要とした。これは、分岐した側鎖の炭素数が $-\text{CH}_3\text{CHC}_2\text{H}_5$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{C}_2\text{H}_5$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ と増加するに従い、エストロゲン様活性が最大となる暴露濃度が低くなる傾向を示している。また、4-*sec*-ブチルフェノールと4-*tert*-ブチルフェノール比較すると、 $-\text{C}-2\text{C}$ -よりも $-\text{C}-3\text{C}$ と、4位に結合している炭素に結合する官能基によりエスト