

論文の内容の要旨

論文題目 変異原性による水道水の安全性管理手法に関する研究

氏 名 高梨啓和

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、それらの安全性評価・管理が求められている。そこで本論文では、Ames 変異原性試験による日常的な水道水の安全性評価・管理を提案し、そのために必要な試験結果の統計的解析方法、および簡易かつ信頼性、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。

まず、水道水の Ames 変異原性試験結果の新た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、パラメトリック法の一つである 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、および用量作用直線の勾配の信頼区間から定量限界、信頼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) 検出限界が用量段階の設定条件の影響を受けない、5) 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) 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においても優れており、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、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する可能性が大きいという従来の指摘を支持する結果が得られた。また、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を明らかにした。さらに、定量性の著しい向上が認められなくなる MR 値を定量限界とすることを提案した。

水試料中の変異原性物質の新規な濃縮・回収方法の開発については、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、操作が簡易で最も実用的である固相吸着脱離法に着目し、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オン、弱極性吸着剤の XAD8、無極性吸着剤の XAD4 および本研究の成果を基にして製造されている 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、90%以上の高い回収率を安定して迅速に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 の精製・コンディショニングができ、その後に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 Sep-Pak Plus CSP-800 カートリッジに通水し、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を明らかにした。

また、開発した試料調製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、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た。この結果を解析することにより、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、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を明らかにした。したがって、まず、少なくとも他の地域より明確に高い変異原性の水道水を供給している地域、例えば 3,000 net rev. · l⁻¹を越えるような地域から優先的に水源の水質保全対策や高度浄水処理などの対策を施して、順次水質を改善することが望ましいことを述べた。

また、対策に有効な以下の情報についても明らかにした。すなわち、1) 各地の水道水の変異原性の年間変動率の平均値は 3 であり、都市間の差の 15 倍と比較して小さいこと、2) 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、3) 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、原水の 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、4) TOC、A₂₆₀、TOX などの従来の水質値から変異原性の強度を推算できず、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、5) 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易さ（TOX/TOC）とも明確な関係は認められないこと、6) 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 あたりの変異原性の低いこと、7) 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 あたりの変異原性がいずれも広範囲に分布しており、水源による明確な差は認められないこと、8) 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、9) 凝集沈澱処理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を明らかにした。

水道水の変異原性が高い地域があることが明らかになり、対策が必要であると考えられたので、対策効果等を評価するための方法を開発した。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を明らかにしたので、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。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、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、MFP 測定方法を決定した。

次に、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、食料品製造業排水、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能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。