

(22) 塩素処理水の染色体異常誘発性に対する加水分解の影響

EFFECT OF HYDROLYSIS ON ACTIVITY-INDUCED CHROMOSOMAL ABERRATIONS OF CHLORINATED WATER

伊藤 禎彦*・村上 仁士*

Sadahiko ITOH*, Hitoshi MURAKAMI*

ABSTRACT; Effect of hydrolysis on mutagenic activity of chlorinated water was investigated. Chromosomal aberration test using Chinese hamster lung (CHL) cell was carried out to evaluate mutagenic activity. It was found that activity-induced chromosomal aberrations of chlorinated humic acids solution decreased with hydrolysis reaction. The observed hydrolysis rate constant at neutral condition (pH7.1), 20°C was determined to be 1.76 day^{-1} , and half-life was estimated to be 9.5 hours. While chloroform was produced with hydrolysis reaction, activity-induced chromosomal aberrations decreased. Activity-induced chromosomal aberrations of chlorinated water could be attributed to chlorinated and/or oxidized by-products excluding chloroform. Effects of hydrolysis reactions of 1,3-dichloro-2-propanone and 1,1,1-trichloropropanone, which were mutagens identified in chlorinated waters, were examined. It was found that the decreases of mutagenic activities of these mutagens proceeded by cleavage of chlorine by hydroxide ion, suggesting that the same mechanism existed in hydrolysis reactions of chlorinated drinking waters and chlorinated effluents from sewage treatment plants.

KEYWORDS; chlorination, chloroform, mutagenicity, chromosomal aberration test, hydrolysis

1. はじめに

上水処理や下水処理過程などで行われる塩素処理がトリハロメタンなどの有機塩素化合物を生成することから、ヒトに対する健康影響や環境に対する影響が論じられてきた。これまでに、塩素処理水の変異原性に関する調査研究は数多く行われてきており、その結果、塩素処理水の変異原性そのものの特性についての知見がいくつか得られてきた。そのうちの代表的なもののひとつは、変異原活性は、水環境中のpHや温度の影響を受けやすく、高pH条件や高温の条件では変異原性は低下しやすいというものである^{1) 2)}。他のひとつは、変異原性試験のための試料調製段階において、脱塩素を目的として還元剤を添加すると、変異原性は大きく低下する事実である^{2) 3) 4) 5)}。これらの結果は、塩素処理水の変異原性は、安定なものではなく、水中における種々の因子によって変化しうることを示していると考えられる。

しかし、これまでに得られた塩素処理水の変異原性の安定性についての知見は、変異原性試験に供するための試料調製方法などに関連して、その特性が断片的に得られたものがほとんどであり、安定性に影響を及ぼす因子に着目して系統的な検討を加えた例はない。本文は、塩素処理水の変異原活性の特性が調べられた調査研究において、変異原活性の低下の原因が、加水分解によると考えられる例が多い点にまず注目した。すなわち、塩素消毒後の上水や下水処理水が、水中で受ける反応のひとつとして加水分解を

*徳島大学 工学部 建設工学科 (Department of Civil Engineering, The University of Tokushima)

とりあげ、変異原性に及ぼす影響について実験的な検討を行ったものである。

変異原性試験としては、哺乳動物の培養細胞を用いた染色体異常試験を行った。上述の塩素処理水の変異原性の特性は、そのほとんどがAmes試験によって得られたものである。これに対し本研究は、変異原性の検出材料として哺乳動物の培養細胞を用いた点が特徴である。細胞材料としてはチャイニーズ・ハムスター肺細胞（CHL）を使用し、また、生じた異常染色体は画像解析によって検出、定量化した。

2. 実験方法

2. 1 塩素処理

本研究は、塩素処理水の変異原性の安定性に関してその基本的特性を検討するのが目的である。そこで市販フミン酸を自然水中有機物質のモデルとして用いた。フミン酸（和光純薬）3gを0.1N水酸化ナトリウム水溶液1ℓに添加して1晩攪拌する。塩酸を用いてpHを7.0に調整した後、ガラスファイバーフィルター（アドバンテックGS25）にてろ過する。このフミン酸溶液の全有機炭素を測定（島津製作所，TOC-5000）したところ、1080mg/ℓであった。このフミン酸溶液に4000mg/ℓ以下の濃度で塩素を添加して塩素処理水を作製し、その染色体異常誘発性を調べる。フミン酸溶液、添加塩素がともに高濃度であるのは、塩素処理水の染色体異常誘発性が認められる範囲とする必要があるためである。

塩素処理は、次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度約4%）を蒸留水で希釈して添加することにより行った。フミン酸溶液16mlをとり、これに2Mリン酸緩衝液2mlを添加し、さらに次亜塩素酸ナトリウム溶液を蒸留水で希釈したもの2mlを、塩素濃度が所定の濃度となるように添加した。この結果、塩素処理溶液中のリン酸緩衝液濃度は200mMである。pHは、必要に応じて塩酸または水酸化ナトリウムで微調整した。反応は、20℃、暗所で、3日間静置して行わせ、これを染色体異常試験の試料とした。塩素処理後、残留塩素を除去するために脱塩素剤を添加すると、変異原物質をも還元作用を受けて変異原活性が著しく低下することが一般に認められている³⁾ため、脱塩素剤は添加せず、反応後の液をそのまま染色体異常試験の試料とした。なお、試料水中の残留塩素が染色体異常試験の結果に及ぼす影響について調べたところ、試料水中の濃度が200mg/ℓまでは、結果に影響を及ぼさないことを確認した⁶⁾。したがって、本実験条件では残留塩素濃度が200mg/ℓ以下となった試料について染色体異常試験を行うことが可能である。反応時間を3日間としているのは、脱塩素剤を添加しない条件で、残留塩素濃度が200mg/ℓ以下となるまでにこれだけの時間を要したためである。塩素濃度はDPD滴定法で測定した⁷⁾。

2. 2 染色体異常試験^{8) 9)}と画像解析による異常染色体の定量化

新生チャイニーズ・ハムスター雌の肺細胞（細胞名CHL/1U，大日本製薬）を、Eagle MEM + ウシ胎児血清10%の培養液を用い、37℃で継代培養しておいたものを使用した。底面積40cm²の培養ビンを用いており培養液量は18mlとしている。継代後1日目に試料2mlを0.2μmフィルターで除菌ろ過しつつ添加した。したがって試料中の物質は培養液中で1/10に希釈されている。試料のpHは添加時に7.2±0.2に調整した。試料を添加してから24時間培養した後、染色体標本を作製した。なお培養は開放系ではなく閉鎖系で行い、また代謝活性化は行わなかった。

塩素処理によって生成しかつ変異原性を有する有機塩素化合物¹⁰⁾として、1,3-ジクロロ-2-プロパノン（ $\text{ClCH}_2\text{COCH}_2\text{Cl}$ ），1,1,1-トリクロロプロパノン（ $\text{CCl}_3\text{COCH}_3$ ）をとりあげて染色体異常試験を行い、染色体異常誘発性の変化を調べた。両物質ともエタノールに溶解し、これを希釈して染色体異常試験に供した。エタノールは培養液中濃度が1%までは染色体異常試験に影響を及ぼさない。

染色体標本は1000倍で検鏡するとともに、顕微鏡画像を直接テレビカメラより入力し、画像解析を行った（ニコンLUZEX2D使用）¹¹⁾。染色体異常は大きく切断型と交換型に大別されるが、本画像解析により交換型異常染色体のみを検出、定量化した。交換型異常染色体のみを検出しているのは、開発した画像解析法では、交換型異常染色体を高い識別率で識別できるためである。原則として染色体像は任意の50細胞を

入力し、画像解析を行った。CHL細胞は25本の染色体をもっているので、1染色体標本中1250本の染色体を解析対象としていることになる。この染色体の1本1本を画像解析に供して交換型異常の有無を判別した。試料の染色体異常誘発性の強さは、このときの交換型異常検出数（染色体数/50細胞）で表した。

2. 3 クロロホルムと塩素イオンの分析

本研究においては、フミン酸溶液の塩素処理で生成したクロロホルムの濃度はmg/lのオーダーであったので、試料をジエチルエーテル抽出し、ガスクロマトグラフ（島津製作所、GC-8A）の水素炎イオン化検出器（FID）で測定した。カラムはSilicone DC-550 15% on Uniporl B, 60/80mesh を用い、カラム温度と注入口温度はそれぞれ50℃, 80℃とした。

塩素イオン濃度は、硝酸銀法によって測定した

12)。

3. 実験結果

3. 1 フミン酸の塩素処理水の染色体異常誘発性

フミン酸溶液に対し、200mMリン酸緩衝液共存下、初期pH6.0の条件において、所定の濃度の塩素を添加し、処理水の染色体異常誘発性を調べた結果をFig. 1に示す。縦軸は50細胞の染色体像をとりあげて画像解析した結果、検出された交換型異常染色体の数を示している。塩素添加量ゼロのときの値は、コントロールテストを12回行いその平均値をプロットしたものである。塩素処理時間は3日間としたが、この間に添加した塩素のほぼすべてが消費されていた。添加塩素濃度が5000mg/l以上の試料では、3日後にも残留塩素が200mg/l以上存在し、本実験条件下では、染色体異常試験を行うことができなかった。また反応前後のpH変化を測定したものをTable 1に示すが、緩衝液中であるにもかかわらずpHはやや低下傾向にあった。

Fig. 1から、添加塩素濃度が高いほど、処理水の染色体異常誘発性が増大することがわかる。以後の実験では、添加塩素濃度は4000mg/lとし、その処理水の染色体異常誘発性の特性について検討する。

3. 2 塩素処理pHの影響

Fig. 2は、等量の塩素（4000mg/l）を初期pHを変えて添加し、その処理水の染色体異常誘発性について調べたものである。またTable 2は、この塩素処理における初期pHと3日後のpHの測定結果、および3日後の残留塩素濃度を示したものである。

Fig. 2では、低pH域で処理したものの方が染色体異常誘発性が強く、高pH域で処理した試料の染色体異常誘発性は弱いという結果となっている。その理由としては、①塩素は次亜塩素酸（HOCl）の卓越する低pH域ほ

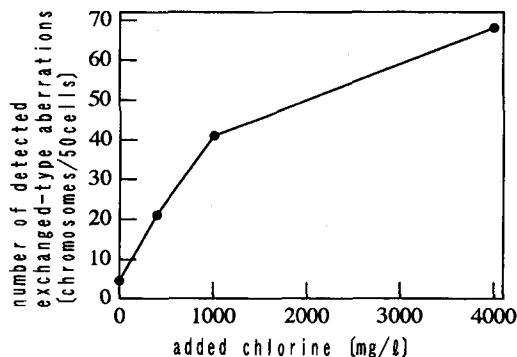


Fig. 1 Activity-induced chromosomal aberrations of chlorinated humic acids

Table 1 Variation of pH with chlorination of humic acids

added chlorine (mg/l)	initial pH	pH after 3 days
0	6.0	6.0
400	6.0	6.0
1000	6.1	6.0
4000	6.1	5.8

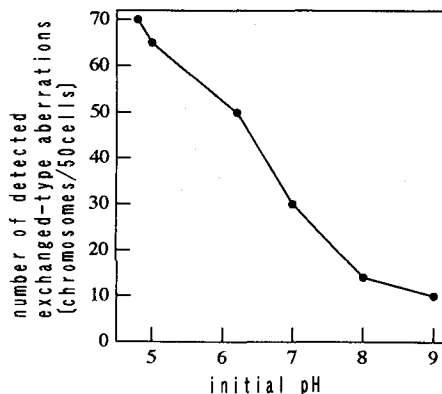


Fig. 2 Effect of chlorination pH on activity-induced chromosomal aberrations

ど酸化力が強いので、有機塩素化合物を含む酸化生成物の量が多いため、②高pH域では、生成した有機塩素化合物はより加水分解を受けやすいため、その結果染色体異常誘発性が低下した、ことが考えられる。しかしTable 2から、添加した4000mg/ℓの塩素がどの試料でもほぼ消費されているため、主として②の理由であると推察される。

3. 3 加水分解の影響

Fig. 2において、塩素処理水の染色体異常誘発性は、加水分解によって低下する可能性を指摘した。そこでまず、200mMリン酸緩衝液としたフミン酸溶液に対し、初期pH5.0で4000mg/ℓの塩素を注入し、3日間反応を行わせて塩素処理水を作製する。その後、この塩素処理水のpHを変えることにより加水分解の反応速度を変化させ、染色体異常誘発性がいかに変化するかを調べた。なお、3日間の反応により、注入した塩素はすべて消費された。

結果をFig. 3, Fig. 4, Fig. 5に示す。Fig. 3は、塩素処理水のpHを4.8または5.8に調整して静置し、染色体異常誘発性の変化について調べたものであり、経過時間10日までの結果を示している。ここで縦軸の染色体異常誘発性とは、pH調整前の塩素処理水の染色体異常試験から得ら

れる交換型異常検出数(染色体数/50細胞)を1.0として、pH調整後の染色体異常試験から得られる交換型異常検出数の値を表したものである。Fi

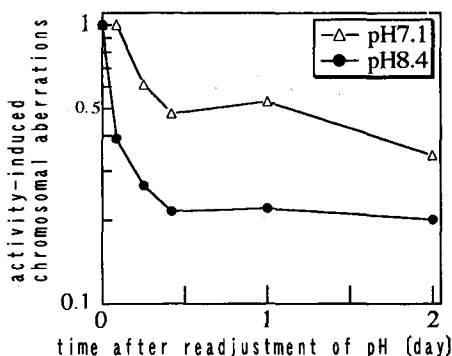


Fig. 4 Variation of activity-induced chromosomal aberrations after readjustment of pH (pH7.1, pH8.4)

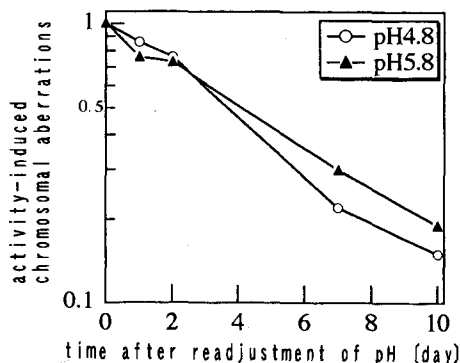


Fig. 3 Variation of activity-induced chromosomal aberrations after readjustment of pH (pH4.8, pH5.8)

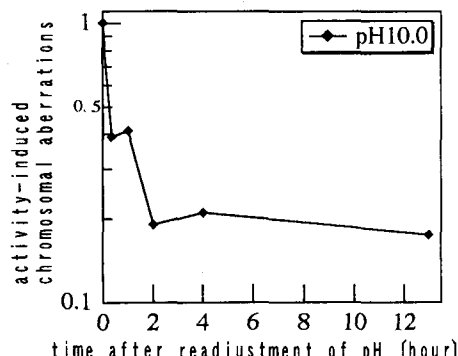


Fig. 5 Variation of activity-induced chromosomal aberrations after readjustment of pH (pH10.0)

g. 4は、pHを7.1または8.4に調整した試料であり、経過時間2日まで結果を示している。Fig. 5は、pHを10.0に調整した試料であり、経過時間13時間までの結果を示している。Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5から、明らかに、pHが高いほど塩素処理水の染色体異常誘発性は速やかに低下することがわかる。特にpHを10とした場合(Fig. 5)、染色体異常誘発性は分単位で低下した。塩素処理による副生成物は、加水分解を受けることによってその変異原性が低下しやすい性質のものであると推察できる。ただ、特にpH7.1以上とした試料では、初期に染色体異常誘発性の大きな低下があった後低下速度が小さくなっており、加水分解だけではその変異原性が低下しにくい成分も含まれていると思われる。

Table 2 Variation of pH with chlorination of humic acids and residual chlorine

initial pH	pH after 3 days	residual chlorine (mg/ℓ)
4.8	3.4	0
5.0	4.0	0
6.2	5.5	0
7.0	7.0	30
8.0	8.4	120
9.0	9.0	260

3. 4 クロロホルムの生成との関係

つぎに、初期 pH5.0 で4000mg/l の塩素を注入し3日間反応を行わせた塩素処理水に対し、その pH を10 として、試料中のクロロホルム濃度を測定し、染色体異常誘発性との関係を調べた。結果を Fig. 6 に示す。ただし、この図の染色体異常誘発性のデータは Fig. 5 に示したものと同一である。pH10 というアルカリ条件下では、有機塩素化合物の加水分解が促進するため、クロロホルムの生成が促進する¹³⁾。一方、この間染色体異常誘発性は大きく低下している。このようにクロロホルム濃度と染色体異常誘発性とが逆傾向を示したことが重要で、この結果は、塩素処理水の染色体異常誘発性にはクロロホルムではなく、他の有機塩素化合物あるいは酸化副生成物が寄与していることを示唆している。

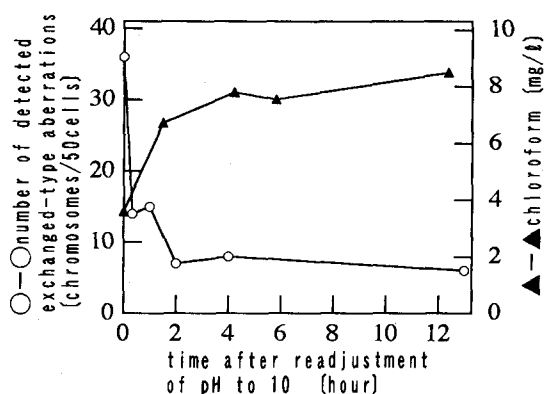


Fig. 6 Chloroform production and variation of activity-induced chromosomal aberrations after readjustment of pH to 10

3. 5 標準物質の加水分解と染色体異常誘発性の変化

自然水の塩素処理によって生成することが確認され、かつ変異原性が認められている¹⁰⁾、1,3-ジクロロ-2-プロパノンおよび1,1,1-トリクロロプロパノンを用いて実験を行った。まずこれらの化合物の染色体異常試験結果を Fig. 7, Fig. 8 に示す。つぎに、この染色体異常誘発性の変化を調べた。まず、溶媒にエタノールを用いて、1,3-ジクロロ-2-プロパノン5000mg/l、および1,1,1-トリクロロプロパノン6380mg/l の溶液を作製し、ついでこれを蒸留水で10倍に希釈した（エタノールを10%含む）。それぞれの溶液に水酸化ナトリウム液を滴下して pH を10.5 とした後、pH 変化、塩素イオン濃度、および染色体異常誘発性を測定した。結果を Fig. 9, Fig. 10, Fig. 11 に示す。ただし Fig. 11 は、1,3-ジクロロ-2-プロパノンの場合2.5mg/l、1,1,1-トリクロロプロパノンの場合75mg/l の濃度となるように希釈して CHL に投与し、染色体異常誘発性を調べたものである。いずれの化合物も、顕著な pH の低下と塩素イオンの生成を確認した。この結果は、水酸イオンを消費しつつ加水分解が進行し、それにとまって化合物から塩素が脱離したものと考えることができる。また Fig. 11 に示したように、これにとまって染色体異常誘発性は低下している。1,3-ジクロロ-2-プロパノンおよび1,1,1-トリクロロプロパノンについて、加水分解の進行にとまって染色体異常誘発性が低下することがわかる。

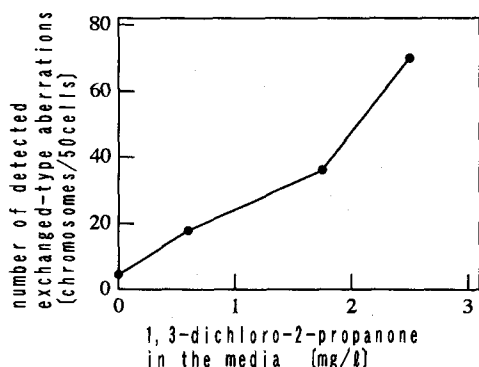


Fig. 7 Activity-induced chromosomal aberrations of 1,3-dichloro-2-propanone

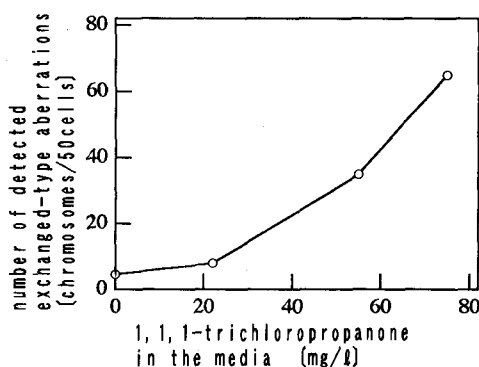


Fig. 8 Activity-induced chromosomal aberrations of 1,1,1-trichloropropanone

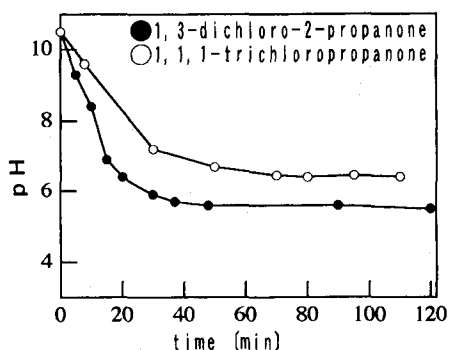


Fig. 9 Variation of pH with hydrolysis

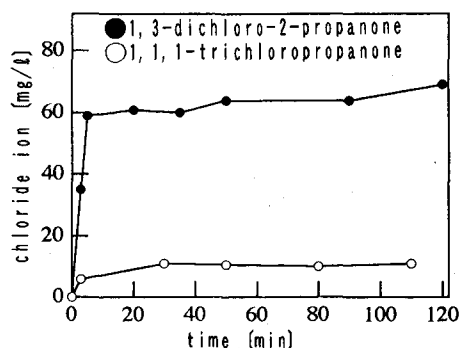


Fig. 10 Chloride ion production with hydrolysis

以上の実験では、モデル物質を用いて、加水分解と染色体異常誘発性との関係について検討したが、フミン酸の塩素処理水を用いた先の実験においても同様な機構があるものと考えられる。

4. 考 察

塩素処理水の pH を変えて染色体異常誘発性の変化を経時的に調べた Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5 の結果から、塩素処理水の染色体異常誘発性そのものに対する加水分解速度定数を求めてみた。一般に、化学物質 P の加水分解は一次反応を仮定すると次式で表される¹⁴⁾。

$$\begin{aligned} -\frac{dP}{dt} &= (K_H [H^+] + K_{H_2O} + K_{OH} [OH^-]) [P] \\ &= K_{obs} [P] \end{aligned} \quad (1)$$

ここに、 $[P]$: 化学物質 P の濃度、 K_H : 酸性プロセスに関する速度定数、 K_{H_2O} : 中性プロセスに関する速度定数、 K_{OH} : 塩基性プロセスに関する速度定数、 K_{obs} : 加水分解速度定数測定値、である。(1) 式はある化学物質の加水分解速度を定量化するのによく用いられるが、ここでは本式を塩素処理水の染色体異常誘発性にあてはめてみる。すなわち P を塩素処理水の染色体異常誘発性として、その初期減少速度から K_{obs} を求めた。結果を Fig. 12 に示す。pH が高いほど加水分解速度定数の値が大きいたことがわかる。また、pH が 5.8 以上では K_{obs} の値は、pH すなわち OH^- の濃度と比例関係にある。その傾きは 1 ではないが、この範囲では加水分解は主として OH^- によって進行していると考えられよう。中性条件の pH 7.1 における加水分解速度定数は 1.76 日^{-1} であり、半減期は 9.5 時間であった。

一方、3. 2 塩素処理 pH の影響 では、

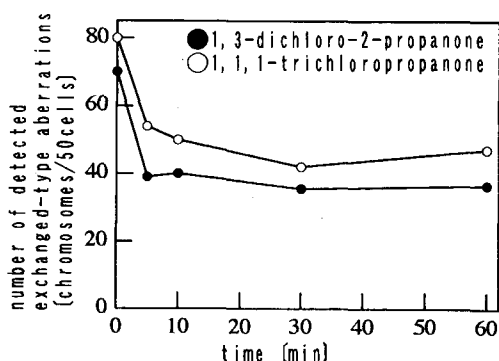


Fig. 11 Variation of activity-induced chromosomal aberrations with hydrolysis

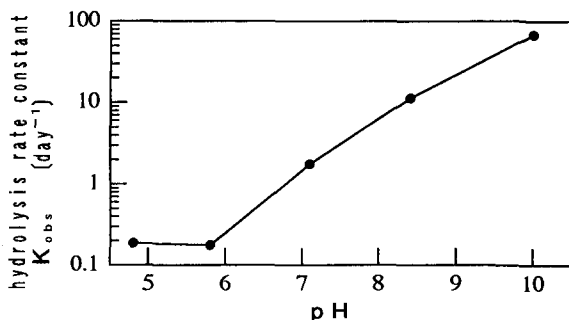


Fig. 12 Hydrolysis rate constant of activity-induced chromosomal aberrations of chlorinated humic acids

染色体異常誘発性に対する塩素処理 pH の影響を調べ Fig. 2 を得ている。それぞれの pH において、塩素とフミン酸との反応、および生成した有機塩素化合物の加水分解反応とが同時に起きていると考えられる。Table 2 から、どの pH においても最終的に消費した塩素量は同程度であったため、染色体異常誘発性に大きな違いがみられるのはやはり加水分解の影響であると考えられる。

しかし、同時に Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5 の結果からは、加水分解によっても染色体異常誘発性が 0.2 程度は残存している点にも注意しておく必要がある。特に pH 7.1 以上とした試料では、初期に染色体異常誘発性の大きな低下があった後低下速度が小さくなる傾向が明瞭に現れている。すなわち塩素処理水中には、加水分解だけではその変異原性が低下しにくい成分も含まれていると推察できる。伊藤ら¹⁵⁾は別に、塩素処理によって生成したカルボニル化合物が塩素処理水の変異原性に寄与している可能性を指摘し、かつ、塩素処理水の加水分解過程におけるカルボニル化合物の挙動について調べ、カルボニル化合物量には大きな変動がないことを指摘している。さらに詳しい検討が必要ではあるが、Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5 において残存する染色体異常誘発性には、塩素処理によって生成したカルボニル化合物が寄与している可能性があると考えている。

塩素処理水の変異原性の安定性に対する pH の影響については、すでにいくつかの報告がある。Meier ら¹⁾は、フミン酸を塩素処理した後、pH を 11.5 にしたところ、23℃では、変異原性は 1 時間で約 1/6、4 時間で約 1/10 に低下したことを報告している。その他、高 pH 側で変異原性が低下しやすかったという報告は多い。さらに、塩素処理水中の強力な変異原物質である MX (3-クロロ-4-ジクロロメチル-5-ヒドロキシ-2 (5H)-フラノン) もアルカリ側では不安定となることが報告されている¹⁶⁾。一方、塩素処理水の変異原性試験を行う際、試水を酸性 (pH 2.0) とした上で XAD 樹脂に通水した後、抽出し濃縮する方法が広く用いられている。ここで行われる酸性処理が、試水の変異原性を大きく変化させる例⁴⁾も報告されているが、その理由は不明である。本研究では、フミン酸の塩素処理水の変異原性が pH が高いほどより速やかに低下することを、哺乳動物の培養細胞を用いた染色体異常試験によって認めた。また、その機構として、水酸イオンを消費しつつ加水分解が進行し、それにとまって化合物から塩素が脱離することがありうることを、1,3-ジクロロ-2-プロパノンおよび 1,1,1-トリクロロプロパノンをを用いた実験によって示唆した。この機構は Nazar ら¹⁷⁾によっても考察されている。

さらに本研究では、加水分解過程におけるクロロホルム濃度と染色体異常誘発性との関係について調べた。その結果 Fig. 6 に示したように、加水分解によってクロロホルム濃度は増大するが、逆に染色体異常誘発性は低下することが示された。同じ結果は、濃縮した琵琶湖水を用いた実験でも得られている¹⁵⁾。塩素処理水の染色体異常誘発性に対するクロロホルムの寄与がほとんどないことは別に認めており¹⁸⁾、この結果は、塩素処理水の染色体異常誘発性にはクロロホルムではなく、他の有機塩素化合物あるいは酸化副生成物が寄与していることを示唆している。この酸化副生成物の中には先述したカルボニル化合物も含まれるものと考えている。塩素処理水の有害性の指標としては、クロロホルムをはじめとするトリハロメタン濃度が広く用いられるが、処理水の有害性そのものを測定しているのではない点に注意が必要である。

本研究は、塩素処理水が環境中に放出された後に受ける変化を対象としたものである。一般に、化学物質が水環境中で受ける変化のうち、化学的形態変化をとまなうものとしては、①光分解、②酸化 (好気条件)、③加水分解、④生分解、があげられる¹⁹⁾。すでに述べたように、塩素処理水の変異原活性の特性が調べられた調査研究において、変異原活性の低下の原因が加水分解によると考えられる例が多いため、本研究では特に加水分解をとりあげたものと位置付けることができる。

塩素処理水の変異原性を大きく変化させる他の因子は還元剤である。変異原性試験のための試料調製段階において、脱塩素を目的として還元剤を添加すると、変異原性は大きく低下するという事実が多くの研究で明らかになった^{2) 3) 4) 5)}。これより鈴木ら⁵⁾は、塩素処理水中の未知の変異原性物質を探す際には、容易に還元剤または求核試薬と反応する構造部分に注目する必要があると指摘している。環境水中での反

応との関連でいえば、この反応は嫌気状態となった底泥など、限定された場で起きうると考えられる。

5. ま と め

(1) 自然水中有機物質のモデルとして市販フミン酸を用い、その塩素処理水の変異原性に対する加水分解の影響について検討した。変異原性試験としては、哺乳動物の培養細胞を用いた染色体異常試験を行った。その結果、塩素処理水の変異原性は加水分解にともなって低下することが認められた。中性条件 (pH 7.1), 20℃における加水分解速度定数は 1.76 日^{-1} であり、半減期は9.5時間であった。

(2) 加水分解の過程で、クロロホルムの濃度は増大する一方、染色体異常誘発性は低下した。この結果、塩素処理水の染色体異常誘発性にはクロロホルムではなく、他の有機塩素化合物あるいは酸化副生成物が寄与していることを示唆した。

(3) 1,3-ジクロロ-2-プロパノンおよび1,1,1-トリクロロプロパノンの加水分解実験を行ったところ、水酸イオンを消費しつつ塩素が脱離し、それにともなって染色体異常誘発性が低下することがわかった。同様な機構は塩素消毒が行われた上水や下水処理水にもあることが予想された。

謝辞

日頃からご指導を頂き、また画像処理装置ニコンLUZEX2Dを使用させて頂いた、京都大学工学部 住友恒教授に謝意を表す。また本研究の実験にご協力頂いた徳島大学大学院戸田博之君に謝意を表す。

参考文献

- 1) Meier, J. R., Lingg, R. D., and Bull, R. J. : Formation of Mutagens Following Chlorination of Humic Acid: A Model for Mutagen Formation during Drinking Water Treatment, *Mutation Research*, Vol. 118, pp. 25-41, 1983.
- 2) 岡部文枝・高梨啓和・藤江幸一・浦野紘平: 水道水中の変異原性物質の特性, 第26回日本水環境学会年会講演集, pp. 96-97, 1992.
- 3) Donald, K. D., William, B. A., Susan, A. D., David, T. W., and Peter, M. H. : Evaluating Treatment Processes With the Ames Mutagenicity Assay, *Journal of American Water Works Association*, Vol. 89, No. 9, pp. 87-102, 1989.
- 4) 畑野和広・神野透人・関田寛・安藤正典・武田明治: 水道水中の変異原物質の濃縮方法の検討, 第42回全国水道研究発表会講演集, pp. 572-574, 1991.
- 5) 鈴木規之・中西準子・松尾友矩: 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*, Vol. 15, No. 11, pp. 42-49, 1992.
- 6) 伊藤禎彦: 染色体異常誘発性と大腸菌ファージ不活化からみた上水消毒剤の比較研究, 京都大学学位論文, 1993.
- 7) APHA-AWWA-WPCF: *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* 17th ed., 1989.
- 8) 日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会編: 化学物質による染色体異常アトラス, 朝倉書店, 1988.
- 9) 土木学会衛生工学委員会編: 環境微生物工学研究法, 技報堂出版, 1993.
- 10) Meier, J. R., Ringhand, H. P., Coleman, W. E., Munch, J. W., Streicher, R. P., Kaylor, W. H., and Schenck, K. M. : Identification of Mutagenic Compounds Formed during Chlorination of Humic Acid, *Mutation Research*, Vol. 157, pp. 111-122, 1985.
- 11) 住友恒・伊藤禎彦: 画像解析を導入した染色体異常試験法の開発, 衛生工学研究論文集, Vol. 26, pp. 107-115, 1990.
- 12) 厚生省監修: 上水試験方法1985年版, 日本水道協会, 1985.
- 13) 丹保憲仁編著: 水道とトリハロメタン, 技報堂出版, 1983.
- 14) Wolfe, N. L. : Determining the Role of Hydrolysis in the Fate of Organics in Natural Waters, 176th ACS Annual Meeting, 1978.
- 15) 伊藤禎彦・松岡譲・住友恒: 消毒処理水の染色体異常誘発性に対する酸化副生成物の寄与, 土木学会第47回年次学術講演会講演概要集, pp. 988-989, 1992.
- 16) Kinae, M., Sugiyama, C., Nasuda, M. Y., Goto, K., Tokumoto, K., Furugori, M., and Shimoi, K. : Seasonal Variation and Stability of Chlorinated Organic Mutagens in Drinking Water, *Water Science and Technology*, Vol. 25, No. 11, pp. 333-340, 1992.
- 17) Nazar, M. A., and Rapson, W. H. : pH Stability of Some Mutagens Produced by Aqueous Chlorination of Organic Compounds, *Environmental Mutagenesis*, Vol. 4, pp. 435-444, 1982.
- 18) 住友恒・松岡譲・伊藤禎彦: 消毒処理水の染色体異常試験, 水道協会雑誌, 第62巻, 第1号, pp. 30-39, 1993.
- 19) 盛岡通: 化学物質の環境内での運命予測に関するモデル, 生態化学, Vol. 5, No. 3, pp. 31-47, 1982.