

図6 Log Kowと除去され始めるpH

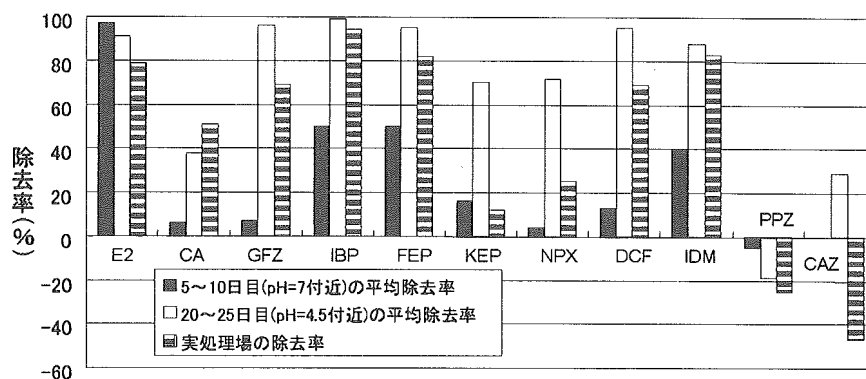


図7 本実験で得られた除去率と実処理場測定値との比較

表-1 全対象化合物の三期間における平均除去率			
	5~10日目(pH=6.8~7.6)の除去率の平均(%)	20~25日目(pH=4.3~5.0)の除去率の平均(%)	28~30日目(pH=7.5~8.0)の除去率の平均(%)
E2	98.6	97.7	99.4
EE2	71.6	60.1	67.9
BPA	93.3	52.9	98.0
BZP	80.4	78.6	60.6
CA	5.7	37.6	-18.9
GFZ	7.3	95.5	-18.2
IBP	50.5	98.6	33.3
FEP	50.0	95.3	22.6
KEP	16.5	70.1	12.2
NPX	3.9	72.6	-2.3
DCF	12.8	95.4	16.1
IDM	39.6	87.9	34.7
PPZ	-4.6	-16.2	-10.0
CBZ	-	28.6	8.8
TOC	93.9	92.8	93.9

表2 17日目から24日目の期間での医薬品のマスバランス・分解量

	A. 17~24日間 総流入量(μg)	B. 17~24日間 総流出量(μg)	C. 17日目にリア クター内に存在し た量(μg)	D. 24日目にリア クター内に存在し た量(μg)	A-B-(D-C) 分 解量(μg)
CA	7974.3	5417.3	1154.6	1826.7	1884.8
GFZ	9051.3	884.6	668.2	60.7	8774.3
IBP	8252.8	176.8	153.8	22.4	8207.5
FEP	9284.0	558.6	209.1	70.8	8863.8
KEP	11565.7	4324.1	1146.0	499.0	7888.6
NPX	10094.2	3625.3	1068.1	447.4	7089.6
DCF	10076.9	1379.8	707.8	67.7	9337.2
IDM	10000.4	2437.9	1623.4	277.5	8908.4
PPZ	8328.1	8712.2	1044.4	1215.3	-556.0
CAZ	13540.4	10130.9	3218.8	1187.4	5440.8

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合 研究事業）
（総括・分担）研究報告書

健全な水環境の水質モニタリングに関する研究

分担研究者 亀屋隆志 横浜国立大学大学院工学研究院助教授

研究要旨

水の安心・安全が懸念される大きな原因になっている遺伝子毒性に着目し、ISO-13829に規格化された umuDNA 損傷性試験の定量評価方法や試験条件、作業スケジュールをさらに汎用性のある試験法に改良し、水道水や水道水源の河川水、汚染源となる排水についての適用性を確認し、水質管理方法としての有用性を示した。

A. 研究目的

近年、生活の質（QOL）の向上を維持しつつ、安全・安心な社会を構築するための新しい社会システムに対する期待が高まっている。水道システムに対しても、安全な水を安定的に供給することは必須事項となっている。しかし、河川や湖沼などの水道水源では、家庭排水や工場排水、農業排水、ゴルフ場排水など多岐の発生源に由来する有害化学物質による汚染が依然として懸念され続けている。

このため、平成 15 年に行われた水道水質基準の改訂¹⁾では、基準項目が 46 項目から 50 項目へ拡大（13 項目追加、9 項目削除）され、また、注意を喚起する管理目標設定項目（農薬 101 種など）が新設された。また、米国では、環境保護庁（USEPA）が水道水源の水の中に少なくとも 400 種以上の有機化合物を同定し²⁾、水道水中からも 1,152 種類の化学物質を検出しており、その中に発がん性物質も含まれていることも報告しており³⁾、米国政府が何らかの規制対象にしている飲料水中の有害化学物質は現時点で約 90 種類に及んでいる。

このように、水道水質の管理項目として新たな物質が追加され、規制対象となる範囲が拡大していく一方で、個別物質ごとの管理の限界も見えてきている。

膨大な数の化学物質について個別の健康リスク評価を行うことは、極めて大変な作業であり、いかに費用と時間を重ねても、水道水や水道水源の水に含まれる有害化学物質の全体を網羅することは実質的に不可能であり、その結果、水道水や水道水源の安全管理が進まないことは、国民の誰もが容易に想像できるところである。中西ら^{1) 5)}は、水道水の中から 190 種類以上の有機ハロゲン化合物を検出し、検出されたすべての有機ハロゲン化合物の濃度を合計しても全有機ハロゲン（Total Organic Halogen, TOX）の 55%しか判明できないことを明らかにしている。

また、近年では、水道水や水道水源の安全性に対する国民的な関心が顕著にみられるようになってきており、浄水器やミネラルウォーターの普及や水源税の議論などが各地で巻き起こっている。「健康で豊かな水環境を創造するための新し

い水管理システム」を構築していくためには、水を利用する人々に「水質」に対する十分な理解と安心を持っていただくことが不可欠である。そのためには、人々にとっての「健全な水環境」や「水に対する安心・安全」といったものがどのようなものか、どのような情報を整備・発信して、どのように理解してもらうか、といった点が重要になると考えられる。

本研究では、水の安心・安全が懸念される大きな原因になっている遺伝子毒性(物質)に着目し、特に、飲料水の DNA 損傷性強度や、水道水源となっている河川水やそこへ流入する排水等を塩素処理した場合に生成する物質の DNA 損傷性強度 (DNA 損傷性物質生成能) を総括的に評価するための手法について検討した。昨年度には、ISO-13829 に規格化されている umuDNA 損傷性試験⁶⁾の一部について改良を図り、①感度が高い、②再現性があり、定量評価できる、③短時間に結果が得られる、④操作が容易で標準化されている、⑤必要な器具および薬品等などが容易に入手できる、といった観点から、より汎用性の高い試験方法や定量評価方法について検討した。そこで今年度は、この方法を実際の水道水やその水源となる河川水、排水に対して応用して、水質管理方法としての有用性を検証した。

B. 研究方法

(1) 試料水

水道水は、過去の浦野ら⁷⁾の調査において Ames 変異原性レベルの高かった地点を中心に選んだ。また、河川水は相模川、多摩川を選んだ。このほか、関東地域の下水处理場 2ヶ所の処理水も検討し

た。

(2) 実験方法

ISO-13829 に規定された umuDNA 損傷性試験(以下 ISO 試験法)に対し、以下の改善を行った^{8, 9)}。

- ①凍結保存菌株の培養温度を 37°C から 30°C に変更し、培養時間を 16~18 時間に延長することで夜間作業を回避する試験スケジュールを構築した。
- ②ISO 試験法では規定されていない試料水の濃縮方法について、Sep-Pak plus PS-2 に 1.5L の試料水を通水し、1.5mL の DMSO 溶液で脱離する、高感度な新濃縮方法を確立した。
- ③また、検液中に添加する DMSO 溶液の濃度を 3% から約 3 倍量の 8% に変更し、さらなる高感度化を図った。
- ④添加量に依存する ISO 試験法での IR[-] (陰性対照に対する菌体濃度あたりの発色量の比) について、用量応答関係が直線近似できることを確認し、この勾配を試料水換算添加量 D[L] あたりの正味の IR[-] を DNA 損傷性強度 GA[1/L] または DNA 損傷性物質生成能 GFP[1/L] と定義した(1)式の新しい定量的評価指標を提案した。

$$GA \text{ or } GFP = (IR \cdot 1) / D \quad (1)$$

さらに、陰性対照に対する菌体濃度 (Gf) の採用範囲を再確定し、菌の増殖阻害による試験結果の過大評価を 10% 未満に抑えた定量的評価方法に改良した。

(倫理面での配慮)

本研究では、特に倫理面で問題となるような事項は含まれていない。

C. 研究結果

(1) 水道水への適用

Ames 試験においては、水道水の変異原性物質生成能は、5 地点の全試料で定量限界未満であり、そのうち 1 試料は検出限界未満(N.D.)であった。これに対し、改良 umu 試験法による試験結果を図 1 に示した。いずれにおいても用量応答関係に直線性が確認できた。改良 umu 試験を用いることで、DNA 損傷性強度が極めて低い墨田区の試料を除く全試料について定量評価が行えた。これにより、改良 umu 試験によって高度浄水のレベルまで定量評価が行えることが明らかとなり、高度浄水処理による遺伝子毒性の低減効果も評価できることが示された。

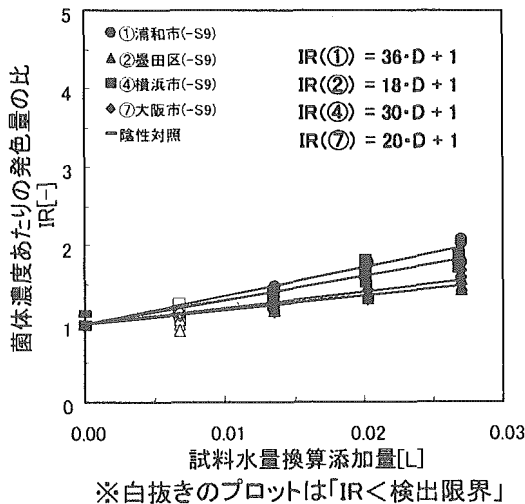
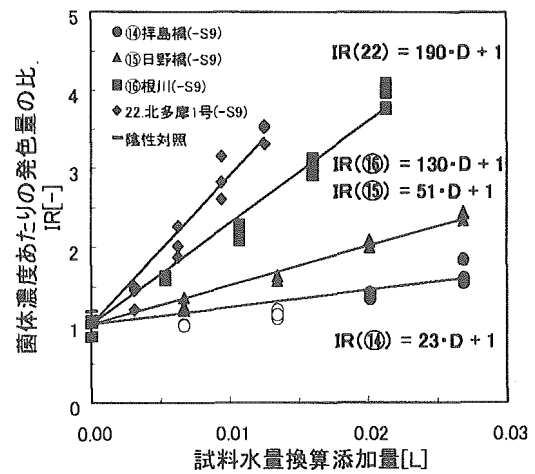


図1 水道水のDNA損傷性強度(-S9)

(2) 河川水への適用

多摩川水系の河川水について、Ames 変異原性生成能試験では、河川水 13 地点を測定した結果、1 地点でのみ定量限界を超えたが、8 地点で検出限界以上で定量限界未満、4 地点で検出限界未満(N.D.)であった。また、いずれの試料水も最低用量で MR が検出限界の 1.4[-]を

超えなかった。これに対し、改良 umu 試験法による試験結果を図 2 に示した。DNA 損傷性物質生成能(GFP[1/L])が最も高い地点と低い地点を比較すると、-S9 で約 7 倍、+S9 では 4 倍以上の差が確認でき、排水とは約 10 倍の差が確認でき、下水処理水流入後に GFP が高くなる傾向が確認された。また、-S9 では全地点で DNA 損傷性物質生成能 GFP を検出でき、+S9 に比べて定量できた地点が多かった。

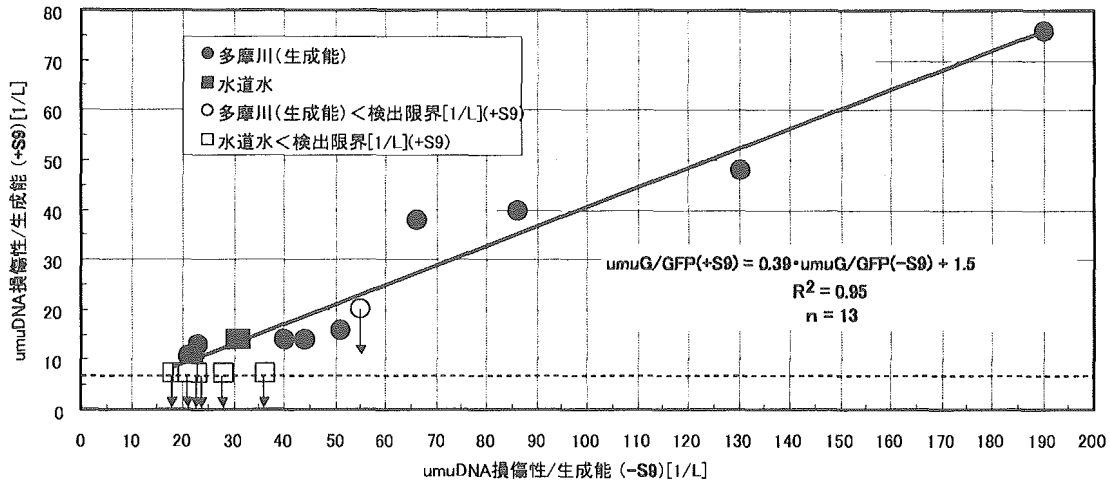


※白抜きのプロットは「IR<検出限界」

図2 河川水のDNA損傷性物質生成能(-S9)

(3) 代謝活性剤 S9 の影響

GA および GFP に対する S9 の影響を図 3 に示した。全試料において+S9 よりも-S9の方が GA および GFP が高い値となったが、-S9 と+S9 の GA および GFP には高い相関が確認された。umu 試験では使用菌株が一種類 (Salmonella typhimurium TA1535/pSK1002)に限定されることもあり、特殊な排水を含まない通常の水試料に対しては、検出率が高く迅速で安価な-S9 試験のみで管理が行えると考えられた。



※但し、±S9ともに、DNA損傷性強度(G)またはDNA損傷性物質生成能(GFP)が7[1/L](検出限界)以上の範囲

図3 umuDNA損傷性/生成能における±S9の関係

D. 考察

本研究で測定した全国の水道水、河川水、下水処理排水のDNA損傷性強度GA、DNA損傷性物質生成能GFPをまとめて表1に示した。

表1 水道水・河川水の改良umu試験結果

No.	試料水名 採水地点	DOC [mg/L]	umuDNA損傷性/生成能		
			検出限界 [1/L]	定量限界 [1/L]	±S9 [1/L] +S9 [1/L]
①	浦和市 (原さいたま市) (水道水)	2.3	7	19	39 (18)
②	墨田区 (水道水)	2.5			—
③	狛江市 (水道水)	1.9			31 (14)
④	横浜市 (水道水)	1.4			30 (14)
⑤	新潟市 (水道水)	2.1			28
⑥	新潟市 亀田町 (水道水)	1.5			—
⑦	大阪市 (水道水)	2.0			29
⑧	福岡市 (水道水)	4.1			21
⑨	和田橋 (多摩川)	1.8	7	19	23 (8)
⑩	多摩川橋 (多摩川)	1.9	7	19	19 (8)
⑪	羽村橋上 (多摩川)	1.9	7	19	23 (13)
⑫	多西橋 (平井川)	2.9	7	19	22 (10)
⑬	永秋川橋 (板川)	1.8	7	19	21 (11)
⑭	拜島橋 (多摩川)	1.8	7	19	23 N.D.<7
⑮	日野橋 (多摩川)	2.6	7	19	51 (16)
⑯	多摩川合流点前 (根川)	5.0	9	23	130 48
⑰	新井橋 (澁川)	2.1	7	19	49 (14)
⑱	開戸橋 (多摩川)	2.8	7	19	44 (14)
⑲	報恩橋 (大泉川)	1.1	20	50	55 N.D.<20
⑳	多摩川原橋 (多摩川)	4.7	9	22	48
㉑	多摩水道橋 (多摩川)	3.0	7	19	48 38
㉒	北多摩1号下水処理場放出口 (放流水)	8.5	16	40	190 78

※採水日
 ①②(浦和市, 墨田区): 2003.12.20
 ③(狛江市): 2003.12.4
 ④(横浜市): 2003.12.5
 ⑤、⑥(新潟市, 亀田町): 2003.12.24
 ⑦(大阪市): 2003.12.17
 ⑧(福岡市): 2003.12.23
 ⑨~㉒(多摩川河川水, 下水処理水): 2003.12.4

(1) 改良 umu 試験法の有用性

本研究で確立した改良 umuDNA 損傷性試験法は、簡便さに加えて、データの蓄積されている Ames 試験よりも高感度で適用可能な水質の範囲が広いこと、高度浄水処理した水道水から河川水、排水まで多種多様な水試料に幅広く適用でき、試験結果から各試料水の DNA 損傷性強度 GA や DNA 損傷性物質生成能 GFP を定量的に求め、その水質を評価できることが明らかとなり、日常的な水質管理に有用な試験法であることを実証できた。

(2) 水道水の遺伝子毒性

各水道水について、GA の値が 20[1/L] 以下と小さい墨田区と大阪市のように、オゾン・活性炭処理などの高度浄水処理を導入することによって遺伝子毒性が低減されることが示唆された。また、今回の調査の範囲においては、高度浄水処理された水道水の DNA 損傷性強度は高々

20[1/L]であったが、高度処理されていない水道水では 30[1/L]であった。

(3) 河川水の遺伝子毒性物質生成能

多摩川水系の DNA 損傷性物質生成能、

変異原性物質生成能については、上流部では GA は 20[1/L]程度またはそれ以下であり、高度浄水処理された水道水と同レベルと良好な水質であった。しかしながら、下水処理場排水が流入した後の中流部では GFP が高くなる傾向がみられた。支川の根川では 130[1/L]もの GFP があり、本線の中流部では 50[1/L]を超えはじめ、下流部では約 90[1/L]もの GFP が検出された。水道用水取水地点としては最下流に位置する砧取水所の付近に位置する多摩水道橋では、GFP が約 70[1/L]と上流部の 3 倍以上であった。このように、umuDNA 損傷性試験を適用したことで、汚染された排水や支川の流入により上流部に比べて GFP がきわめて高くなっている地点が存在していることが明らかになり、水道水源としての適切な管理が必要と考えられた。

E. 結論

本研究で開発した水道水中 DNA 損傷性物質や河川水・排水中の塩素処理後に DNA 損傷性物質生成能を生じる物質の簡便で高効率な濃縮方法と、ISO13829 による umu 試験の凍結保存菌株培養条件を夜間作業を必要としない条件に改良した試験方法、さらには試験結果から試料の遺伝子毒性強度や生成能を定量的に評価できる方法として確立した評価方法を用いて、水道水、河川水および排水の DNA 損傷性/生成能を調査し、以下の結論を得た。

(1) 改良 umuDNA 損傷性試験および Ames 試験を、水道水(8 地点)、水道水源の河川水(13 地点)および排水(1 地点)へに適用し、①改良 umu 試験法では高度浄水レベルまで定量評価できること、②

S9 と+S9 は高い相関が得られ、さらに全試料で-S9の方が高かったため、通常の水試料では-S9の試験のみでよいこと、③umuDNA 損傷性/生成能は、Ames 変異原性/生成能と相関があること、④改良 umu 試験法は Ames 試験よりも高感度であることを示し、さらに改良 umu 試験法により、⑤高度浄水処理による遺伝子毒性の低減効果を評価できることが示唆された。これらより、本研究で確立した改良 umuDNA 損傷性試験法は、簡便さに加えて、適用可能な水質の範囲が広いこと、高度浄水した水道水から河川水、排水まで多種多様な水試料に幅広く適用でき、試験結果から各試料水の DNA 損傷性強度や DNA 損傷性物質生成能を定量的に求め、その水質を評価できることが明らかとなり、日常的な水質管理に有用な試験法であることを実証できた。

(2) 水道水の遺伝子毒性の評価を行い、改良 umuDNA 損傷性試験の適用により①高度浄水処理を導入することで遺伝子毒性を低減できる可能性があること、②全国の一般的な水道水の DNA 損傷性強度のレベルは 30[1/L]程度であることを示した。また、10 年前に比べ、③変異原性は 1/3~1/4 ほどの値になり、水質改善が図られていると考えられた。

(3) 改良 umuDNA 損傷性試験を用いて河川水・排水の塩素処理時における DNA 損傷物質生成能を調べ、多摩川水系では①GFP が最高地点と最低地点とで約 7 倍、下水処理水とでは 10 倍以上の差があること、②上流部では 20[1/L]程度またはそれ以下であるが、下水処理場排水の流入後に GFP が高くなっている傾向がみられることを示した。

参考文献

- 1) 厚生労働省(2004)新しい水質基準等について (<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/kijun/index.html>).
- 2) US Environmental Protection Agency (1975) US Environmental Protection Agency Report to the US Congress on Suspect Carcinogens in Water Supplies, Washington D.C. June 17.
- 3) Bull R. J. (1981) Is drinking water a significant source of human exposure to chemical carcinogens and mutagens?, *Environ. Sci. Res.*, 22, 135-139.
- 4) 中西準子(1990)いのちの水、読売新聞、pp.227、東京.
- 5) 鈴木規之、中西準子、松尾友矩(1992)水道水の変異原性原因物質の分画および還元剤との反応性に関する研究、水環境学会誌、15(11)、814-821.
- 6) International Organization for Standardization (2000) Water quality-Determination of the genotoxicity of water and waste water using the umu-test, ISO 13829, ISO/TC 147/SC 5.
- 7) 浦野紘平、岡部文枝、高梨啓和、藤江幸一(1995) 水道水の Ames 変異原性に関する研究 第 3 報 日本水道水の変異原性レベルの解析、水環境学会誌、18、1001~1011.
- 8) 村田尚子、浦野紘平、亀屋隆志：改良 umu 試験を用いた相模川水系の変異原性生成能の評価、第 36 回日本水環境学会年会講演集、p530 (2003)
- 9) 久保隆、村田尚子、亀屋隆志、浦野紘平：umu 試験による水道水源の遺伝子毒性物質生成能評価のための水試料濃縮方法、第 37 回日本水環境学会年会講演集 (2004)

F. 健康危険情報

水質の新しいモニタリング手法の開発に関わる研究内容であり、現段階では、特記すべき直接的な健康危険情報は得ら

れていないが、本研究の方法により、異なる水道水や水道水源の水質に関する健康危険情報の蓄積が期待できる。

G. 研究発表

1. 論文発表
(未定)
2. 学会発表 (一部関連部分)
 - 1) 第 36 回日本水環境学会年会 (2003)
 - 2) 第 37 回日本水環境学会年会 (2004)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 (未定)
2. 実用新案登録 (予定なし)
3. その他 (特になし)

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）

分担研究報告書

分担研究者 高梨啓和 鹿児島大学工学部 助教授

農薬の変異原性物質生成能

研究要旨

化学物質による健康影響リスクを回避した自律・分散型の水システムを構築するにあたり、平成 15 年度に行った予備調査結果を踏まえ、13 種類の農薬の変異原性物質生成能（Mutagen Formation Potential, MFP）を *Salmonella typhimurium* TA100 株を用いた Ames 試験により検討した。その結果、試験したすべての農薬の変異原性は検出限界以下であったのに対し、MFP については 3 種類の農薬が検出限界以下、4 種類が擬陽性、残りの 6 種類は明確な MFP が観察され、プロペナゾールに関しては Ames 試験における検体最大投与量における MR 値が 27 となり、強い MFP が認められた。しかし、試験に供した農薬原体の質量基準で MFP の比活性を求めると 349 net rev./mg となり、最も高かった MEP の場合でも通常の陽性対照物質と比較すると 30,000 分の 1 となった。今後は、農薬変化体と考えられる変異原性物質の同定と、当該物質質量基準の比活性を測定する必要がある。

A. 研究目的

水資源の供給に関する持続可能性を向上させるためには、多様な水資源を有効活用することによって自律・分散型の水システムを構築することが重要である。しかし、多様な水資源を活用して水道水を供給する際には、化学物質による健康影響リスクを注意深く回避する必要がある。これは、水資源の持続可能性を向上させるために、従来は水道水源として利用されていなかった水質悪化が進行した水源を活用する必要性が生じるためである。

従来、健康影響リスクが高い一部の物質に対しては、個別濃度測定により安全性管

理が行われているが、その他多くの物質については、管理の負担が大きくなりすぎることなどの理由から管理が行われていない。このため、多くの物質の安全性評価・管理を一括して行うことのできるバイオアッセイを用いた総合指標による評価・管理の導入が望まれている。

そこで、まず平成 14 年度は、化学物質による健康影響リスクを回避した自律・分散型の水システムを評価するのに適したバイオアッセイとして、Ames 変異原性試験を選定した。また、塩素処理副生成物生成能をバイオアッセイにより評価することの必要性についても検討を加え、変異原性物質生成能（Mutagen Formation Potential, MFP）と

表1 本研究で対象とした農薬

農薬名	種類	平成13年度 生産量 (t, kl)
MEP	殺虫剤	3704
プロベナゾール	殺菌剤	1421
イソプロチオラン	殺菌剤	1141
BPMC	殺虫剤	850
フサライド	殺菌剤	721
EDDP	殺菌剤	543
ベンスルタップ	殺虫剤	507
イミノクタジン三酢酸塩	殺菌剤	414
トリシクラゾール	殺菌剤	342
ブプロフェジン	殺虫剤	315
ピロキロン	殺菌剤	276
イソキサチオン	殺虫剤	217
MIPC	殺虫剤	162

いう指標を提案した。

平成15年度は、平成14年度に選定したAmes試験を用い、九州圏内6県の21カ所の浄水場を対象として水道水の変異原性レベルなどを検討した。その結果、変異原性は検出限界以下から16,000 net rev./Lまで分布していた。このうち、最高値である16,000 net rev./Lの変異原性は、平成15年度の測定データの平均の7.6倍に相当し、特異的に高い値であった。

当該水道水は、水田地域に位置する浄水場の給水地域から9月に採取した水道水であったことから、農薬の影響が考えられる。このため、平成16年度は農薬のMFPの測定を行い、水道水の変異原性に対する農薬の寄与の可能性について検討することとし

た。

B. 研究方法

1. 被検対象農薬の選定

当該地域において、当該時期に散布が推奨されていた農薬の登録商標名を県病害虫防除所の病害虫発生予察情報から調査し、かく登録商標名の農薬の有効成分を農薬要覧¹⁾で調査した。各有効成分について、日本全国での生産量の高い農薬を優先的に被検対象物質とした。なお、実験の関係上、水溶解度が低い農薬は実験を行いにくいので、優先順位を低くした。被検対象物質の種類・生産量をTable 1に、構造系による分類をTable 2と3に示す。

なお、本研究において、被検対象物質として用いた試薬は和光純薬工業株式会社の残留農薬試験用を用いた。

2. 変異原性物質生成能の測定

変異原前駆物質を塩素処理して変異原性物質に変化させるため、Fig. 1に示す手順で塩素処理した。すなわち、試料水のTOC濃

表2 試験対象農薬の構造式 (殺虫剤)

農薬名 (構造系)	構造式	農薬名 (構造系)	構造式
MEP (有機リン系)		ブプロフェジン (チアジアジン系)	
BPMC (カルバメート系)		イソキサチオン (有機リン系)	
ベンスルタップ (スルホン系)		MIPC (カルバメート系)	

表3 試験対象農薬の構造式 (殺菌剤)

農薬名 (構造系)	構造式	農薬名 (構造系)	構造式
プロベナゾール (ベンゾチソチル アゾール系)		イミノクタジン三酢酸塩 (グアニジン系)	
イソプロチオラン (ジチオラン系)		トリシクラゾール (その他)	
フサライド (有機塩素系)		ピロキロン (その他)	
EDDP (有機リン系)			

度が 3~4 mg/L になるように RO 水で希釈し、pH7.0±0.2 に調整した。次に、次亜塩素ナトリウム溶液を 3~4 mg Cl/(mg C) 添加し、24 時間放置した。24 時間後に、残留遊離塩素が 0.2 mg/L 以上残存していることを確認した。生成した変異原性物質は、Sep-Pak Plus CSP-800 を用いた固相吸着脱離法により濃縮した。その手順を Fig. 2 に示す。この方法により、水中の変異原性活性の 90%以上を回収し、1,000 倍に濃縮することができることが明らかになっている^{2,3)}。

3. Ames 変異原性試験方法

生成・回収した変異原性物質は、Ames 変異原性試験により評価した。Ames 変異原性試験は、厚生労働省の微生物を用いる変異原性試験ガイドブック⁴⁾を基にしたプレインキュベーション法で行った。なお、今回は TA100 株のみを用い、代謝活性剤を添加せずに試験した。これは、著者らの従来⁵⁾の研究において、TA98 株を用いた場合、また TA100 株を用いても代謝活性剤を添加

した場合、水道水の変異原性はほとんど検出されなかったためである。

また、同じ条件の試験を必ず 2 枚のプレートを用いて行った。ただし、陽性対照試験は 4 枚のプレートを用いて行った。陽性対照物質としては、4-ニトロキノリン-1-オキソド(4NQO)の DMSO 溶液を用いた。陰性対照試験の結果は、122~152 rev./plate、陽性対照試験の結果は 8,800~10,800 net rev./(μg 4NQO)と安定しており、変異原性の値同士を比較するのに十分であった。

試験結果の評価は、用量作用直線の勾配

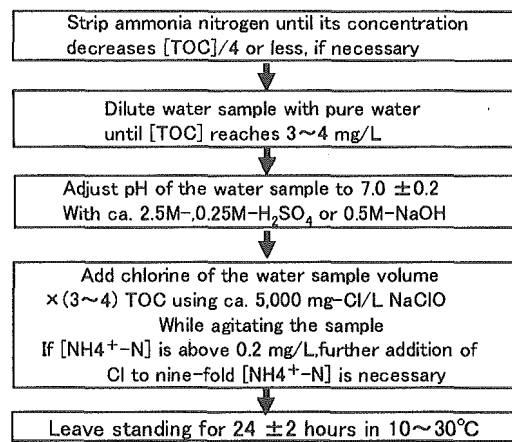


Fig.1 Chlorination Procedure for Measuring the MFP

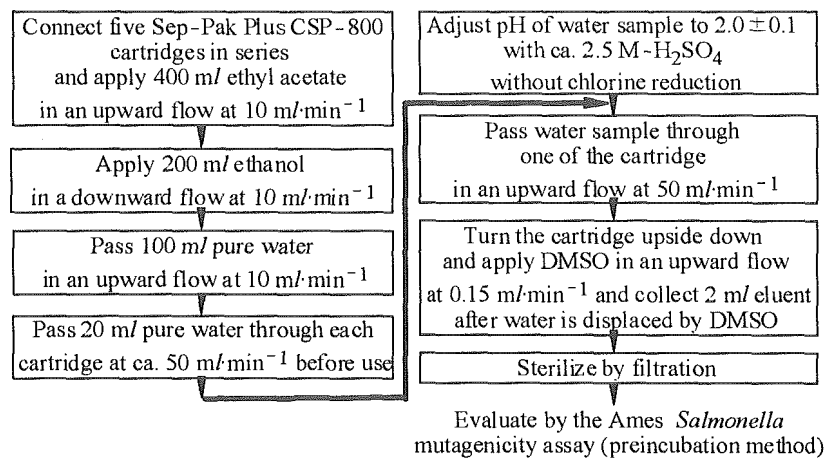


Fig. 2. Procedure for concentration of mutagens formed.

から求めた試料水 1L あたりの正味の復帰コロニー数[net rev./L]で行い、MR 値が 1.4 以上の場合に陽性と判断した⁶⁾。

(倫理面への配慮)

本研究に関し、倫理に関して配慮が必要な部分がないため、特に配慮した点はない。

C. 研究結果及び考察

1. 塩素処理による変異原性の変化

農薬の原体の変異原性を MR 値で Table 3 に示す。すべての農薬において、今回試験した条件では有意な変異原性は認められなかった。これは、農薬取締法において、登録の事前審査で変異原性が評価されていることが理由の一つと考えられる。しかし、水道原水や水道水中から多くの農薬が検出されていることから分かるように、農薬を塩素処理した場合に生成する変化体の変異原性を考慮する必要があると考えられる。

そこで、農薬の MFP を MR 値で同じく

Table 3 に示した。EDDP、トリシクラゾール、イソプロチオランの 3 種類の農薬を塩素処理した場合には検出限界以下になり、フサライド、ベンスルトップ、ブプロフェジン、イソキサチオンの 4 種類が MR 値が 2.0 未満の擬陽性になった。これに対し、MEP、プロペナゾール、BPMC、イミノクラジン三酢酸塩、ピロキオン、MIPC の 6 種類は明確な MFP が観察された。特にプロペナゾールに関しては、同条件での MR 値が 27 となり、強い変異原性が認められた。なお、農薬の構造系に基づいて農薬を分類し、MFP の強度と構造系との関係を検討した結果、両者の間に有意な関係は認められなかった。

2. 塩素処理物の変異原性強度

塩素処理により変異原性物質が生成することが明らかになったので、その変異原性強度を検討することとした。各農薬の塩素処理物の比活性を Table 4 に示す。比活性は、試験に供した農薬原体の質量基準で示した。比活性は N.D. から 712 net rev./mg であり、

Table 4 農薬の変異原性とMFP (MR値)

農薬名	原体	MFP
MEP	N. D.	6.3
プロペナゾール ※	N. D.	27※※
フサライド ※	N. D.	1.9
BPMC ※	N. D.	11※※
EDDP	N. D.	N. D.
ベンスルタップ	N. D.	1.8
トリシクラゾール	N. D.	N. D.
イミノクタジン三酢酸塩	N. D.	2.0
ブプロフェジン	N. D.	1.6
ピロキロン	N. D.	2.7
イソキサチオン	N. D.	1.5
イソプロチオラン	N. D.	N. D.
MIPC	N. D.	4.1

※ 生分解試験の初濃度100mg/L

※※ 低添加量における測定値からの換算値

N. D. ;not detected (MR値<1.4)

Table 5 農薬の変異原性とMFP (比活性)

農薬名	net rev. /mg	
	原体	MFP
MEP	N. D.	712
プロペナゾール ※	N. D.	349
フサライド ※	N. D.	14
BPMC ※	N. D.	342
EDDP	N. D.	N. D.
ベンスルタップ	N. D.	108
トリシクラゾール	N. D.	N. D.
イミノクタジン三酢酸塩	N. D.	160
ブプロフェジン	N. D.	100
ピロキロン	N. D.	250
イソキサチオン	N. D.	70
イソプロチオラン	N. D.	N. D.
MIPC	N. D.	460

※ 生分解試験の初濃度100mg/L

※※ 低添加量における測定値からの換算値

N. D. ;not detected (MR値<1.4)

最高値を示したMEPの場合でも4NQOなどの通常陽性対照物質と比較すると30,000分の1程度となった。これは、農薬を塩素処理して生成した変異原性物質の質量が極

微量であるためと考えられる。今後は、農薬変化体と考えられる変異原性物質の同定と、当該物質単位質量基準の比活性を測定する必要あると考えられる。

なお、1980年代より水道水中の主要変異原性物質の同定が多くの研究者により試みられてきた。その成果の一部としてMXなどの同定が挙げられるが、水道水中の主要変異原性物質の同定に至っているとは言い難い面がある。従来の研究の多くは、水道水濃縮サンプルの分離・分析を行っているが、この方法では夾雑物が多く、極微量の強変異原性物質（主要変異原性物質）を同定することは困難と考えられる。これに対して本研究の方法は、農薬の標品を比較的高濃度で塩素処理して生成物を分析する方法なので、夾雑物が比較的少なく、強変異原性物質の同定を行いやすいと考えられる。

3. 塩素処理により生成した変異原性物質の同定

塩素処理により生成した変異原性物質の同定を試みた。実験は、最も高い比活性を

示した MEP の塩素処理物を対象に行った。四重極型のGC/MSを用いてTICモードで分析した結果、Fig. 3のようなクロマトグラムを得ることができた。Fig. 3から分かるように、塩素処理により MEP は分解されてほとんど消失し、MEP オキシソソ体などが生成していた。また、MEP オキシソソ体以外にも、塩素処理物に特有のピークが 8 個分離された。MEP オキシソソ体は Ames 試験において陰性との報告がなされているため、残りの 8 個のピークを示した物質の中に生成した変異原性物質が含まれていると考えられる。

また、著者らの従来の研究⁷⁾で、水道水の変異原性強度と全有機ハロゲン(TOX)濃度との間に相関関係が認められることが明らかになっているので、残りの 8 個のピークを示した物質の中に塩素化された物質が含まれているかを検討した。塩素は、³⁵Cl と ³⁷Cl が 100 : 32 の割合で天然に存在するので、塩素原子を分子内に 1 個もつ物質の質量スペクトルでは分子イオンピークとして M^+ (³⁵Cl によるピーク) と M^+2 (³⁷Cl によるピーク) が 100 : 32 の割合で出現する。このことを利用して各ピークのマス

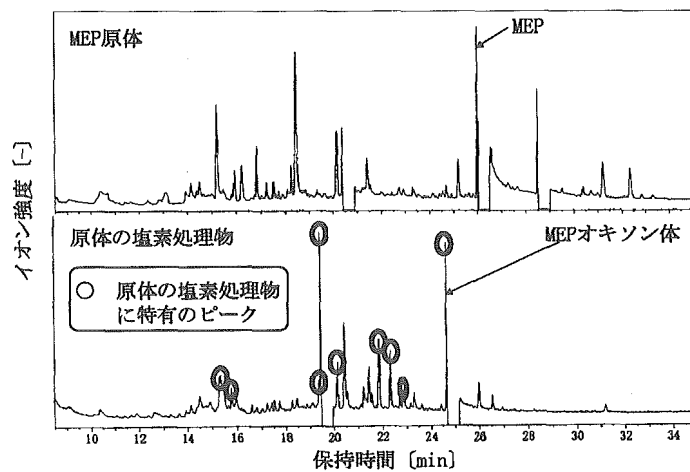


Fig. 3 塩素処理によるトータルイオンクロマトグラムの変化

ペクトルを解析した結果、有機塩素化合物が2物質含まれていることが示唆された。今後は、この有機塩素化合物と考えられるピークを分離し、同定して比活性を測定する必要がある。

D. 結論

農薬を浄水処理場の塩素処理条件を模擬した条件で塩素処理し、その変異原性物質生成能 (Mutagen Formation Potential, MFP) を測定した結果、以下のことが明らかになった。すなわち、農薬の原体の変異原性はすべて検出限界以下であったが、明確な MFP が観察される物質が存在した。しかし、試験に供した農薬原体の質量基準で比活性を求めると最高値でも 712 net rev./mg となり、4NQO と比較すると 30,000 分の 1 となった。また、塩素処理物を GC/MS を用いて分析した結果、MEP オキソン体を含む 9 個のピークを分離し、この内 2 個のピークに分子内に 1 個の塩素を含む物質が認められた。今後は、有機塩素化合物と考えられる物質を同定し、比活性を測定する必要がある。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 高梨啓和、2 標本 t 検定に基づく変異原性試験結果の陽性・陰性の判定、統計数理、印刷中。
- 2) Nakajima Tsunenori, T. Kawabata, H. Kawabata, Hirokazu Takanashi, Akira Ohki, Shigeru Maeda, Degradation of Phenylarsonic Acid and Its Derivatives into Arsenate by Hydrothermal Treatment and Photocatalytic Reaction, *Applied Organometallic Chemistry*, in press.
- 3) Gao, M.T., Makoto Hirata, Koide, M., Tadashi Hano and Hirokazu Takanashi, Production of L-lactic acid by electrodialysis fermentation (EDF), *Process Biochemistry*, in press
- 4) Gao, M.T., Goto, R., Koide, M., Hirokazu Takanashi, Makoto Hirata and Tadashi Hano, Development of continuous electrodialysis fermentation system for *Lactobacillus rhamnosus* based production of lactic acid, *Process Biochemistry*, in press.
- 5) Hirokazu Takanashi, Tanaka Akiko, Nakajima Tsunenori and Ohki Akira, Arsenic removal from groundwater by a newly developed adsorbent, *Water Science and Technology*, in press.
- 6) Yan-Hua Xu, Akira Iwashita, Tsunenori Nakajima, Hiroyuki Yamashita, Hirokazu Takanashi and Akira Ohki, Effect of HF addition on the microwave-assisted acid-digestion for the determination of metals in coal by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry, *Talanta*, in press.
- 7) Akira Iwashita, Yuka Sakaguchi, Tsunenori Nakajima, Hirokazu Takanashi, Akira Ohki and Shinji Kambara, Leaching characteristics of boron and selenium for various coal fly ashes, *Fuel*, in press
- 8) Nakajima Tsunenori, Tomohide Kanda, Takashi Fukuda, Hirokazu Takanashi and Akira Ohki, Characterization of eluent by hot water extraction of coals in terms of total

organic carbon and environmental impacts,
Fuel, in press.

2. 学会発表

- 1) Hirokazu TAKANSHI, Keiko SHIMPUKU, Mizuki KOSAKA, Hitoshi KAJIYA, Tsunenori NAKAJIMA and Akira Ohki, Mutagenicity of Biodegraded and Chlorinated Derivatives of Agricultural Chemicals, Proceedings of IWA-Aspire, 2005, in press.
- 2) 加治屋仁、小坂瑞樹、新福桂子、高梨啓和、中島常憲、大木 章、水道水の安全性向上を指向した農薬の環境安全性評価、第37回日本水環境学会講演予稿集、p.438, 2005.

会、1986、東京。

- 5) 高梨啓和、変異原性による水道水の安全性管理手法に関する研究、学位論文、東京大学、2000.
- 6) Hirokazu Takanashi and Kohei Urano, Statistical Procedures for Estimating the Detection Limit and Determination Limit of the Ames *Salmonella* Mutagenicity Assay, *The Science of the Total Environment*, **221**, 31-42, 1998.
- 7) 浦野紘平、岡部文枝、高梨啓和、藤江幸一、水道水のAmes変異原性に関する研究 第3報 日本の水道水の変異原性レベルの解析、水環境学会誌、**18**、1001-1011, 1995.

引用文献

- 1) 農林水産省生産局生産資材課・植物防疫課、農薬要覧 2002、日本植物防疫協、2002.
- 2) 浦野紘平、高梨啓和、金澤伸浩、藤江幸一、水道水の Ames 変異原性に関する研究 第1報 変異原性物質濃縮回収用の吸着剤、水環境学会誌、Vol. 17、451-460, 1994.
- 3) 浦野紘平、高梨啓和、金澤伸浩、岡部文枝、藤江幸一、水道水の Ames 変異原性に関する研究 第2報 高性能吸着剤を用いた変異原性物質の濃縮・回収方法、水環境学会誌、Vol. 17、461-469、1994.
- 4) 労働省化学物質調査課、安衛法における変異原性試験、中央労働災害防止協

分担研究者 長岡 裕（武蔵工業大学工学部助教授）

研究要旨

膜分離活性汚泥法では、ばっ気による膜面の洗浄効果により、長期間安定して運転可能となるが、本研究は、ばっ気による膜面の洗浄効果の効率化に焦点を当て、気泡流を発生させた際、膜壁面近傍に沿って働くせん断応力の影響を、定量的に評価する事を目的とした。実験結果より、膜面に働くせん断力へ与える諸因子（ばっ気風量、汚泥粘性、MLSS、膜形状）の影響が明らかになった。

A. 研究目的

膜分離活性汚泥法、健全な水循環系の構築のための排水処理システムとして不可欠な技術であるが、システムのメンテナンスの簡便化、省エネルギー化、システムの長寿命化など課題も多い。

膜分離活性汚泥法では、ばっ気による膜面の洗浄効果により、長期間安定して運転可能となる。本研究は、ばっ気による膜面の洗浄効果の効率化に焦点を当て、気泡流を発生させた際、膜壁面近傍に沿って働くせん断応力の影響を、定量的に評価する事を目的とする。本研究の成果により、膜分離リアクターのより効率的な設計と運転手法の開発が期待できる。

B. 研究方法

1. 実験装置および実験方法

2.1 実験装置

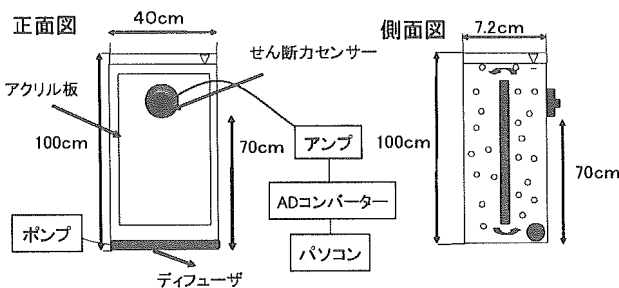


図-1 実験装置概略

図-1に実験装置概略図を示す。有効容積28.8L(7.2cm×40cm×100cm)の実験槽に底面から90cmの位置まで溶液を満たした。また、水槽の壁面から3.2cm

の奥行きに並行にアクリル板を設置し、気泡流を循環させた。気泡流を発生させ、前後左右を囲う事で気泡の上昇挙動に制限を与え、実際に平膜を浸漬させた状態に見立てた。せん断力の測定には、SSK社製せん断力センサー(S10W-1)を、パソコンの入力にはインタフェース社製A/Dコンバータ(PCI-3135)を用いた。サンプリング周波数は100Hzで8200件もしくは12300件の測定を行った。気泡発生ディフューザには外径18.05(mm)の塩化ビニル管を用い、直径0.85(mm)の穴を63個開けたものを使用した。

また、気泡径は流れの安定する底面から60cmの位置でデジタルカメラを用いて撮影し、画像解析を行い長径の長さを気泡径として用いた。上昇流速は、上昇と気泡径が安定する底面から60cmから70cmの区間をデジタルビデオカメラ(1秒間29.97フレーム)で撮影し、10cmを上昇するのにかかるフレーム数から上昇流速を求めた。

2.2 空気流束について

本実験では空気流束を空気流入量の単位として用いた。空気流束は、ディフューザから放たれた空気量(cm^3/s)を、水槽壁面から3.2cmの位置に設置しているアクリル板までの気泡の上昇挙動に制限がかかる面積($3.2\text{cm} \times 40\text{cm}$)で除すことにより求めた。単位は($\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$)である。

2.3 せん断応力への変換方法

気泡流におけるせん断力は、気泡による力の他に流れによる力の要素も含まれていると考えられる。

したがって、センサー径より小さな気泡の場合でも流れが作用しているため、全ての気泡径のせん断力に対してセンサー感受部の面積 0.0000785 m^2 で除すことによりせん断応力を求めた。

2.4 実験条件

平膜想定実験では溶液に、水道水、活性汚泥、高分子粘性剤 (AP-520)、試験用粒子 (球状ポリスチレン材、粒子径 $100 \mu\text{m}$ – $500 \mu\text{m}$) を用いて測定を行った。それぞれの実験条件を表 1-3 に示す。活性汚泥の培養には表-4 に示す酢酸を炭素源、塩化アンモニウムを窒素源とした人工基質を用いた。活性汚泥には活性汚泥浮遊物質 (MLSS)、粘性が存在する。粘性、粒子によって上昇挙動、せん断応力にどのような影響をもたらすかを検討するために、粘性剤と試験用粒子を用いて実験を行った。

表-1 実験条件 (活性汚泥)

サンプル数	30
MLSS (mg/L)	3050–11700
粘性 (mPa·s)	3.1–17.3
空気流速 ($\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{sec}^{-1}$)	0.521–2.47

表-2 実験条件 (高分子粘性剤)

サンプル数	8
粘性 (mPa·s)	2.8–15.5
空気流速 ($\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{sec}^{-1}$)	0.521–2.47

表-3 実験条件 (試験用粒子)

サンプル数	3
注入粒子量 (mg/L)	2000, 2500, 3000
粒子径 (μm)	100–500
粒子密度 (g/cm^3)	1.05
空気流速 ($\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{sec}^{-1}$)	0.521–2.47

表-4 人工基質 (g/L)

酢酸	31.5	硫酸マグネシウム	0.18
酸化アンモニウム	8.63	塩化カリウム	0.18
リン酸二水素	1.25	塩化ナトリウム	0.18
塩化鉄 6 水和物	0.09	炭酸水素ナトリウム	49.8
塩化カルシウム	0.18		

3.1 水道水を用いた気泡流のせん断応力実験

図-2, 図-3 に空気流速 $0.521 (\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1})$, $2.47 (\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1})$ における気泡形状を示す。気泡径が 4mm 付近までは、球状であったが気泡径が大きくなるに従い、楕円型になり気泡同士の分裂や合体が見られ上昇挙動も横ぶれが強くなった。また、流速が小さい地点ではキノコの笠状の気泡も若干みられた。

図-4 に空気流速と気泡の平均径の関係図を示す。空気流速 $1.30 (\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1})$ をピークに気泡径が減少傾向を示し、その後ゆるやかに増加傾向を示した。空気流速 $2.08 (\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1})$ からは水槽内が気泡で満たされる影響もあり、気泡同士の衝突や合体が多く見られ、上昇挙動が不安定になっていった。

図-5 に上昇流速と空気流速の関係図を示す。空気流速 $0.52 (\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1})$, $1.30 (\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1})$ までは上昇速度が大きく増加し、空気流速 $1.30 (\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1})$ – $1.69 (\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1})$ 辺りから上昇が緩やかなものとなった。これは気泡径が大きくなるにつれ上昇挙動が不安定になり、横ぶれが激しくなっていくため、実際は測定区間の 10cm よりも長い上昇流路を移動していること、気泡数増大による気泡同士の衝突等による上昇の妨げが要因として考えられる。

図-6 に上昇流速と気泡径の関係図を示す。上昇流速 $45 (\text{cm}/\text{s})$ を境に一旦気泡径は減少傾向を示し、その後また上昇傾向を示した。また、気泡径が 4mm 以上になると形状は次第に扁平になり、上昇経路もジグザグ状に変わった。気泡径 4mm 付近で気泡が大きくなるとともに扁平になり、上昇速度に極大値を生ずるのは恐らくこの近辺を境に境界層に剥離現象が起こって渦が生じ、抵抗が急激に増し、運動もジグザグ状になるものと思われる²⁾⁸⁾。

C 研究結果

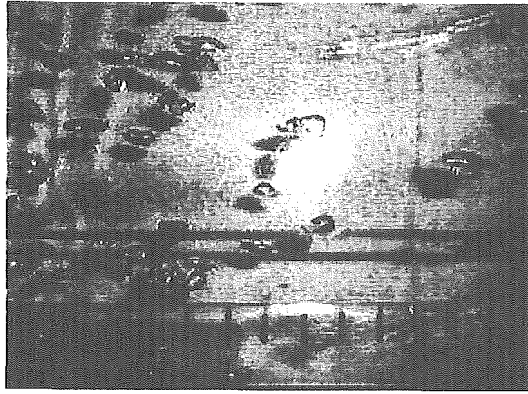


図-2 空気流束 $0.52 \text{ cm}^3\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$

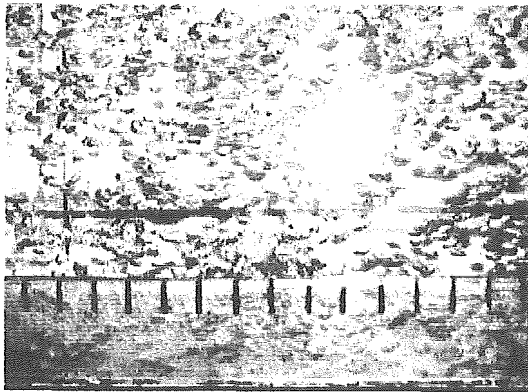


図-3 空気流束 $2.47 \text{ cm}^3\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$

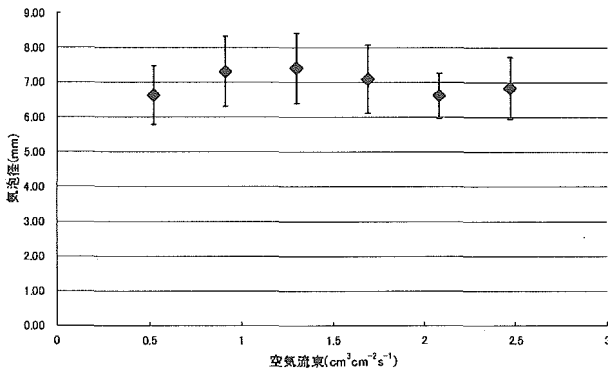


図-4 気泡径と空気流束の関係

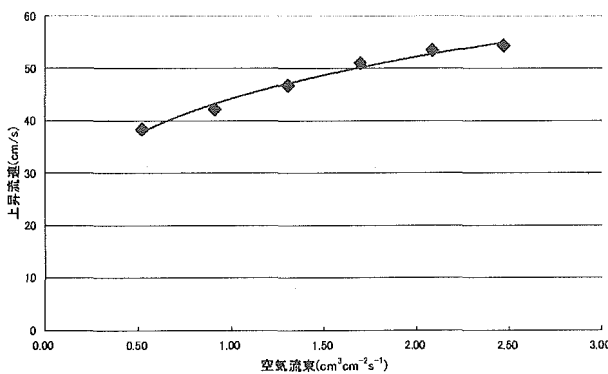


図-5 上昇流速と空気流束の関係

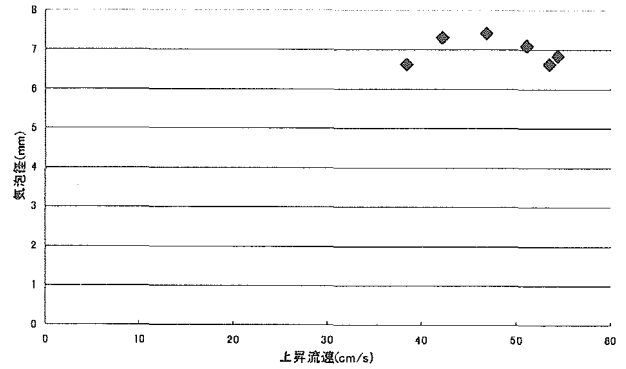


図-6 上昇流速と気泡径の関係

図-7, 図-8 にそれぞれ空気流束 $0.521 (\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1})$, $2.47 (\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1})$ の時のせん断応力経時変化図を示す。センサーを気泡が通過する数, 気泡径, 気泡とセンサーの距離が常に一定ではないため変動が生じている。気泡流では気泡が存在していない瞬間も, 常にせん断応力が存在していることから, 流れによる影響を受けていることが分かる。

また, 気泡通過時の特徴はせん断応力が一度下向きに働いてからピークに達する傾向がみられた。この理由は, 図-9 に示すように気泡が上昇する際に, 気泡の上部は液体を押し上げて上昇しているため下向きの流れが生じ, 下部は上昇による後続流の影響で上向きに流れが発生するためである¹³⁾。図-7, 図-9 を比較すると空気流束の増大によりせん断応力の極大値が増加し変動も増加していくことが分かる。

図-10 に空気流束とせん断応力の関係図を, 図-11 に空気流束と標準偏差の関係図を, 図-12 に空気流速 $1.30 (\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1})$ におけるヒストグラムを示す。空気流速 $1.30 (\text{cm}^3\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1})$ まで大きくせん断応力が増加傾向を示し, その後上昇は緩やかになっていった。空気流束が大きくなると水槽内の上昇流速が速くなるため, 流れが及ぼすせん断応力は増加する。しかし, 水槽内の上昇流速が大きくなっていくと, 壁面ごく近傍を流れる気泡は減少していく^{7), 9)}。気泡によるせん断応力の値が小さくなるため, 図に示すように緩やかな上昇傾向を示したと考えられる。また空気流束が大きくなると, 気泡数の増大, 径の増加が起こる。これにより気泡同士の影響を受けやすくなり, 分離や結合が見られ上昇挙動が不安定になったこと

も一因として考えられる。気泡径が小さく、気泡数が多いため、気泡がセンサー付近に存在している時間と存在していない時間の差がため、標準偏差は0.1-0.2と非常に小さく、空気流束の増大に伴い緩やかに増加傾向を示した。また、測定されたせん断応力の頻度は、ほぼ正規分布を示した。

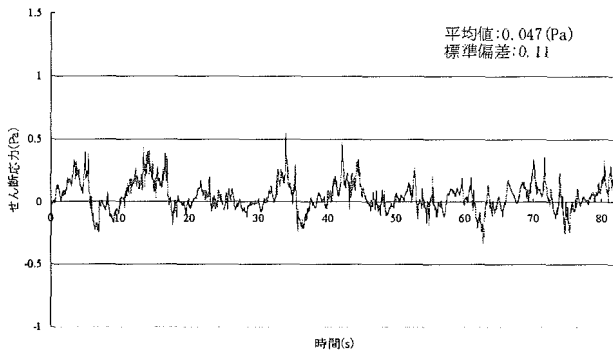


図-7 せん断応力経時変化 ($0.521 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

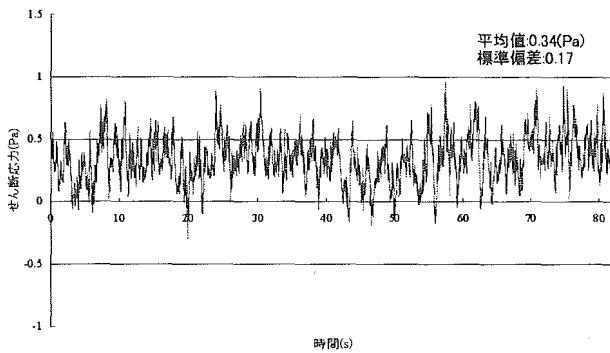


図-8 せん断応力経時変化 ($2.47 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

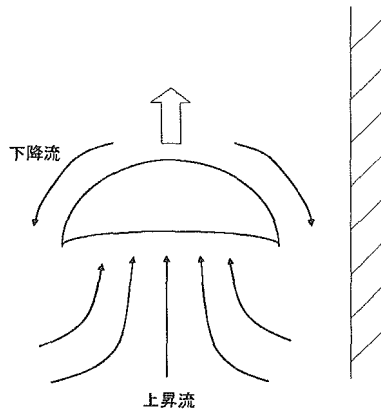


図-9 上昇中の気泡周りの流れ

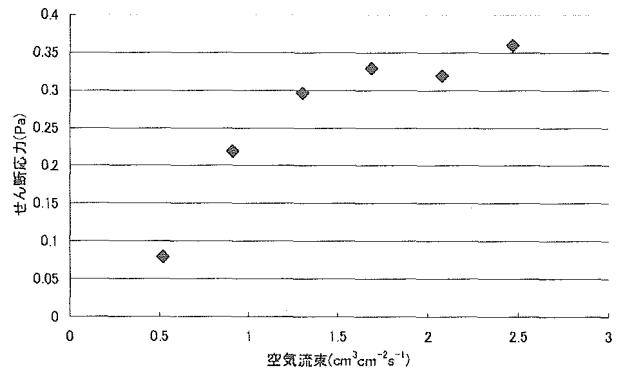


図-10 空気流束とせん断応力の関係

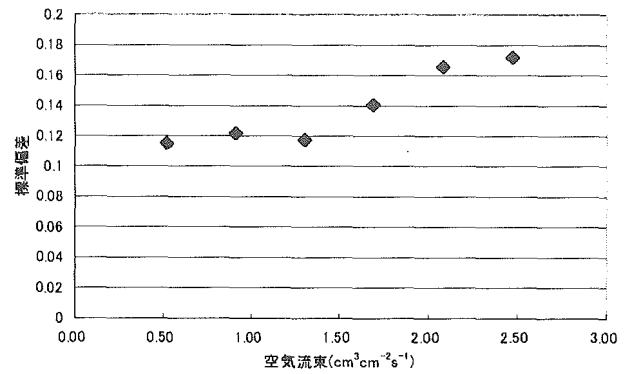


図-11 空気流束と標準偏差の関係

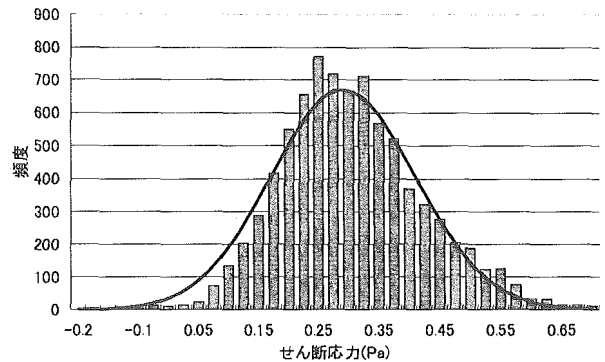


図-12 ヒストグラム ($1.30 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

3.2 活性汚泥を用いた気泡流のせん断応力実験

図-13, 図-14 に MLSS3767 (mg/L), 粘性 $4.1 (\text{mPa} \cdot \text{s})$, MLSS7500 (mg/L), 粘性 $5.2 (\text{mPa} \cdot \text{s})$ の空気流束 $0.911 (\text{cm}^3 \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1})$, $2.47 (\text{cm}^3 \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1})$ におけるせん断応力の経時変化図を示す。それぞれの経時変化の特徴として、水道水同様気泡通過時はせん断応力が一度下向きに働いてからピークに達する傾向があった。また、空気流束の増大による気泡数の増大、流れに