

(23) 二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性とその安定性

ACTIVITY INDUCING CHROMOSOMAL ABERRATIONS OF WATER
TREATED WITH CHLORINE DIOXIDE AND ITS STABILITY

伊藤 領彦*・村上 仁士*・戸田 博之*・福原 勝*

Sadahiko ITOH*, Hitoshi MURAKAMI*, Hiroyuki TODA*, Masaru FUKUHARA*

ABSTRACT; Mutagenic activity of water treated with chlorine dioxide was investigated, focusing on its stability. Chromosomal aberration test using Chinese hamster lung (CHL) cell was carried out to evaluate mutagenic activity. Activity inducing chromosomal aberrations of water treated with chlorine dioxide could be detected after the concentration of chlorite ion decreased. Activity inducing aberrations of humic acids treated with chlorine dioxide at neutral condition was in a range of one third to one half of that of chlorinated solution. It was found that activity inducing aberrations of water treated with chlorine dioxide decreased with hydrolysis reaction. While chloroform was produced with hydrolysis reaction, activity inducing aberrations decreased. The observed hydrolysis rate constant at neutral pH at 20°C was determined to be 0.15day^{-1} , and half-life was estimated to be 4.5 days, which were one-eleventh as large as those of chlorinated water. These findings suggest that it is necessary to evaluate the varying mutagenic activities in distribution systems when mutagenic activities of waters treated with chlorine and chlorine dioxide are compared.

KEYWORDS; chlorine dioxide, chloroform, mutagenic activity, chromosomal aberration test, hydrolysis

1. 緒 言

水道水の塩素処理によってトリハロメタンを代表とする有機塩素化合物が生成することから、その健康影響が論じられ、塩素処理の再考が求められて既に久しい。これまでに塩素処理法について、代替消毒剤を導入することを含めての見直しが行われてきた。代替消毒剤の候補は、二酸化塩素、クロラミン、オゾン、紫外線などであるが、これまでに、処理水の有害性¹⁾や微生物に対する不活化力²⁾などの調査研究が行われてきた。

これらのうち、二酸化塩素は、塩素の代替消毒剤として有力であるといわれ、基礎知見を集積する努力が続けられている^{3) 4)}。一方、筆者らは、琵琶湖水を濃縮した上で、これを塩素、二酸化塩素、クロラミン、オゾンの各消毒剤で処理し、その変異原性を染色体異常試験によって調べた⁵⁾。その結果、消毒処理水の染色体異常誘発性は、塩素処理水が最も強く、ついで二酸化塩素処理水、オゾン処理水の順であり、クロラミン処理水が最も弱かった。さらに微生物に対する不活化力と残留性をも考慮⁶⁾すると、二酸化塩

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

素が消毒剤として優れた特性を有していると考えられた。

このように、二酸化塩素は塩素の代替消毒剤として注目されているものの、なお検討すべき点は多く残されているのが現状である。塩素処理水については、これまでに数多くの調査研究が行われてきており、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^{7) 8)}。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^{9) 9) 10)}。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することを示していると考えられる。前報¹¹⁾では、このような塩素処理水の変異原性の安定性に着目し、特に、加水分解によってその変異原性が低下することを示した。

一方、二酸化塩素処理水については、このような変異原性の性質は殆ど何も解明されていない。筆者らが得た上記の結果も、二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性の強さを他の処理水のそれと比較しただけであり、安定性などの特性については不明なままである。本研究では、二酸化塩素処理水の変異原性を検出するとともに、変異原性そのものの特性について特に安定性に着目した実験的検討を行う。さらにこれらの特性を塩素処理水と比較し、二酸化塩素の代替消毒剤としての導入のための基礎資料とすることを目的とする。

変異原性は、哺乳動物の培養細胞を用いた染色体異常試験によって調べた。したがって、本文で用いる染色体異常誘発性という用語は、染色体異常試験によって測定された変異原性、という意味である。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、生起し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 試料水

本研究は、二酸化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、グ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、1140mg/ℓであった。体積比でフミン酸溶液9に対して2Mリン酸緩衝液1を添加し、これを消毒処理の試料とした。この結果、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。

2. 2 二酸化塩素処理

前報¹¹⁾で行った塩素処理の場合、フミン酸溶液に4000mg/ℓまでの塩素を注入してその処理水の染色体異常誘発性を検出した。フミン酸溶液と添加塩素がともに高濃度であるのは、実験上、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。一方、二酸化塩素の場合、二酸化塩素水溶液を通常の作製法にしたがって作製するとその濃度は数百mg/ℓであり、二酸化塩素水溶液をフミン酸溶液に注入したのでは消費二酸化塩素量が少なすぎる。そこで、消費量が数千mg/ℓとなるように、曝気によって二酸化塩素を注入することとした。

Fig. 1のように、二酸化塩素水溶液を得るのと同様の装置¹²⁾を作製し、最後の槽をフミン酸溶液としてこれに対して二酸化塩素処理を行った。処理は15~20℃の室温で行った。二酸化塩素発生槽には、13g/ℓ亜塩素酸ナトリウム溶液250mℓに(1+9)硫酸5mℓを添加し、空気流量20mℓ/minで得られる二酸化塩素を試料20mℓ中へ導入した。この途中に亜塩素酸ナトリウム粉末を充填した洗浄槽を設置している。気体中の二酸

化塩素濃度は、ヨウ化カリウム液中に導入して測定した。二酸化塩素の発生は、亜塩素酸ナトリウム溶液に硫酸を添加してから約70分で安定し、このときの発生量は約2.9 mg/minであった。その後12時間はこの発生量は安定していた。

Fig. 2は、初期pH7.0の条件でフミン酸溶液（200mMリン酸緩衝液）の二酸化塩素処理を行ったときの、二酸化塩素の注入量と排出量を示したものである。ここで注入量は、二酸化塩素の揮散、試水や装置自体のもつガス吸収特性などの影響を除去したものとするため、蒸留水18mlに2Mリン酸緩衝液2mlを添加して曝気を行ったときの排出二酸化塩素量を測定したものである。一方、排出量とは、フミン酸溶液に対して曝気したときの排出二酸化塩素量である。本実験条件では、注入と消費が安定した後の消費率は27%であった。処理後、残留消毒剤を除去するために還元剤を添加すると、変異原物質も還元作用を受けて変異原活性が著しく低下する可能性がある⁹⁾ため、二酸化塩素除去のための還元剤は添加しなかった。

水溶液中の二酸化塩素および亜塩素酸イオン濃度はDPD滴定法で測定した¹²⁾。

2. 3 塩素処理

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。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。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¹³⁾。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、数千mg/lの添加塩素が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¹²⁾。

2. 4 染色体異常試験¹⁴⁾と画像解析による異常染色体の定量化

本研究では、試料水の染色体異常誘発性の強さを相対的に比較することが目的であり、以下に示す染色体異常試験、および染色体標本に対する画像解析処理を行った。

新生チャイニーズ・ハムスター雌の肺細胞（細胞名CHL/IV、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。

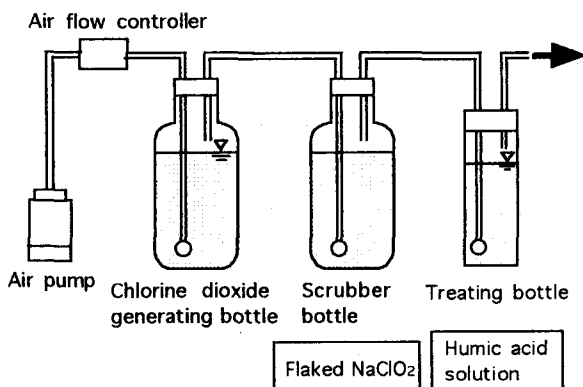


Fig.1 Chlorine dioxide generation and treatment system

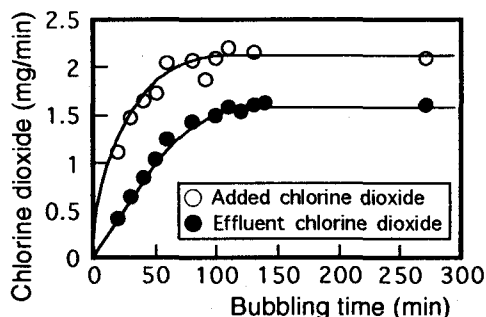


Fig.2 Condition of chlorine dioxide oxidation of humic acid

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。試料を添加したとき析出物などは特に観察されなかった。試料を添加してから24時間培養した後、染色体標本作製した。ところで、本実験の場合、試料水中には揮発性物質や未知の副生成物が含まれる上、異なる消毒剤で処理した試料水間でその染色体異常誘発性を比較する必要がある。そこで、ここでの培養は、開放系ではなく閉鎖系で行った。また代謝活性化は行わなかった。

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)¹⁵⁾。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。これは、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が、一方、発癌物質の多くのは交換型異常を多く出現させる傾向にあるとされ、石館^{16) 17)}は検体の一定濃度〔mg/l〕あたりの交換型異常染色体をもつ細胞の出現頻度(TR値と称している)を試験結果の定量的比較方法のひとつとして考案している。したがって、本画像解析法によって交換型異常染色体のみを検出していくのも不適切ではないと考えたものである。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。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。コントロールCHL細胞の染色体標本の交換型異常検出率は、平均値4.5/50細胞、標準偏差2.6であった。

2. 5 クロロホルムの分析

クロロホルムは、電子捕獲型のガスクロマトグラフ(島津製作所GC-8AIE)を用い、カラム:15%Silicone DC-550 on Uniport B, 60/80mesh, 2.0m×2.6mm i.d., カラム温度:60℃, 試料注入部温度:200℃, 検出器温度:200℃, キャリアガス:N₂ガス, 流量40ml/min, の条件で測定した。

3. 二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性の検出方法に関する検討

二酸化塩素が有機化合物と反応したとき、次式に示すように、 ClO_2 は ClO_2^- となりこの形で水中に残留する¹⁸⁾。



Lは有機物を表す。亜塩素酸イオン(ClO_2^-)は、塩素酸イオン(ClO_3^-)とともにその健康影響が指摘されており、二酸化塩素を用いた消毒において、は常に注視されるものである¹⁹⁾。

フミン酸溶液(200mMリン酸緩衝液)を二酸化塩素処理したときの、水中亜塩素酸イオン濃度の測定結果をFig. 3に示す。この亜塩素酸イオンには、染色体異常誘発性は殆どない¹³⁾が、一般毒性があるため、このままでは処理水の細胞毒性が強く、多くの場合、二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性を検出することができない。亜塩素酸イオンの細胞毒性を調べるため、 NaClO_2 溶液をCHLに投与したところ、培養液中亜塩素酸イオン濃度が11mg/l以下であれば染色体異常試験を行うことが可能であることがわかった⁵⁾。2. 4項で示したように、試料水中の物質は培養液中で1/

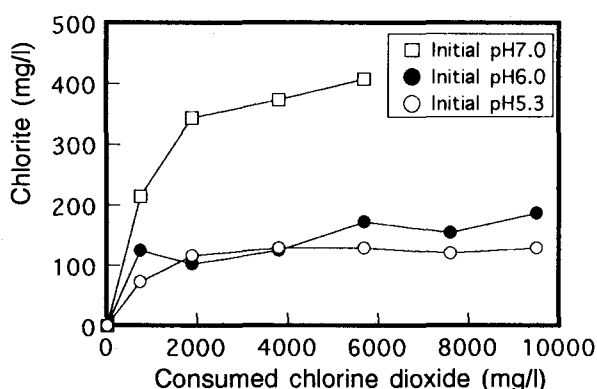


Fig.3 Accumulated chlorite in water treated with chlorine dioxide

10に希釈されるため、試料水中の濃度は110mg/l以下であれば染色体異常試験を行うことができる。

ところで亜塩素酸イオンも弱いながら酸化力を有する²⁰⁾ので、水中で物質と反応し、徐々に減少していくものと考えられる。二酸化塩素処理後の経過時間と亜塩素酸イオン濃度の変化を調べた例をFig. 4に示す。このように亜塩素酸イオンは時間とともに減少するので、二酸化塩素処理後、処理水を静置し、染色体異常試験が可能な110mg/l以下となった試料水について染色体異常試験を行うことができる。また図のように、酸性側の方がより速やかに亜塩素酸イオンが減少することがわかった。そこで、二酸化塩素処理後、処理水のpHを5として密栓、20℃、暗所に静置し、亜塩素酸イオンが減少するのを待つことにした。後述するように、酸性側は処理水の染色体異常誘発性がより安定な条件である。pH5においては5日後にも染色体異常誘発性は83%残存する(Fig. 11参照)。以上のことから、二酸化塩素処理水の染色体異常試験をFig. 5に示すフローにしたがって行うこととした。染色体異常試験に供するためのこの試料作製方法を、2. 3項に示した塩素処理水の作製方法と比較すると、同一条件ではないため、二酸化塩素処理水と塩素処理水の染色体異常誘発性を正確に比較するものとしては問題が残っている。

4. 二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性の検出結果

4. 1 中性条件における染色体異常誘発性

フミン酸溶液に対し、200mMリン酸緩衝液共存下、初期pH7.0の条件において、塩素および二酸化塩素で処理し、その染色体異常誘発性を調べた結果をFig. 6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。消毒剤添加量ゼロのときの値は、2. 4項に示したコントロールテストの平均値4.5/50細胞をプロットしたものである。塩素の処理時間は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。両者ともここまでの消費量までしか実験が行っていないのはつぎの理由による。まず、塩素の場合、添加塩素濃度が4000mg/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、染色体異常試験を行うことができなかった。二酸化塩素の場合、消費量2000mg/l

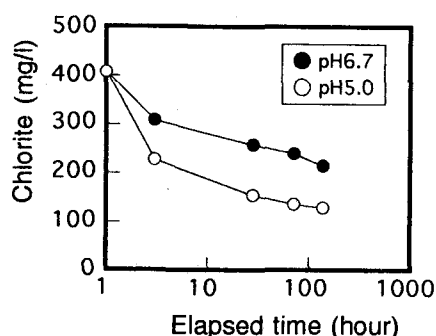


Fig.4 Residual chlorite in water treated with chlorine dioxide

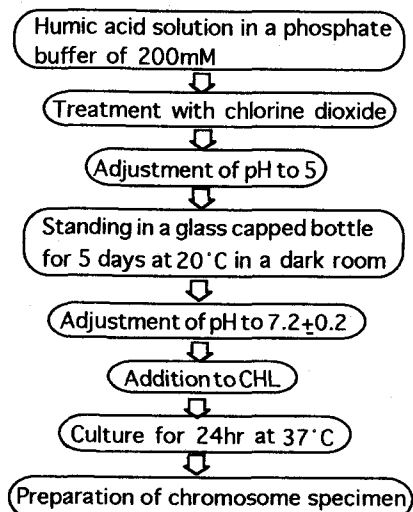


Fig.5 Procedure of chromosomal aberration test of water treated with chlorine dioxide

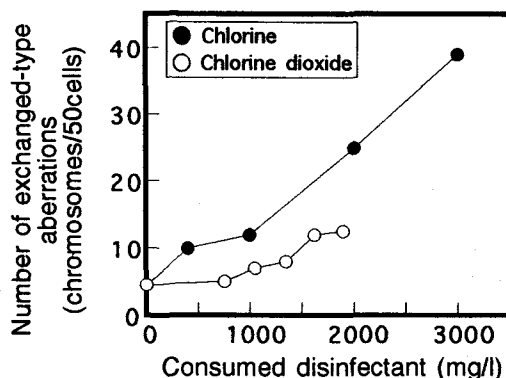


Fig.6 Activities inducing chromosomal aberrations of humic acids treated with chlorine and chlorine dioxide (initial pH7)

以上の試料では、pH 5にて5日間静置した後も亜塩素酸イオンが110mg/l以上残留し、この濃度以下となるのにさらに長時間を要するために染色体異常試験が行えなかったものである。Fig. 6より、二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性は、最大で塩素処理水の1/2程度あることがわかる。使用したフミン酸溶液のTOCは1140mg/lであるが、リン酸緩衝液を添加することで10%薄められ、1030mg/lとなっている。つまりFig. 6の横軸の1030mg/lのところ、Cl/TOC比またはClO₂/TOC比で1の注入率に相当する。通常の上水の消毒で行われるのはCl/TOC比で1付近（短時間で反応する還元型の無機物に対する消費量を除く）であるが、代替消毒剤を使用する場合にも、注入率自体は塩素の場合から大きく変更することは考えられていない⁴⁾。したがって、二酸化塩素の場合も仮にClO₂/TOC比1付近での注入が行われるとすると、Fig. 6では、二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性は塩素処理水のその約1/3である。さらに安全側を見込むならば、二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性は塩素処理水のその1/3～1/2であると評価できるであろう。

この塩素処理と二酸化塩素処理によって生成したクロロホルムの測定結果をそれぞれFig. 7, Fig. 8に示す。前節までに示したように、塩素は液体のものを注入したのに対し、二酸化塩素は曝気によって注入しているので直接比較するには問題があるが、二酸化塩素処理によって生成したクロロホルムは、塩素処理の場合の数十分の1である。

Fig. 7, Fig. 8で示したのはクロロホルムのみであるが、一般に、二酸化塩素を使用すれば、トリハロメタンや全有機塩素化合物（TOX）の量をはるかに少なくできることが多くの調査研究で示されてきている^{3) 4) 19) 21)}。そして、このことが塩素と比較して二酸化塩素が有利とされる主たる理由である。しかし、Fig. 6に示したように、二酸化塩素

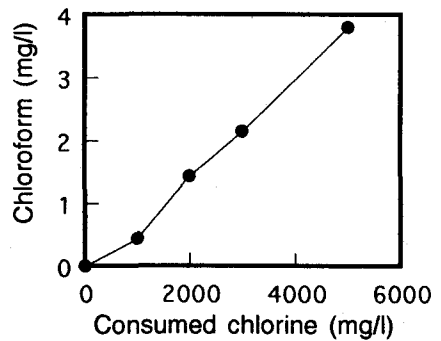


Fig.7 Chloroform produced by chlorination

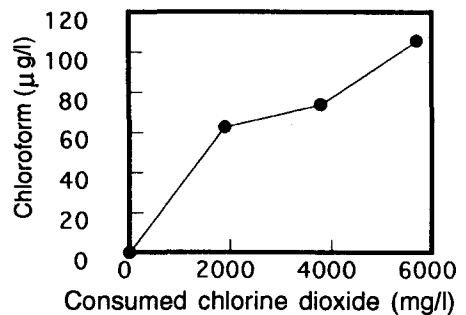


Fig.8 Chloroform produced by chlorine dioxide

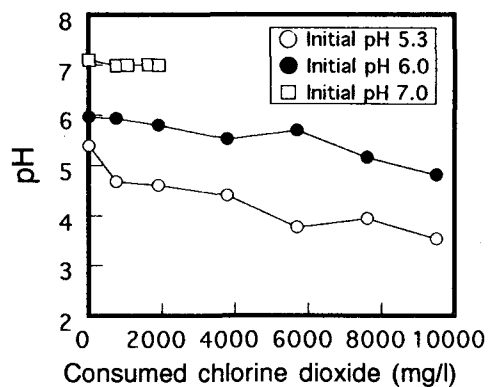


Fig.9 Variation of pH with chlorine dioxide

Table 1 Variation of pH with chlorination of humic acid

Added chlorine(mg/l)	Initial pH	pH after 3days
0	7.0	7.0
1000	7.0	7.0
2000	7.1	7.0
3000	7.1	7.0

処理水の染色体異常誘発性は塩素処理水の1/2程度もある場合がある。すなわち、塩素処理水と比較して二酸化塩素処理水の変異原性が格段に低いとはいえないことになり、二酸化塩素に過大な期待を寄せるのは誤りであるといえる。

Table 1に塩素処理時のpHの変化、Fig. 9に二酸化塩素処理時のpHの変化を示す。緩衝液中であるにもかかわらず、いずれもpHはやや低下傾向にあった。

4. 2 二酸化塩素処理時のpHの影響

初期pHを5.3および6.0として二酸化塩素処理を行い、その染色体異常誘発性を調べた結果をFig. 10に示す。図中、pH7.0のときのデータはFig. 6に示したものと同一である。

初期pH5.3および6.0の試料の場合、Fig. 3に示したように亜塩素酸イオンの生成量が少なく、初期pH7.0の場合よりも高二酸化塩素消費量の試料水まで染色体異常試験を行うことができた。また、このときのpHの変化をFig. 9に示した。低消費量域では、低pHで処理したものの方が染色体異常誘発性が高いが、高消費量域ではその差は小さくなっている。塩素処理水の場合、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域で処理したものの染色体異常誘発性は弱いという明瞭な結果が得られる^{11) 22)}が、二酸化塩素の場合、この傾向はあまり強くないようである。

また、初期pH5.3、pH6.0の場合ともに、消費量7800mg/lで染色体異常誘発性が最大となり、これ以上の消費量ではやや低下しているのが特徴である。本研究で行っている染色体異常試験の場合、各染色体標本とも50個の分裂細胞を観察し交換型異常数を計数しているの、この低下はAmes試験などにみられるようなkillingによるものではない。このように、消費量のあるところで変異原性がピークをとり、それ以上消毒剤を添加すると逆に変異原性が低下するという例は、塩素²³⁾やまたオゾン⁹⁾でもみられるようである。

5. 二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性の安定性に関する実験結果と考察

ここでは二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性の安定性に関する実験的検討を行う。特に、処理水が水中で受ける反応のひとつとしての加水分解に着目している。

まず、フミン酸溶液に対し、200mMリン酸緩衝液共存下、初期pH5.3の条件において、二酸化塩素を曝気注入し二酸化塩素処理水を作製する。このときの消費量は7600mg/lとした。ついでこの処理水を密栓し、20℃、暗所で3日間静置し、亜塩素酸イオン濃度を110mg/l以下とした。その後、この二酸化塩素処理水のpH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。結果をFig. 11, Fig. 12に示す。Fig. 11は、二酸化塩素処理水のpHを5.0または6.0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調整前の二酸化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示したものである。Fig. 12は、pHを7.0または8.5または10.0に調整した試料であり、pH7.0および8.5の試料については経過時間2日、pH10.0の試料については経過時間1日までの結果を示している。Fig. 11, Fig. 12から、二酸化塩素処理

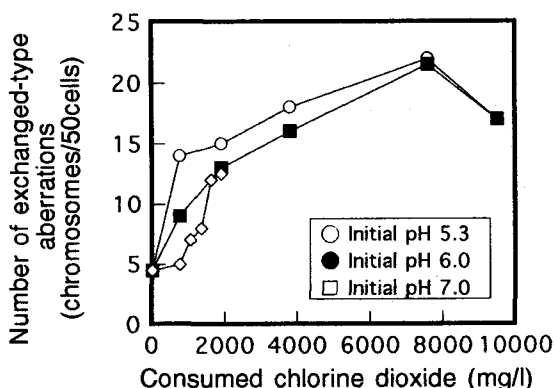


Fig.10 Activities inducing chromosomal aberrations of humic acids treated with chlorine dioxide at various pH

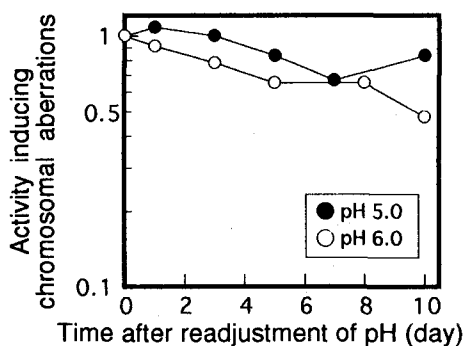


Fig. 11 Variation of activity inducing chromosomal aberrations after readjustment of pH (pH 5.0, pH 6.0)

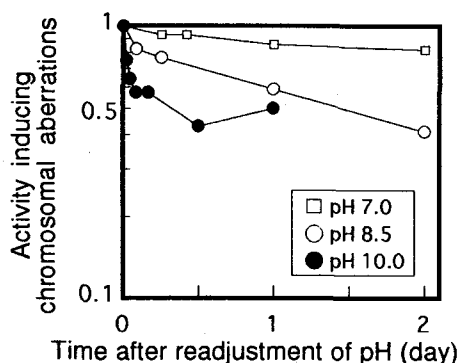


Fig. 12 Variation of activity inducing chromosomal aberrations after readjustment of pH (pH 5.0, pH 6.0)

水の染色体異常誘発性は安定なものではなく、次第に低下していく性質を有していることがわかる。また、明らかに、pHが高いほどその低下速度が大きい。

つぎに、この染色体異常誘発性低下の過程におけるクロロホルム濃度の変化を測定した。結果をFig. 13に示す。pH調整前の二酸化塩素処理水中にはクロロホルムが34 μ g/l含まれていたが、処理水のpHを高めることによりクロロホルムが生成したことを示している。一般に、二酸化塩素処理水中にも少量の有機塩素化合物が含まれる。pHが高いほど、この有機塩素化合物の加水分解が進むため、クロロホルムがより多く生成したものと考えられる¹⁸⁾。

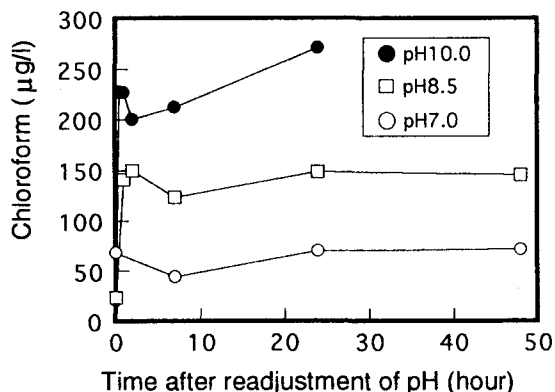


Fig. 13 Chloroform produced in water treated with chlorine dioxide after readjustment of pH

Fig. 12とFig. 13を比較すると、染色体異常誘発性の低下傾向とクロロホルムの生成傾向とが全く逆傾向を示している。Fig. 13に示した濃度のクロロホルムの染色体異常誘発性に対する寄与は無視できる⁵⁾ため、二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性には、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と考えられる。Fig. 12とFig. 13から、今後の課題点を指摘すれば、二酸化塩素処理水の場合、生成物の主体は塩素を含まない酸化生成物と考えられる²¹⁾ので、有害副生成物を含むカルボニル化合物など酸化副生成物の挙動について調べる 것이重要といえるだろう。ただし、クロロホルムの発癌性はDNA以外の標的への作用に起因するものと考えられている²⁴⁾ように、染色体異常試験などの変異原性試験は、発癌性を含む処理水の有害性全体を調べるものではない点に限界がある。

Fig. 11, Fig. 12の結果から、二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性そのものの低下速度定数を求めてみた。一般に、一次反応を仮定すれば、化学物質Pの加水分解は次式で表される²⁵⁾。

$$-\frac{d[P]}{dt} = K_{obs}[P] \quad (2)$$

ここで、 $[P]$ ：化学物質Pの濃度、 K_{obs} ：加水分解速度定数測定値、である。通常、Pは化学物質であるが、ここでは(2)式を染色体異常誘発性にあてはめてみる。Pを二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性とみなし、その初期減少速度から K_{obs} を求めた。結果をFig. 14に示す。参考のために、塩素処理水の結果¹¹⁾も同時に示した。pHが高いほど速度定数の値が大きく、また、 K_{obs} の値はpHすなわち OH^- 濃度とほぼ比例関係にあることがわかる。この結果は、二酸化塩素処理水中に含まれる副生成物が、主として OH^- による加水分解を受けることによって、二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性そのものが低下したものと考えることができる。また、

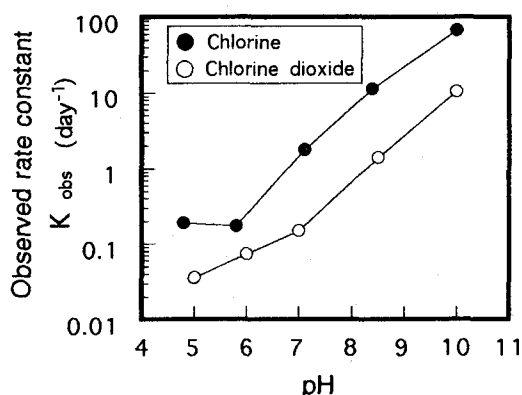


Fig.14 Observed rate constant of activity inducing chromosomal aberrations

Fig. 13に示したように、この過程でクロロホルムが生成している。前報¹¹⁾では、塩素処理水について、加水分解によって処理水の染色体異常誘発性が低下すること、およびその過程でクロロホルムが生成することを示したが、二酸化塩素処理水中の副生成物にも同様な反応がおきたものと推察できる。

Fig. 14において、二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性の中性条件における加水分解速度定数は 0.15 day^{-1} であり、半減期は4.5日である。一方、塩素処理水の場合、中性条件における加水分解速度定数は 1.76 day^{-1} であり、半減期は9.5時間であった。加水分解による初期の染色体異常誘発性の低下速度は、二酸化塩素処理水の方が約11倍小さいことがわかる。この意味を考えてみる。Fig. 6に示したように、染色体異常誘発性を単純に比較すると、二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性は塩素処理水の最大 $1/2$ であり、二酸化塩素処理水の方が変異原性は低い。これに対しFig. 14の結果は、この塩素処理水と二酸化塩素処理水の変異原性の差がその後縮まっていくことを示している。さらに、配水過程を経て家庭に水が給水されるまでの間に、その変異原性の大小が逆転する可能性さえあるといえる。二酸化塩素処理水の変異原性が塩素処理水の $1/2$ であるとすれば、両者の変異原性が同レベルになるのは10.4時間後である。Fig. 6を得た実験では、染色体異常試験に供するための試料作製方法が必ずしも同一ではなく、塩素処理水と二酸化塩素処理水の正確な比較は行えていない。また、上記の計算には、配水過程において残留消毒剤がない場合を想定したものとなっている。このような限定された条件下ではあるが、本実験結果は、給配水過程を含めて考えた場合、二酸化塩素処理水の方が塩素処理水よりも変異原性が低く常に有利であるとはいえないことがわかる。条件を整えた実験を行い、両処理水の変異原性をさらに詳細に比較検討することが今後の課題である。

6. 結 言

- (1) 亜塩素酸イオンの細胞毒性を回避し、二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性を検出した。
- (2) 中性条件で消毒処理を行ったフミン酸溶液の染色体異常誘発性を調べたところ、二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性は塩素処理水のそれの $1/3 \sim 1/2$ であると考えられた。
- (3) 二酸化塩素処理水が水中で受ける反応のひとつとして加水分解をとりあげ、染色体異常誘発性の安定性に及ぼす影響を調べた。その結果、二酸化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ことが認められた。また、その過程ではクロロホルムが生成し、処理水の染色体異常誘発性と含有クロロホルム濃度とは逆傾向を示した。これらの特性は塩素処理水と全く同様であった。中性条件に

おける初期の加水分解速度定数は 0.15日^{-1} であり、半減期は4.5日であった。この染色体異常誘発性の低下速度を、塩素処理水と比較すると、二酸化塩素処理水の方が約11倍小さく、このことから、二酸化塩素処理水の変異原性を塩素処理水と比較する場合、給配水過程をも考慮に入れる必要がある点を指摘した。

謝 辞

水道水のリスク研究についてご指導頂くとともに、画像処理装置ニコルUZEX2D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、本研究は文部省科学研究費奨励研究(A)の補助を受けて行ったものであり、記して謝意を表す。

参 考 文 献

- 1) 住友恒・伊藤禎彦：消毒副成物の評価，水道協会雑誌，第62巻，第5号，pp.18-20，1993.
- 2) Sobsey, M. D. : Inactivation of Health-related Microorganisms in Water by Disinfection Processes, Water Science and Technology, Vol. 21, No. 3, pp. 179-195, 1989.
- 3) 日本水道協会工務部：水道における二酸化塩素の適正使用方法に関する基礎的研究、平成3年度研究報告書，1992.
- 4) 相澤貴子・眞柄泰基・浅見真理・小笹泰・佐々木隆・鴻野卓・川西敏雄・堤行彦：上水への導入を前提とした代替消毒剤の適用に関する基礎的研究，第45回全国水道研究発表会講演集，pp. 268 - 269, 1994.
- 5) 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.
- 6) 住友恒・伊藤禎彦・田中雅人：大腸菌ファージを用いたウイルスの不活化実験による消毒剤の特性比較，水道協会雑誌，第61巻，第12号，pp. 24-33, 1992.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 伊藤禎彦・村上仁士：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，環境工学研究論文集，Vol. 30, pp. 219-226, 1993.
- 12) APHA-AWWA-WPCF : Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 17th ed., 1989.
- 13) 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.
- 14) 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.
- 15) 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.
- 16) 石館基：環境変異原性物質検出法の現状とその評価，水質汚濁研究，Vol. 4, No. 3, pp. 127-136, 1981.
- 17) 石館基監修：染色体異常試験データ集，エル・アイ・シー，1987.
- 18) 丹保憲仁編著：水道とトリハロメタン，技報堂出版，1983.
- 19) 小沢茂・相澤貴子・富沢恒夫・斉藤実・眞柄泰基：二酸化塩素処理の反応生成物に関する検討，水道協会雑誌，第60巻，第4号，pp. 10-18, 1991.
- 20) American Water Works Association: Water Quality and Treatment, McGraw-Hill, New York, 1990.
- 21) Rav-Acha, C. : The Reactions of Chlorine Dioxide with Aquatic Organic Materials and Their Health Effects, Water Research, Vol. 18, No. 11, pp. 1329-1341, 1984.
- 22) Itoh, S., Sumitomo, H., and Matsuoka, Y. : Detection of Activity-induced Chromosomal Aberrations Using Image Analysis, Water Science and Technology, Vol. 25, No. 11, pp. 227-234, 1992.
- 23) 丹保憲仁・亀井翼・中津川誠：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，水道協会雑誌，第56巻，第6号，pp. 2-11, 1987.
- 24) 永田親義：分子および電子レベルからみたがん発生の機構，サイエンス社，1982.
- 25) Wolfe, N. L. : Determining the Role of Hydrolysis in the Fate of Organics in Natural Waters, 176th ACS Annual Meeting, 1978.