

第 5 章

変異原性物質生成能による 水質評価方法の開発

第5章 変異原性物質生成能による水質評価方法の開発

1. はじめに

第1章で詳しく述べたように、現在、多くの国で水道水中に変異原性物質が含まれていることが明らかになり、問題になっている¹⁻³⁰⁾。例えば、第4章で示したように、日本における変異原性レベルは、TA100-S9の条件で9,200 net rev. · l⁻¹という著しく高い値が検出され、また検出限界である490 net rev. · l⁻¹以下から9,200 net rev. · l⁻¹まで19倍の差があることが明らかになっている³¹⁾。このため、変異原性を低くする対策が必要と考えられる。

変異原性の低減対策を考える際には、水道水が変異原性物質で汚染される原因を明らかにすることが有効である。このため、第1章で詳しく述べたように、水道原水となる河川水の変異原性の流域調査^{13, 22, 27, 32-36)}、浄水処理工程での変異原性の消長の検討^{16, 37, 38)}が行われ、河川水等の水道原水の変異原性は水道水の変異原性に比べて極めて低いこと、水道水中の変異原性物質の大部分は浄水工程における塩素処理により変異原前駆物質から生成することが明らかになった。すなわち、水道水が変異原性物質で汚染されるのは、水道原水が変異原前駆物質で汚染され、浄水処理工程における塩素処理で前駆物質が変異原性物質に変化するのが原因であることが明らかになった。

塩素処理は、消化器伝染病等に対する安全確保のためには欠かすことができない処理で、義務づけられている国も多く、今後は開発途上国等にも普及すると考えられる。このため、変異原前駆物質による水道水源の汚染防止、浄水工程での変異原前駆物質削減のための処理条件の最適化を行い、塩素処理を行っても高い変異原性が発現しないように対策を講じることが重要である。

しかし、変異原前駆物質には、人工物質だけでなく、人工物質が自然界で変化した物質や天然物質など様々な物質があり、構造等が明らかになっていない物質が多いので、すべてを個別に測定することはできない。また、第4章で示したように、水道水の変異原性と全有機炭素(TOC)濃度、波長260 nmにおける吸光度A₂₆₀などとの相関関係が弱い³¹⁾ことから、原水や排水などの総括的な有機物濃度を測定しても前駆物質の評価にはつながらないと考えられる。

そこで本章では、浄水処理の塩素処理で変異原性物質に変化する物質を変異原前駆物質と定義して、変異原性物質生成能、Mutagen Formation Potential (MFP) という新しい水質指標を提案した。また、この MFP の測定方法を確立するために、浄水条件を模擬した一定の条件で河川水や排水などを塩素処理し、変異原前駆物質を変異原性物質に変化させるための条件を検討した。さらに、排水等への適用例、浄水処理の評価例を示し、MFP の有効性を示した。

2. 実験方法

2. 1 試料水

試料水は、水道水源の汚染源と考えられる下水、事業所排水、埋立地浸出水、および自然界からの有機汚濁物質のモデルとして腐葉土抽出水、さらに、これらにより汚染されていると考えられる河川水を用いた。これらの試料水は、塩素処理されておらず、水道水の変異原性の測定条件と同じ条件で測定しても変異原性は検出されないことが確認されている。また試料水は、採取後、可能な限り早く塩素処理、濃縮を行った。

これらの水試料の TOC 濃度およびアンモニア態窒素濃度を Table 5-1 に示す。TOC は島津製作所製の 2 チャンネル全有機炭素計 TOC-5000A を用いて測定し、アンモニア態窒素濃度はインドフェノールブルー法またはネスラー法により測定した。

また、希釈倍率によって共存アンモニア態窒素濃度が変化するので、TOC 濃度の影響を検討する際には、約 5 M-NaOH を用いて試料水の pH を 11 以上に調整し、湿度が 100% になるように予め RO 水中を通気した窒素で曝気し、アンモニア態窒素濃度が $0.1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下になるまで一昼夜ストリッピングしてから用いた。同様に、共存アンモニア態窒素濃度の影響を検討する際にも、ストリッピングを行った。

Table 5-1
Water samples used

Sample	Symbol	Source	TOC [mg·l ⁻¹]	NH ₄ ⁺ -N [mg·l ⁻¹]
L1	△	Landfill leachate (Treated)	36.5	8.2
M1	○	Mold extract	96.7	0.30
M2	●	Mold extract	100	0.14
R1	◇	River water	5.48	1.0
R2	◆	River water	2.02	0.10
S1	■	Sewage (Untreated)	22.8	20
S2	□	Sewage (Treated)	7.14	3.3
S3	■	Sewage (Treated)	10.3	7.2
S4	▣	Sewage (Treated)	6.46	4.9
S5	▤	Sewage (Treated)	10.9	14
W1	◇	Wastewater (Untreated)	300	18
W2	◆	Wastewater (Treated)	27.9	1.1

2. 2 塩素処理

RO 水を用いて試料水を $\text{TOC} = 2 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の所定濃度に希釈し、約 0.25 M の硫酸と約 0.5 M の水酸化ナトリウム水溶液を用いて $\text{pH} = 5.8 \sim 8.6$ の所定 pH に調整した。希釈に用いた RO 水は、同じ方法で塩素処理し、本章における最高濃縮倍率の 2 倍である 2,000 倍に濃縮しても変異原性が検出されないことが予備実験により確認されている。10～30℃の所定温度になってから、TOC あたりの塩素添加量 Cl/TOC が $0 \sim 50 \text{ mg-Cl} \cdot (\text{mg-C})^{-1}$ の所定添加率になるように、約 $5,000 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の次亜塩素酸ナトリウム水溶液をよく攪拌しながら添加し、10～30℃の所定温度で 2～48 時間の所定時間放置して塩素処理した。ただし、アンモニア態窒素濃度が $0.2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上の場合には、塩素添加量をアンモニア態窒素量の 9 倍増やした。2～48 時間の所定時間放置した後に、ジエチル-*p*-フェニレンジアミン (DPD) 法により残留塩素濃度を測定した。

なお、試料水中に懸濁物質が含まれる場合には、懸濁物質が含まれている状態で塩素処理を行った。水道水の変異原性が高く、削減対策が必要と考えられる浄水場では、懸濁物質が存在している状態で塩素添加を行っている場合が多いと考えられることから、MFP を測定する際には、懸濁物質を除去せずに塩素添加を行うべきと考えられる。また、河川水中の懸濁物質を純水に再懸濁して塩素を添加した実験からは変異原性はほとんど検出されなかったため、特殊な排水以外では懸濁物質は MFP にほとんど寄与しないと考えられ、懸濁物質を除去してもしなくても MFP はほとんど差がないと考えられる。

2. 3 生成した変異原性物質の濃縮

塩素処理により生じた変異原性物質の変異原性を測定するためには、変異原性物質を濃縮する必要がある。本章では、第3章で開発した、簡易で、濃縮率、回収率とも高くできる Sep-Pak Plus CSP-800 カートリッジを用いた固相抽出法^{39, 40)}によって濃縮を行なった。この濃縮方法のフローを Fig. 5-1 に示す。すなわち、すなわち、多孔質疎水性樹脂（CSP800）を充填した内容積 2 ml のカートリッジである日本 Waters 社製 Sep-Pak Plus CSP-800 をあらかじめ精製・コンディショニングしておき、残留遊離塩素を消去しないまま約 2.5 M の硫酸を用いて pH を 2.0 ± 0.1 に調整した試料水を $50 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ で通水して変異原性物質を吸着した。通水量は、試料水の TOC 濃度に応じて Table 5-2 に示すように変化させた。ただし、 $\text{TOC} > 4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の試料水の場合は、カートリッジを 2 本直列に接続して通水し、別々に脱離して変異原性を測定し、回収率を確認した。1 段目のカートリッジからの脱離液の変異原性が 2 段目のその 10 倍以上であれば、1 段目のカートリッジで十分な回収がなされたと判断した。

脱離は、変異原性物質を吸着した各カートリッジに、カートリッジ内に試料水を残した状態で通水方向と逆方向から上向流、 $0.15 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ でジメチルスルホキシド（以下、DMSO）を通液して行った。脱離液は、カートリッジから DMSO が流出しはじめてから 2 ml を採取した。すぐに Ames 変異原性試験できない場合は、採取した脱離液を -20°C 以下で保存した。

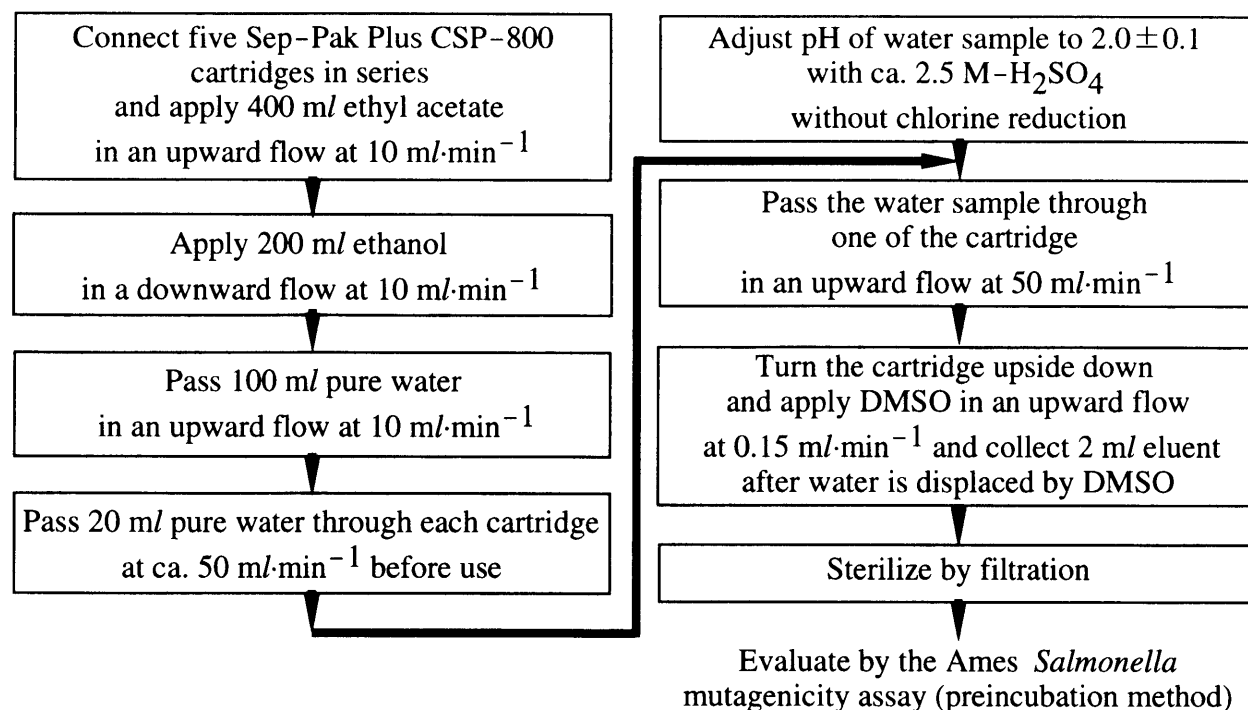


Fig. 5-1. Procedure for concentration of mutagens formed.

Table 5-2

Volume of water samples to be passed to Sep-Pak Plus CSP-800

TOC [mg·l ⁻¹]	TOC ≤ 4	4 < TOC ≤ 5	5 < TOC ≤ 12	12 < TOC ≤ 32	32 < TOC ≤ 64	64 < TOC ≤ 100
Volume [ml]	2,000	1,000	500	200	100	80
Concentration factor	1,000	500	250	100	50	40

2. 4 Ames 変異原性試験

得られた脱離液は、ろ過滅菌した後に Ames 変異原性試験（プレインキュベーション法）により変異原性を評価した。Ames 変異原性試験は、日本の労働省が発行しているガイドブック⁴¹⁾に従って行った。用いた菌株は *Salmonella tyhimurium* TA100 株で、国立公衆衛生院から提供を受けた。第4章で示したように、水道水中の変異原性物質は TA100 株を用いた代謝活性剤 S9mix を添加しない条件で検出される塩基対置換型の直接変異原性物質が多く、その他の変異原性物質はほとんど含まれていないことがすでに明らかになっている³¹⁾ので、TA100-S9 の条件のみで試験した。

用いた溶媒（DMSO）のみを添加する陰性対照試験（ブランク試験）は4枚のプレートを用いて行い、その他は同一条件で2枚のプレートを用いて行った。毎回、4-ニトロキノリン-1-オキシド（4NQO）を用いて陽性対照試験を行い、菌体の活性が安定していることを確認した。試料の変異原性は、用量作用直線の勾配を最小二乗法で求め、濃縮前の試料水 1 l あたりに換算した正味の復帰コロニー数 $[\text{net rev.} \cdot (l - \text{試料水})^{-1}]$ として表示した。用量段階は、用量 0、すなわち陰性対照試験を含めて3段階とした。今回用いた試料は、Fig. 5-2 に例を示すようにいずれも直線性のよい用量作用線を示し、用量作用直線の勾配から変異原性を求めるのに問題がなかった。

Ames 変異原性試験結果は、第2章で示したように、最大用量段階における MR 値の大きさにより、 $\pm 9.2 \sim 17\%$ の誤差範囲をもつ⁴²⁾。得られた複数の試料の変異原性が有意に異なると見なせるか否かは、同時に行った Ames 変異原性試験結果の誤差範囲が重なり合うか否かで判断した。

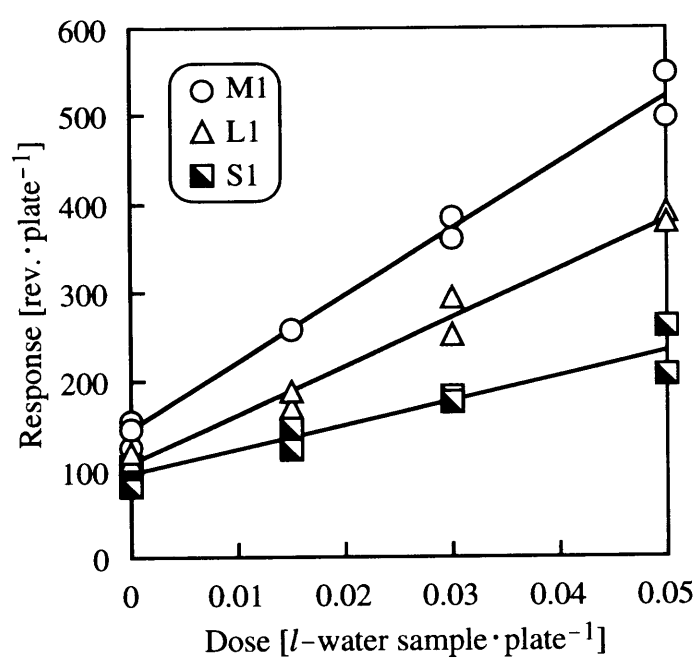


Fig. 5-2. Examples of dose-response line.

3. 結果と考察

3. 1 変異原性物質生成能に与える塩素処理条件の影響

3. 1. 1 TOC 濃度の影響

塩素処理時の TOC 濃度の影響を検討するために、試料水を $\text{TOC} = 2 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ に希釈して塩素処理し、1 本または直列に接続した 2 本のカートリッジに Table 5-2 に示した量を通水し、回収された変異原性を測定した。その結果、2 段目のカートリッジからはいずれの試料水においても変異原性は検出されなかった。そこで、1 段目のカートリッジで回収された変異原性に希釈倍率を掛け合わせた値、すなわち、希釈前の試料水 1 l あたりの変異原性を Fig. 5-3 に示す。いずれの試料水においても、発現した変異原性は変異原性試験結果の誤差範囲内であり、TOC 濃度に関係なく一定と見なせた。このため、 $\text{TOC} = 2 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の範囲では、塩素処理時の TOC 濃度の影響はないことが確認された。

TOC 濃度が高い試料水を塩素処理すると、塩素処理後の残留塩素濃度が非常に高くなったり、またその逆に塩素添加量が不足して残留塩素濃度が 0 になる場合がある。これは、試料水ごとに TOC あたりの塩素消費量が異なるので、最適添加量を予測できないためである。そこで、汚染が進行した水道原水の TOC 濃度である $3 \sim 4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ に希釈してから塩素処理し、測定された変異原性に希釈倍率を掛け合わせて希釈前の試料水の MFP を測定することにした。 $\text{TOC} \leq 4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の試料水は、希釈しないでそのまま塩素処理することにした。

第6章での測定結果から、TOC 濃度を $4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下に希釈した場合に発現する変異原性は一般的に $8,000 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下であることがすでに明らかになっている。一方、第3章で示したように、 $8,000 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下であれば Sep-Pak Plus CSP-800 カートリッジに 2 l を通水しても、90%以上の変異原性物質を吸着して脱離・回収できることがすでに明らかになっている。第4章で示したように、水道水の変異原性を測定する場合、2 l を通水すれば十分な感度を得られる³¹⁾し、下水や事業所排水などの MFP を測定する場合、水道水の変異原性を測定する場合よりも大量の試料水を通水して高い感度で測定する必要はないため、通水量は最大 2 l とすればよい。

本方法は一旦希釈してから濃縮するので煩雑に思われるが、残留塩素濃度が低くな

る塩素添加量や変異原性物質を吸着しきれる通水量を試料水ごとに検討する必要がないため簡易であり、さらに TOC 濃度が浄水処理工程における値に近いことから、優れていると考えられる。

3. 1. 2 初期 pH の影響

塩素処理時の初期 pH の影響を日本の排水基準および水道水質基準で定められている pH 5.8～8.6 の範囲で検討した。その結果、初期 pH が低いと発現した変異原性がやや高くなる試料水があったが、Fig. 5-4 に示すように、pH 6.5～7.5 の範囲ではすべての試料水において発現した変異原性は一定と見なせた。

塩素処理に用いた次亜塩素酸ナトリウムは Eq. 5-1 および 5-2 のようにのように解離する。



HClO、ClO⁻、両方の化学種とも有機物と反応するが、HClO の方が反応性が高く、有機物と反応するのはほとんどが HClO と考えられている⁴³⁾。Eq. 5-2 の解離定数 pK_a は 20℃で 7.53 なので、HClO の存在割合は pH 6.5 のときは 0.915、pH 7.5 のときは 0.519 であり、添加した 12.5 mg・l⁻¹ の塩素は pH 6.5、pH 7.5 のときそれぞれ 11.4 mg・l⁻¹、6.46 mg・l⁻¹ の濃度で HClO 態塩素として存在している。このため、高 pH 域では反応速度が遅くなると考えられるが、pH 6.5～7.5 の範囲では発現した変異原性に差が認められなかった。そこで、浄水処理において一般的な pH と考えられる pH 6.8～7.2 の範囲で塩素処理することにした。

3. 1. 3 塩素添加量の影響

塩素添加量が高いときは高濃度の塩素が残留し、Sep-Pak Plus CSP-800 カートリッジに通水した際に樹脂と反応して変異原性物質を生成して変異原性が高くなる可能性がある。そこで、Cl/TOC = 50 mg-Cl・(mg-C)⁻¹ で塩素処理した試料水の残留塩素濃度と同程度の 200 mg・l⁻¹ の塩素が残留している純水を Sep-Pak Plus CSP-800 カートリッジに通水し、発現した変異原性を測定したが、変異原性は検出限界以下であった。よ

って、残留塩素と吸着樹脂との反応による変異原性物質の生成は無視できることが確認された。

塩素処理時における塩素添加量の影響を $\text{Cl}/\text{TOC} = 0 \sim 50 \text{ mg-Cl} \cdot (\text{mg-C})^{-1}$ の範囲で検討した。その結果、Fig. 5-5 に示すように、 $\text{Cl}/\text{TOC} = 0 \text{ mg-Cl} \cdot (\text{mg-C})^{-1}$ ではいずれの試料水でも変異原性が検出限界以下であったが、 $\text{Cl}/\text{TOC} = 0.5 \text{ mg-Cl} \cdot (\text{mg-C})^{-1}$ 以上では変異原性が発現し、塩素処理された試料水中の変異原性物質の大部分が塩素処理により生成することが確認された。また、塩素添加量が多くなるに従って発現した変異原性も高くなったが、 $\text{Cl}/\text{TOC} = 0.5 \sim 10 \text{ mg-Cl} \cdot (\text{mg-C})^{-1}$ の範囲では、発現した変異原性の差は小さく、一定と見なせた。

しかし、塩素が不足して塩素が残留しなくなると発現する変異原性が低くなると考えられる。そこで、発現した変異原性が一定となった残留塩素濃度を調べたところ、 $0.20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ であった。一方、消化器系の伝染病を防ぐために蛇口における残留塩素濃度が $0.2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上に保たれるように塩素処理されることが多い。そこで、残留塩素濃度が $0.20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ となるように塩素処理することとし、塩素添加量と残留塩素濃度との関係を Fig. 5-6 に示した結果、試料水により TOC あたりの塩素消費量が異なるが、一般的な浄水処理条件内の $\text{Cl}/\text{TOC} = 3 \sim 4 \text{ mg-Cl} \cdot (\text{mg-C})^{-1}$ であれば確実に $0.20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上の塩素が残留すると考えられた。このため、 $\text{Cl}/\text{TOC} = 3 \sim 4 \text{ mg-Cl} \cdot (\text{mg-C})^{-1}$ で塩素処理することとした。

3. 1. 4 共存物質の影響

MFP 測定時に問題となる共存物質は、塩素と有機物との反応による変異原性物質生成反応を阻害あるいは促進する物質である。しかし、そのような物質でも浄水場で塩素処理されるまで残存する物質は、除去しないで MFP を測定するのが適切である。問題となる物質としては、アンモニア態窒素があげられるため、アンモニア態窒素の影響について検討した。

合計 128 検体の下水、事業所排水、埋立地浸出水を $\text{TOC} = 4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ に希釈したときの共存アンモニア態窒素濃度を調査した結果を Fig. 5-7 に示す。1 検体を除いたすべての検体が $10 \text{ mg-N} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下であった。そこで、試料水に塩化アンモニウムを添加し

て共存アンモニア態窒素濃度を $0\sim 10\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ に調整し、共存アンモニア態窒素濃度が MFP に与える影響を検討した結果を Fig. 5-8 に示す。試料水 M1 の場合は共存アンモニア態窒素濃度によらず発現した変異原性が一定と見なせたが、試料水 L1 の場合は $10\text{ mg-N}\cdot\text{l}^{-1}$ においてアンモニア態窒素が共存していない場合に比べて 1.5 倍になった。これは、N-クロロ-1-フェニル-2-クロロエチルアミン、N, N-ジクロロ-1-フェニル-2-クロロエチルアミンなどの構造中に窒素を含む変異原性物質が生成する⁴⁴⁾ことが一つの原因と考えられる。

共存アンモニア態窒素の影響が認められた試料水 L1 場合でも、 $1\text{ mg-N}\cdot\text{l}^{-1}$ では Ames 変異原性試験結果の誤差範囲内であり、発現する変異原性は有意には上昇しなかった。また、排水中のアンモニア態窒素は河川水中で硝化され、浄水場内では $1\text{ mg-N}\cdot\text{l}^{-1}$ 以下になると考えられる。このため、正確な MFP を測定するためには、共存アンモニア態窒素濃度を $1\text{ mg-N}\cdot\text{l}^{-1}$ 以下にして測定する必要がある。そこで、窒素曝気によるストリッピングの影響を検討するために、共存アンモニア態窒素濃度が $0.3\text{ mg-N}\cdot\text{l}^{-1}$ の試料水 M1 を窒素曝気して MFP を測定した。その結果、窒素曝気した試料水の MFP は $99,800\text{ net rev.}\cdot\text{l}^{-1}$ であり、曝気していない試料水の MFP である $95,000\text{ net rev.}\cdot\text{l}^{-1}$ との間に有意な差は認められなかった。このため、共存アンモニア態窒素濃度が TOC 濃度の 4 分の 1 を越える試料水は、 $[\text{TOC}]/4\text{ [mg}\cdot\text{l}^{-1}]$ になるまでストリッピングすることにした。

3. 1. 5 反応温度の影響

地域や季節によっても異なるが、標準的な浄水処理条件は $10\sim 30^{\circ}\text{C}$ と考えられるので、塩素処理時の温度の影響を $10\sim 30^{\circ}\text{C}$ の範囲で検討した。その結果、Fig. 5-9 に示すように塩素処理してから 24 時間後に発現した変異原性は温度によらず変異原性試験結果の誤差範囲内であり、一定と見なせることが明らかになった。これは、変異原性物質生成反応は速く、最も温度が低い 10°C でも塩素を添加してから 24 時間以内に十分に進行していたためと考えられる。このため、 $10\sim 30^{\circ}\text{C}$ で塩素処理することにした。

3. 1. 6 反応時間の影響

20℃における塩素処理時の変異原性の経時変化を検討した結果を Fig. 5-10 に示す。塩素添加後 6 時間以内は、変異原性は変化したが、24 時間後と 48 時間後では変異原性試験の誤差範囲内であり、一定と見なせることが明らかになった。

日本では、浄水場で塩素処理された水道水が蛇口に到達するまでの平均時間は 24 時間と考えられる⁴³⁾。この範囲内で発現する変異原性が一定と見なせることが明らかになったので、塩素処理してから 24 ± 2 時間後に濃縮することとした。

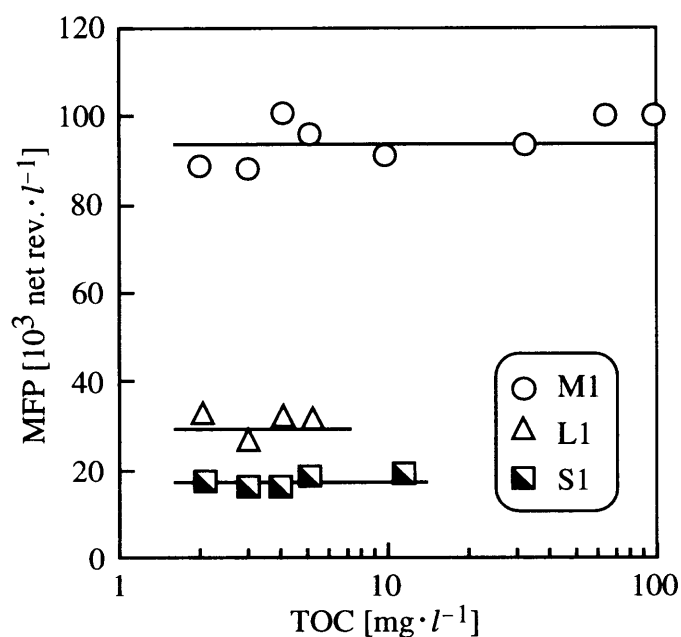


Fig. 5-3. Influence of total organic carbon concentration. Initial pH = 7.0, Cl/TOC = 2.9~7.5 mg-Cl·(mg-C)⁻¹, ammonia nitrogen < 0.1 mg·l⁻¹, reaction temperature = 20°C, reaction time = 24 h.

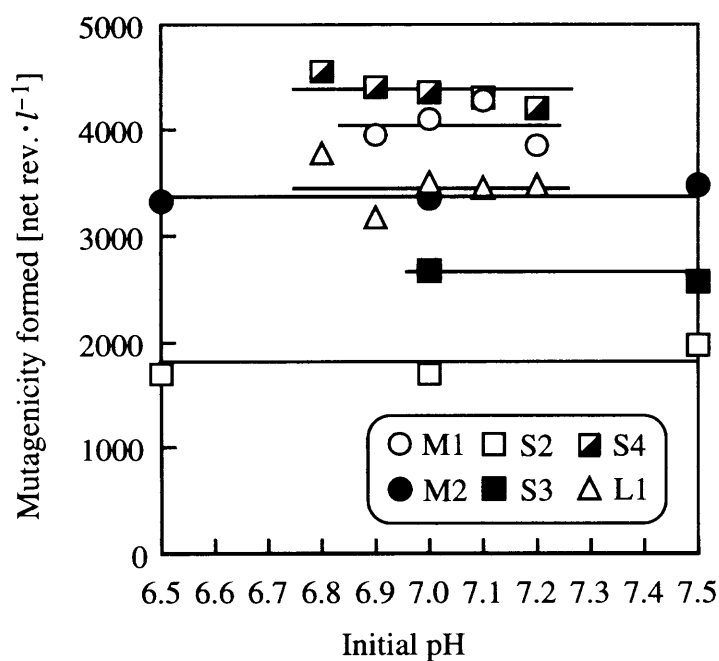


Fig. 5-4. Influence of initial pH. TOC = 2.5~4.1 mg·l⁻¹, Cl/TOC = 3.1~5.0 mg-Cl·(mg-C)⁻¹, ammonia nitrogen ≤ 3.1 mg·l⁻¹, reaction temperature = 20°C, reaction time = 24 h.

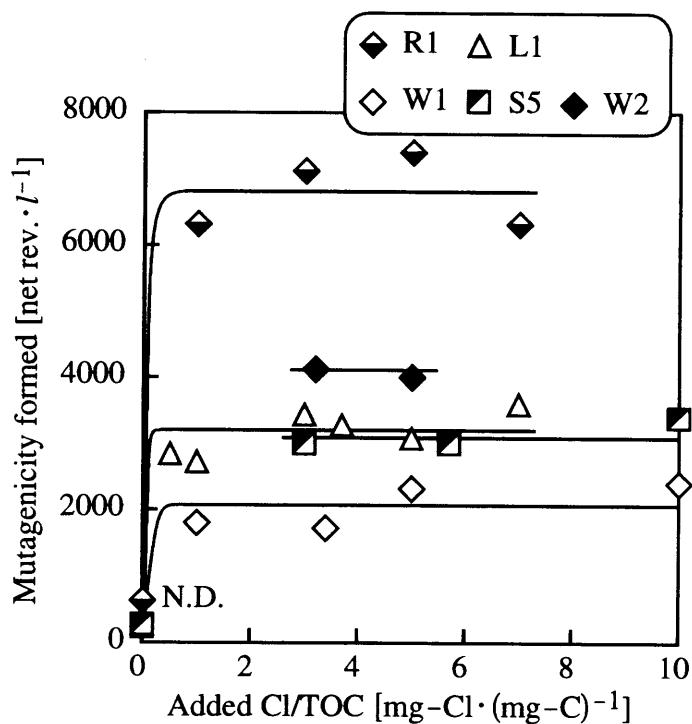


Fig. 5-5. Influence of chlorine dose around typical conditions in water purification processes. TOC = 1.8~4.1 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, initial pH = 7.0, ammonia nitrogen $\leq 2.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, reaction temperature = 20°C, reaction time = 24 h.

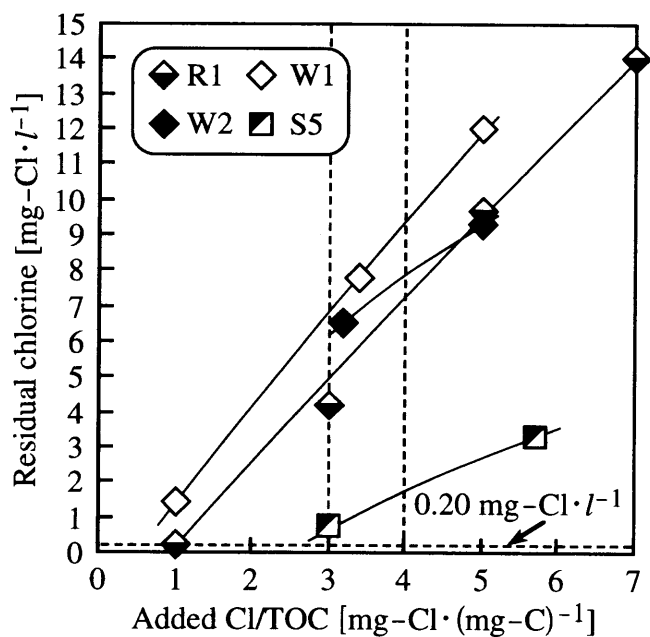


Fig. 5-6. Decision of chlorine dose. TOC = 1.8~3.1 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, initial pH = 7.0, ammonia nitrogen $\leq 2.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, reaction temperature = 20°C, reaction time = 24 h.

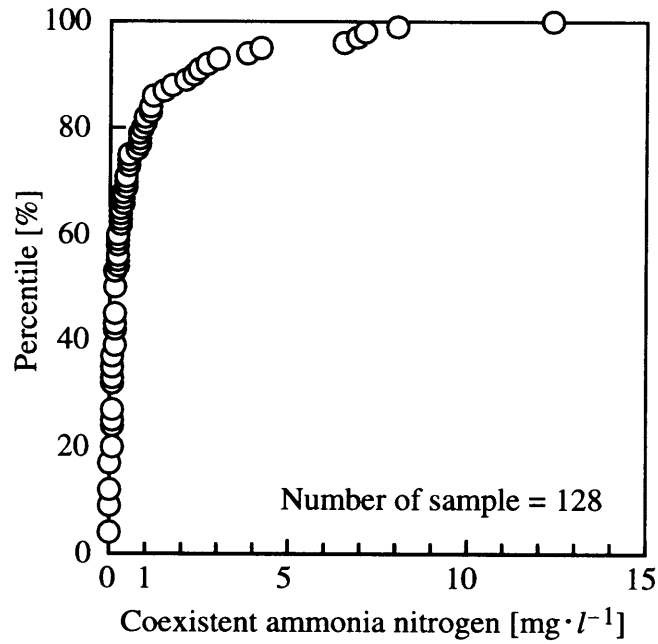


Fig. 5-7. Percentile distribution of coexistent ammonia nitrogen concentration of various river water, wastewater and sewage diluted until TOC reached $4.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Water samples whose TOC were less than $4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ were not diluted.

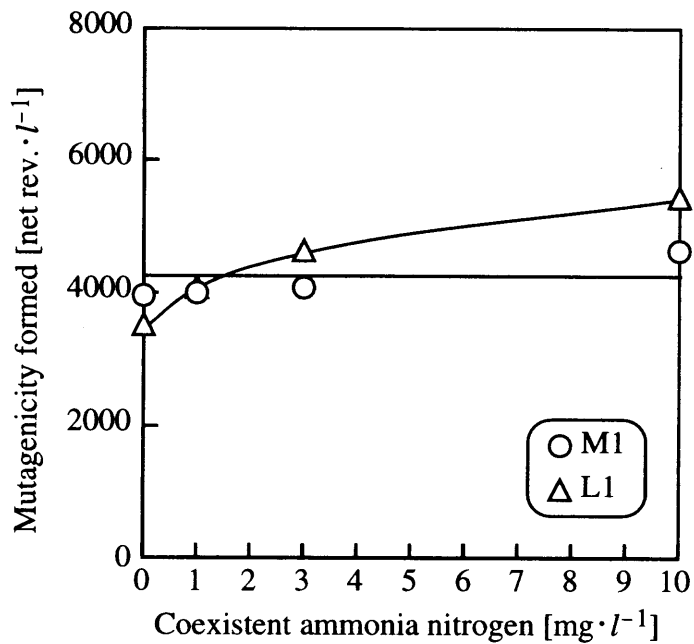


Fig. 5-8. Influence of coexistent ammonia nitrogen concentration. TOC = $4.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, initial pH = 7.0, Cl/TOC = $3.7 \sim 3.8 \text{ mg} \cdot \text{Cl} \cdot (\text{mg} \cdot \text{C})^{-1}$, reaction temperature = 20°C , reaction time = 24 h.

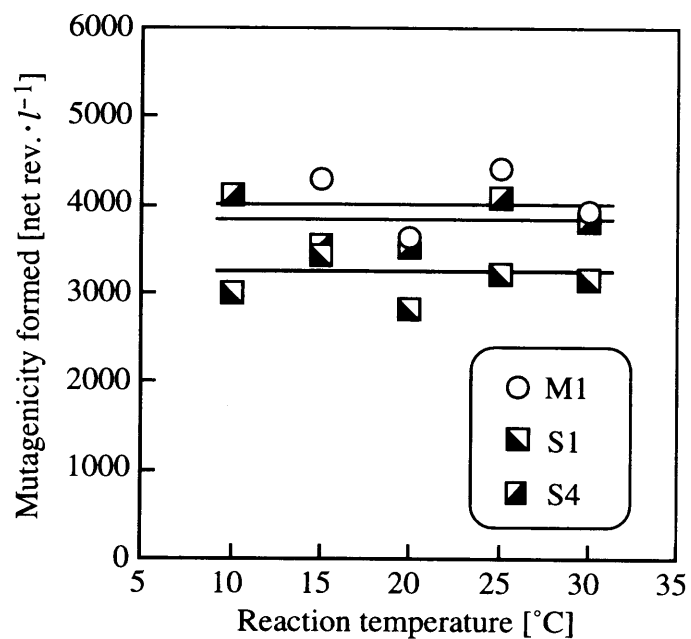


Fig. 5-9. Influence of reaction temperature. TOC = $3.8 \sim 4.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, initial pH = 7.0, Cl/TOC = $3.7 \sim 4.0 \text{ mg-Cl} \cdot (\text{mg-C})^{-1}$, ammonia nitrogen $\leq 3.3 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, reaction time = 24 h.

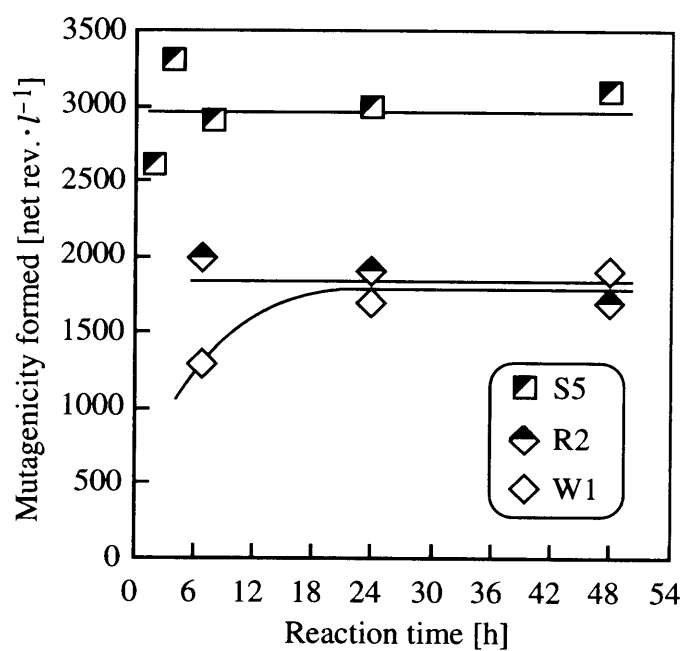


Fig. 5-10. Influence of reaction time. TOC = $1.8 \sim 2.9 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, initial pH = 7.0, Cl/TOC = $3.0 \sim 7.2 \text{ mg-Cl} \cdot (\text{mg-C})^{-1}$, ammonia nitrogen $\leq 2.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, reaction temperature = 20°C .

3. 2 測定方法の提案と水質指標としての有効性

3. 2. 1 測定方法の提案

以上の結果に基づき、Fig. 5-11 のような MFP 測定方法を提案した。アンモニア態窒素濃度が $[\text{TOC}]/4$ $[\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}]$ を越える場合には、約 5 M-NaOH を用いて試料水の pH を 11 以上に調整し、湿度が 100% になるように予め RO 水中を通気した窒素で曝気し、アンモニア態窒素濃度が $[\text{TOC}]/4$ $[\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}]$ 以下になるまで一昼夜ストリッピングしてから実験に供する。試料水の TOC が 4 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上の場合には精製水を用いて $\text{TOC} = 3 \sim 4$ $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ に希釈し、約 0.25 M および約 2.5M の硫酸または約 0.5 M の水酸化ナトリウム水溶液を用いて $\text{pH} = 7.0 \pm 0.2$ に調整する。約 5,000 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いて、Eq. 5-3 または 5-4 より求めた量 (A $[\text{mg-Cl}]$) の塩素をよく攪拌しながら添加し、室温で 24 ± 2 時間放置する。

$$A = V \times [\text{TOC}] \times (3 \sim 4) \quad ; [\text{NH}_4^+ - \text{N}] \leq 0.2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1} \quad (5-3)$$

$$A = V \times \{ [\text{TOC}] \times (3 \sim 4) + ([\text{NH}_4^+ - \text{N}] - 0.2) \times 9 \} \quad ; [\text{NH}_4^+ - \text{N}] > 0.2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1} \quad (5-4)$$

ここで、 V は試料水量 $[\text{l}]$ 、 $[\text{TOC}]$ と $[\text{NH}_4^+ - \text{N}]$ の単位は $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ である。

第3章で開発した吸着・脱離法により、生成した変異原性物質を濃縮する。すなわち、約 2.5 M の硫酸を用いて試料水の pH を 2.00 ± 0.1 に調整した後、直ちに、予め精製・コンディショニングした Sep-Pak Plus CSP-800 カートリッジに 2 l を通水し、生成した変異原性物質を吸着する。通水した方向と逆方向から DMSO を $0.15 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ で通液し、DMSO がカートリッジから流出し始めてから 2 ml を採取して変異原性物質を脱離する。脱離液は Ames 変異原性試験（プレインキュベーション法）により変異原性強度を評価する。ただちに試験できない場合には、 -20°C 以下で保存する。

この方法により、試料水中に含まれる変異原前駆物質を一般的な浄水処理条件下で塩素処理して変異原性物質に変化させ、生成した変異原性物質を 90% 以上の回収率で 1,000 倍に濃縮することができる。

3. 2. 2 排水等への適用例

MFP の水道水源水質管理に対する有効性を示すために、下水、し尿処理水、埋め立

て地浸出水、事業所排水の MFP と変異原性を測定した例を Table 5-3 に示す。17 検体のうちの 2 検体の変異原性だけは、日本の水道水の平均的な変異原性の 10 倍の $10,000 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上であった。これらの 2 検体は採取したときにすでに塩素処理されており、そのうち 1 検体の変異原性は MFP と等しかった。採水数日後に残留塩素が検出されたので、十分な量の塩素が添加されていたと考えられる。これに対して、残りの 1 検体の変異原性は MFP より低く、残留塩素が検出されなかった。排水処理工程において十分な量の塩素が添加されなかったためと考えられる。

このように、17 検体のうちの 15 検体において変異原性が日本の水道水の平均的な変異原性の 10 倍以下であったが、逆に 15 検体において MFP がそれ以上であった。これらのことから、多くの排水は水道水源に流入して浄水場で塩素処理されることにより、変異原性が高くなると考えられる。また、日本の水道水の平均的な変異原性と考えられる $^{311}1,000 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ の約 500 倍に相当する $470,000 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ の MFP が検出された。

このように、排水が水道水の変異原性に与える影響は、従来の排水の変異原性の測定結果から考えられる影響よりも遙かに大きいと考えられることが明らかになった。これらは、変異原性を含めた従来の水質試験方法では明らかにすることができず、MFP を用いることによって初めて明らかになったことであり、MFP の有効性を示している。

3. 2. 3 浄水処理工程の評価への適用例

MFP の有用性を示す例として、高度浄水処理工程における MFP の変化を測定した例を Fig. 5-12 に示す。塩素処理を行わずに変異原性を測定した場合には、いずれの処理工程でも $700 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 未満の N.D.であり、処理効果を評価することはできなかった。これに対して、MFP を測定することにより、1) $10,400 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ の潜在的な変異原性物質生成能がある原水が、ポリ塩化アルミニウムによる凝集沈殿処理、生物活性炭 (BAC) 処理で $2,000 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ まで削減され、原水の潜在的な変異原性物質生成能が 81%削減されること、2) BAC 処理の前段でオゾン処理を行っても $2,200 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ (削減率 79%) までしか削減されず、ほとんど効果がないことを明らかにすることができた。さらに、3) 凝集沈殿処理だけでも $5,800 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ (削減率 44%) まで

削減されること、4) オゾン処理単独での削減率は、41%であること、5) オゾン処理水を BAC 処理した時の削減率は 35%であること、6) 凝集沈殿処理水を直接 BAC 処理した場合の削減率は 58%であることなど、各処理工程の効果を定量的に評価することが可能であった。

このように、MFP は浄水処理工程や排水処理工程の評価と管理に非常に有効である。また、自然界中で変異原前駆物質が浄化される様子なども定量的に明らかにできると考えられ、水道水源を変異原前駆物質による汚染から保全するためにきわめて有効である。

なお、浄水処理効果を評価する際には、各浄水処理場で行われている塩素処理条件で MFP を測定しても標準法と同じ値が得られると考えられるため、必ずしも標準法でなくてもよい。しかし、同じ結果が得られる範囲でできるだけ簡易に測定できる方法として標準法で測定するのが望ましい。

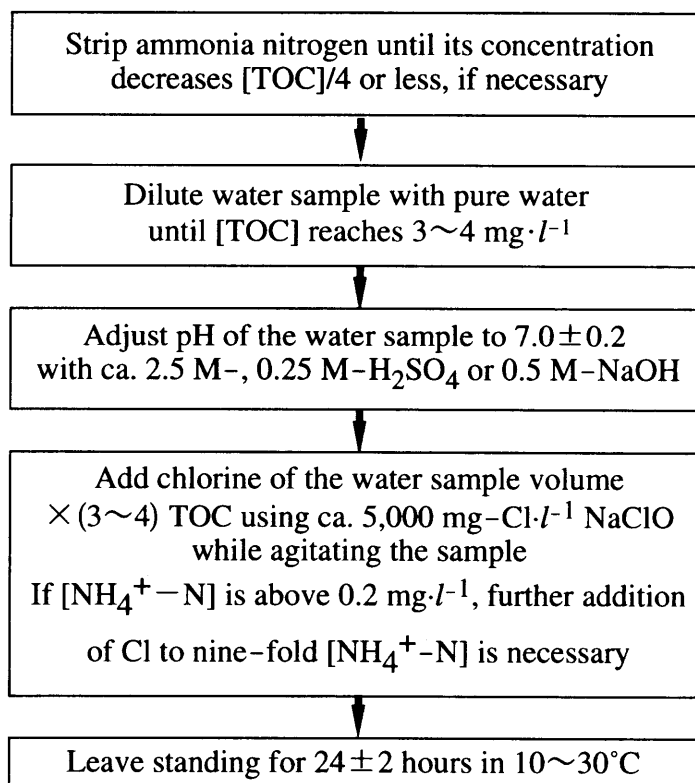


Fig. 5-11. Chlorination procedure for measuring mutagen formation potential, MFP.

Table 5-3
Formation of mutagen from various wastewater by chlorination (TA100-S9)

Sample	Source	Mutagenicity [net rev. $\cdot l^{-1}$]	Mutagen formation potential, MFP [net rev. $\cdot l^{-1}$]
A	Chemical and allied products industry	$<10^4$	4.7×10^5
B	Landfill	$<10^4$	2.5×10^5
C	Chemical and allied products industry	8.3×10^4	8.3×10^4
D	Chemical and allied products industry	$<10^4$	5.7×10^4
E	Electrical machinery, equipment and supplies industry	$<10^4$	4.7×10^4
F	Night soil treatment plant	1.3×10^4	4.1×10^4
G	Landfill	$<10^4$	3.4×10^4
H	Night soil treatment plant	$<10^4$	3.4×10^4
I	Fabricated metal products industry	$<10^4$	3.2×10^4
J	Chemical and allied products industry	$<10^4$	2.7×10^4
K	General machinery industry	$<10^4$	2.6×10^4
L	Night soil treatment plant	$<10^4$	2.1×10^4
M	Food industry	$<10^4$	2.0×10^4
N	Sewage works	$<10^4$	1.8×10^4
O	Food industry	$<10^4$	1.4×10^4
P	Pulp, paper and paper products industry	$<10^4$	$<10^4$
Q	Electrical machinery, equipment and supplies industry	$<10^4$	$<10^4$

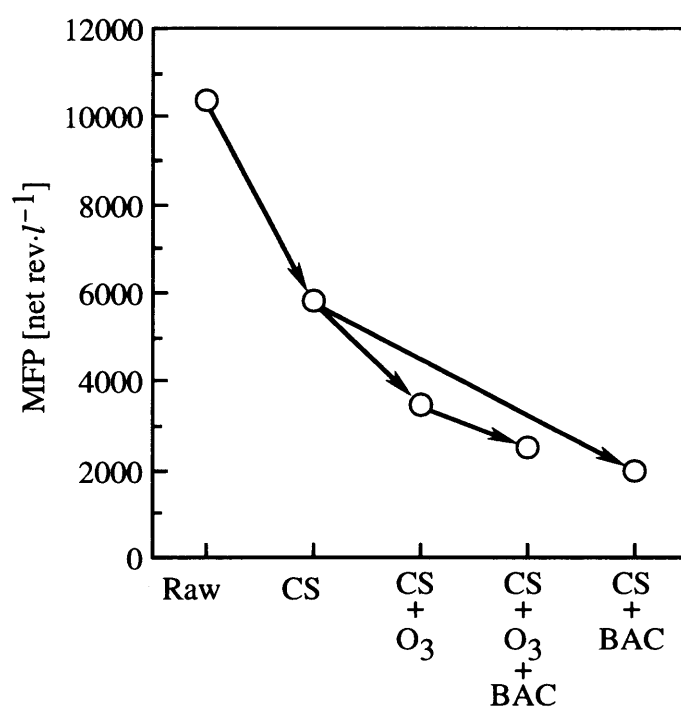


Fig. 5-12. Examples of evaluation of water purification efficiency by mutagen formation potential, MFP. CS : coagulation sedimentation, BAC : biological activated carbon.

4. 本章のまとめ

第4章で示したように、水道水の変異原性がかなり高い地域では変異原性削減対策が必要である。水道水が変異原性物質で汚染されるのは、水道原水が変異原前駆物質で汚染されるのが原因であることが明らかになっている。そこで本章では、浄水処理の塩素処理で変異原性物質に変化する物質を変異原前駆物質と定義し、変異原性物質生成能、Mutagen Formation Potential (MFP) という新しい水質指標を提案した。また、MFP の測定方法を確立するために、変異原前駆物質を変異原性物質に変化させるための塩素処理条件を検討した。さらに、MFP の有効性を示すための検討についても行い、以下の結論を得た。

- 1) TOC 濃度は、 $2\sim 100\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の範囲で MFP 測定値に影響を与えなかった。しかし、残留塩素濃度を適切な低い値に保ち易いよう、 $3\sim 4\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ に希釈するのが適切と考えられる。
- 2) 初期 pH は、 $6.5\sim 7.5$ の範囲で MFP 測定値に影響を与えなかった。
- 3) 塩素添加量は、 $0.5\sim 10\text{ mg-Cl}\cdot(\text{mg-C})^{-1}$ の範囲では MFP 測定値に影響を与えなかった。しかし、塩素処理後に確実に塩素が残留するように、 $3\sim 4\text{ mg-Cl}\cdot(\text{mg-C})^{-1}$ 添加するのが適切と考えられる。
- 4) MFP 測定値は共存アンモニア態窒素濃度とともに上昇した。しかし、 $1\text{ mg-N}\cdot\text{l}^{-1}$ 以下の場合には Ames 変異原性試験結果の誤差範囲内であった。試料水を約 pH11 にして窒素曝気することにより、共存アンモニア態窒素のみをストリッピングすることが可能であった。
- 5) 反応温度は、 $10\sim 30^{\circ}\text{C}$ の範囲で MFP 測定値に影響を与えなかった。
- 6) 塩素処理後 6 時間以内では MFP は変化した。24 時間後と 48 時間後では一定と見なせた。

以上の結論を基に MFP 測定方法を決定し、Fig. 5-11 に示した。本方法は一旦希釈してから濃縮するので煩雑に思われるが、残留塩素濃度が低くなる塩素添加量や変異原性物質を吸着しきれない通水量を試料水ごとに検討する必要がないため簡易であり、さらに TOC 濃度が浄水処理工程における値に近いことから、優れていると考えられる。

さらに TOC 濃度が浄水処理工程における値に近いことから、優れていると考えられる。また、塩素添加量、反応温度、反応時間を厳密に調整する必要がなく簡易であるため、水道原水や水道水源に流入する排水の日常的な MFP 測定に適している。

本方法に従っていくつかの排水の MFP を測定したところ、日本の水道水の平均的な変異原性の約 500 倍に相当する $470,000 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ の MFP が検出された。また、MFP は浄水処理工程や排水処理工程の評価と管理に非常に有効であることが示された。

本章の引用文献

- 1) Williams D. T., Nestmann E. R., Lebel G. L., Benoit F. M. and Otson R. (1982) Determination of mutagenic potential and organic contaminants of great lakes drinking water, *Chemosphere Chem. Biol. Toxicol. Environ. Probl.*, **11**(3), 263–276.
- 2) Maruoka S. and Yamanaka S. (1983) Comparative studies using the Ames *Salmonella* / microsome test on mutagenicity of the XAD extract recovered from the river waters in Kyoto city, *Environmental Science Technology*, **17**(3), 177–180.
- 3) Kool H. J., Kreijl V. C. F. and Oers V. H. (1984) Mutagenic activity in drinking water in the Netherlands. A survey and a correlation study, *Toxicological and Environment Chemistry*, **7**, 111–129.
- 4) Vartiainen T. and Liimatainen A. (1986) High levels of mutagenic activity in chlorinated drinking water in Finland, *Mutation Research*, **169**, 29–34.
- 5) 丹保憲仁、亀井 翼、中津川 誠 (1986) 塩素及びオゾン処理によって水中のフミン質類から生成する成分の環境変異原性 (Ⅱ)、水道協会雑誌、**56**(6)、2–11.
- 6) Kronberg L. and Holmbom B. (1986) Properties of mutagenic compounds form during chlorination of humic–water, org. micropollut, *Aquatic Environ.*, 449– 454.
- 7) Guttaman–Bass N., Bairey–Albuquerque M., Ulitzur S., Chartr A. and Bav–Aca C. (1987) Effects of chlorine and chlorine dioxide on mutagenic activity lake Kinnereth, *Environ. Sci. Technol.*, **21**, 252–260.
- 8) 讃岐田 訓 (1987) 塩素処理による変異原性の生成、水、29(11)、23–29.
- 9) Vartinen T., Limatainen A., Jaaskelainen S. and Kaubanen P. (1987) Comparison of solvent extractions and resin adsorption for isolation of mutagenic compounds from chlorinated drinking water with high humus content, *Water Research*, **21**, 773–779.
- 10) Vartinen T. and Limatainen A. (1988) Relations between drinking water mutagenicity and water quality parameters, *Chemosphere*, **17**, 189–202.
- 11) Kito K., Otsuki T., Suzuki N. and Nakanishi J. (1988) Mutagenicity of drinking water and the relation to total organic halogen, *Chemosphere*, **17**, 2219–2232.
- 12) Sayoto Y., Nakamuro K., Ueno H. and Goto R. (1990) Mutagenicity of adsorbents to a

- copper-phthalocyanine derivative recovered from municipal river water, *Mutation Research*, **242**, 313-317.
- 13) 内海英雄、濱田 昭、早津彦哉、橋本徳蔵、相沢 靖 (1990) 河川水中変異原活性の季節・流域変動－青綿法による検討及び従来の水質汚濁指標との比較－、水質汚濁研究、**13**、227-234.
- 14) Soto M. I. Z. and Martins M. T. (1992) Assessment of mutagenic activity in drinking water from Sao Paulo city, Brazil. *Environmental Toxicology and Water Quality : An International Journal*, **7**, 141-155.
- 15) Conteiro E., Venier P., Fortunati E., Navazio G. and Levis A. G. (1992) Evaluation of mutagenic activity of organic micropollutants present in surface waters, *International Journal of Environmental and Pollution*, **2**(1/2), 87-96.
- 16) Monarca S., Ziglio G., Pasquini R., Beltramelli G., Feretti D., Donato F., Nardi G., Gervasoni M., Micheli F., Dalmiglio A. and Moretti M. (1992) Mutagenicity of drinking water obtained by different treatment procedures from two northern Italian lakes. *International Journal of Environmental Health Research*, **2**, 192-200.
- 17) Romero J., Ribo G., Ventura F., Caixach J., Moreno P. and Rivera J. (1992) Ames and sister chromatid exchange tests of organic extracts from drinking water, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **49**, 259-265.
- 18) 鶴川昌弘、中村清一、西村公志、大竹 徹 (1993) 水道水の安全性の評価と制御に関する研究（第一報）－水道水中に含まれる有機物の安全性について－、衛生化学、**39**(5)、421-439.
- 19) 田中一浩、守田康彦、高橋敬雄 (1993) 新潟県内の水道水・河川水の変異原性について、水環境学会誌、**16**(9)、657-665.
- 20) 山吉孝雄、土井 均、井上嘉高、伊藤 保 (1993) 変異原活性の変動に対するオゾン・粒状活性炭処理効果、水道協会雑誌、**62**(7)、28-37.
- 21) Kusamran W. R., Wakabayashi K., Oguri A., Tepsuwan A., Nagao M. and Sugimura T. (1994) Mutagenicities of Bangkok and Tokyo river waters, *Mutation Research*, **325**(2/3), 99-104.

- 22) Filipic M. (1995) Mutagenicity toxicity of water extracts from the Sora river area, *Mutation Research*, **342**, 1–8.
- 23) Filipic M., Lovincic D., Erjavec M., Glavic D. and Planina P. (1995) Toxic and genotoxic activity of water samples from the river Ljubljana, *Bull Environ. Contam. Toxicol.*, **55**, 237–244.
- 24) Zehra R., Abdul M., Masood A. (1995) Genotoxicity of the Ganges water at Narora (U.P.), India, *Mutation Research*, **367**, 187–193.
- 25) Zehra R., Abdul M., Masood A. (1995) Mutagenic activity of the Ganges water with special reference to the pesticide pollution in the river between Kachla to Kannauj (U.P.), India, *Mutation Research*, **343**, 137–144.
- 26) Lerda D. E. and Prosperi C. H. (1996) Water mutagenicity and toxicology in Rio Tercero (Cordoba, Argentina), *Water Research*, **30**(4), 819–824.
- 27) 長井 章、加納芳直、船坂鐸三 (1996) 長良川上流域における河川水の変異原性に関する研究、水環境学会誌、19(8)、657–663.
- 28) Sakamoto H., Ohe T., Hayatsu T. and Hayatsu H. (1996) Evaluation of blue–chitin column, blue–rayon hanging, and XAD–resin column techniques for concentrating mutagens from two Japanese rivers, *Mutation Research*, **371**(1/2), 79–85.
- 29) 信川貴子、讀岐田 訓 (1997) 哺乳動物培養細胞の染色体異常試験による淀川水系水道水の遺伝毒性、水環境学会誌、20(11)、705–709.
- 30) Guzzella L. and Sora S. (1998) Mutagenic activity of lake water samples used as drinking water resources in northern Italy, *Water Research*, **32**(6), 1733–1742.
- 31) 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 日本の水道水の変異原性レベルの解析、水環境学会誌、**18**、1001–1011.
- 32) Nakamuro K., Ueno H. and Sayato Y. (1992) Evaluation of mutagenicity of municipal river water concentrated using XAD resin column method, *Water Science and Technology*, **25** (11), 293–299.
- 33) Sanchez P. S., Coimbra C. A., Coelho M. C. L., Valent G. U. and Sato M. I. Z. (1992)

- Assessment of mutagenic activity in drinking water from Sao Paulo city, Brazil, *Environmental Toxicology and Water Quality*, **7**, 141–155.
- 34) Rehana Z., Malik A. and Ahmad M. (1995) Mutagenic activity of the Ganges water with special reference to the pesticide pollution in the river between Kachla to Kannauj, *Mutation Research*, **343** (2/3), 137–144.
- 35) 朴 永圭、李 哲熙、李 淳和、河 紀成、金 洙賢、鄭 然孫、韓 相国、内海英雄、韓国洛東江水系における変異原性の流域・季節変動とその負荷原因の解析、水環境学会誌、**20**、763—767、1997.
- 36) Otsu R., Horikawa K. and Min B. Y. (1998) Mutagenicity of river water in Korea, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **60** (4), 615–619.
- 37) Huck P. M., Anderson W. B., Savage E. A., Borstel von R. C., Daignault S. A., Rector D. W., Irvine G. A. and Williams D. T. (1989) Pilot scale evaluation of ozone and other drinking water disinfectants using mutagenicity testing, *Ozone Science & Engineering*, **11**, 245–269.
- 38) Magara Y., Kurosawa Y. and Hisamatu Y. (1994) Evaluation of a water purification system referring to mutagenicity, *Aqua*, **43** (5), 252–261.
- 39) 浦野紘平、高梨啓和、金澤伸浩、藤江幸一 (1994) 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、**17**, 451–460.
- 40) 浦野紘平、高梨啓和、金澤伸浩、岡部文枝、藤江幸一 (1994) 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、**17**、461–469.
- 41) 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会、1986、東京。
- 42) Takanashi H., Urano K. (1998) 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.
- 43) 丹保憲仁編、水道とトリハロメタン、技報堂出版、1983、東京。

- 44) Nojima K., Isogami C., Itoh Y., Takahashi Y. and Kobayashi M. (1994) Formation of chloroamines from styrene under conditions mimicking those of water “chlorination” treatment, *Biol. Pharm. Bull.*, **17** (6), 819-822.

第 6 章

水道水源に流入する排水の 変異原性物質生成能の解析

第6章 水道水源に流入する排水の変異原性物質生成能の解析

1. はじめに

第1章で詳しく述べたように、現在、多くの国で水道水中に変異原性物質が含まれていることが明らかになり、問題になっている¹⁻³⁰⁾。例えば、第4章で示したように、日本においてはTA100-S9の条件で9,200 net rev.・l⁻¹という著しく高い変異原性が検出され、また、年4回平均値が290~4,400 net rev.・l⁻¹であり、約15倍の差があることが明らかになっている³¹⁾。このため、他の地域と比較して著しく変異原性が高い地域から、順次、水道水の変異原性を低減する対策を施す必要があると考えられる。

水道水に変異原性物質が含まれるのは、第5章で述べたように、水道原水が変異原前駆物質で汚染され、浄水処理工程において塩素が添加されることによって変異原性物質が生成することが原因である³²⁾。しかし、塩素処理は、消化器伝染病等に対する安全性を確保するための有効な処理であり、日本をはじめ、塩素処理を義務づけている国は多く、今後さらに普及すると考えられる。このため、水道水源の変異原前駆物質による汚染防止、および浄水工程における変異原性物質の生成抑制対策等を施すことが必要である。

そこで本章では、水道水源の変異原前駆物質による汚染防止を考える一助として、第5章で提案した変異原性物質生成能、Mutagen Formation Potential (MFP) の測定方法³²⁾を用いて、水道水源に流入する可能性がある各種の排水のMFPを測定し、そのレベルを明らかにするとともに、MFPに排水量を乗じたMFP負荷量のレベルについても明らかにした。また、変異原前駆物質の特徴についても検討し、新しいMFPを指標とした排水規制や水源保全対策等の必要性を示した。

2. 実験方法

2. 1 試料水の採取および保存

試料水には、水道水源に流入する各種の工場排水、生活雑排水、埋立地浸出水、下水処理場排水、屎尿処理場排水の処理水または放流水 65 検体を用いた。これらのうち、埋立地浸出水は埋立物等により大きく水質が異なるので、採取した埋立地の状況を Table 6-1 に示す。このとき、後述の Fig. 6-4 および Fig. 6-6 のデータと比較できるように MFP と MFP 負荷量を同時に記載した。ただし、検討した埋立地浸出水が 4 検体のみであったので、埋立経過年数、埋立容量、埋立物と MFP との関係についての検討は行わなかった。

本章の研究で用いた排水は様々な排水処理が施されており、一連の処理が施された時点で採取した試料水を処理水とし、さらに雨水等と混合されて放流口より放流される時点で採取した試料水を放流水とした。これらの処理水と放流水は、いずれも従来の BOD、COD 等の排水基準は満たしていた。また、17 種類の排水については、処理効果を検討するために未処理水と処理水の両方を用いた。これらの試料水は、採取後、可能な限り早く MFP 等を測定したが、直ちに測定できない場合には 5℃に冷蔵保存した。

なお、採取にはポリ容器を用いたが、ポリ容器に純水を入れて 24 時間放置して溶出物の MFP を 1,000 倍濃縮して測定しても、検出限界以下であることをあらかじめ確認した。また、排水中に懸濁物質が含まれており多環芳香族等を吸着していたとしても、懸濁物質とともに浄水処理工程ではほぼ完全に除去され、ヒトが摂取することはないので、懸濁物質に吸着される変異原性物質は MFP として測定されなくても問題とされないと考えられる。このため、懸濁物質中の変異原性物質を抽出して検討することは行わなかった。

Table 6-1
Principal characteristics of landfill

Landfill	Filler	Years passed [y]	Volume of landfill [m ³]	Volume of wastewater [m ³ ·d ⁻¹]	MFP [10 ³ net rev.·l ⁻¹]	MFP load [net rev.·d ⁻¹]
A	Sludge, dust	5	9990	10	7.4	7.4×10^7
B	Plastics	6	128600	40	34	1.4×10^9
C	Fry ash, bottom ash	1	61385	60	250	1.5×10^{10}
D	Various	Unknown	Unknown	9,000	2100	1.9×10^{13}

2. 2 水質の測定

2. 2. 1 有機物濃度等

有機汚染物質濃度として、JIS 法による BOD、COD の他に、有機物の総濃度として TOC を島津製作所製の 2 チャンネル全有機炭素計 TOC-500 型で測定した。また、フミン質などの芳香族性の水中有機物質濃度の指標として、波長 260 nm における吸光度 A_{260} を日本分光製の可視紫外分光光度計 UVIDEC-430 型または島津製作所製の可視紫外分光光度計 UV1200 型で測定した。

2. 2. 2 トリハロメタン生成能 (THMFP)

試料水を TOC が $1.5 \sim 2.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ になるように純水で希釈し、pH 7.0 ± 0.2 に調整した後、100 ml を採取して容量 125 ml のバイアル瓶に入れ、約 $5,000 \text{ mg-Cl} \cdot \text{l}^{-1}$ の次亜塩素酸ナトリウム溶液をマイクロシリンジを用いてよく攪拌しながら添加した。添加量は 1 mg-Cl としたが、アンモニア態窒素濃度が $0.2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ を超える場合には Eq. 6-1 から求めた量 ($A [\text{mg-Cl}]$) とした。

$$A = 1 + ([\text{NH}_4^+ - \text{N}] - 0.2) \times 0.9; [\text{NH}_4^+ - \text{N}] > 0.2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1} \quad (6-1)$$

添加後、直ちに密栓をして 20°C の恒温槽内で 24 ± 2 時間放置し、生成したトリハロメタン濃度を ECD-GC を用いてヘッドスペース法によって測定した。分析後、遊離残留塩素濃度が $0.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上存在していることを確認した。この測定は、2 本のバイアル瓶を用いて行い、2 本の平均値を求めた。THMFP は、Eq. 6-2 により、希釈に用いた純水の THMFP を補正して算出した。

$$\text{THMFP} = D \times (C - C_0) + C_0 \quad (6-2)$$

ここで、 D は希釈倍率 [-]、 C は 2 本のバイアル瓶での平均値 $[\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}]$ 、 C_0 は純水の THMFP $[\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}]$ である。

本方法で一般的な試料水を塩素処理すると、遊離残留塩素濃度が $0.5 \sim 4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ になり、この範囲では THMFP は一定と見なせることがすでに明らかになっている³³⁾。

2. 3 変異原性物質生成能 (MFP) の測定

2. 3. 1 塩素処理

試料水中の変異原前駆物質を変異原性物質に変化させて変異原性物質生成能 (MFP) を測定するために、第5章で確立した方法に基づいて塩素処理した。その手順を Fig. 6-1 に示す。すなわち、精製水を用いて試料水の TOC 濃度を $1.5 \sim 2.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ に希釈し、約 0.25 M および約 2.5 M の硫酸または約 0.5 M の水酸化ナトリウム水溶液を用いて $\text{pH } 7.0 \pm 0.2$ に調整した。約 $5,000 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いて、Eq. (6-3) または (6-4) より求めた量 ($A [\text{mg-Cl}]$) の塩素をよく攪拌しながら添加し、 $10 \sim 30^\circ\text{C}$ の室温で 24 ± 2 時間放置した。

$$A = V \times [\text{TOC}] \times (3 \sim 4) \quad ; [\text{NH}_4^+ - \text{N}] \leq 0.2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1} \quad (6-3)$$

$$A = V \times \{ [\text{TOC}] \times (3 \sim 4) + ([\text{NH}_4^+ - \text{N}] - 0.2) \times 9 \} \quad ; [\text{NH}_4^+ - \text{N}] > 0.2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1} \quad (6-4)$$

なお、塩素処理するときに $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 濃度が $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ を超える排水は正確な MFP を測定できないため、本章の研究では用いないこととした。また、第5章で示した標準法と塩素処理時の TOC 濃度が若干異なるが、影響のない範囲である³²⁾。さらに、試料水中に懸濁物質が含まれている場合でも、そのまま塩素処理を行った。

2. 3. 2 濃縮

塩素処理後に試料水の変異原性を測定するためには、変異原性物質を濃縮する必要がある。本章では、第3章で確立した簡易で、濃縮率、回収率ともに高くできる Sep-Pak Plus CSP-800 を用いた固相吸着脱離法^{34, 35)}によって濃縮を行なった。この濃縮方法のフローを Fig. 6-2 に示す。多孔質疎水性樹脂 (CSP800) を充填した内容積 2 ml のカートリッジである日本 Waters 社製 Sep-Pak Plus CSP-800 をあらかじめ精製・コンデューションングしておき、残留遊離塩素を消去しないまま約 2.5 M の硫酸を用いて pH を 2.0 ± 0.1 に調整した試料水 2 l を $50 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ で通水して変異原性物質を吸着した。変異原性物質を吸着した各カートリッジに、カートリッジ内に試料水を残した状態で通水方向と逆方向から上向流、 $0.15 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ でジメチルスルホキシド (以下、DMSO) を通液し、変異原性物質を脱離した。脱離液は、カートリッジから DMSO が流出しは

じめてから 2 ml を採取した。すぐに Ames 変異原性試験ができない場合には、採取した脱離液を -20°C 以下で保存した。

本章の研究で用いた排水は、TOC 濃度を $1.5\sim 2.5\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ に希釈した際の MFP が $8,000\text{ net rev.}\cdot\text{l}^{-1}$ 以下であった。第3章で示したように、発現する変異原性が $8,000\text{ net rev.}\cdot\text{l}^{-1}$ 以下であれば、Sep-Pak Plus CSP-800 カートリッジに 2 l を通水しても 90% 以上の変異原性物質を吸着して脱離・回収できることがすでに明らかになっている³⁵⁾。このため、本章の研究においても、90% 以上の変異原性物質が吸着されて脱離・回収されていると考えられる。

2. 3. 3 Ames 変異原性試験

固相吸着脱離法で濃縮した液は、ろ過滅菌した後に Ames 変異原性試験（ブレイン キュベーション法）により変異原性強度を評価した。Ames 変異原性試験の方法は、労働省が発行しているガイドブックに従って行った³⁶⁾。第4章で示したように、水道水中の変異原性物質は *Salmonella typhimurium* TA100 株を用いた代謝活性剤 S9mix を添加しない条件で検出される塩基対置換型の直接変異原性物質が多く、その他の変異原性物質は少ないことがすでに明らかになっている³¹⁾ので、TA100-S9 の条件のみで試験した。菌株は、国立公衆衛生院から提供を受けた。

用いた溶媒のジメチルスルホキシド（DMSO）のみを添加する陰性対照試験（ブランク試験）は 4 枚のプレートを用いて行い、その他は同一条件で 2 枚のプレートを用いて行った。毎回、4-ニトロキノリン-1-オキシド（4NQO）を用いて陽性対照試験を行い、菌体の活性が安定していることを確認した。試料水の変異原性は、用量作用直線の勾配を最小二乗法で求め、濃縮前の試料水 1 l あたりに換算した正味の復帰コロニー数 $[\text{net rev.}\cdot\text{l}^{-1}]$ として表示した。用量段階は、用量 0、すなわち陰性対照試験を含めて 3 段階とした。今回用いた試料は、Fig. 6-3 に例を示すように、いずれも直線性のよい用量作用線を示し、用量作用直線の勾配から変異原性を求めるのに問題がなかった。

第2章で示したように、MR 値 ≤ 1.4 の時に明確な変異原性が検出されたと判断できるので、検出限界を Eq. 6-5 より求めた³⁷⁾。検出限界以下の結果が得られた場合には

MFP をその 2 分の 1 の値として解析した。

$$\text{検出限界値} = \frac{1.4R_0 - R_0}{v_m} \times D \quad (6-5)$$

ただし、 R_0 は陰性対照試験の 4 枚のプレートの復帰コロニー数の平均値[rev. · plate⁻¹]、 v_m は 1 プレートあたりの試料水換算最大添加量[l-試料水 · plate⁻¹]、 D は希釈倍率[-]である。

本章の研究全体における陰性対照試験の 4 枚のプレートの平均値は 128～144 rev. · plate⁻¹ であった。その変動係数は 6% であり、ほぼ一定であった。また、陽性対照試験の 2 枚のプレートの平均値から求めた比活性は 8,700～10,000 net rev. · μg⁻¹ であり、大きな変化はなかった。これらのことから、本章の研究における菌体の活性、菌懸濁液調製条件などの復帰コロニー数に影響を与える因子は一定に保たれていることが確認されたので、以下の検討は試料水 1l あたりの復帰コロニー数で比較・考察することとした。

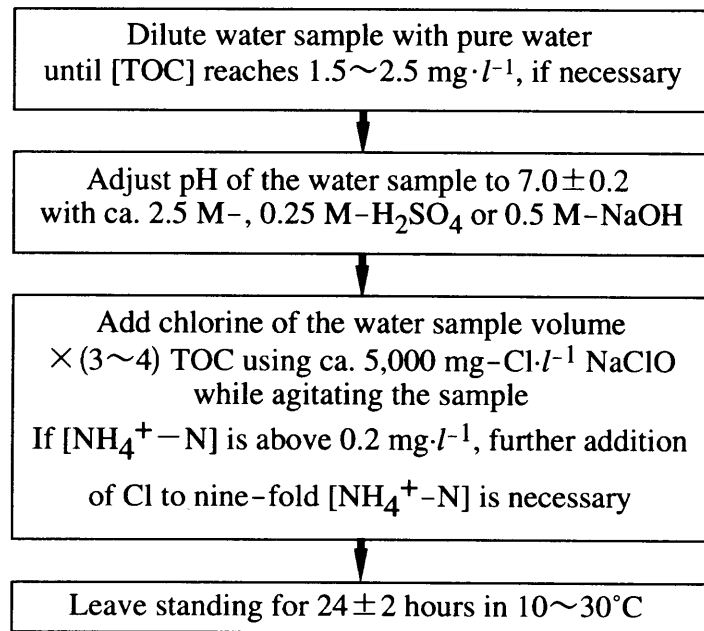


Fig. 6-1. Chlorination procedure for measuring mutagen formation potential (MFP).

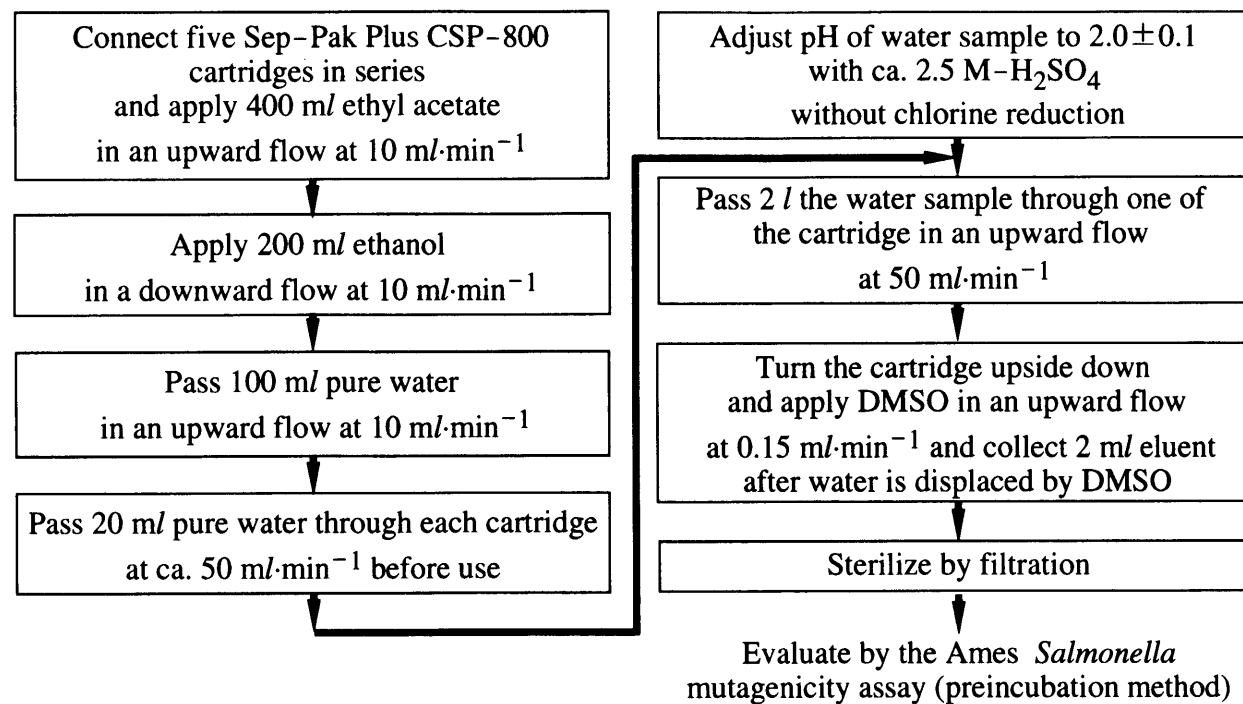


Fig. 6-2. Procedure for concentration of mutagens formed.

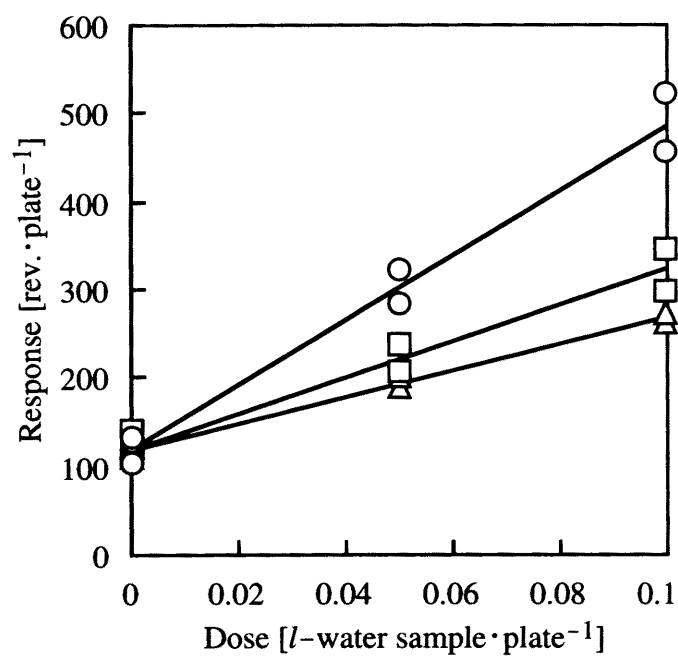


Fig. 6-3. Examples of dose-response line.

○ : Laundry, beauty and bath services industry, a ($D=6$), △ : laundry, beauty and bath services industry, b ($D=5$), □ : agriculture industry ($D=15$), D : Dilution factor.

3. 結果と考察

3. 1 変異原性物質生成能および変異原性物質生成能負荷量のレベル解析

3. 1. 1 変異原性物質生成能レベル

処理水、放流水 65 検体について MFP を測定した結果を Fig. 6-4 に示す。多くの排水の MFP レベルは $1 \times 10^3 \sim 3 \times 10^5 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ の範囲にあるが、最高値は埋立地浸出水の $2.1 \times 10^6 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 、最低値は食料品製造業排水の $5.5 \times 10^2 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ であった。第4章で示したように、日本の都市部における水道水の変異原性レベルが $1 \times 10^3 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 程度である³¹⁾ので、排水の MFP レベルは水道水の変異原性レベルの 1~300 倍であることが明らかになった。

一方、これらの排水のうち 33 検体について塩素処理を行わずに変異原性を測定したが、採水時にすでに塩素処理されていた 3 検体および埋立地浸出水の 1 検体を除いて、すべての排水で検出限界以下であった。検出された変異原性の値も、塩素が残留していた 1 検体を除いて同一検体の MFP の 3 分の 1 から 3 分の 2 程度と低く、MFP が最高値を示した埋立地浸出水の変異原性は MFP の 1,000 分の 1 以下であった。すなわち、排水の変異原性は MFP に比較して非常に低く、排水そのままの変異原性を評価したり、削減対策を施したりしても、水道水の変異原性削減対策の検討に有効とは言えないことが明らかになり、排水の MFP の評価と削減が必要であることが示された。

排水の MFP は、排水中の変異原前駆物質が、河川中で生分解を受けたり、底泥等に吸着しないで塩素処理された場合の変異原性強度を示すものであり、実際には、河川中で生分解を受けたり、底泥等に吸着したり、浄水処理を受けること等により変異原性物質や変異原前駆物質は減少するが、排水の MFP が高いということは、水道水の変異原性を高くしている可能性が高いことを示していると考えられる。したがって、排水の MFP を削減することは水道水の変異原性を削減することに有効と考えられる。

次に、これらの排水の MFP の累積百分率を Fig. 6-5 に示す。これらの排水はすべて従来の BOD や COD 等での排水基準を満たしているが、 $1 \times 10^5 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ を超える排水が今回調査した排水の 12%あり、 $3 \times 10^4 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ を超える排水は 26%、 $1 \times 10^4 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ を超える排水は 54%あった。したがって、排水の MFP を削減することによって水道水の変異原性を削減するためには、例えば、まず $1 \times 10^5 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ を超える排

水、次に $3 \times 10^4 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ を超える排水の割合が多い排水を優先して順次対策を施すなどの方法が有効と考えられる。

3. 1. 2 変異原性物質生成能負荷量レベル

処理水、放流水の 62 検体について MFP に排水量を乗じ、MFP 負荷量を求めた結果を Fig. 6-6 に示す。多くの排水の MFP 負荷量レベルは $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{12} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ であり、最高値は埋立地浸出水の $1.9 \times 10^{13} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ であった。 $1 \times 10^{12} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ を超えるのは埋立地浸出水 1 検体と化学工業排水 2 検体の合計 3 検体であり、 $1 \times 10^{11} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ を超えるのは、これらの他に化学工業排水 6 検体と下水処理水 1 検体、繊維工業排水 1 検体の合計 11 検体であった。

河川等に流入した変異原前駆物質は生分解、揮発などにより除去されると考えられるが、多くの排水は好気性の生物処理をされてから放流されているので、河川水中での生分解や揮発によって除去される量は少ないと考えられる。そこで、仮に負荷量を日本の一級河川の一般的な流量³⁸⁾である $7 \times 10^6 \text{ m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$ 、すなわち、 $7 \times 10^9 \text{ l} \cdot \text{d}^{-1}$ で除して寄与を算出すると、 $1.9 \times 10^{13} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ の負荷量の排水の場合は $2,700 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 相当となり、 $1 \times 10^{12} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ の場合は $140 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 相当となる。日本の都市部における水道水の変異原性レベルが $1,000 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 程度であることを考えると、最高値であった $1.9 \times 10^{13} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ の負荷量の排水は非常に影響が大きいことが分かる。また、 $1 \times 10^{12} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ の排水でも一カ所の排水の流入が平均的な一級河川の水道原水の MFP を $140 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 上昇させ、それが水道水の平均的な変異原性の 14% に相当するレベルになり、流量の少ない河川や渇水期にはさらに影響が大きくなると推定される。実際に排水の MFP が水道水の変異原性に与える影響については、水源ごとに詳細な検討が必要であるが、影響が無視できない大きな MFP 負荷量となる排水が各地に存在することが推定される。

これらの排水の MFP 負荷量の累積百分率を Fig. 6-7 に示す。河川流量を $7 \times 10^9 \text{ l} \cdot \text{d}^{-1}$ とした場合に平均的な水道水の変異原性への負荷率が 10% に相当する $7 \times 10^{11} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ を超える排水は今回調査した排水の 5% あり、負荷率 1% に相当する $7 \times 10^{10} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ を超えるのは 23% あった。排水の MFP 負荷量を削減することにより水道水の変異

原性を削減するためには、水源ごとに、負荷率が高い排水、例えば、まず 7×10^{11} net rev. $\cdot d^{-1}$ を超える排水、次に 7×10^{10} net rev. $\cdot d^{-1}$ を超える排水から順次対策を施すなどの方法が有効と考えられる。

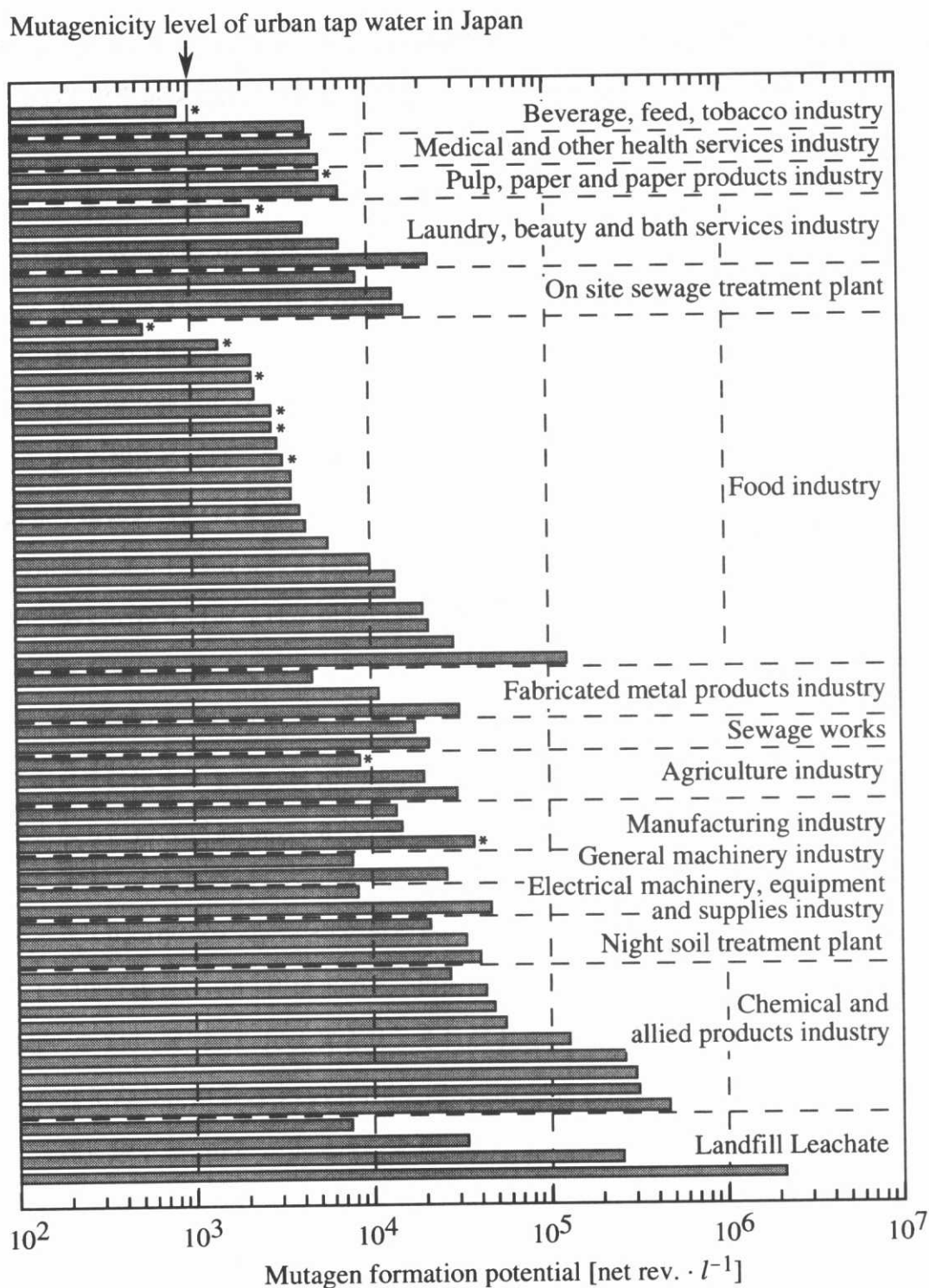


Fig. 6-4. Mutagen formation potential (MFP) of 65 treated wastewater and discharged wastewater samples.

* : Not detected (shown as a half value of the detection limit).

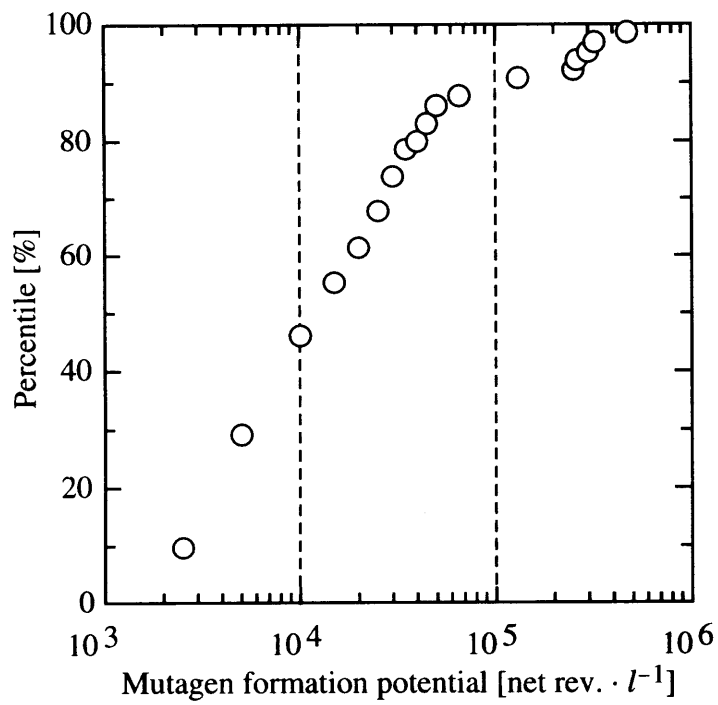


Fig. 6-5. Percentile of mutagen formation potential (MFP) for 65 treated wastewater and discharged wastewater samples.

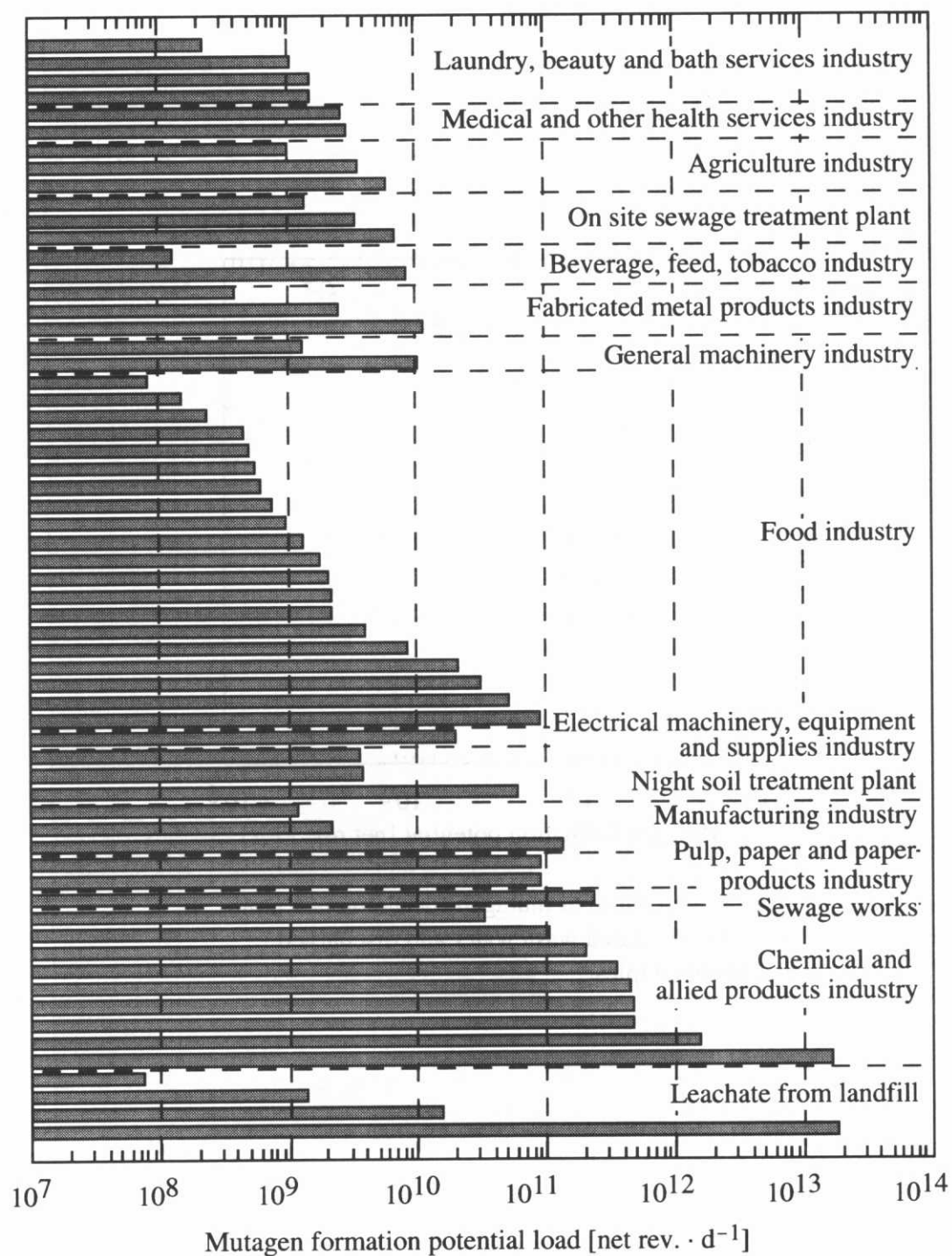


Fig. 6-6. Mutagen formation potential (MFP) load of 62 treated wastewater and discharged wastewater samples.

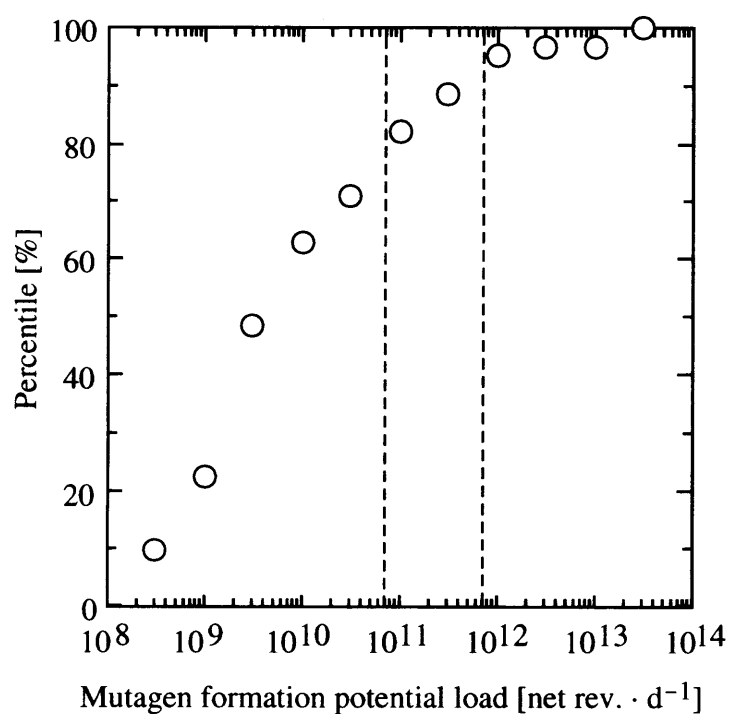


Fig. 6-7. Percentile of mutagen formation potential (MFP) load for 62 treated wastewater and discharged wastewater samples.

3. 2 発生源による特徴付け

3. 2. 1 変異原性物質生成能

MFP が $3 \times 10^4 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ を超える優先的に取り組むべき排水（処理水、放流水）と、 $1 \times 10^4 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下で都市部の水道水の平均的な変異原性レベルの10倍以下であり、当面は問題としなくてもよいと考えられる排水（処理水、放流水）を種類別に見た結果を Table 6-2 に示す。Fig. 6-5 に示したように $3 \times 10^4 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ を超える排水は全体の26%あり、また、 $1 \times 10^4 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下の排水は全体の46%である。

化学工業排水は、調査した9検体のうち8検体が $3 \times 10^4 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ を超え、排水のMFPが高い業種と言える。検体数が少ないものの、埋立地浸出水もMFPが高かった。逆に、食料品製造業排水は、調査した21検体のうち $3 \times 10^4 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ を超える検体は1検体のみであり、 $1 \times 10^4 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下の検体が15検体であったことから、排水のMFPが低い業種と言える。洗濯・理容・浴場業排水についても、検体数が少ないもののMFPが低かった。その他の業種については調査した検体数が非常に少なく、結論を得るには至らなかった。

すなわち、さらに調査する必要があるが、化学工業排水、埋立地浸出水は他の発生源と比較してMFPが高く、優先的に対策を施す必要があると考えられる。逆に、食料品製造業排水、洗濯・理容・浴場業排水についてはMFPが低く、対策の優先性は比較的低いと考えられる。

3. 2. 2 変異原性物質生成能負荷量

MFP 負荷量が $7 \times 10^{10} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ を超える優先的に取り組むべき排水（処理水、放流水）と、 $7 \times 10^8 \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ 以下の比較的MFP負荷率が低い排水（処理水、放流水）を種類別に見た結果を Table 6-3 に示す。Fig. 6-7 に示したように $7 \times 10^{10} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ を超える排水は全体の23%あり、また、 $7 \times 10^8 \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ 以下の排水は全体の18%あった。

化学工業排水は、調査した9検体のうち8検体が $7 \times 10^{10} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ を超え、排水のMFP負荷量も大きい業種といえる。また、パルプ・紙・紙加工品製造業排水も検体数が少ないが調査した検体すべてが $7 \times 10^{10} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ を超え、排水のMFP負荷量が

大きい業種と考えられる。下水処理水についても、調査した検体が1検体しかないが 7×10^{10} net rev. \cdot d⁻¹ を越えており、他の下水も同程度の MFP 負荷量と考えられるので、MFP 負荷量が大きいといえる。また、埋立地浸出水は、 7×10^{10} net rev. \cdot d⁻¹ を超えるのは4分の1であったが、著しく負荷量が大きい排水があった。逆に、食料品製造業排水は、調査した21検体中で排水量が分かった20検体のうち、 7×10^{10} net rev. \cdot d⁻¹ を超える検体は1検体のみであり、 7×10^8 net rev. \cdot d⁻¹ 以下の検体は7検体であったことから、排水の MFP 負荷量が小さい業種と言える。その他の業種については調査した検体数が非常に少なく、結論を得るには至らなかった。

Table 6-2
Ratios of high or low MFP samples in each industry

MFP [net rev. $\cdot l^{-1}$]	Source	Corresponded sample	Examined sample	Corresponded ratio [-]
$> 3 \times 10^4$	Chemical and allied products industry	8	9	0.9
	Landfill leachate	3	4	0.8
	Night soil treatment plant	2	3	0.7
	Electrical machinery, equipment and supplies industry	1	2	0.5
	Fabricated metal products industry	1	3	0.3
	Food industry	1	21	0.05
$\leq 1 \times 10^4$	Beverage, feed, tobacco industry	2	2	1.0
	Medical and other health services industry	2	2	1.0
	Pulp, paper and paper products industry	2	2	1.0
	Laundry, beauty and bath services industry	3	4	0.8
	Food industry	15	21	0.71
	Electrical machinery, equipment and supplies industry	1	2	0.5
	General machinery industry	1	2	0.5
	Agriculture industry	1	3	0.3
	Fabricated metal products industry	1	3	0.3
	On site sewage treatment plant	1	3	0.3
	Landfill leachate	1	4	0.3

Table 6-3
Ratios of high or low MFP load samples in each industry

MFP load [net rev. · d ⁻¹]	Source	Corresponded sample	Examined sample	Corresponded ratio [-]
>7×10 ¹⁰	Pulp, paper and paper products industry	2	2	1.0
	Sewage works	1	1	1.0
	Chemical and allied products industry	8	9	0.9
	Manufacturing industry	1	3	0.3
	Landfill leachate	1	4	0.3
	Food industry	1	21	0.05
≤7×10 ⁸	Beverage, feed, tobacco industry	1	2	0.5
	Food industry	7	20	0.4
	Fabricated metal products industry	1	3	0.3
	Landfill leachate	1	4	0.3
	Laundry, beauty and bath services industry	1	4	0.3

3. 3 変異原前駆物質の特徴

3. 3. 1 TOC、COD、BOD、 A_{260} 、THMFP と MFP との関係

未処理水、処理水、放流水の TOC、COD、BOD、 A_{260} 、THMFP の測定結果と MFP との相関関係を Fig. 6-8～Fig. 6-10 に示す。全体の測定数はそれぞれ $n_{\text{TOC}}=82$ 、 $n_{\text{COD}}=23$ 、 $n_{\text{BOD}}=23$ 、 $n_{A_{260}}=82$ 、 $n_{\text{THMFP}}=60$ であった。また、測定値に大きな偏りがあり、測定値全体を示すとプロットが著しく偏って相関関係を把握しにくいので、MFP が $3 \times 10^4 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下の範囲についてのみ図示した。なお、Fig. 6-5 に示したように、全体の 74% の測定値が $3 \times 10^4 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下の範囲に含まれる。

全測定値に対する TOC、COD、BOD、 A_{260} 、THMFP と MFP との相関係数はそれぞれ $r_{\text{TOC}}=0.37$ 、 $r_{\text{COD}}=0.46$ 、 $r_{\text{BOD}}=0.25$ 、 $r_{A_{260}}=0.25$ 、 $r_{\text{THMFP}}=0.88$ であり、THMFP とは相関があるように思われる。しかし、THMFP について MFP が $3 \times 10^4 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下の範囲の 43 検体に対する相関係数を求めたところ 0.49 で低く、これらの水質と MFP とはほとんど相関は認められいことが分かった。これは、排水の種類ごとにグルーピングした場合でも同様であり、MFP とその他の水質指標との相関は認められず、一定の傾向も認められなかった。すなわち、TOC、COD、BOD、 A_{260} 、THMFP から変異原前駆物質を特徴付けることはできず、また、MFP を推算することはできないことが明らかとなった。

したがって、これらの従来の水質指標とは別に、水道水の安全性確保のための指標として MFP を測定する必要があるといえる。現在、特定水道利水障害の防止のための水道水源水域の水質の保全に関する特別措置法（水道水源法）によって THMFP による水源管理が行われているが、THMFP との相関が低いことから、THMFP とともに MFP による水源管理が行われることが望まれる。

次に、有機物の質的違いを検討するため、BOD/TOC、 A_{260} /TOC、THMFP/TOC と MFP/TOC との相関関係も検討したが、Fig. 6-10 に示すようにいずれも相関は低く、一定の傾向も認められなかった。MFP/TOC は有機汚濁物質の中に占める変異原前駆物質の割合を示し、BOD/TOC は有機汚濁物質の好気生分解性物質の割合、 A_{260} /TOC は芳香族構造のフミン質等の割合、THMFP/TOC は THM 前駆物質の割合の大略を示すと考えられることから、変異原性物質は、有機汚濁物質の好気分解性や芳香族性あるい

はトリハロメタン生成とは全く別の特性によって生成すると考えられる。

3. 3. 2 排水処理による MFP の変化

本章の研究で検討した排水は、様々な方法を組み合わせて処理されていた。主な方法は、沈殿、中和、曝気、凝集沈殿、活性汚泥であった。これらの方法により MFP が削減されていることを確認するために、未処理水 17 検体と処理水・放流水の MFP の分布を検討した結果を Fig. 6-11 に示す。処理水・放流水の方が未処理水 65 検体と比較して MFP が低い方にずれて分布しており、中央値同士を比較した場合の削減率は 78%であった。しかし、両者の分布型が同一でないため、MFP が高いところではほとんど差がないように見えるなど、単純に比較はできない。

そこで、同一の排水について処理前後の MFP を測定した 10 検体の MFP 削減率を算出した結果を Table 6-4 に示す。9 検体は MFP 削減率 75~97%で TOC 除去率とほぼ同じであったが、1 検体は TOC 除去率が 76%であるにも関わらず MFP 削減率は 21%しかなかった。これらのことより、多くの場合、既存の一般的な排水処理により MFP が削減されるが、排水によっては削減率が非常に低い場合があること、MFP 削減率を TOC 除去率から推定できない場合があり MFP 削減率を実測する必要があることが明らかになった。

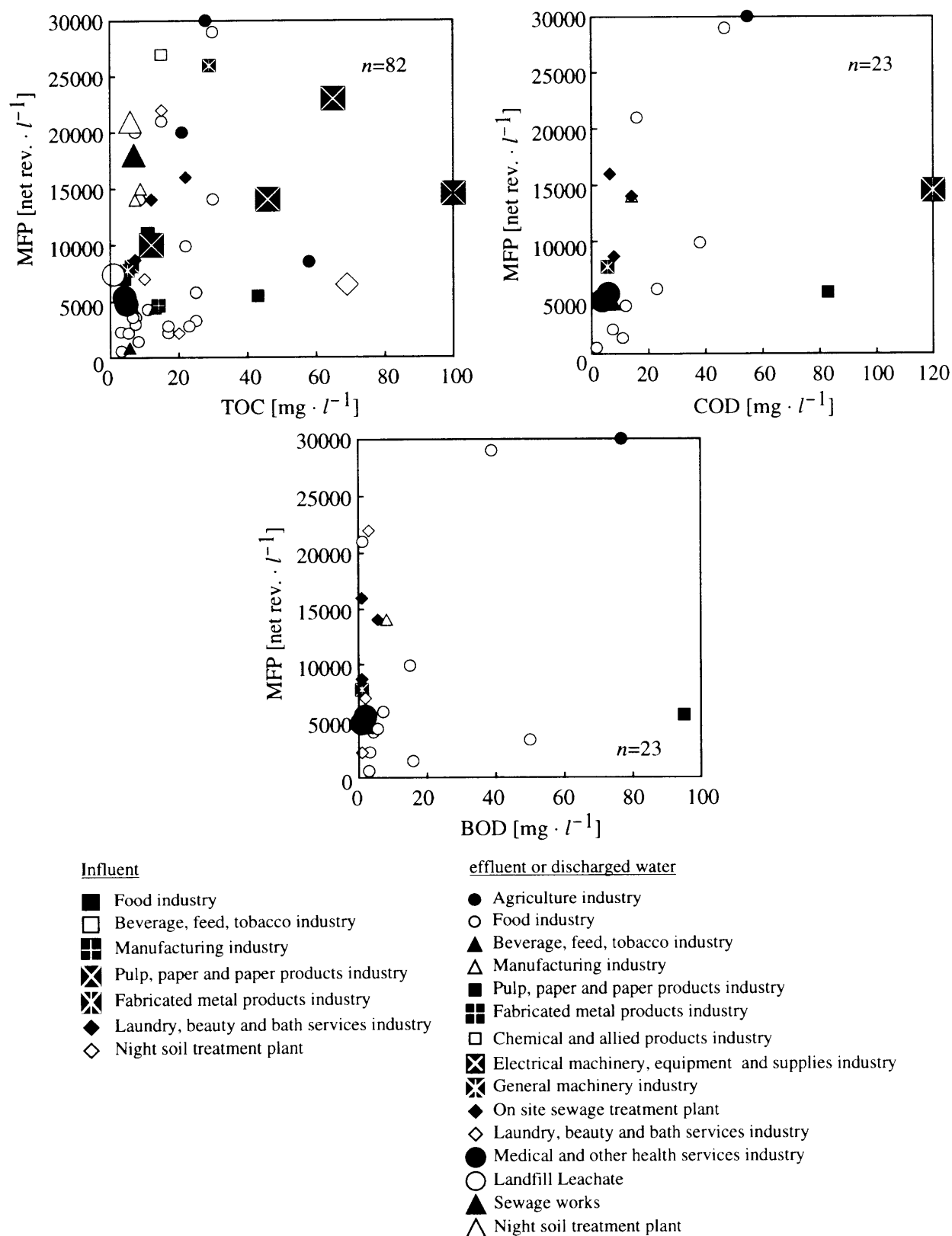


Fig. 6-8. Correlation between mutagen formation potential (MFP) and TOC, COD, BOD (N.D. data were plotted at the half value of the detection limit).

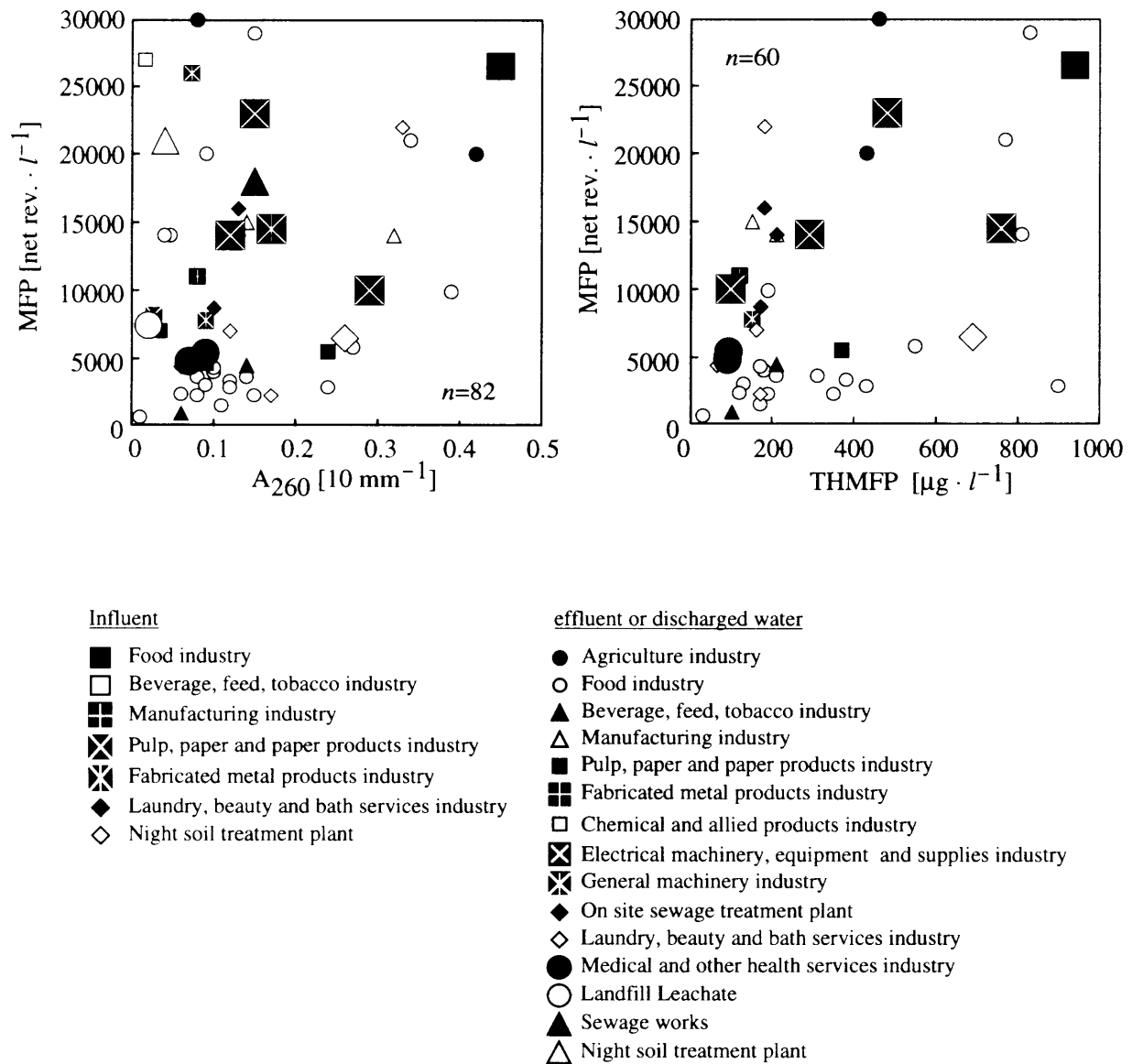


Fig. 6-9. Correlation between mutagen formation potential (MFP) and A_{260} . THMFP (N.D. data were plotted at the half value of the detection limit).

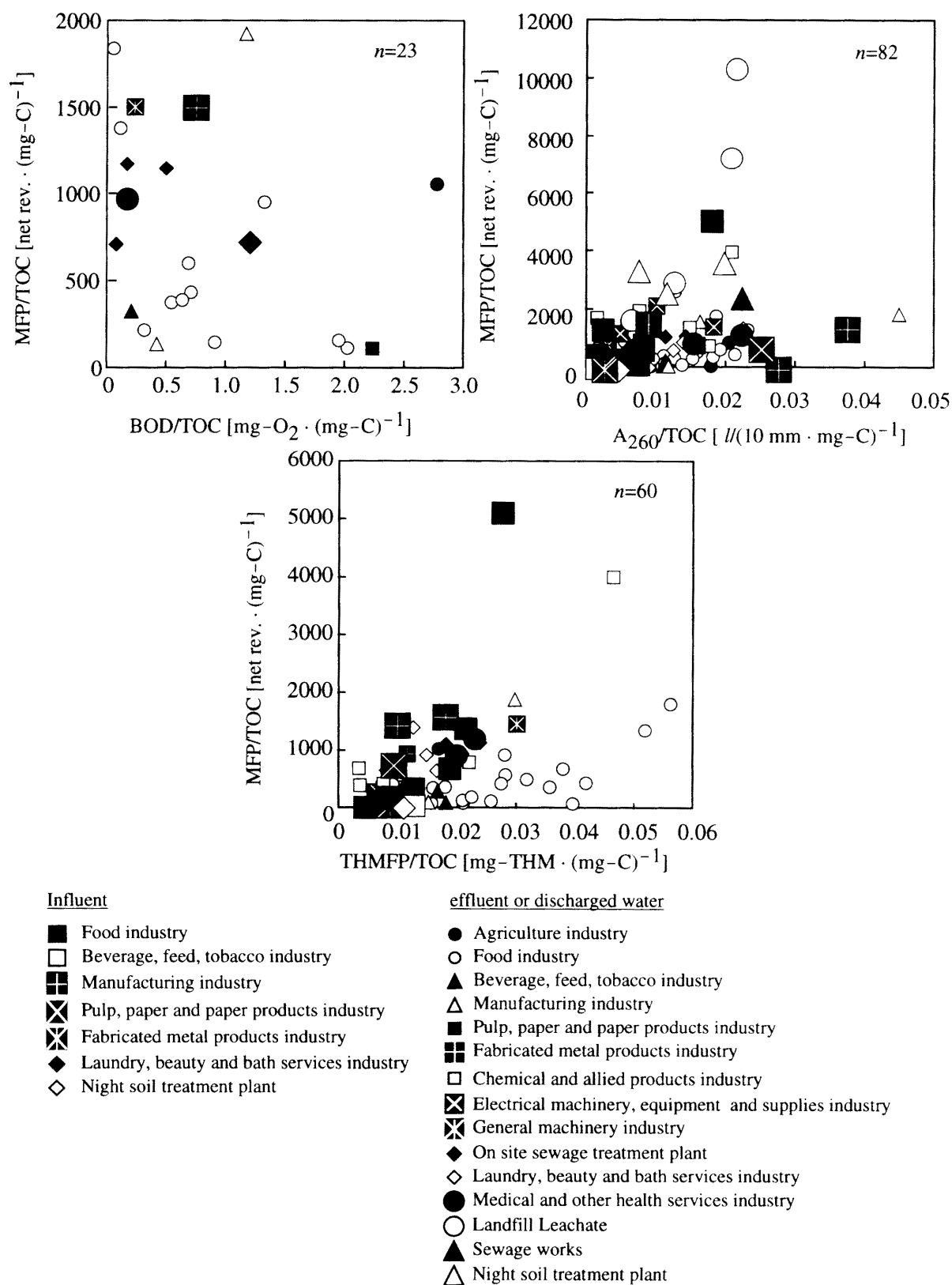


Fig. 6-10. Biodegradability, aromaticity, trihalomethane formation potential of mutagen precursor (N.D. data were plotted at the half value of the detection limit).

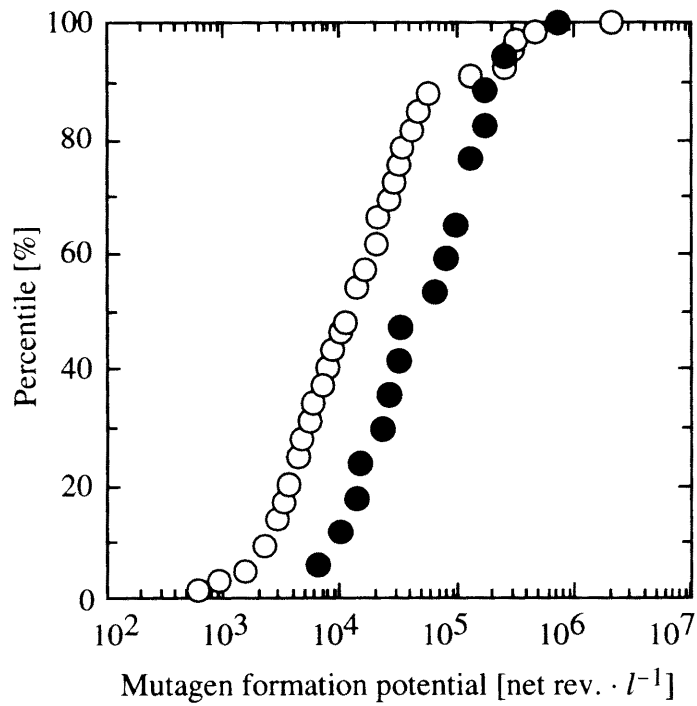


Fig. 6-11. Mutagen formation potential (MFP) reduction efficiency by general wastewater treatment.
 ●: untreated, $n=17$; ○: treated, $n=65$.

Table 6-4
Treatment characteristics of mutagen precursor in wastewater treatment system

Source	MFP [10^3 net rev. \cdot l^{-1}]		MFP reduction [%]	TOC removal [%]	Treatment process
	Untreated	Treated			
Food industry	170	14	92	97	Coagulation sedimentation, pressurized flotation
	250	29	88	82	Screen, activated sludge, coagulation sedimentation
	730	130	82	93	Screen, activated sludge, coagulation sedimentation
	130	3.6	97	70	Aeration, sedimentation
	96	3.0	97	97	Activated sludge, sedimentation
	32	2.3	93	97	Aeration, sedimentation
Manufacturing industry	80	14	83	86	Contact aeration, filtration, activated carbon adsorption
Fabricated metal products industry	23	4.7	80	78	Coagulation, precipitation, aeration, precipitation, neutralization
	14	11	21	76	Neutralization, precipitation, sand filtration, neutralization
On site sewage treatment plant	64	16	75	74	Grit chamber, crushing, aeration, sedimentation

4. 本章のまとめ

変異原前駆物質による水道水源の汚染防止を考える一助となるよう、水道水源に流入する可能性がある 65 種類の処理水・放流水と 17 種類の未処理水の変異原性物質生成能（MFP）と 33 種類の処理水・放流水の変異原性を測定し、以下の結論を得た。

- 1) BOD、COD 等の従来の排水基準を満たしている排水（処理水、放流水）から変異原性はほとんど検出されなかったが、MFP は $5.5 \times 10^2 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1} \sim 2.1 \times 10^6 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ であり、著しく高い値も検出された。また、多くの排水の MFP レベルは $1 \times 10^3 \sim 3 \times 10^5 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 程度であり、日本の都市部における水道水の変異原性レベルの 1～300 倍であった。
- 2) これらの排水の MFP 負荷量は $7.4 \times 10^7 \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1} \sim 1.9 \times 10^{13} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ であり、多くの排水の MFP 負荷量レベルは $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{12} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ 程度であった。平均的な一級河川での河川水の MFP への寄与を推算したところ、最高の $1.9 \times 10^{13} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ の排水では $2,700 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 相当となり、 $1 \times 10^{12} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ の排水では $140 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 相当となったことから、影響が無視できない大きな MFP 負荷量となる排水が各地に存在すると考えられた。
- 3) 影響が大きい排水として、化学工業排水、埋立地浸出水、下水処理水、パルプ・紙・紙加工品製造業排水が挙げられた。逆に、食料品製造業排水、洗濯・理容・浴場業排水は比較的影響が小さいと考えられた。
- 4) TOC、COD、BOD、 A_{260} 、THMFP と MFP との相関はほとんど認められず、これらの従来の水質指標から変異原前駆物質を特徴付けたり、MFP を推算することはできず、MFP を別途測定する必要があることが示された。
- 5) BOD/TOC、 A_{260} /TOC、THMFP/TOC と MFP/TOC との相関は低く、一定の傾向も認められなかったことから、変異原性物質は、有機汚濁物質の好気分解性や芳香族性あるいはトリハロメタン生成とは全く別の特性によって生成すると考えられた。
- 6) 多くの場合、既存の一般的な排水処理によって MFP は削減されているが、排水によっては削減率が著しく低い場合があることが示された。

以上のように、排水基準を満たしている排水でも MFP や MFP 負荷量が高く、水道水の変異原性への寄与が無視できないレベルの排水が各地に存在していると考えられる。今後、MFP、MFP 負荷量が高く、影響が大きい排水から順次対策が施され、水道水の安全性確保につながることを望まれる。

本章の引用文献

- 1) Williams D. T., Nestmann E. R., Lebel G. L., Benoit F. M. and Otson R. (1982) Determination of mutagenic potential and organic contaminants of great lakes drinking water, *Chemosphere Chem. Biol. Toxicol. Environ. Probl.*, **11**(3), 263-276.
- 2) Maruoka S. and Yamanaka S. (1983) Comparative studies using the Ames *Salmonella* / microsome test on mutagenicity of the XAD extract recovered from the river waters in Kyoto city, *Environmental Science Technology*, **17**(3), 177-180.
- 3) Kool H. J., Kreijl V. C. F. and Oers V. H. (1984) Mutagenic activity in drinking water in the Netherlands. A survey and a correlation study, *Toxicological and Environment Chemistry*. **7**, 111-129.
- 4) Vartiainen T. and Liimatainen A. (1986) High levels of mutagenic activity in chlorinated drinking water in Finland, *Mutation Research*, **169**, 29-34.
- 5) 丹保憲仁、亀井 翼、中津川 誠 (1986) 塩素及びオゾン処理によって水中のフミン質類から生成する成分の環境変異原性 (Ⅱ)、水道協会雑誌、**56**(6)、2-11.
- 6) Kronberg L. and Holmbom B. (1986) Properties of mutagenic compounds form during chlorination of humic-water, org. micropollut, *Aquatic Environ.*, 449- 454.
- 7) Guttaman-Bass N., Bairey-Albuquerque M., Ulitzur S., Chartr A. and Bav-Aca C. (1987) Effects of chlorine and chlorine dioxide on mutagenic activity lake Kinnereth, *Environ. Sci. Technol.*, **21**, 252-260.
- 8) 讃岐田 訓 (1987) 塩素処理による変異原性の生成、水、29(11)、23-29.
- 9) Vartinen T., Limatainen A., Jaaskelanen S. and Kaubanen P. (1987) Comparison of solvent extractions and resin adsorption for isolation of mutagenic compounds from chlorinated drinking water with high humus content, *Water Research*, **21**, 773-779.
- 10) Vartinen T. and Limatainen A. (1988) Relations between drinking water mutagenicity and water quality parameters, *Chemosphere*, **17**, 189-202.
- 11) Kito K., Otsuki T., Suzuki N. and Nakanishi J. (1988) Mutagenicity of drinking water and the relation to total organic halogen, *Chemosphere*, **17**, 2219-2232.
- 12) Sayoto Y., Nakamuro K., Ueno H. and Goto R. (1990) Mutagenicity of adsorbents to a

- copper-phthalocyanine derivative recovered from municipal river water, *Mutation Research*, **242**, 313-317.
- 13) 内海英雄、濱田 昭、早津彦哉、橋本徳蔵、相沢 靖 (1990) 河川水中変異原活性の季節・流域変動－青綿法による検討及び従来の水質汚濁指標との比較－、水質汚濁研究、**13**、227-234.
- 14) Soto M. I. Z. and Martins M. T. (1992) Assessment of mutagenic activity in drinking water from Sao Paulo city, Brazil. *Environmental Toxicology and Water Quality : An International Journal*, **7**, 141-155.
- 15) Conteiro E., Venier P., Fortunati E., Navazio G. and Levis A. G. (1992) Evaluation of mutagenic activity of organic micropollutants present in surface waters, *International Journal of Environmental and Pollution*, **2**(1/2), 87-96.
- 16) Monarca S., Ziglio G., Pasquini R., Beltramelli G., Feretti D., Donato F., Nardi G., Gervasoni M., Micheli F., Dalmiglio A. and Moretti M. (1992) Mutagenicity of drinking water obtained by different treatment procedures from two northern Italian lakes. *International Journal of Environmental Health Research*, **2**, 192-200.
- 17) Romero J., Ribo G., Ventura F., Caixach J., Moreno P. and Rivera J. (1992) Ames and sister chromatid exchange tests of organic extracts from drinking water, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **49**, 259-265.
- 18) 鶴川昌弘、中村清一、西村公志、大竹 徹 (1993) 水道水の安全性の評価と制御に関する研究 (第一報) -水道水中に含まれる有機物の安全性について-、衛生化学、**39**(5)、421-439.
- 19) 田中一浩、守田康彦、高橋敬雄 (1993) 新潟県内の水道水・河川水の変異原性について、水環境学会誌、**16**(9)、657-665.
- 20) 山吉孝雄、土井 均、井上嘉高、伊藤 保 (1993) 変異原活性の変動に対するオゾン・粒状活性炭処理効果、水道協会雑誌、**62**(7)、28-37.
- 21) Kusamran W. R., Wakabayashi K., Oguri A., Tepsuwan A., Nagao M. and Sugimura T. (1994) Mutagenicities of Bangkok and Tokyo river waters, *Mutation Research*, **325**(2/3), 99-104.

- 22) Filipic M. (1995) Mutagenicity toxicity of water extracts from the Sora river area, *Mutation Research*, **342**, 1-8.
- 23) Filipic M., Lovincic D., Erjavec M., Glavic D. and Planina P. (1995) Toxic and genotoxic activity of water samples from the river Ljubljana, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **55**, 237-244.
- 24) Zehra R., Abdul M., Masood A. (1995) Genotoxicity of the Ganges water at Narora (U.P.), India, *Mutation Research*, **367**, 187-193.
- 25) Zehra R., Abdul M., Masood A. (1995) Mutagenic activity of the Ganges water with special reference to the pesticide pollution in the river between Kachla to Kannauj (U.P.), India, *Mutation Research*, **343**, 137-144.
- 26) Lerda D. E. and Prosperi C. H. (1996) Water mutagenicity and toxicology in Rio Tercero (Cordoba, Argentina), *Water Research*, **30**(4), 819-824.
- 27) 長井 章、加納芳直、船坂鏝三 (1996) 長良川上流域における河川水の変異原性に関する研究、水環境学会誌、19(8)、657-663.
- 28) Sakamoto H., Ohe T., Hayatsu T. and Hayatsu H. (1996) Evaluation of blue-chitin column, blue-rayon hanging, and XAD-resin column techniques for concentrating mutagens from two Japanese rivers, *Mutation Research*, **371**(1/2), 79-85.
- 29) 信川貴子、讃岐田 訓 (1997) 哺乳動物培養細胞の染色体異常試験による淀川水系水道水の遺伝毒性、水環境学会誌、20(11)、705-709.
- 30) Guzzella L. and Sora S. (1998) Mutagenic activity of lake water samples used as drinking water resources in northern Italy, *Water Research*, **32**(6), 1733-1742.
- 31) 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 日本の水道水の変異原性レベルの解析、水環境学会誌、**18**、1001-1011.
- 32) Takanashi H., Urano K., Hirata M., Hano T. and Ohgaki S. (submitted) Measuring method for mutagen formation potential (MFP) as a new water quality index, *Water Research*.
- 33) Urano K., Wada H. and Takemasa T. (1983) Empirical rate equation for trihalomethane formation with chlorination of humic substances in water, *Water Research*, **17**(12),

1797-1802.

- 34) 浦野紘平、高梨啓和、金澤伸浩、藤江幸一 (1994) 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、17, 451-460.
- 35) 浦野紘平、高梨啓和、金澤伸浩、岡部文枝、藤江幸一 (1994) 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、17, 461-469.
- 36) 労働省化学物質調査課 (1991) 安衛法における変異原性試験、中央労働災害防止協会、pp. 173、東京.
- 37) Takanashi H., Urano K. (1998) 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.
- 38) 国立天文台 (1995) 理科年表、丸善, pp. 1046, 東京.

第 7 章

総

括

第7章 総括

日本の水道水は世界的に見て最も安全な水道水の一つと言っても過言ではないが、発がん性物質などの多くの化学物質が含まれていることが明らかになっており、それらの化学物質の安全性評価・管理が求められている。現在は、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って安全性管理が行われているが、その他の多くの物質については、管理の負担が大きくなり過ぎること等の理由から、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ができるバイオアッセイによる評価・管理の導入が望まれている。しかし、信頼性、定量性が高い結果を得るための適切なバイオアッセイによる評価・管理手法の開発、本格的な実態調査、汚染物質の発生源調査などが十分に行われていないことなどの理由により、導入には至っていない。そこで本論文では、以下の各章で、日常的な水道水の安全性評価・管理に有効なバイオアッセイを選定し、そのバイオアッセイで簡易かつ信頼性、定量性が高い結果を得るための試料調製方法、および結果の統計的解析方法を開発するとともに、現状の安全性レベル調査を行った。さらに、汚染物質発生源等の調査方法の開発および実態調査を行い、対策の必要性や対策に有効な情報を示した。

第1章では、Ames 変異原性試験による水道水の安全性評価・管理の必要性を述べ、そのための問題点を抽出し、整理した。すなわち、水道水中には発がん性物質を含む様々な有害物質が含まれており、健康影響リスクが高い物質については水道水質基準が設けられて安全性管理が行われているが、既存の基準の考え方では、毒性が明らかになっていない物質や測定方法が確立されていない物質は管理の対象とならないこと、多くの物質の基準を定めると測定の負担が大きくなること、未知物質には対応できないことなどの問題点に対処できない。したがって、バイオアッセイにより水道水中に含まれている化学物質全体の毒性の強度を評価して安全性管理を行う方法を併用することが必要であることを述べた。

また、水道水の安全性評価・管理手法として採用するバイオアッセイは、結果の相互比較が容易にできること、国または国際機関の化学物質のバイオアッセイとして採用されている方法であるか、あるいはそれと同等の方法であることなどが必要である。それらの条件を最も多く満たしているのは Ames 変異原性試験であり、また、満たしていない条件も克服可能であることから、最初に導入すべきバイオアッセイは Ames 変異原性試験であることを述べた。

Ames 変異原性試験を水道水の安全性評価・管理に用いるためには、試験結果の統計的解析方法が必要がある。しかし、文献調査を行った結果、試験結果の統計的解析を行う際の基本となる試験結果の分布型についても十分に明らかになっていないこと、従来の解析方法は試験結果を毎回解析しなければならず、解析操作が煩雑なので日常的な水道水の安全性管理に用いるためには工夫が必要なこと、広く用いられている2倍則は本来陽性の結果の一部を誤って陰性と判断する可能性が高く、特に陰性対照試験値が大きい TA100 株への2倍則の適用は不適切と考えられることなどが明らかになった。このため、2倍則に代わる簡易で適切な判断方法を開発する必要があった。また、試験結果の信頼限界に関する研究は見あたらず、簡易で適切な判断方法を開発する必要があった。

また、水中の変異原性物質が微量であるため、これを濃縮・回収して試験しなければならない。水道水中の変異原性物質の濃縮・回収方法についても同様に文献調査を行った結果、適用されている主な方法は液-液抽出法、減圧濃縮法、逆浸透法、固相

吸着脱離法であった。それらのうち、様々な吸着剤が開発されていること、操作方法が比較的簡易なことなどから固相吸着脱離法が最も適用が多く、また、優れていると考えられることが明らかになった。しかし、従来の方法は操作が煩雑であるばかりでなく、回収率も低いと考えられ、日常的な水道水の安全性管理には適さなかった。さらに、樹脂の選定、濃縮条件を体系的に検討している例はなく、各研究者がそれぞれ独自の方法で検討しているため、結果の定量的な検討や一般的な評価が行えない状況であった。このため、樹脂の選定、濃縮条件を体系的に検討し、日常的な水道水の安全性評価のための固相抽出脱離法を確立する必要があった。

さらに、水道水などの水試料の変異原性評価例について文献調査した結果、濃縮が適切に行われていることを確認した上で変異原性を明らかにした例は少なく、断片的な情報しか得られなかった。このため、適切な方法で本格的な測定を行い、変異原性レベルを明らかにする必要があった。また、水道水中の変異原性物質の多くは塩素処理により生成すると考えられるため、水道原水や水源に流入する排水の変異原性を測定しても有効な対策にはつながらず、浄水処理条件を模擬して塩素処理することにより変異原性物質生成能を測定する方法を確立して水道原水や水源に流入する排水などを評価・管理する必要があった。

第2章では、水道水の Ames 変異原性試験結果の新規な統計的解析方法を確立した。すなわち、差の検出力が強いパラメトリック法に着目し、Ames 変異原性試験結果が正規分布に従うと見なしてよいことを明らかにした上で、2 標本 t 検定による Ames 変異原性試験の検出限界の決定方法、用量作用直線の勾配の信頼区間から定量限界を定める方法を提案した。本研究で確立した検出限界、定量限界、信頼限界の統計的解析方法は、1) 毎回検定する必要がない、2) 用量作用試験における陰性対照段階および用量段階で使用するプレートが 2 枚以上の少数でよい、3) 定量限界、信頼限界を求める際、陰性対照段階を含めて 3 段階以上の少数の用量段階を設定すればよいなど簡易であり、4) 求められた検出限界が用量段階の設定条件の影響を受けない、5) 求められた検出限界、信頼限界、定量限界が陰性対照値の影響を受けない、6) 求められた検出限界、信頼限界、定量限界が菌株の Lot が変わっても影響を受けないなど、適用範囲が広いという点でも優れており、日常的な水道水の安全性管理に適している。

また、水道水などの塩素処理された試料水から強い変異原性が検出される TA100-S9 の条件を例にとり、過去 60 回の Ames 変異原性試験結果のデータを用いて検出限界、信頼限界、定量限界を実際に求めたところ、1) 結果は解析が容易な正規分布に従うと見なせること、2) 陰性対照試験に 2 枚のプレートを用いた場合の検出限界は MR 値で 1.7 と判断でき、経験的な判断方法である 2 倍則を TA100 株を用いた試験結果に適用するのは本来陽性の結果を誤って陰性と判断する可能性が高いという従来の指摘を支持する結果が得られたこと、3) 陰性対照試験に 4 枚のプレートを用いた場合の検出限界は MR 値で 1.4 と判断でき、通常の試験より 2 枚多い 4 枚のプレートを用いることによって Ames 変異原性試験を非常に簡易に高感度化できること、4) 定量限界は、定量性の著しい向上が認められなくなる MR 値である 2.2 と判断できることが明らかになった。また、日常的な水道水の安全性管理を行うための Ames 変異原性試験の試験条件下における信頼限界を求めたところ、Table 2-6 に示した値が得られた。

第3章では、水中の変異原性物質の新規で高効率な濃縮・回収方法を開発した。すなわち、様々な濃縮・回収方法の中で大量の試料水を一度に処理でき、簡易で最も実用的である固相吸着脱離に着目し、検討例が多い銅フタロシアニン系吸着剤のブルーコットンおよびブルーレイヨン、弱極性吸着剤の XAD8、無極性吸着剤の XAD4 および CSP800 の変異原性物質吸着能力を比較した結果、銅フタロシアニン系吸着剤では変異原性物質をほとんど回収できないこと、CSP800 で回収できる物質が XAD4 では回収できないことなどを述べ、無極性吸着剤の一つである CSP800 樹脂が最も優れていることを明らかにした。

さらに、CSP800 樹脂を 2ml 充填して市販されている Sep-Pak Plus CSP-800 カートリッジを用い、正確な値を安定して得るための操作条件を検討し、以下の結論を得た。すなわち、1) 酢酸エチル、エタノール、純水の順に通液することにより CSP800 樹脂の精製・コンディショニングができ、残留塩素が存在する試料水を通水しても CSP800 樹脂または CSP800 樹脂中の不純物から変異原性物質が生成しないこと、2) 試料水中の残留遊離塩素を亜硫酸ナトリウムで消去すると変異原性が約 2 分の 1 に低下するため、亜硫酸ナトリウムを添加せずに pH を 2.0 ± 0.1 に調整して通水し、変異原性物質を吸着させるのがよいこと、3) 通水速度は $50 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ 程度がよいこと、4) 通水倍率は、変異原性が $8,000 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ 程度以下の通常の水道水では 2 l 通水（通水倍率 1,000 倍）、それ以上の特に汚染度の高い水道水では 1 l 通水（通水倍率 500 倍）とすればよいこと、5) 脱離は、ジメチルスルホキシド（DMSO）を $0.15 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ 程度で 2 ml 通液すればよいことが明らかになった。

以上の方法は、500 倍または 1,000 倍の高い濃縮率で 90% 以上の高い回収率を安定して達成でき、また、吸着・脱離の操作に要する時間が約 1 時間と従来法と比較して 20 分の 1 から 100 分の 1 程度であり、さらに、操作に特別な装置や技術を要さないことから、日常的な水道水の安全管理に適した方法と言える。

第4章では、第3章で開発した濃縮・回収方法を用いて日本の水道水の変異原性強度を解析し、汚染実態を明らかにして対策の必要性を確認した。すなわち、日本の23都道府県の各1ヶ所を選定して1年間に渡り年5回（4都市については12回）変異原性強度を測定し、1）変異原性レベルは、都市によって検出限界（約500 net rev.・l⁻¹）以下から9,200 net rev.・l⁻¹まで約30倍の幅があり、年間平均値でも約15倍の差があること、2）3,000 net rev.・l⁻¹以上の測定値となる地域は全国の4分の1以下と考えられること、3）世界保健機構（WHO）ができる限り対策を施した方がよいとしている生涯発がんリスクレベルの10⁻⁵を超える可能性を否定できないため、変異原性が他の地域と比較して高いところから順次対策を施す必要があることを明らかにした。

また、4）水道水の変異原性の年間変動率の平均値は約3であり都市間の差の3と比較して小さいこと、5）冬期から春期にかけて高く、夏期から秋期にかけて低い傾向があるので、冬期から春期にかけて重点的に測定する必要があること、6）原水のTOCあたりの変異原性も冬期から春期に高く、夏期から秋期に低くなり、変異原性の季節変動がTOCの変動よりも、TOC中の変異原前駆物質の割合の変動によると考えられること、7）TOC、A₂₆₀、TOXなどの従来の水質値から変異原性の強さを推算できず、変異原性を別途測定して水質管理を行う必要があること、8）TOCあたりの変異原性とTOC、芳香族性（A₂₆₀/TOC）およびハロゲン化されやすさ（TOX/TOC）とも明確な関係は認められないこと、9）深井戸水または伏流水を水源としている地域では、変異原性が低く、TOC、A₂₆₀、TOX、およびTOCあたりの変異原性も低いこと、10）表流水、ダム水、湖沼水を水源としている地域では、変異原性、TOC、A₂₆₀、TOX、TOCあたりの変異原性のいずれも広範囲に分布しており、これらの水源の間には明確な差は認められないこと、11）調査したすべての水道水からTA100-S9の条件で最も高い測定値が得られたことから、通常はTA100-S9の条件で試験すればよいと考えられること、12）凝集沈澱で除去される分子量の大きな有機物からも、除去されない分子量の小さな物質からも変異原性物質はほぼ同程度生成すると考えられることなど、対策の一助となる情報を示した。

第5章では、浄水処理条件下で試料水を塩素処理することにより変異原性物質に変化する物質を変異原前駆物質と定義し、変異原性物質生成能、Mutagen Formation Potential (MFP) という新しい水質指標を提案して測定方法を確立した。すなわち、安定した変異原性を発現させるための塩素処理条件について検討し、1) TOC 濃度は $2 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の範囲で MFP 測定値に影響を与えないが、残留塩素濃度を通常の水道水レベルに保ち易いように $3 \sim 4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ に希釈するのが適切であること、2) 初期 pH は $6.5 \sim 7.5$ の範囲で MFP 測定値に影響を与えないこと、3) 塩素添加量は $0.5 \sim 10 \text{ mg-Cl} \cdot (\text{mg-C})^{-1}$ の範囲では MFP 測定値に影響を与えないが、塩素処理後に確実に塩素が残留するように、 $3 \sim 4 \text{ mg-Cl} \cdot (\text{mg-C})^{-1}$ 添加するのが適切と考えられること、4) MFP 測定値は共存アンモニア態窒素濃度とともに上昇したが、 $1 \text{ mg-N} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下の場合には Ames 変異原性試験結果の誤差範囲内であること、5) 反応温度は $10 \sim 30^{\circ}\text{C}$ の範囲で MFP 測定値に影響を与えないこと、6) 塩素処理後 6 時間以内では MFP は変化した、24 時間後と 48 時間後では一定と見なせることを明らかにした。

以上の結論を基に MFP 測定方法を決定した。本方法は一旦希釈してから濃縮するので煩雑に思われるが、残留塩素濃度が低くなる塩素添加量や変異原性物質を吸着しきれる通水量を試料水ごとに検討する必要があるため簡易である。また、塩素添加量、反応温度、反応時間を厳密に調整する必要がなく簡易であるため、水道原水や水道水源に流入する排水の日常的な MFP 測定に適している。さらに、従来の変異原性の測定では評価できない浄水処理の処理効果を MFP により定量的に評価できることを示し、MFP の有効性を示した。

第6章では、第5章で提案して測定方法を定めた MFP を用いて、水道水源に流入する可能性がある 65 種類の処理水・放流水の MFP レベルを明らかにし、対策の必要性を述べた。すなわち、BOD、COD 等の従来の排水基準を満たしている排水から変異原性は 33 検体中 4 検体しか検出されず、検出された値も採水時に塩素処理されていた 2 検体を除いて MFP の 1,000 分の 1 以下と低かったが、MFP は 65 検体中 54 検体から検出され、日本の都市部における水道水の変異原性レベルの 2,100 倍の $2.1 \times 10^6 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ と著しく高い値が検出されたことを明らかにした。また、多くの排水の MFP レベルは $1 \times 10^3 \sim 3 \times 10^5 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ であり、日本の都市部における水道水の変異原性レベルの 1 ～300 倍であることを明らかにした。さらに多くの排水の MFP 負荷量レベルは $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{12} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ であり、最高値であった $1.9 \times 10^{13} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ を平均的な一級河川の流量で除すと $2,700 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ となり、 $1 \times 10^{12} \text{ net rev.} \cdot \text{d}^{-1}$ の排水でも $140 \text{ net rev.} \cdot \text{l}^{-1}$ となったことから、大きな MFP 負荷量となる排水が各地に存在し、MFP、MFP 負荷量が高く、影響が大きい排水から順次対策を施す必要があることを明らかにした。

また、影響が大きい排水として、化学工業排水、埋立地浸出水、下水処理水、パルプ・紙・紙加工品製造業排水が挙げられ、逆に比較的影響が小さい排水として、食品製造業排水、洗濯・理容・浴場業排水があげられること、TOC、COD、BOD、 A_{260} 、THMFP から変異原前駆物質を特徴付けたり、MFP を推算することはできず、MFP を別途測定する必要があること、変異原性物質は、有機汚濁物質の好気分解性や芳香族性あるいはトリハロメタン生成とは全く別の特性によって生成すると考えられること、多くの場合、既存の一般的な排水処理によって MFP は削減されているが、排水によっては削減率が著しく低い場合があることなど、対策の一助となる情報を示した。

第7章では、本研究の成果を総括した。

以上のように、水道水の変異原性を十分に削減して安全性を高めるために、必要な評価方法を開発し、現状の水道水の変異原性レベルおよび水道水源に流入する可能性がある排水の MFP レベルを明らかにして対策の必要性を述べ、管理方法を提案した。今後、水道水の安全性をさらに高めるためには、変異原性試験の一層の簡易化、他のバイオアッセイの併用、変異原性を削減するための浄水処理方法の検討、水道水源水質の保全対策方法の検討などが必要である。

本研究の成果により、従来法と比較して著しく簡易に水道水の変異原性試験を行うことができるようになったが、多くの水道関係者に日常的に変異原性を管理していたくためには一層の簡易化が必要と考えられる。そのためには、菌懸濁液の調製に要する時間の短縮方法の検討、96 穴マイクロプレートの活用等によるコロニー計数操作の代替方法の検討等が必要と考えられる。

また、Ames 変異原性試験はバクテリアを用いた試験なのでヒトとの種差が大きく、ヒト培養細胞を用いた変異原性試験など、より好ましいバイオアッセイによる検討が必要と考えられる。これと同時に、簡便性、定量性に優れた Ames 変異原性試験をスクリーニング試験と位置づけ、Ames 変異原性試験により高い変異原性が検出された水道水の安全性を、ヒトの発がん性をより直接的に評価できる毒性試験を用いて評価することが必要と考えられる。

さらに、高い変異原性が発現しない代替消毒剤の検討を含む浄水処理方法の検討、水環境中での変異原前駆物質の運命予測に基づいた変異原性物質生成能（MFP）負荷量の規制値設定方法の検討、MFP 削減に適した排水処理方法の検討を行い、水道水の変異原性を削減するための対策を講じる必要がある。

本研究の成果をもとにして、これらの検討が進むことを望む。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、多くの方々のご指導、ご援助を賜りました。

東京大学大学院工学系研究科教授、大垣眞一郎先生には、本論文の主旨をご快諾いただくとともに、論文全般に渡って懇切丁寧なご指導を頂戴し、暖かい励ましのお言葉を頂戴いたしました。また、東京大学大学院工学系研究科教授、山本和夫先生、東京大学大学院工学系研究科教授、古米弘明先生、東京大学大学院工学系研究科助教授、滝沢 智先生、東京大学生産技術研究所講師、酒井康行先生には、本論文の副査をご快諾いただくとともに、本論文がより良いものになるようご指摘をいただき、改善の方向をお示しいただきました。

横浜国立大学工学部教授、浦野紘平先生には、同学博士後期課程を中途退学するまでの間指導教官として、また、その後も恩師として終始熱心にご指導いただき、適切な研究方向の見極め方、実験方法、論文等の推敲方法等、研究に必要な事柄を全般に渡りご教授いただきました。横浜国立大学工学部助教授、藤江幸一先生（現：豊橋技術科学大学エコロジー工学系教授）、横浜国立大学工学部助手、堀 雅宏先生（現：横浜国立大学教育人間科学部教授）には、多くの貴重なご意見、ご指摘を賜り、多くの成果に結びつけることができました。また、在学中の共同研究者であった金澤伸浩氏（現：秋田県立大学システム科学技術部助手）、岡部（新田）文枝氏（現：オルガノ株式会社）、林 幸範氏（現：横須賀市水道局）、五十嵐 勲氏（現：三機工業株式会社）にはデータの収集にご協力いただきました。水道水の変異原性レベル調査に際しましては、日本全国各地の方々にサンプリングにご協力いただきました。本研究の成果を基に開発した吸着剤、濃縮ポンプを上市して普及に努める際には、佐々木俊哉氏、飯島絵理子氏を初めとする日本ウォーターズ株式会社の皆様のご尽力を賜りました。

大分大学工学部教授、羽野 忠先生、大分大学工学部助教授、平田 誠先生には、変異原性物質生成能の測定方法の確立の研究を行うにあたり、共同研究者としてご助言、ご助力いただくとともに、学位取得が優先されるよう様々なご配慮を頂戴いたしました。また、後藤理恵さん、入江陽子さん、真弓美穂さん、加藤光枝さん、宮原香織さん、赤間三恵子さん、前田友彦君等の大分大学工学部学生諸氏には、データの収集にご協力いただいたり、コピーなどの作業を快く引き受けていただきました。

以上のように、本研究は多くの方々のご指導、ご援助により成り立ちました。厚く御礼申し上げます。今後、環境保全のための教育、研究に専一することにより、ご恩に報いる所存です。

最後に、公私ともに支えてくださった恩師、研究を有意義にしてくださった横浜国立大学浦野研究室および大分大学羽野研究室の職員・研究生・学生の皆様、暖かく励ましてくれた友人・家族、苦楽をともにし、ともに議論した家内に謝意を表します。

平成11年12月 高梨啓和

公表論文リスト

1. 本論文に関する公表論文

第2章

- Hirokazu Takanashi, Kohei Urano (1998) 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.

第3章

- 浦野紘平、高梨啓和、金澤伸浩、藤江幸一 (1994) 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、**17**、451-460.
- 浦野紘平、高梨啓和、金澤伸浩、岡部文枝、藤江幸一 (1994) 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、**17**、461~469.

第4章

- 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 日本の水道水の変異原性レベルの解析、水環境学会誌、**18**、1001~1011.

第5章

- Hirokazu Takanashi, Kohei Urano, Makoto Hirata, Tadashi Hano and Shinichiro Ohgaki (submitted) Method for Measuring Mutagen Formation Potential (MFP) on chlorination as a New Water Quality Index, *Water Research*.

第6章

- 高梨啓和、浦野紘平、大垣眞一郎 (印刷中) 排水の塩素処理における変異原性物質生成能の解析、水環境学会誌.

2. その他の公表論文等

- 浦野紘平、高梨啓和 (1995) 水道水、環境水における遺伝子毒性の実体、アニテックス、**7**(1)、22~26.
- Tadashi Hano, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi, Michiaki Matsumoto, Takaaki Ohtake and Yoshiko Nakahara (1996) Preparation of Inorganic Microcapsules with Liquid Surfactant Membrane, *Proceedings of the 1996 International Congress on Membranes and Membrane Processes*, 576~577.

- Yanping Tong, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi, Michiaki Matsumoto, Fukiko Kubota, Masahiro Goto, Fumiyuki Nakashio and Tadashi Hano (1996) Extractive Recovery of Lactic acid with Hollow Fiber Membrane, *Proceedings of the 1996 International Congress on Membranes and Membrane Processes*, 818～819.
- Tadashi Hano, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi and Tomohiro Kasagi (1996) Analysis of gas absorption characteristics in Karman Mixer, *Proceedings of the Fourth Japan-Korea Symposium on Separation Technology*, 219～222.
- Tadashi Hano, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi, Shuzo Kokubu, Michiaki Matsumoto and Tokio Takada (1996) Extractive recovery of boron in wastewater from desulfurization plant, *Proceedings of the Fourth Japan-Korea Symposium on Separation Technology*, 319～322
- Tadashi Hano, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi and Shinji Ohara (1996) Nitrogen removal from landfill leachate with autotrophic bacteria, *Proceedings of the Regional Symposium on Chemical Engineering 1996*, 581～586.
- Tadashi Hano, Hirokazu Takanashi, Makoto Hirata, Kohei Urano and Shunji Eto (1996) Removal of phosphorus from wastewater by activated alumina adsorbent, *Proceedings of the Adsorption in Water Environment and Treatment Processes*, 285～292.
- 羽野 忠、平田 誠、高梨啓和、小原慎史 (1997) 独立栄養細菌による窒素除去システムの開発、*化学工学*、**61**、136～137.
- Tadashi Hano, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi and Shouichi Tsutsui (1997) Kinetic study of cephalixin extraction with cation-exchanger extractant, *Proceedings of the Second Kyushu-Taipei International Congress on Chemical Engineering, 1997*, 141～144.
- 羽野 忠、平田 誠、高梨啓和、国分修三、松本道明、高田尅男 (1997) 石炭火力発電所脱硫廃水からのホウ素の分離回収、*化学工学シンポジウムシリーズ 60*、229～232.
- 浦野紘平、高梨啓和、五十嵐勲 (1997) 水試料の Ames 変異原性試験マニュアル (I) 水中変異原性物質の簡便で高効率な濃縮・回収方法、*用水と廃水*、**39**(2)、163～168.
- 浦野紘平、高梨啓和、五十嵐勲 (1997) 水試料の Ames 変異原性試験マニュアル (II) Ames 試験に必要な設備、機器、器具、試薬、菌株、用水と廃水、**39**(3)、255～259.
- 浦野紘平、高梨啓和、五十嵐勲 (1997) 水試料の Ames 変異原性試験マニュアル (III) Ames 試験操作方法、*用水と廃水*、**39**、342～349.
- 高梨啓和、浦野紘平 (1997) 化学物質の環境安全管理におけるバイオアッセイ法の

役割、化学物質と環境、(21)、13～15.

- Tadashi Hano, Hirokazu Takanashi, Makoto Hirata, Kohei Urano and Shunji Eto (1997) Removal of Phosphorus from Wastewater by Activated Alumina Adsorbent, *Water Science and Technology*, **35**, 285～292.
- Yanping Tong, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi, Tadashi Hano, Fukiko Kubota, Masahiro Goto and Fumiyuki Nakashio (1997) Membrane Extraction of Lactic Acid from Fermented Broth, *Biochemical Engineering: Marching toward the Century of Biotechnology*, **2**, 914～917.
- Xiaojing Xiong, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi and Tadashi Hano (1997) Analysis of Acclimation against Nitrification Inhibitors in Activated Sludge Processes, *Biochemical Engineering: Marching toward the Century of Biotechnology*, **2**, 1073～1076.
- Tadashi Hano, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi, Shuuzo Kokobu, Michiaki Matsumoto and Tokio Takada (1997) Development of Boron Recovery System form Desulfurization Plant Wastewater, *Proceedings of Regional Symposium on Chemical Engineering 1997*, **1**, 233～237.
- Hirokazu Takanashi, Kohei Urano, Makoto Hirata and Tadashi Hano (1997) Methods for Evaluation of Mutagenicity and Mutagens Formation Potential (MFP) of Water Sample, *Proceedings of International Bioassay Symposium in Toyama*, 80～81.
- Tadashi Hano, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi and Shuuzo Kokubu (1997) Gas Absorption Characteristics of Karman Contactor, *Preprints of 4th Japanese/German Symposium on Bubble Columns*, 176～182.
- 羽野 忠、平田 誠、高梨啓和、中原佳子 (1998) 乳化液膜を用いた無機質マイクロバルへの調製、化学工学シンポジウムシリーズ 63、72～77.
- Yanping Tong, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi, Michiaki Matsumoto, Fukiko Kubota, Masahiro Goto, Fumiyuki Nakashio and Tadashi Hano (1998) Extraction of Lactic Acid from Fermented Broth with Microporous Hollow Fiber Membranes, *Advances in Bioseparation Engineering 1996～1997*, 151～155.
- 高梨啓和 (1998) 水道水の変異原性レベルとその管理、化学物質と環境、(28)、6～8.
- Xiaojing Xiong, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi, Min-Gyu Lee and Tadashi Hano (1998) Analysis of Acclimation Behavior against Nitrification Inhibitors in Activated Sludge Processes, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, **86**(2), 207～214.

- Tadashi Hano, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi and Yoshiko Nakahara (1998)
Preparation of Inorganic Microballoons with Liquid Surfactant Membrane, *Proceedings of The Fourth SINO-JAPANESE Symposium on Liquid Membranes*, 21~24.
- Yanping Tong, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi, Tadashi Hano, Fukiko Kubota, Masahiro Goto, Fumiyuki Nakashio and Michiaki Matsumoto (1998) Extraction of Lactic Acid from Fermented Broth with Microporous Hollow Fiber Membranes, *Journal of Membrane Science*, **143**, 81~91.
- 羽野 忠、平田 誠、高梨啓和、中村和憲 (1998) 醤油製造工程における物質フローの解析—食品産業におけるゼロエミッション化—、環境科学会誌、**11**(2)、239~240.
- Tadashi Hano, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi and Yoshiko Nakahara (1998)
Application of Liquid Membrane Technology to Preparation of Inorganic Microballoons, *Proceedings of International Solvent Extraction Symposia, Moscow, Russia*, 258~266.
- Tadashi Hano, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi, Yanpin Tong and Shigenobu Miura (1998) Development of Extraction System for Lactic Acid from Fermentor, *Proceedings of International Solvent Extraction Symposia, Moscow, Russia*, 407~415.
- 高梨啓和、板坂直樹、平田 誠、羽野 忠、浦野紘平 (1998) 高性能吸着剤を用いた水中リンの高度処理、地球環境、**10**、56~59.
- Yanping Tong, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi, Tadashi Hano, Michiaki Matsumoto and Shigenobu Miura (1998) Solvent Screening for Production of Lactic Acid by Extractive Fermentation, *Separation Science and Technology*, **33**(10), 1439~1453
- Tadashi Hano, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi and Shuuzo Kokubu (1998) Karman Contactor as a Gas Dissolution Unit – Basic Analysis and Application to Activated Sludge Processes –, *Proceedings of the 6th Asian Conference on Fluidized-Bed and Three-Phase Reactors*, 542~547.
- 羽野 忠、平田 誠、高梨啓和 (1999) 食品産業におけるゼロエミッション化—醤油製造業におけるマスフロー解析—、化学工業、**50**、96~100.
- Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi, Shuzo Kokubu, Michiaki Matsumoto, Tokio Takada and Tadashi Hano (1999) Recovery of Boron in Wastewater from Coal Thermal Power Plant by Solvent Extraction, *Proceedings of the Third Taipei-Kyushu Joint Symposium on Chemical Engineering, 1999*, 177~179.
- 板坂直樹、高梨啓和、平田 誠、羽野 忠 (1999) 水中低濃度リンの除去・回収用

吸着剤の開発状況と課題、用水と廃水、**41**(3)、195～203.

- 羽野 忠、平田 誠、高梨啓和 (1999) 食品製造プロセスにおけるゼロエミッション化技術、*M&E*、1999 年 3 月号、88～93.

- Yanpin Tong, Makoto Hirata, Hirokazu Takanashi and Tadashi Hano (1999) Back Extraction of Lactic Acid with Microporous Hollow Fiber Membrane, *Journal of Membrane Science*, **157**, 189～198.