

(21) 塩素および二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性の生成・低減過程

Formation and Decrease of Activity Inducing Chromosomal Aberrations of Waters Treated with Chlorine and Chlorine Dioxide

伊藤禎彦*・村上仁士**・福原 勝***・仲野敦士****

Sadahiko ITOH*, Hitoshi MURAKAMI**, Masaru FUKUHARA***, Atsushi NAKANO****

ABSTRACT; Changes of the mutagenic activity of waters treated with chlorine and chlorine dioxide were examined to estimate the mutagenic activity of drinking of water in distribution systems. Chromosomal aberration test using Chinese hamster lung (CHL) cell was carried out to evaluate mutagenic activity. There were differences in forming and decreasing rate of activity inducing aberrations between treated waters. The observed decreasing rate constant of the activity inducing aberrations of chlorinated water was 1.4 to 1.9 times as large as that of water treated with chlorine dioxide. The mutagenic activity of drinking water treated with chlorine dioxide was estimated to be 70-80% of that of chlorinated drinking water. However, the difference in mutagenic activity would be small when drinking water remains long in distribution systems. There were no disinfection by-products with the same variation tendency of activity inducing aberrations after the disinfection.

KEYWORDS; disinfection by-products, alternative disinfectant, chlorination, chlorine dioxide, chromosomal aberration test

1 緒 言

水道水の消毒法について、塩素の代替消毒剤に関する調査研究が進められ、導入のための有益な情報が蓄積されてきた^{1, 2, 3, 4, 5)}。これに伴い消毒処理水の変異原性に関しても知見が集積されてきている。住友ら^{6, 7)}は、独自に検討を行い、処理水の変異原性、微生物の不活合力、および消毒剤の残留性の観点から、単一の消毒剤としては二酸化塩素が消毒剤として優れた特性を有していることを示している。高効率浄水処理開発研究 (ACT21) の成果¹⁾でも、二酸化塩素は充分に実用化の域に達した技術であると評価されている。

これまでに、特に塩素処理水については、副生成物の有害性の観点から、数多くの調査研究が行われてきている。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^{8, 9)}。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, 10, 11)}。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とを示していると考えられる。

このような観点から著者らは、塩素および二酸化塩素をとりあげ、その処理水の変異原性の安定性に着目した検討を行った^{12, 13)}。変異原性は、染色体異常試験によって測定している。この結果、塩素および二酸化塩素処理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ことを示し、その原因は加水

* 京都大学大学院工学研究科都市社会学専攻 (Dept. of Urban Management, Kyoto Univ.)

** 徳島大学大学院工学研究科エコシステム工学専攻 (Dept. of Ecosystem Eng., The Univ. of Tokushima)

*** (株) 日水コン (Nihon Suido Consultants Co., Ltd.)

**** 東邦ガス株式会社 (TOHO GAS Co., Ltd.)

分解と考えられることを示した。実際の水道水を用いた実験でも、塩素処理によって生成した変異原物質が時間とともに分解し、pH値が高いほど低下速度が大きいことが示されている^{14, 15)}。さらに、その低下速度は二酸化塩素処理水の方が塩素処理水の11倍小さく、より安定であることが明らかとなった¹³⁾。したがって、処理を行った時点では、二酸化塩素処理水の方が変異原性は低いものの、給水過程においてその差は縮まっていくことを指摘した。

以上の結果は、消毒処理水の変異原性には、それが生成する過程と、やがて低減していく過程とがあることを示すものである。そして、塩素と二酸化塩素では、生成した変異原性の強さ、生成および低減の速度が異なる。したがって、二酸化塩素の導入にあたっては、これらの特性を塩素と比較しつつ把握し、適切に使用することが重要であるといえる。以上をふまえ本研究は、消毒剤注入後の変異原性について、その生成から低減に至る変化過程を詳細に調べ、給配水過程における変異原性の変化を推定することを目的とする。また、この変化過程における副生成物の変化についても同時に測定し、考察を行った。

なお、本研究では、消毒処理水の変異原性の変化に関してその基本的特性を検討することを主たる目的としており、試薬フミン酸を自然水中有機物質のモデルとして用いている。この際、試料水を濃縮することなく変異原性およびその変化過程を測定可能とするため、フミン酸溶液および添加消毒剤はともに高濃度としている。当然、このような実験結果を用いて実際の水道水の挙動を推定する際には注意すべき点があるが、それらについては4-2において、自然水を用いた場合の結果と比較しつつ考察を行っている。

また、本研究で採用した染色体異常試験の意義と限界^{16, 17)}についてまとめておく。一般に変異原性試験にはAmes法に代表される微生物を用いたものが多い。しかしヒトに近い哺乳動物を試験対象とすることがより望ましく、その簡便法として培養細胞を用いる方法がある。また、遺伝学的指標の点からは、遺伝子の突然変異だけではなく、染色体異常を指標とする試験も必要であるというのが、変異原性試験法における国際的動向となっている。一方、限界としては、変異原性を確認するためには複数の試験を組み合わせることが望ましい点、*in vitro*試験で異常誘発が認められた場合これを*in vivo*試験で確認する必要がある点、などがあげられる。

2 実験方法

2.1 試料水

試薬フミン酸（和光純薬）3gを0.1M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）にてろ過した。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。

2.2 塩素処理

塩素処理は、市販の次亜塩素酸ナトリウム溶液（和光純薬、化学用、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、溶液中のTOCは910mg/L、リン酸緩衝液濃度は200mMである。反応は、密栓し、20℃、暗所で静置して行わせた。容量13mLのスクリーキャップ式サンプル瓶に試料水を注入して溢れさせ、ヘッドスペースは完全になくした。このサンプルを必要数作成しておき、所定時間経過後、試料水を分析および染色体異常試験に供した。反応期間中、処理水のpHは 7.0 ± 0.1 とほぼ一定であった。

また、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も還元作用を受けて変異原活性が低下することが認められている¹⁰⁾。このため、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500mg/Lまでは、結果に影響を及ぼさないことを確認した。したがって、本実験条件では、残留塩素濃度が500mg/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。塩素濃度はDPD滴定法で測定した¹⁸⁾。

2.3 二酸化塩素処理

二酸化塩素水溶液を通常の作製法にしたがって作製^{18, 19)}するとその濃度は数百mg/L程度であり、この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、亜塩素酸ナトリウム(和光純薬)溶液と塩酸(和光純薬、特級)(1+3)の2液を混雑することで二酸化塩素水溶液を作製した²⁰⁾。二酸化塩素処理は、用時に作製した二酸化塩素溶液(二酸化塩素濃度2%と4%)を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、さらに二酸化塩素溶液を蒸留水で希釈したもの2mLを、二酸化塩素濃度が所定の濃度となるように添加した。反応は、密栓し、20℃、暗所で静置して行わせた。使用したサンプル瓶、および実験操作は塩素処理の場合と同様である。処理水の初期pHは7.0で、その後やや低下したもののいずれも6.5以上の中性域に保たれていた。

二酸化塩素処理を行うと亜塩素酸イオンなどが生成する結果、処理水の細胞毒性が強く、このままでは染色体異常試験を行うことができない。そこで所定時間反応させた後、処理水のpHを塩酸で2.5に調整し、その後5日間、20℃、暗所で静置した。pHを酸性域にしたのは、亜塩素酸イオンは低pH条件で低下しやすいためである¹³⁾。本染色体異常試験の条件では、亜塩素酸イオンが110mg/L以下であれば試験を行えることがわかっており、静置した試料中の濃度がこれ以下になったものを染色体異常試験の試料とした。また、残留二酸化塩素除去を目的とした還元剤添加は行わなかった。

2.4 染色体異常試験²¹⁾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/IU、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、染色体標本作製した。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)²²⁾。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を検出、定量化した。原則として染色体像は任意の5000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ため、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。

本研究で行った上記方法は、染色体異常試験の結果を客観的に評価するため画像解析を導入した独自の方法である。一般に、ある化学物質について染色体異常誘発性の有無を判定する目的や、複数の試験機関における試験結果を比較する目的には、標準試験法¹⁷⁾を用いる必要があり、本研究の方法をそのまま使用するのには適当ではない。上記方法は、著者らが測定する染色体異常誘発性の大小を相対比較する目的に使用可能なものである。

2.5 副生成物の分析

全有機ハロゲン化合物(TOX)は、全有機ハロゲン化合物分析計(三菱化学TOX-10Σ)を用いて測定した。クロロホルムは、ヘキサンを用いる溶媒抽出法により、電子捕獲型ガスクロマトグラフ(島津製作所GC-8AIE)で測定した。

処理水中のカルボニル化合物量を把握するため、カルボニル基炭素量を測定した。ここではバニリンとの呈色反応を利用する方法を用いた²³⁾。また、アルデヒドのうちC₀~C₃の直鎖低分子アルデヒドを測定した。塩酸 α -(2,3,4,5,6)ペンタフルオロベンジルヒドロキシアミン(PFBOA)溶液を用いる誘導体化法により、電子捕獲型ガスクロマトグラフ(島津製作所GC-8AIE)を用いて測定した²⁴⁾。なお、ホルムアルデヒドは市販の蒸留水中にも含まれていることが知られているため、分析操作には再精製水を作製して用いた。

亜塩素酸イオンおよび塩素酸イオンは、イオンクロマトグラフ(東ソー)法によって測定した¹⁹⁾。測定条件を示す。検出器: 東ソー CM25μSFS、カラム: TSKgel IC-PW、溶離液: 2mM安息香酸(pH5.5)、

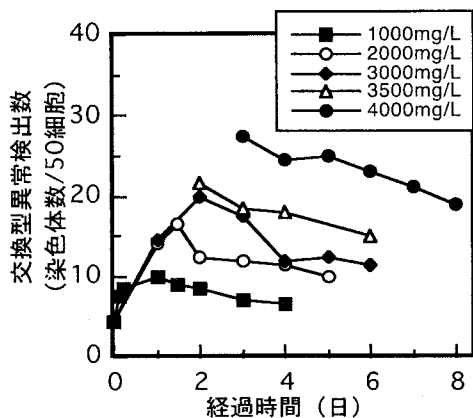


図1 塩素添加後の処理水の染色体異常誘発性の変化

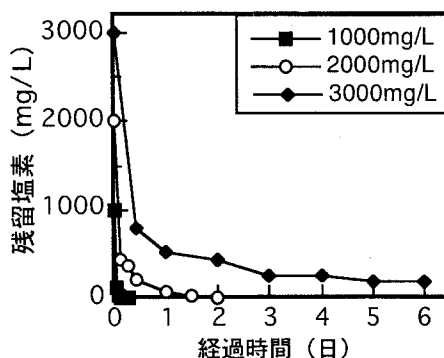


図2 塩素処理水中の残留塩素濃度の変化 (添加塩素濃度1000mg/L, 2000mg/L, 3000mg/L)

流量: 1.2mL/min、試料注入量: 100 μ L、カラム温度: 35 $^{\circ}$ C。

3 実験結果

3.1 塩素処理水における変化過程

塩素を添加した直後からの処理水の染色体異常誘発性の変化を調べた結果を図1に示す。また、このときの塩素処理水中の残留塩素濃度を測定した結果を図2、図3に示す。図1に示すように、添加塩素濃度が3500mg/L以上の試料では、塩素添加後2～3日後まで残留塩素が500mg/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。実験方法で記したように、処理水中のTOCは910mg/Lであるので、添加濃度が910mg/Lであれば、塩素/TOC比(mg/mg)で注入率1に相当する。

塩素処理水の染色体異常誘発性は、塩素を添加した直後から緩やかに生成し、最大となる点を経て低減へと至っている。添加した塩素濃度が高いほど、処理水の染色体異常誘発性は強くなるが、染色体異常誘発性が生成し最大となるのに要する時間が長くなっているのが特徴である。塩素の添加によって染色体異常誘発性が増大していくのは2、3日以内であるといえる。

注目すべきは、添加濃度が1000mg/Lの試料と3000mg/L以上の試料である。添加濃度1000mg/Lの試料では、2時間で添加した全ての塩素が消費されているにもかかわらず、その染色体異常誘発性は増大し続け、最大に達するのに1日を要した。このように、塩素処理水においては、塩素消費量と処理水の染色体異常誘発性には差があることがわかる。つまり、染色体異常誘発性は、塩素の消費とともに速や

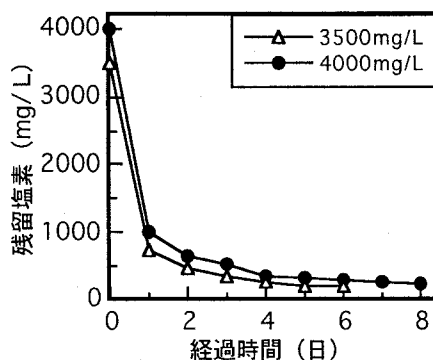


図3 塩素処理水中の残留塩素濃度の変化 (添加塩素濃度3500mg/L, 4000mg/L)

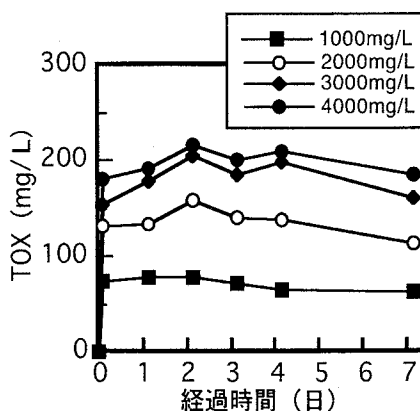


図4 塩素処理水中のTOX

かに生成するのではなく、塩素を消費した後で、緩やかに生成するといえる。

一方、添加濃度が3000mg/L以上の試料では、塩素/TOC比で0.2以上の塩素が処理水中に残留しているにもかかわらず、その染色体異常誘発性は次第に低減していった。残留塩素が有機物と反応して変異原物質を生成するよりも、すでに生成している変異原物質が加水分解によって減少する速度の方が大きいと推察できる。

塩素を添加した直後からのTOXとクロロホルムの変化を調べた結果を、それぞれ図4、図5に示す。TOXは、塩素を添加した直後にほとんど生成し終わるのに対し、クロロホルムは最大生成量に近づくには1日程度を要している。これは、従来の調査研究における結果と同じである。ただ、処理水をそのまま数日間放置しておくと、TOXはやや低下する傾向にあり、クロロホルムはやや増加する傾向にあった。

両者の変化傾向を図1の染色体異常誘発性の変化と比較してみると、一致していないことがわかる。まず、染色体異常誘発性の生成過程をみると、TOXが塩素添加直後に生成するのに対して、染色体異常誘発性はその後1～2日をかけてゆっくりと生成している。つまり、いったん生成したTOXは次第に構造が変化していくが、その過程で一部は図5に示すクロロホルムになる一方、一部は変異原性をもつ物質に変化することが考えられる。なおクロロホルムの染色体異常誘発性がほとんどないことは別に確認しており⁶⁾、図5で生成した濃度のクロロホルムが図1の染色体異常誘発性に寄与していることはない。

また、染色体異常誘発性の低減過程をみると、TOXの減少量と比較して、染色体異常誘発性の方がはるかに大きく低減していることがわかる。TOX濃度に大きな変化はないため、TOXを構成する有機塩素化合物の構造が変化したと考えられ、その変化した有機塩素化合物が染色体異常誘発性に大きく寄与していると推定できる。またわずかに減少したTOXも染色体異常誘発性に寄与している可能性がある。前述の染色体異常誘発性の生成過程では、その構造が変化することで変異原活性をもつまたは強まるものがあると考えられるが、低減過程では、その構造が変化することで変異原活性を失うまたは弱まるものがあると考えられる。このことは同時に、TOXとして測定される物質の中には、強い変異原性を有するものと変異原性が弱いものがあることを示唆しているといえる。なお、TOXの減少に伴い、クロロホルムもわずかに増加しているが、この増加傾向と染色体異常誘発性の低下傾向とは一致していない。このことからクロロホルムの存在と染色体異常誘発性とは関係ないことがわかる。

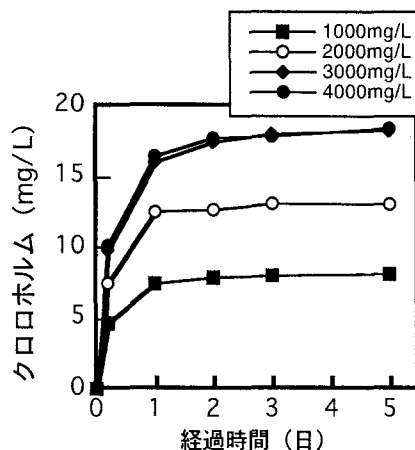


図5 塩素処理水中のクロロホルム

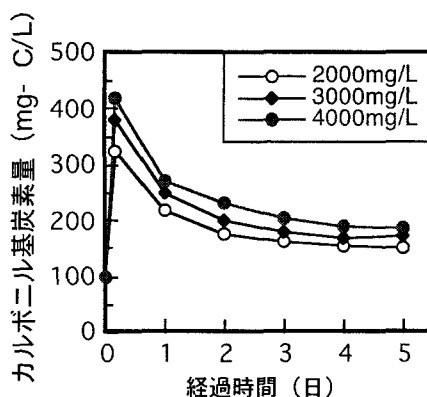


図6 塩素処理水中のカルボニル基炭素量

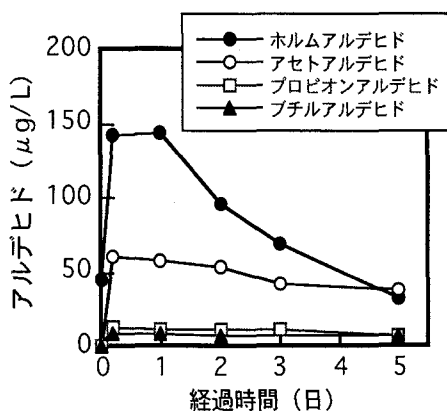


図7 塩素処理水中のアルデヒド
(添加塩素濃度3000mg/L)

カルボニル基炭素量の変化を測定した結果を図6に、 $C_0 \sim C_3$ の直鎖低分子アルデヒドを測定した結果の例を図7に示す。これらの変化傾向も染色体異常誘発性の変化と対応しているとはいえない。生成したカルボニル化合物や低分子アルデヒドが減少するのは、加水分解や残留塩素との反応のためである可能性があるが、詳細は不明である。

3.2 二酸化塩素処理水における変化過程

二酸化塩素を添加した直後からの処理水の染色体異常誘発性の変化を調べたものを図8に示す。また、この処理水中の残留二酸化塩素濃度を測定した結果を図9に示す。図1と図8を比較すると、塩素処理水の染色体異常誘発性は二酸化塩素処理水のそれの1.3倍程度となっている。詳しくは4節で検討する。

二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性は、二酸化塩素を添加した直後から増大し、最大となる点を経て低減へと至っている。添加した二酸化塩素が多いほど、最大点における染色体異常誘発性は強いものとなる。また、添加した二酸化塩素が2000mg/Lまでの処理水では、染色体異常誘発性が最大となるに要する時間は10時間以内と変化はなかった。このことから、二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性は、塩素処理水に比べて速やかに生成すると考えられる。一方、添加濃度4000mg/Lの処理水では、二酸化塩素が処理水中に残存しているにもかかわらず、その染色体異常誘発性は緩やかに低減していった。

二酸化塩素処理水中の亜塩素酸イオンおよび塩素酸イオンを測定した結果を図10に示す。生成量の最大点においては、添加した二酸化塩素の63%がこれらの無機副生成物に変化した。亜塩素酸イオン、塩素酸イオンともに二酸化塩素添加後1日または2日後に最大となった後減少している。亜塩素酸イオン、塩素酸イオンともに弱い酸化力を有するので、処理水中の有機物と反応し徐々に濃度が低下していくと考えられる。二酸化塩素処理を考える場合、これら無機副生成物の監視が必要であるが、このように時間とともに濃度が変化することにも注意する必要がある。

二酸化塩素を添加した直後からのTOXとクロロホルムの変化を調べた結果をそれぞれ図11、12に示す。生成量を塩素処理水と比較すると、TOXは塩素処理の場合の5～7%程度、クロロホルムは1%程度であった。このように二酸化塩素を使用すれば、処理水中の有機塩素化合物の濃度ははるかに低減することができ、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、図1と図8に示したように、二酸化塩素処理水の

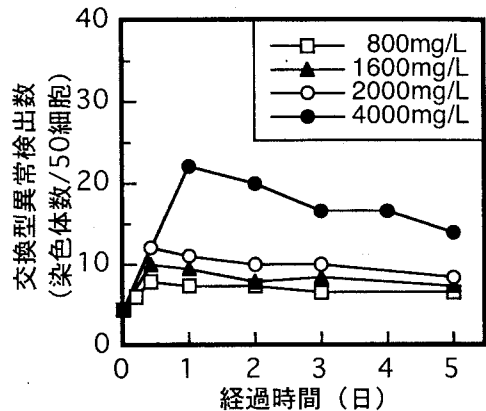


図8 二酸化塩素添加後の処理水の染色体異常誘発性の変化

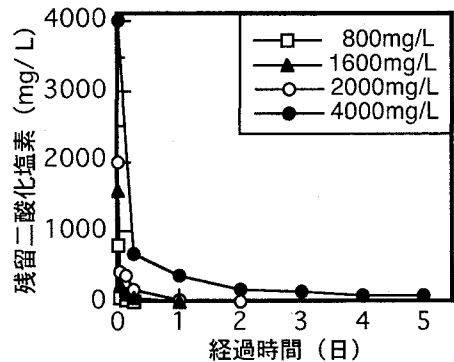


図9 二酸化塩素処理水中の残留二酸化塩素濃度の変化

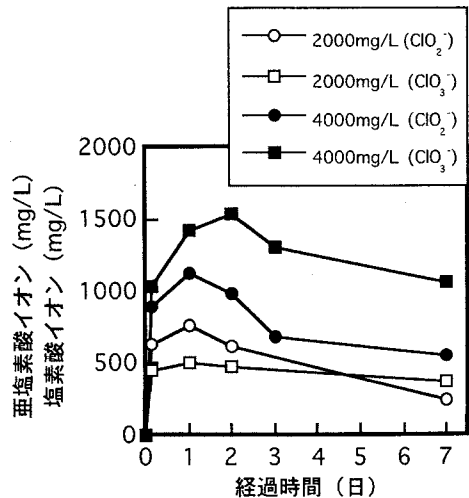


図10 二酸化塩素処理水中の亜塩素酸イオンと塩素酸イオンの変化

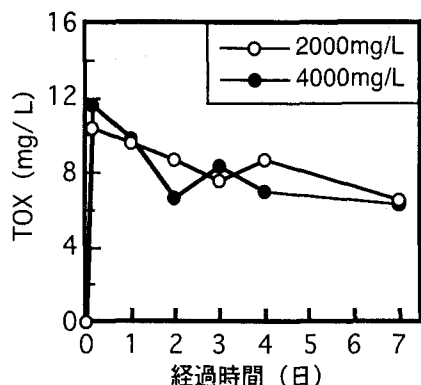


図11 二酸化塩素処理水中のTOX

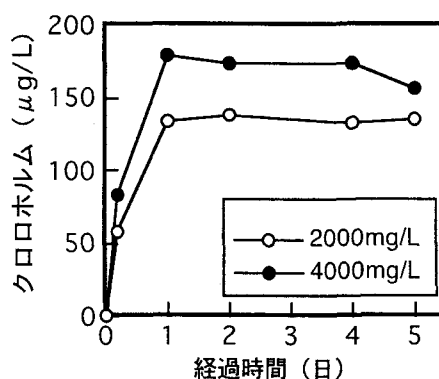


図12 二酸化塩素処理水中のクロロホルム

染色体異常誘発性は塩素処理水の75%程度ある。二酸化塩素については現在までに、消毒効果や副生成物の確認、生成技術や維持管理技術の確立等がなされ、最終消毒剤としても十分に適用可能であると評価されている¹⁾。しかし、消毒副生成物の問題を回避できるという理由で二酸化塩素の適用を考えるのは早計であるといえる。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ず、この意味で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。

カルボニル基炭素量の変化を測定した結果を図13に、 $C_0 \sim C_3$ の直鎖低分子アルデヒドを測定した結果の例を図14に示す。生成量を塩素処理水と比較すると、カルボニル基炭素量は塩素処理水よりやや少ない程度、低分子アルデヒドはやや多いものの大きな差はみられなかった。

上記のように、二酸化塩素処理水を塩素処理水と比較すると、有機塩素化合物の生成量ははるかに少ないが染色体異常誘発性は格段に低いわけではない。著者ら²⁵⁾は、この二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性に主に寄与するのはカルボニル化合物であると考えている。二酸化塩素処理水その他、クロラミンとオゾンによる各処理水についても、カルボニル化合物の生成と染色体異常誘発性との関係について検討し、両者の相関を認めている²⁵⁾。そこでここでは、カルボニル基炭素量を測定した図13と低分子アルデヒドを測定した図14の変化傾向を、図8の染色体異常誘発性の変化と比較してみる。これらの測定結果から、やはりその傾向は一致しているとはいえないことがわかる。まず、カルボニル基炭素は二酸化塩素添加後短時間に生成しているが、その後減少している。しかし、染色体異常誘発性はこれに遅れて増大し続けるようである。したがって、二酸化塩素によって生成するカルボニル化合物の中にも、変異原性があるものとないものがある

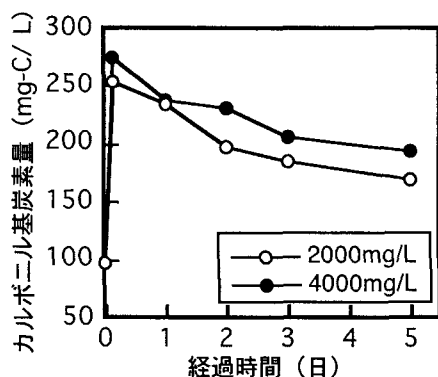


図13 二酸化塩素処理水中のカルボニル基炭素量

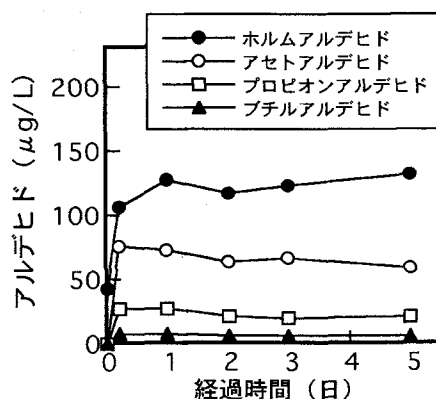


図14 二酸化塩素処理水中のアルデヒド (添加二酸化塩素濃度4000mg/L)

と思われる。ただ、染色体異常誘発性の低減とカルボニル基炭素量の減少過程では、その傾向が一致しており、カルボニル化合物が染色体異常誘発性に寄与していることを示唆している。しかし、副生成物と染色体異常誘発性との関係は不明な点も多く、さらに検討を進める余地がある。

以上のように、塩素および二酸化塩素による各処理水中の副生成物を測定し、染色体異常誘発性と比較したわけだが、測定した範囲では、染色体異常誘発性の变化傾向と一致する副生成物は見いだされなかった。一方、著者らは、特に塩素処理水について検討を行い、有害性の变化を把握する指標物質としてMX (3-Chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone) が適当であることを示している^{26, 27)}。

4 染色体異常誘発性の变化の推定

本実験では、フミン酸をモデル有機物として用い、染色体異常誘発性の变化を測定した。ここではその結果から、塩素および二酸化塩素の染色体異常誘発性の大小関係の相対的な变化を推定する。

4.1 染色体異常誘発性の低下速度の定量化

図1および図8のうち、まず、処理水の染色体異常誘発性が低減する過程に限定して、塩素および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る。定量化は一次反応を仮定し、次式により行う。

$$\frac{d[P]}{dt} = -K_{obs}[P] \quad (1)$$

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 $[\text{日}^{-1}]$ 、である。通常、Pは化学物質であるが、ここでは染色体異常誘発性そのものが加水分解を受けることを想定し、(1)式をあてはめてみる。図1および図8から、低減過程における染色体異常誘発性の低下速度を求めた結果を図15に示す。図15は、低下速度定数 K_{obs} を、処理水中の残留消毒剤の量(残留消毒剤/TOC)に対してプロットしたものである。なおここで、TOCとしてはフミン酸溶液の初期値である910mg/Lを用い、残留消毒剤濃度としては、上記低下速度を求めた期間における平均濃度を用いている。

図15から、残留消毒剤濃度が高いほど K_{obs} の値が小さい、すなわち染色体異常誘発性が低下しにくいことがわかる。ここに示される K_{obs} と残留消毒剤/TOCとの関係を定式化するに足る根拠は充分あるわけではないが、残留消毒剤が存在していても染色体異常誘発性が低下する(K_{obs} が0にはならない)ことを表現するため、直線近似ではなく、ここでは次式のような指数型で整理した。

$$\text{塩素処理水} : K_{obs} = 0.32 \exp\{-1.4 \times (\text{Cl}_2/\text{TOC})\} \quad (2)$$

$$\text{二酸化塩素処理水} : K_{obs} = 0.17 \exp\{-0.40 \times (\text{ClO}_2/\text{TOC})\} \quad (3)$$

この曲線は図15中に示してある。この結果、染色体異常誘発性の低下速度がふたつの処理水の間で異なること、残留消毒剤濃度が高ければ、処理水の染色体異常誘発性の低下速度は小さくなることわかる。また、図の範囲では、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1.4～1.9倍小さく、より安定であるといえる。

(2)、(3)より、処理水中に消毒剤が残留していない場合、塩素処理水の K_{obs} は0.32 日^{-1} 、半減期は2.2日であり、二酸化塩素処理水の K_{obs} は0.17 日^{-1} 、半減期は4.1日であると推定される。このように、残留消毒剤がない場合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1.9倍小さい。

この値を著者らが前報で得た値^{12, 13)}と比較してみる。そこで得られた中性条件における低下速度定数は、塩素処理水が1.76 日^{-1} であり、二酸化塩素処理水が0.15 日^{-1} であっ

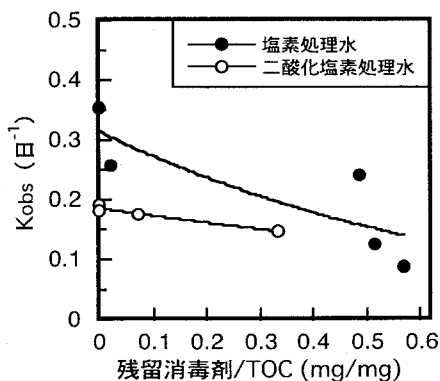


図15 染色体異常誘発性の加水分解速度定数に及ぼす残留消毒剤の影響

た。これらと比較すると、二酸化塩素処理水の値はほぼ同程度であるが、特に、塩素処理水の値が小さいことがわかる。

この理由は、消毒処理を行った条件、特にpH条件が異なることによる。前報¹²⁾では、初期pH5.3の条件で消毒剤を添加し、まず消毒処理水を作製した。その後処理水のpHを再調整して、加水分解を開始させ、染色体異常誘発性の変化を測定している。このとき消毒剤は残留していない。この場合、消毒処理水を作製するまでは、酸性側であるから、加水分解は起こりにくく変異原物質が蓄積したままである。そして、その後のpH調整によってはじめに加水分解が開始する。いわば、生成する変異原物質の量と、その変異原物質が減少する速さ、の両者を区別して測定している。これに対して、本実験では、はじめから中性であるから、図1、図8で染色体異常誘発性が増大する過程においても、生成した変異原物質の加水分解も同時に起きている。その結果、図1、図8で染色体異常誘発性が低下しはじめる時点では、すでに一部が加水分解を受けているため、その後観察される染色体異常誘発性の低下は緩やかなものになる。速度定数の差が塩素処理水において大きいのは、塩素処理によって生成する有機塩素化合物を中心とした副生成物の方が、より加水分解を受けやすいからであろう。

実際の水道水は中性に保たれているので、前報の結果は染色体異常誘発性の低下速度を過大評価することになる。また、本実験は消毒剤が残留する条件での染色体異常誘発性の変化をも測定している。したがって、図15で得られた結果が、より実際の条件に近いものと考えられる。

4.2 給配水過程における染色体異常誘発性の変化の推定

(1) 実験結果のモデル化

これまでの実験で、染色体異常誘発性はいずれも、生成し最大となったのち低減することがわかっている。したがって、給配水過程における変化過程を推定するためには、①染色体異常誘発性が生成しはじめ最大となるまでの時間、②低減過程における低下速度、および③染色体異常誘発性が最大となったときの強さ、の3つを知る必要がある。

この推定を試みる場合の問題は、本研究での実験は試薬フミン酸を用いており、実際の水道水での変化を推定するには無理があるという点である。試薬フミン酸を用いた実験では、TOC約1000mg/Lの溶液に塩素を1000mg/Lのオーダーで注入している。一方、実際の水道水では、TOC 1~2 mg/Lに対して1~2 mg/L程度の塩素を注入するのが普通である。まず、反応速度に大きな差があり、生成する副生成物の種類にも差があると考えるのが自然である。

しかし著者らは、琵琶湖水を対象として、塩素処理にともなう染色体異常誘発性の生成と変化について測定 (TOC 1.9~2.7 mg/L, 注入塩素濃度 2.2~3.8 mg/L) しているが、その結果、実際には染色体異常誘発性が最大となるまでの時間は0.5~1日であった^{27, 28, 29)}。これは、図1中の塩素/TOC比で注入率1に近い1000 mg/Lの場合とほぼ同じである。TOCと注入塩素濃度に大きな差があるにもかかわらず、同程度ということになる。

一方、染色体異常誘発性が最大になった後の低減速度については、その主たる原因が加水分解であることから両者に大きな差が生じるとは考えにくい。実際、琵琶湖水を用いて測定した結果^{27, 28, 29)}では、残留塩素/TOC 0.42の場合で0.14 日⁻¹、残留塩素/TOC 0.10の場合で0.20 日⁻¹であり、図15に示す速度定数と同程度という結果が得られている。

以上より、本実験結果を直接用いて水道水中の変化を推定することで大きな誤りは生じないものと判断した。ただし、本質的に上記のような問題点を含んでいるため、以下に示される値そのものの信頼性は低いと考えておく必要がある。

まず、処理水の染色体異常誘発性が最大となるのに要する時間については、図1から、添加した塩素濃度が高いほど長くなっている。注入率が塩素/TOCで1.0の場合、(本実験では910mg/Lを意味する)では24時間、2.0の場合(1820mg/L)では36時間で塩素処理水の染色体異常誘発性が最大になるとした。一方、二酸化塩素の場合、図8から、注入率が二酸化塩素/TOCで1.0, 2.0の場合ともに、処理水の染色体異常誘発性が最大となるのに要する時間は10時間程度であるとみなす。

つぎに、染色体異常誘発性の低減過程における低下速度は、残留消毒剤濃度の関数として表わされた(2)、

(3)式を用いる。

また、塩素および二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性が最大となるときの強さを比較するため、図1および図8から、染色体異常誘発性が最大となったときの値を注入消毒剤/TOCに対してプロットした。結果を図16に示す。この図の傾きを比較すると、注入率が同じならば、二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性の最大値は、塩素処理水のその77%であった。

(2) 給配水過程における条件の設定

水道原水および浄水における有機物指標の全国調査結果³⁰⁾によれば、水道原水での平均値はTOC 2.4mg/L、DOC 1.9mg/Lであり、90パーセンタイル値はTOC 5.0mg/L、DOC 3.4mg/L、最大値はTOC 11.7mg/L、DOC 4.4mg/Lであった。また、浄水での平均値はTOC 1.0mg/L、DOC 1.1mg/Lであり、90パーセンタイル値はTOC 1.8mg/L、DOC 1.8mg/L、最大値はTOC 2.3mg/L、DOC 2.3mg/Lであった。また、凝集沈殿-急速砂ろ過処理

によって、原水中のNVDOC(不揮発性溶存有機炭素)1.5~3.5mg/Lのうち、45%程度が除去される³¹⁾との報告がある。これらを参考に、ここでは、通常の場合として原水のDOC濃度が2.0mg/Lの場合と、やや汚濁したケースとして3.5mg/Lの2通りを考える。なお、砂ろ過水ではTOCとDOCはほぼ等しいと考える。

消毒剤の注入率は、通常、塩素/TOC比1付近で行われていると考えられる(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)。また、水源が悪化したために塩素/TOC比2以上の塩素を注入している浄水場もある。一方、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。ここでは、凝集沈殿-急速砂ろ過後の水に、塩素と二酸化塩素を注入する場合の注入率が、消毒剤/DOC比で1の場合と、原水水質が悪化しているケースとして2の場合について検討することにする。ただ、二酸化塩素の場合、生成する無機副生成物の濃度の点から、小沢ら¹⁹⁾は、注入する水のTOCが1mg/L程度以下である必要があるとしている。したがって、後者のケース(原水DOC3.5mg/L、砂ろ過水DOC1.65mg/L)に二酸化塩素を使用することは、実際には困難であることも考えられる。

残留塩素については、遊離塩素で0.1mg/L以上保持することとされているが、実際には多めの0.4mg/L程度の残留塩素を含んでいる場合が多い。また、原水が悪化している場合では、0.6mg/L以上となっているケースもある。ここでは、塩素および二酸化塩素ともに、原水水質に応じて0.1~0.7mg/Lとして検討することとした。この残留濃度と砂ろ過水のDOCとの比が、残留消毒剤/DOCの値である。

以上、給配水過程を想定して設定した条件を表1に示す。

(3) 染色体異常誘発性の変化の推定結果

原水のDOCが2.0mg/L、消毒剤注入量が1.1mg/L(消毒剤/DOC=1)で、残留消毒剤濃度が0.1および0.4mg/Lである場合を図17に示す。図では、塩素処理水の染色体異常誘発性が最大に達するときの値を1.0として、これに対する相対値を描いている。

この場合は、水源水質が比較的良好であり、消毒剤注入率も消毒剤/DOCで1と、浄水処理の標準的な条件と考えられる。いずれも消毒剤を添加した後、時間が経つにつれて染色体異常誘発性の差が縮まっていることがわかる。特に、残留消毒剤が0.1mg/Lの場合では、注入後約4日で二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性が塩素処理水のそれとほぼ等しくなり、その後は大小関係が

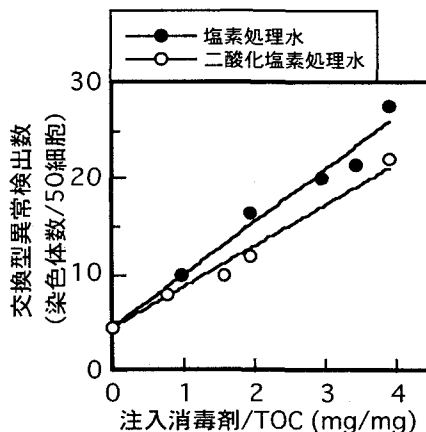


図16 消毒処理水の染色体異常誘発性の最大値の比較

表1 給配水過程の設定条件

DOC濃度(mg/L)		消毒剤注入量 (mg/L)	残留消毒剤濃度 (mg/L)
原水	砂ろ過水		
2.0	1.1	1.1	0.1, 0.4
3.5	1.65	3.3	0.4, 0.7

逆転した。0.4mg/Lの場合では、両者の差が縮まりにくいことのほかに、特に、塩素処理水の染色体異常誘発性の低下そのものが緩やかであることがわかる。すなわち、給配水過程において、残留消毒剤による微生物的な安全性を確保しつつ、残留濃度を低くすることができれば、塩素処理水の有害性を低減できることを指摘しうる。

原水のDOCが3.5mg/L、消毒剤注入量が3.3mg/L(消毒剤/DOC=2)で、残留消毒剤濃度が0.4および0.7mg/Lである場合を図18に示す。図17と同様の点を指摘できる。

いま、現行の塩素処理の運用条件をそのまま二酸化塩素にあてはめて考える。水道水の一般的な滞留時間を2日以内とすると、図17から、二酸化塩素に変更すれば、変異原性は塩素の場合の70～80%程度に低減できると推定できる。また、図18のケースで二酸化塩素を使用することは難しいが、仮に使用した場合、その変異原性は65～70%に低減するという推定結果である。しかし、両者ともに、滞留時間がそれ以上になると、ふたつの処理水間の変異原性の差が小さくなり、二酸化塩素を使用する利点が希薄になるといえる。また、3節でも述べたように、二酸化塩素を使用すれば、有機塩素化合物の生成量は塩素の場合と比較してはるかに少なくなるが、処理水の変異原性の強さを大きくは低減できないことを指摘できる。

5 結 言

試薬フミン酸を自然水中有機物のモデルとして用い、消毒処理水の染色体異常誘発性の変化を測定した。さらにその結果を用いて、塩素および二酸化塩素の染色体異常誘発性の大小関係の相対的な変化を推定した。

(1) 塩素処理水と二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性が緩やかに生成し、最大となった後、低減する過程を把握した。しかも、塩素処理水と二酸化塩素処理水では、染色体異常誘発性の生成に要する時間や、その後の低減過程での染色体異常誘発性の低下速度が異なることがわかった。また、処理水中に消毒剤が残留するほど、染色体異常誘発性の低減は緩やかであるが、その傾向は特に塩素処理水で顕著であった。こ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1.4～1.9倍小さく、より安定であった。

(2) 消毒方法を、現行の塩素消毒の運用条件をそのままとして二酸化塩素に変更するならば、処理水の変異原性を塩素の場合の70～80%程度に低減できると推定した。しかし、滞留時間が増大するほど、塩素処理水と二酸化塩素処理水の変異原性の差が縮まっていくことを指摘した。また、二酸化塩素を使用すれば、有機塩素化合物の生成量は塩素の場合と比較してはるかに少なくなるものの、処理水の変異原性の強さを大きくは低減できないことを指摘した。

(3) 測定した範囲では、染色体異常誘発性と副生成物の変化の傾向とは異なっていた。

謝辞 本研究を行う機会を与えていただいた京都大学名誉教授・ポリテクカレッジ滋賀短大校長 住友恒先生に謝意を表す。

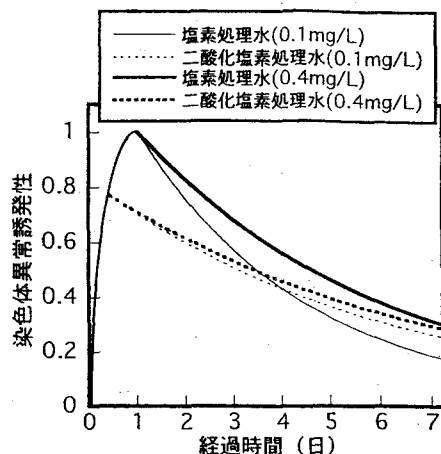


図17 消毒処理水の染色体異常誘発性の変化 (原水DOC 2.0mg/L, 注入率:消毒剤/DOC=1)

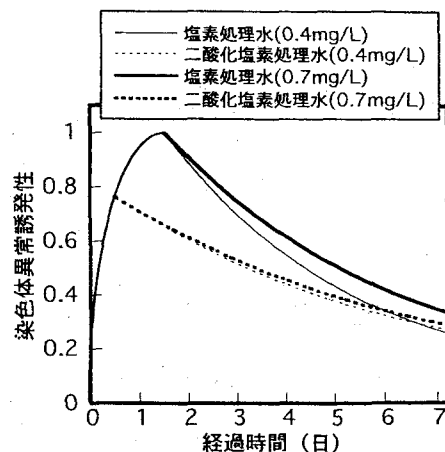


図18 消毒処理水の染色体異常誘発性の変化 (原水DOC 3.5mg/L, 注入率:消毒剤/DOC=2)

参 考 文 献

- 1) 財団法人 水道技術研究センター：高効率浄水処理開発研究 ACT21 成果報告書，第4研究グループ 代替消毒法の実用化技術の開発，pp.275-346，2002.
- 2) Singer, P. C., eds.: Formation and Control of Disinfection By-products in Drinking Water, American Water Works Association, 424p., 1999.
- 3) Barrett, S. E., Krasner, S. W., and Amy, G. L., eds.: Natural Organic Matter and Disinfection By-products, Characterization and Control in Drinking Water, American Chemical Society, Washington, D. C., 425p., 2000.
- 4) Fielding, M. and Farrimond, M., eds.: Disinfection By-products in Drinking Water, Current Issues, Royal Society of Chemistry, UK, 227p., 1999.
- 5) Gates, D.: The Chlorine Dioxide Handbook, American Water Works Association, 186p., 1998.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) Meier, J. R., Longg, 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.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 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.1, pp.42-49，1992.
- 12) 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.
- 13) 伊藤禎彦，村上仁士，戸田博之，福原勝：二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性とその安定性，環境工学研究論文集，Vol.31, pp.215-224，1994.
- 14) 立石浩之，石本知子，新谷保徳，三輪雅幸：水中における変異原性の変動，第46回全国水道研究発表会講演集，pp.496-497，1995.
- 15) 上口浩幸：浄水pH調整による消毒副生成物等の挙動，用水と廃水，Vol.38, No.12, pp.20-26，1996.
- 16) 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.
- 17) 祖父尼俊雄監修：染色体異常試験データ集 改訂1998年版，エル・アイ・シー，1999.
- 18) Clesceri, L. S., Greenberg, A. E., and Eaton, A. D., eds. : Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater 20th eds. 1998.
- 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) White, G. C. : Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants, Fourth Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1569p., 1999.
- 21) 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.
- 22) 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.
- 23) Levine, V. E. and Taterka, M. : Color Reactions of Aldehydes and Ketones with Vanillin in Alkaline Medium, Analytica Chimica Acta, Vol.15, pp.237-245，1956.
- 24) 日本水道協会：上水試験方法 2001年版，2001.
- 25) Itoh, S. and Matsuoka, Y. : Contributions of Disinfection By-products to Activity Inducing Chromosomal Aberrations of Drinking Water, Water Research, Vol.30, No.6, pp.1403-1410，1996.
- 26) Itoh, S., Ikeda, D., Toba, Y., and Sumitomo, H. : Changes of Activity Inducing Chromosomal Aberrations and Transformations of Chlorinated Humic Acid, Water Research, Vol.35, No.11, pp.2621-2628，2001.
- 27) 伊藤禎彦，仲野敦士，荒木俊昭：塩素処理水の染色体異常誘発性・形質転換誘発性の変化過程と強変異原物質MXの指標性，水環境学会誌，Vol.26, No.8, pp.499-505，2003.
- 28) 伊藤禎彦，戴下登史子，仲野敦士：配水過程における指標副生成物に関する実験的考察，環境衛生工学研究，Vol.14, No.3, pp.193-198，2000.
- 29) 伊藤禎彦：配水過程における指標副生成物に関する研究，厚生科学研究 水道における化学物質の毒性，挙動及び低減化に関する研究報告書 平成11年度，pp.2-169-2-180，2000.
- 30) 眞柄泰基，安藤正典，秋葉道宏，西村哲治：平成14年度厚生労働科学研究費補助金 食品・化学物質安全総合研究事業，WHO飲料水水質ガイドライン改訂等に対応する水道における化学物質等に関する研究，平成14年度総括・分担研究報告書，一般有機物分科会 分担研究報告書，pp.21-29，2003.
- 31) 藤原啓助，梶野勝司，芦谷和芳，寺嶋勝彦：パイロットプラントを用いた淀川原水からの微量有機物の高度処理実験（Ⅲ），水道協会雑誌，第56巻，第8号，pp.23-36，1987.