

上水及び下水の塩素処理液中に存在する非意図的化学品の生成機構と安全性評価

小野寺祐夫

Formation Mechanism and Chemical Safety of Nonintentional Chemical Substances Present in Chlorinated Drinking Water and Wastewater

Sukeo ONODERA

*Department of Environmental Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Tokyo University of Science, 2641 Yamazaki, Noda 278-8510, Japan*

(Received May 20, 2010)

This paper reviews the formation mechanism and chemical safety of nonintentional chemical substances (NICS) present in chlorine-treated water containing organic contaminants. Undesirable compounds, *i.e.*, NICS, may be formed under certain conditions when chlorine reacts with organic matter. The rate and extent of chlorine consumption with organics are strongly dependent on their chemical structures, particularly whether double bonds or sulfur and nitrogen atoms occur in the molecules. Organothiophosphorus pesticides (P=S type) are easily oxidized to their phosphorus compounds (P=O type) in chlorinated water containing HOCl as little as 0.5 mg/l, resulting in an increase in cholinesterase-inhibitory activity. Chlorination of phenols in water also produces a series of highly chlorinated compounds, including chlorophenols, chloroquinones, chlorinated carboxylic acids, and polychlorinated phenoxyphenols (PCPPs). In some of these chloroquinones, 2,6-dichloroalkylsemiquinones exhibit a strong mutagenic response as do positive controls used in the Ames test. 2-Phenoxyphenols in these PCPPs are particularly interesting, as they are present in the chlorine-treated phenol solution and they are also precursors (predioxins) of the highly toxic chlorinated dioxins. Polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) were found to undergo chemical changes due to hypochlorite reactions to give chloro-substituted PAHs, oxygenated (quinones) and hydroxylated (phenols) compounds, but they exhibit a lower mutagenic response. In addition, field work was performed in river water and drinking water to obtain information on chemical distribution and their safety, and the results are compared with those obtained in the model chlorination experiments.

Key words—pesticide; phenol; pharmaceuticals and personal care products; mutagen; predioxin; water chlorination

1. 緒言

わが国の経済高度成長期（1955年–1970年代）における公害病発生を契機として、化学物質による環境汚染に多くの社会的関心が払われるようになった。イタイイタイ病、水俣病、阿賀野川有機水銀中毒事件及び四日市喘息が四大公害病である。四大公害病の原因化学物質であったカドミウム、メチル水銀及び二酸化硫黄は使用を目的にして作られた化学物質でないが、環境へ排出されて水質、土壌又は大気汚染によりヒトの健康及び生態系へ影響を与えた。また、生体に対する急性毒性の低い有機塩素系農薬又はポリ塩化ビフェニル（PCB）などは、使

用目的を持って意図的に合成、生産及び使用されたが、それらが環境中で難分解性及び生物への蓄積性を示す多くの情報が得られたことから、その後の生産や使用が中止又は規制された化学物質である。

一方、水の浄化法として行われてきた塩素消毒により生成するトリハロメタン（THMs）^{1,2)}及び埋め立て処理施設の狭隘化に代わって都市廃棄物の減量化を目的した焼却処理過程で発生するダイオキシン類³⁾は非意図的化学品である。これら THM による水道水質汚染及びダイオキシン類による環境汚染は、ヒトの健康に重大な影響を与える問題として先進国を中心に精力的に研究が行われ、今日、一応の処理技術が確立されたと考えられている。しかし、上・下水の高度処理及び都市廃棄物の高温処理技術は、高エネルギー消費及び維持管理が高コストであることを考えれば、持続可能な社会の発展のために

東京理科大学薬学部（〒278-8510 千葉県野田市 2641）

e-mail: onodera@rs.noda.tus.ac.jp

本総説は、平成 21 年度退職にあたり在職中の業績を中心に記述されたものである。

今後の合理的な処理技術の改善が要求される。

水道は、日本では江戸時代に神田上水、玉川上水などが作られたが、これらは木あるいは石の樋で水を導いたもので、近代的上水道は1887年横浜で建設され、その歴史は130年を越えるものとなっている。さらに水道の建設は1955年から1960年にかけて急速に進み、全国の水道普及率は2000年には97%となっている。近代的上水道の発達を促したものは赤痢、コレラ、腸チフスなどの水系伝染病に対する恐怖であった。浄水処理施設では原水（主に河川水）から粒子状物質の自然沈殿、薬品による微粒子状物質の凝集沈殿と緩速（又は急速）砂ろ過により病原性微生物の99%を除去できる。残り1%の病原菌は最終塩素消毒を行って安全な水として消費者に供給される。

安全な水道水を供給するための基本が、公共用水域の水質保全にあるのはもちろんである。しかし、実際には水道原水（河川水、湖沼水）の水質悪化・富栄養化に起因する水道水の異臭味被害、⁴⁾ また、有機塩素化合物による地下水汚染、⁵⁾ THM 前駆物質と塩素との反応による THM 発生など、^{1,2)} 多くの問題が発生していた。この問題に対処するため厚生省は「高度浄水処理施設導入ガイドライン」を作成した。⁶⁾ このガイドラインでは「高度浄水処理施設とは、通常の水処理方法では十分対応できない臭気物質、THM 前駆物質、色度、アンモニア性窒素、陰イオン界面活性剤などの処理を目的にして導入する活性炭処理施設、オゾン処理施設及び生物処理施設を指すものとする」としている。

筆者は、経済高度成長期に学部及び大学院で学び、その後薬学部衛生化学分野の研究に従事する機会を与えられ、平成21年度に退任を迎えた。衛生化学分野におけるこの30数年の研究を顧みると、ヒトの健康増進や疾病予防を目的とした①栄養化学や公衆衛生学的研究、過去に発生した中毒事件や公害病の②遺伝子解析による毒性発現機構の解明が主流で、③人間活動に伴って生成する非意図的の化学物質の存在及びそれらの生体及び生態影響の解明は散発的に取りあげられてきた。筆者は、薬学部衛生化学教室に奉職当初から水の塩素処理過程における非意図的の化学物質の生成に遭遇し、38年間にわたり、この研究分野に在籍してきたので、これらの結果をまとめて報告する予定である。

2. 実験方法の概要

2-1. 塩素処理のモデル実験系の構築 酸性の次亜塩素酸 (HOCl) 水溶液は容易に光分解を受けて塩素イオン (Cl⁻) に変化し、その酸化又は塩素化作用を失うため、用時、市販のアルカリ性次亜塩素酸ナトリウム (NaOCl) を 0.1 M KH₂PO₄/0.05 M Na₂B₄O₇ リン酸緩衝液で希釈した。0.5 mg/l (水道蛇口水) - 500 mg-Cl/l (医療用衛生器具又は冷凍生鮮食品用消毒液用) のモデル塩素処理水を調製した。これらモデル塩素処理水中の遊離型残留塩素 (HOCl/NaOCl, 以下、塩素又は活性塩素と表現する) の濃度はヨウ素滴定法で測定した。非緩衝水溶液中で有機化合物と活性塩素を混合すると、経時的に溶液は酸性側（あるいはアルカリ性側）へ移行するので、水道原水中で起こる反応を再現できない。各種緩衝剤を添加したモデル塩素処理水の構築実験から、本研究ではリン酸緩衝剤を選択した。有機化合物は市販の標準試薬を高純度メタノールに溶解させて 0.1-10 mg/l の有機モデル汚染溶液を調製した。

活性塩素と有機モデル汚染物質との反応は、20°C に保持した 1 l のガラス製容器中で、マグネチックスターラーを用いて静かに攪拌しながら観察した。反応溶液中の活性塩素は残留塩素センサー、溶存酸素は溶存酸素センサー、pH は pH 電極センサーで、それぞれ、計測して自動記録した。一方、有機汚染モデル物質の濃度は容器から一部の反応液を経時的に採取し、直ちに未反応の活性塩素をチオ硫酸ナトリウム水溶液の添加で消去し、高速液クロマトグラフィー (HPLC)、全有機炭素計 (TOC) 及び全有機ハロゲン計 (TOX)、又は液/液抽出ののち、ガスクロマトグラフィー (GC) で測定した。

活性塩素と有機モデル汚染物質との反応メカニズムをさらに詳細に検討するため、200 ml のスキューブ型分液ロートにモデル塩素処理水 100 ml 及び有機汚染物質 1 ml を混合したのち、直ちに振とう機



小野寺祐夫

宮城県生まれ、1972年薬学部助手、1984年JICA個別派遣「水質汚染管理専門家」としてタイ王国環境庁出向を経て教授。薬学会「衛生化学」、トキシコロジー学会「J. Toxicol. Sci.」及び環境化学会「環境化学」編集委員などを歴任。研究分野は分析科学を基礎にした「水質研究」や「ダイオキシン研究」などの環境科学。

を用いて静かに攪拌した。未反応活性塩素は還元剤を添加して除去し、6 M 塩酸を加えて反応液の pH を 3 前後にしたあと、高純度有機溶媒 20 ml で未反応物及び反応生成物を液/液抽出 (3 回) した。このモデル塩素処理系は、反応液を別の容器に移し替えることなく、液/液抽出できるので未反応物質及び反応生成物の損失を少なくする利点を持っている。これら抽出液を脱水し、濃縮して GC 及び GC/質量分析計 (GC/MS) で定性・定量した。

2-2. 塩素処理により生成する有機ハロゲンの安全性評価

2-2-1. 変異原性試験 (Ames test) 塩素処理した試験溶液及び有機溶媒による抽出液の変異原性活性はヒスチジン要求の *Salmonella typhimurium* TA98 及び TA100 を用いた Ames *et al.*⁷⁾ 及び矢作⁸⁾ のプレインキュベーション法により、ラット肝代謝活性化酵素 (S9 mix) の添加及び無添加の系で検討した。試験溶液はジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて数段階に希釈して Ames 試験を行った。

2-2-2. コリンエステラーゼ (ChE) 試験 ChE 標準液は市販馬血清を使用時に解凍し、その 1 ml に 0.01 M Tris (トリス [ヒドロキシメチル] アミノメタン) 緩衝液 (pH 8.0) 8 ml を加えて調製した。また、基質溶液として、アセチルチオコリンヨードを、用時、0.01 M Tris 緩衝液に溶かし、0.1 M 溶液を調製した。15 ml のサンプル管に ChE 標準溶液 9 ml と塩素処理液 1 ml を加え、25°C、30 分混合攪拌して ChE に対する阻害作用を検討した。続いて、本溶液を攪拌しながら基質 1 ml を加え、直ちに、基質の加水分解で生成する酢酸量を極小 pH 電極と pH メーターにより $\Delta\text{pH}/\text{min}$ として 5 分間自動記録させた。ChE に対する塩素処理液の阻害活性は Eq. (1) により計算した。^{9,10)}

$$\text{ChE 阻害活性}\% = (\Delta\text{pH}_s - \Delta\text{pH}_o\% / \Delta\text{pH}_c - \Delta\text{pH}_o\%) \times 100 \quad (1)$$

ただし、 ΔpH_s は塩素処理液で処理した ChE 残留活性、 ΔpH_c は塩素処理液との接触前の ChE 溶液の活性、 $\Delta\text{pH}_o\%$ は 0.1 M 臭化ネオスチグミンで ChE を処理した時の見かけの残留活性 (試薬ブランク) を示す。

3. 研究成果の概要

3-1. 水中有機物と塩素とのマイクログラム化学反応

3-1-1. 有機物の塩素消費量 有機物に対する活性塩素の反応として酸化と塩素化などが知られており、これにあずかる塩素の化学形は Cl^+ と考えられている。^{11,12)} 漂白及び殺菌・消毒の目的で行われる塩素処理はいずれも塩素の酸化力を利用している。例えばパルプの塩素漂白はリグニン (黒色) の酸化分解を利用したプロセスである。一方、病原微生物に対する塩素消毒機構として Cl^+ が細胞膜を通過し菌体内酵素を破壊すること及び Cl^+ の酸化力による菌体膜の破壊と SH 酵素の酸化失活による殺菌力の発揮と考えられている。このような活性塩素の利用は効き目が確かで、資源が豊富で安価、そして取扱が容易でコントロールし易い点にある。

上水及び下水の塩素消毒では、多くの水中有機物が酸化分解を受けるが、有機物の一部は塩素化又は酸化を受けたまま処理水中に存在する。水道水のクロロフェノール臭、パルプ工業の塩素漂白廃液におけるクロロフェノール類の存在がその例である。一方、食品工業における塩素処理では、活性塩素による酸化反応により漂白又は殺菌消毒が行われている。この過程で不飽和脂肪酸及び芳香族アミノ酸を含む食品への塩素取り込み、一部、変異原物質の生成¹³⁾ が起こる。水中有機物に対する活性塩素の反応性は塩素又は有機物自体の濃度を経時的に測定することにより追跡することができる。本研究では、特に断らない限り、2. 実験方法の概要で述べた「モデル塩素処理実験」の装置¹⁴⁾ を使い、水中塩素濃度を残留塩素センサーにより秒単位で自動記録した。実験条件は初期塩素濃度が 20 mg/l、水温が 20°C 及び pH 7.0 の緩衝液に被検物質のメタノール溶液 1 ml (3 mg/ml) を添加したときを反応開始とした。モデル塩素処理研究で得られた各種水中有機物による活性塩素消費反応の測定結果を Table 1 に示した。¹⁵⁾

実験した多くの P=S 型有機リン系農薬は中性水溶液中で 1 時間塩素消費量が 4-5 倍モル Cl^+/mol に達し、後続反応が緩慢に進行した。これに対し、EPN 及びマラチオンは 1 時間以降も後続反応の進行が観察された。1 モルの有機リン系農薬が初期反応で酸化的脱硫黄化 ($\text{P}=\text{S} \rightarrow \text{SO}^{4-}$) を受けると考

Table 1. Chlorine Reactivity Characteristics of Organic Compounds in Neutral Water

Compound examined	Cl-consumed (mol-Cl/mol)		Reactivity category	Compound examined	Cl-consumed (mol-Cl/mol)		Reactivity category
	after 1 h	24 h			after 1 h	24 h	
<u>Pesticides</u>				2,6-Dichlorophenol	7.06	10.40	MR
Diazinon	4.00	5.60	MR	2,4,6-Trichlorophenol	5.69	10.00	MR
EPN	4.17	8.10	MR	2,3,4,6-Tetrachlorophenol	4.91	9.85	SR
Fenitrothion	5.00	6.80	MR	Pentachlorophenol	4.14	7.70	MR
Malathion	4.06	8.11	MR	2-Aminophenol	3.90	6.26	MR
Mehtyl parathion	4.68	5.85	VR	3-Aminophenol	7.00	8.60	VR
Parathion	4.18	5.67	MR	4-Aminophenol	2.07	5.25	SR
Oxadiazon	trace	trace	NR	2-Nitrophenol	2.81	9.58	SR
<u>Fatty acids</u>				3-Nitrophenol	4.94	10.90	SR
Oleic	1.00	1.50	MR	4-Nitrophenol	2.12	6.50	SR
Linoleic	2.00	3.00	MR	2-Phenylphenol	14.45	18.00	VR
Linolenic	3.00	4.00	MR	3-Phenylphenol	12.90	17.90	MR
<u>Amino acids</u>				4-Phenylphenol	12.13	18.00	MR
Arginine	7.76	12.40	MR	1-Naphthol	12.14	14.30	VR
Cystein	8.31	9.55	VR	2-Naphthol	5.07	7.75	MR
Glycine	4.60	7.60	MR	Catechol	4.09	6.13	MR
Glutamic acid	3.25	5.00	MR	4-Chlorocatechol	6.61	7.75	MR
Methionine	6.61	8.00	VR	Resorcinol	7.70	8.80	VR
Phenylalanine	3.49	5.22	MR	Hydroquinone	3.60	5.70	MR
Proline	5.97	6.50	VR	<u>Polynuclear aromatic hydrocarbons</u>			
Threonine	3.37	8.30	MR	Biphenyl	trace	trace	NR
Tryptohan	14.06	22.50	MR	Naphthalene	trace	trace	NR
Tyrosine	9.04	12.86	MR	Anthracene	trace	trace	NR
<u>Phenols</u>				Phenanthrene	trace	trace	NR
Phenol	8.11	12.50	MR	<u>Aliphatic and aromatic acids</u>			
o-Cresol	7.32	11.15	MR	Dichloromaleic acid	ND	ND	NR
m-Cresol	12.10	15.30	VR	Trichloroacetic acid	ND	ND	NR
p-Cresol	6.99	15.30	MR	2-Hydroxybenzoic acid	ND	ND	NR
2,3-Xylenol	9.99	14.25	MR	3-Hydroxybenzoic acid	ND	ND	NR
2,4-Xylenol	3.49	5.56	MR	<u>Pharmaceuticals and Personal Care Products</u>			
2,5-Xylenol	7.25	11.25	MR	Asprin	1.62	—	SR
2,6-Xylenol	4.36	7.60	MR	Salicylic acid	4.30	—	MR
3,4-Xylenol	2.53	5.20	SR	Dichlofenac	4.39	9.50	MR
3,5-Xylenol	9.26	13.25	MR	Indomethacin	4.42	13.00	MR
2-Ethylphenol	7.16	11.04	MR	Ketoprofen	trace	trace	NR
3-Ethylphenol	10.81	14.50	MR	Mefanamic acid	6.50	12.00	MR
4-Ethylphenol	7.69	12.00	MR	Diphenhidramine•HCL	7.28	—	—
2-n-Propylphenol	9.48	18.00	MR	Chlophenniramine•maleate	5.26	—	—
2-iso-Propylphenol	10.00	15.00	MR	Nitrofurazone	7.50	—	—
4-n-Propylphenol	7.80	12.40	MR	Frazolidone	2.20	—	—
4-iso-Propylphenol	7.79	14.40	MR	Octyl-4-methoxycinnamate	1.00	—	—
2-sec-Butylphenol	9.53	12.89	MR	Octyl-4-dimethylaminobenzoate	8.00	—	—
2-tert-Butylphenol	12.48	19.12	MR	10H-phenothiazine	12.00	—	—
3-tert-Butylphenol	15.00	19.00	VR	10H-phanoxazine	8.00	—	—
4-n-Butylphenol	9.30	16.00	MR	phenotxathiin	3.00	—	—
4-sec-Butylphenol	9.48	17.20	MR	phenazine	trace	—	—
4-tert-Butylphenol	16.31	22.50	MR	<u>Natural products</u>			
2-Chlorophenol	7.96	11.00	MR	Humic acid	0.17/C	0.32/C	MR
4-Chlorophenol	6.89	10.70	MR	Lignin	0.13/C	0.30/C	SR
2,4-Dichlorophenol	5.05	9.41	MR				

Experimental conditions: Temperature, 20°C; Initial concentration of chlorine, 20 mg/l; Initial concentration of target compound, 3 mg/l. VR=Very reactive, MR=Moderately reactive, SR=Slightly reactive, NR=Mostly non-reactive.

えると、消費される次亜塩素酸量は化学量論的に4-5倍モルであり、Table 1に示した測定結果と一致する。酸性塩素処理液中(pH 6.0)では、1時間塩素消費量と24時間塩素消費量に大きな変化がなかったことから、初期反応で生成した生成物が水道水の残留塩素濃度(0.5 mg/l)の条件で比較的安定に存在すると考えられた。除草剤(オキサジアゾンなど)及び、Table 1に示していないが、20 mg-Cl/lのモデル塩素処理水中でカルバメート系農薬[カルバリル(NAC)やフェノブカルブ(BPMC)など]による塩素消費反応が観察されなかった。

食品成分の不飽和脂肪酸は分子中の二重結合数に比例した初期塩素消費量を示した。実験したアミノ酸と塩素との反応では、アミノ基への塩素置換(-NH₂→-NCl₂)及び脱カルボニル(-COOH→CO₂)が優先的に先行すると考えられているが、^{16,17)} Table 1から化学構造に基づく1時間及び24時間塩素消費量の大きな違いを説明できなかった。しかし、塩素に対する含硫アミノ酸(Cys, Met)、塩基性アミノ酸(Arg, Pro)及び中性芳香族アミノ酸(Try, Tyr)に高い反応性が観察された。一方、中性脂肪族アミノ酸(Gly, Thr)及び酸性アミノ酸(Glu)と塩素との反応では、緩慢な後続反応が進行すると予測された。なお、アミノ酸及びタンパク質と塩素との反応は食品化学分野で重要であり、広く検討されているので、これらについては総説^{16,17)}を参照されたい。

河川や湖沼へのフェノールの流入は、一般に農業排水、化学工業及びパルプ工場廃水に由来する。また、下水へのそれは人の排泄に由来すると考えられている。フェノール化合物と塩素との反応はオルト及びパラ位への塩素置換によって開始されることが古くから知られていた。本測定においても、フェノール化合物の初期反応が秒単位で進行することを観察した(Table 1)。¹⁵⁾ また、オルト又はパラ位に側鎖アルキル基又はフェニル基を持つフェノール化合物でも、それらの1時間及び24時間塩素消費量が極めて大きく、水中塩素に対する反応性が高いように思われた。さらに塩素化フェノールに対する水中塩素の反応性は、塩素の置換位置にかかわらず、高い後続反応が認められた。なお、結果を示していないが、弱酸性水でのフェノール化合物の24時間塩素消費量は、中性の1時間反応で観察されたそれ

らとほぼ一致した。

水中塩素に対する多環芳香族炭化水素の反応性は、Table 1に示したように20 mg-Cl⁺/lのモデル塩素処理水及び中性条件で極めて低いと考えられた。また、塩素処理水での最終生成物と考えられる塩素化カルボン酸及び芳香族カルボン酸と活性塩素との反応はほとんど進行しなかった。多くの有機物は自然界で微生物代謝や光加水分解によりカルボン酸及び炭酸ガスに変化すると考えられている。しかし、自然界に存在するフミン酸及びリグニンなどは、例外的に、水中塩素に対して比較的高い反応性を示した。¹⁵⁾

1990年半ばから医薬品及び身体保護製品(PPCPs)による環境汚染に高い関心が寄せられ、空気酸化、微生物処理及び最終塩素消毒からなる下水処理プロセスにおけるこれら化学物質の除去が、その後、検討されている。¹⁸⁻²³⁾ いずれの研究でも、下水処理プロセスにおける流入及び放流水の残留医薬品濃度を測定し、それらの除去能を検討した。例えば、非ステロイド系解熱・消炎鎮痛剤(NSAIDs)のインドメタシン、ナプロキセン及びジクロフェナクなどは塩素処理で除去可能であるが、¹⁸⁾ イブプロフェン、ケトプロフェン及び抗てんかん薬のカルバマゼピンは容易にこれらプロセスを通過するという。Table 1に示した塩素消費量の測定結果は、アスピリンを除いて、他のNSAIDsについての上記の報告¹⁸⁻²³⁾と一致した。これらNSAIDsは24時間塩素消費量の測定値も高く、塩素処理プロセスで更なる後続反応の進行が予測された。

Table 1には、その他PPCPsの1時間塩素量も併せて示した。下水処理プロセスの空気酸化及び活性汚泥処理を通過しても、塩素消毒により抗ヒスタミン剤(ジフェンヒドラミン、クロルペニラミン)、抗菌剤(ニトロフラゾン=NFZ)、日焼け防止用UV吸収剤(ODPABA)及び医薬品原料のフェノチアジン系化合物は塩素処理で除去が可能であると判断された。しかし、抗菌剤のフラゾリドン(FZD)、UV吸収剤のOMC及びフェノチアジン系化合物のフェナジンに対する水中塩素の反応性が低かった。下水処理プロセスの前段階を通過した場合、最終放流水にこれら化合物の残留することが予測された。したがって、Table 1に示した結果は下水処理水の受け皿である河川水の残留医薬品汚染の

有無を予測させ、さらにこれを原水とした浄水プロセスにおいても同様な問題に遭遇する可能性があることを示唆する。

3-1-2. 塩素処理で生成する非意図的の化学物質とそれらの生成メカニズム

A. P=O 型有機リン化合物

わが国における高度成長時代の初期に使用された有機塩素系殺虫剤は農作物への残留性が高いこと、生体内での排泄が遅く、脂肪組織に蓄積され易いこと及び中枢神経への慢性毒性が散発し始めたことが理由で、1970年頃から使用中止になった。これに代わって、哺乳動物に対する急性毒性が高いが、環境で低残留性を示す有機リン系殺虫剤（例えば、TEPP及びパラチオンなど）が多用されるようになった。しかし、これらの農薬も、使用開始初期の散布中あるいは誤用による中毒事故も多発したことが理由で、低毒性の有機リン剤（例えば、フェントロチオンなど）が開発されて今日に至っている。

薬学部で最初に取り組んだ研究テーマが、1972年度水道水質基準の策定に係わる水質試験法（厚生省）のうち、「水道水中の有機リン系農薬試験法」の確立であった。精製水及び実際の水道水にマイクログラム量のパラチオン（P=S型有機リン剤）を添加し、その酢酸エチル抽出液を水素炎熱アルカリイオン型検出器（FTD）付き恒温GCで分析した。²⁴ 精製水から得られた抽出物には添加量のパラチオンが検出された。しかし、水道水の抽出物ではパラチオンピークが観察されなかった。その後の繰

り返し実験及び高濃縮抽出物の分析では、それらのガスクロマトグラムにパラチオンの保持時間と異なる小さなピークが観察された。これらの小さなピークは後に入手できたパラオクソン標準品（P=O型有機リン化合物）の保持時間と一致し、定量計算の結果、このパラチオンからパラオクソンへの変換反応が化学量論的に進行することを確認した。ほかのP=S型有機リン系農薬の水道水への添加・回収実験においても、パラチオンの例と同様の結果が得られた。

塩素処理水中で有機リン系殺虫剤から生成する非意図的の化学物質及びその反応様式をTable 2に示した。有機リン系農薬の分子中P=Sが活性塩素により優先的に脱硫酸化反応を受けてP=O体へ、一方、分子中-P-S-Cが水中塩素による酸化反応でジスルホキシド体（-P-SO₂-C-）へ変化した。²⁴ 同じような化学反応が動物及び昆虫体内の酸化酵素p-450の作用で起こることが知られていた。トリクロロフォンは精製水及び塩素処理水中で脱塩化水素及び転移反応によってジクロロボスに変化した。有機リン系農薬の分解生成物としてリン酸エステル類及びフェノール化合物が検出された。これらの生成は次亜塩素酸の触媒的加水分解によるエステル結合の開裂反応促進によって説明できる。

B. プレダイオキシシン

フェノール自体が悪臭物質で、その高濃度水に水棲生物が接触すると強い腐蝕毒、低濃度でも中枢神経障害を発現する。1960年代まで石油・石炭化学

Table 2. Nonintentional Chemical Substances (NICS) Formed and Their Formation Mechanisms Occurring in Model Chlorine-treated Water of Organic Compounds

Compounds, as starting materials	NICS formed	Reaction type	Reference
Organophosphorus pesticides	Oxon intermediates	Oxidation of the P=S in the molecule	24
	Phosphoric acid esters	Cleavage of phosphorus esters	
Phenols	Chlorinated phenols	Electrophilic aromatic substitution	25
	Chlorinated quinones	Oxidation of chlorophenols	26-29
	Chlorinated organic acids	Cleavage of aromatic ring	30
	Chlorinated phenoxyphenols	Dimerization of chlorophenols	31, 34-41
	Chlorinated alkylsemiquinones	Oxydation of p-alkylphenols	45-53
	Polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs)	Chlorinated PAHs	Electrophilic aromatic substitution
Un-saturated fatty acids	Chlorine-additive PAHs	Electrophilic addition to double bonds	
	Oxygenated PAHs (quinones)	Oxidation of active carbons	
	Hydroxylated PAHs (phenols)	Hydrolysis of quinones	
	Chlorohydrins	Addition of chlorine atom and hydroxyl group to the double bonds	72

工場排水に含まれるフェノールが河川経路で水道水に到達し、臭気物質(クロロフェノール臭)となり、今日でも散発的にその汚染事例が報告されている。1960年代までフェノールと活性塩素との反応に関する研究は分析化学的な確認試験が目的で、高濃度及び極端な酸性又はアルカリ条件の実験が主であった。したがって、これらの情報を浄水及び下水処理プロセスで起こるフェノール類の挙動に適用することができなかった。また、フェノールに活性塩素を作用させるとクロロフェノールやクロロベンゾキノンに変化することも定性的に知られていた。しかし、化学量論的な関係やマイクログラム濃度($\mu\text{g}/\text{l}$)の反応に関する情報は皆無であった。この問題を解決するため、 $10\text{ mg-Cl}^+/\text{l}$ の塩素処理水に $1\text{ }\mu\text{mol}/\text{l}$ のフェノール化合物を添加し、ジエチルエーテル抽出物の電子捕獲型検出器(ECD)/GCによる分析から水中フェノールの挙動を解析した。これらの実験で得られた非意図的生成化学物質及び考えられる反応様式をTable 2に示した。

水道水中のクロロフェノールは芳香環への塩素置換反応によって生成し、オルト及びパラ配向性であると説明されていた。この配向性は水溶液の液性に強く依存し、アルカリ性では2-クロロフェノール \rightarrow 2,6-ジクロロフェノール \rightarrow 2,4,6-トリクロロフェノール、酸性では4-クロロフェノール \rightarrow 2,4-ジクロロフェノール \rightarrow 2,4,6-トリクロロフェノールへの変換が進行することを再確認した。²⁵⁾ 塩素処理水中、特に弱酸性条件では、2,4,6-トリクロロフェノールの酸化反応により塩素化

-ベンゾキノンが生成し、²⁶⁻²⁹⁾ 中性及びアルカリ水溶液で出発物質の約25 mol%がクロロマレイン酸及びトリクロロ酢酸に変化した。³⁰⁾

次に、これら反応溶液のジエチルエーテル抽出物を低沸点から高沸点の有機化合物分析に適用可能な昇温GCにより分析した。ガスクロマトグラム上には、従来から知られていたフェノールの塩素置換体やその酸化体と同時に、これらより高沸点有機物と考えられる複数のピークが認められた。これらの高沸点有機物のマススペクトルは分子中に3-5塩素原子を持つこと及び分子イオンが $m/z=288, 322$ 及び 356 であることを示した。³¹⁾ Jensen and Renbergはこれら高沸点有機物が塩素化フェノール工業製品中の不純物であり、さらに加熱重合によりダイオキシ

ンに変換することから、プレダイオキシンと呼んでいた。³²⁾ これ以前、Sanderman *et al.*³³⁾はこれらピークがGC分析時の熱重合で生成する塩素化フェノール二量体であると解釈していた。Onodera *et al.*は、反応混合物の薄層クロマトグラフィー(TLC)による分画、続くGC/MS分析から、ポリ塩化2-フェノキシフェノール(プレダイオキシン)と4-フェノキシフェノール(イソプレダイオキシン)の混合物がフェノールと塩素との反応により、直接、生成することを確認した。³¹⁾

フェノール類と活性塩素との反応液から検出されたポリ塩化フェノキシフェノール(PCPPs)の生成量及び分子中の置換塩素数をTable 3にまとめた。PCPPsと同種の塩素化4-メチルフェノール二量体(PCMPPs)、^{34,35)}及び4-アルキルフェノール二量体(PCAPPs)³⁶⁾が塩素処理液中に存在した。さらに臭素イオン共存下の塩素処理中に臭素/塩素化二量体(PXPPs又はPXAPPs)³⁷⁻³⁹⁾が生成した。PCPPs又はPCMPPsの生成は活性塩素とフェノール化合物との二量化反応で起こり、PCPPsは弱酸性、PCAPPsは中性又は弱アルカリ性の条件で比較的多く生成した。塩素処理水中におけるPCPPs/PCMPPsの生成は初期の塩素置換反応及び続いて起こる塩素化フェノキシラジカル生成とこれらの重合反応が関与していると考えられる。反応中間体のPCPPs/PCMPPsは、さらに過剰の塩素と反応して、再び塩素化フェノール/塩素化メチルフェノールに分解した。^{40,41)}

C. 変異原性物質

1980年以降、水中有機物の塩素処理によりAmes変異原物質の生成することが相ついで報告された。^{13,42-45)} 河川水は自然由来の有機物を含み、また、環境に流出された人工化学物質の受け皿となっている。Table 2にフェノール化合物の塩素処理における変異原物質の生成及び考えられる反応様式を示した。ここでは、水中有機物の中から有機リン系農薬、食品添加物、フミン酸モデル化合物(フェノール化合物)及びPAHsを選び、塩素処理におけるAmes変異原物質の生成能を測定した。塩素処理はpH7の緩衝液11に被検物質5mgを加え、初濃度 $10\text{ mg-Cl}^+/\text{l}$ の塩素で1時間処理した後、チオ硫酸ナトリウムで未反応塩素を除去した。これらの脱塩素反応溶液を、直接、蒸留水で希釈したもの及

Table 3. Production of Polychlorinated Phenoxyphenols (PCPPs) in the Reaction of Phenolic Compounds with Hypochlorite in Water

Compound examined	Amounts of PCPPs (mmol/mol) ^{a)}	No. of Cl atoms in PCPPs	Compound examined	Amounts of PCPPs (mmol/mol) ^{a)}	No. of Cl atoms in PCPPs
Phenol	4	3,4,5*	2-Ethylphenol	35	1,2,3,4
2-Chlorophenol	4	3,4,5	4-Ethylphenol	40	1,2,3,4*
3-Chlorophenol	1	5,6	2-Propylphenol	35	1,2,3,4
4-Chlorophenol	1	5,6	4-Propylphenol	55	1,2,3,4
2,3-Dichlorophenol	1	3,4,5,6	4-Butylphenol	30	0,1,2,3
2,4-Dichlorophenol	1	5	4-Pentylphenol	25	0,1,2,3
2,5-Dichlorophenol	1	5,6	4-Hexylphenol	20	0,1,2,3
2,6-Dichlorophenol	40	3,4,5*	4-Heptylphenol	15	0,1,2,3
3,4-Dichlorophenol	1	3,4,5,6	4-Octylphenol	5	0,1,2
2,4,5-Trichlorophenol	2	5,6	4-Nonylphenol	0	ND**
2,4,6-Trichlorophenol	1	5	2,3-Dimethylphenol	15	1,2,3
2,3,4,6-Tetrachlorophenol	1	5,6,7	2,4-Dimethylphenol	10	1,2,3
Pentachlorophenol	2	6,7,8,9	2,5-Dimethylphenol	15	1,2,3
2-Methylphenol	25	1,2,3,4	2,6-Dimethylphenol	1	ND
4-Cl-2-Methylphenol	25	1,2,3,4	3,4-Dimethylphenol	25	1,2,3
6-Cl-2-Methylphenol	25	1,2,3,4	3,5-Dimethylphenol	trace	ND
4,6-Cl ₂ -2-Methylphenol	25	1,2,3,4	2,3,5-Trimethylphenol	trace	ND
3-Methylphenol	5	5	2,3,6-Trimethylphenol	trace	ND
4-Cl-3-methylphenol	5	5	2,4,5-Trimethylphenol	trace	ND
6-Cl-3-Methylphenol	5	5	2,4,6-Trimethylphenol	1	ND
4-Methylphenol	40	1,2,3,4*	2,3,5,6-Tetramethylphenol	trace	ND
2,6-Cl ₂ -4-Methylphenol	40	1,2,3,4*			

^{a)} Derived from GC peak area, relative to the area of Triclosan (as typical PCPP and predioxin). * Occurrence of chlorinated 2-phenoxyphenol (predioxin) isomers. ** Not determined.

びそれらから分離したジエチルエーテル抽出物に二分して Ames 試験した。得られた結果の一部を Table 4 にまとめた。

Table 4 には実験結果を示していないが、有機リン系農薬水溶液を過剰量の活性塩素で処理したとき、EPN、フェニトロチオン及びパラチオンに TA98 を用いた試験系で弱い変異原活性を観察した。⁴⁶⁾ これらの結果は塩素処理において有機リン系農薬が変異原生成能を有することを示す。EPN と塩素との反応では、1 時間後に EPN-oxon の生成に基づく強い ChE 阻害活性が出現したが、その後、減少し、これに代わって変異原性強度が経時的に増強する傾向が観察された。一方、塩素処理における食品添加物のモデル化合物としてナフトール及びフェニルフェノールに関する Ames 試験の結果を示した (Table 4)。^{47,48)} これら化合物が塩素処理において変異原生成能を有することを初めて明らかにした。

弱酸性フミン酸モデル化合物を過剰量 (15 moles of HOCl/mol of compound) の塩素で 1 時間処理す

ると、TA100 試験系でいくつかの化合物から強い Ames 変異原物質生成能が検出された (Table 4)。⁴⁹⁻⁵³⁾ 単純フェノールの変異原生成能は出発物質換算で約 18 revertants/nmol であり、生成した化合物は水層よりジエチルエーテル層に分布した。変異原物質生成能が低い、同様な性質を示す化合物がフミン酸を塩素処理したときにも観察した。これらの結果はフェノールやフミン質が塩素処理において変異原物質生成能を有し、エーテル可溶の中極性又は無極性の化合物になることを示唆する。フェノールの塩素処理液に存在する変異原物質は塩基対置換型であり、*o*-フェニレンジアミン (*o*-ベンゾキノンの存在) より求核試薬 4-ニトロチオフェノールと反応してその活性を失った。この結果はエポキシドや有機ハロゲンの存在を示唆したが、その後の単離・同定研究で単純フェノールから生成する活性物質の化学構造を解明することができなかった。

一方、メチルフェノールにも強い変異原物質生成能がみられた。⁵¹⁻⁵⁵⁾ 塩素処理における 4-メチルフェ

Table 4. Mutagenic Potential Formation (MPF) of Organic Compounds (0.5 mmol/l) in Chlorine-treated Water (pH 5.0) with Excess of Hypochlorite at 20°C for 1 h

Compound examined	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$), as starting material	Mutagenic response on tester strain				MPF (net revertants per mol)	Reference
		TA98		TA100			
		without S9	with S9	without S9	with S9		
<u>Food additives</u>							
1-Naphthol	1-400	NEG*	NEG	NEG	NEG	0	47
2-Naphthol	1-400	NEG	NEG	POS**	NEG	1	47
2-Phenylphenol (OPP)	5-500	NEG	NEG	POS	NEG	0.22	48
3-Phenylphenol	5-500	NEG	NEG	POS	NEG	0.22	48
4-Phenylphenol	5-500	NEG	NEG	POS	NEG	0.9	48
<u>Model humic compounds</u>							
Phenol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	17.8	53
2-Chlorophenol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	0.7	53
4-Chlorophenol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	1.3	53
2,4-Dichlorophenol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	0.4	53
2,6-Dichlorophenol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	5.8	53
2,4,6-Trichlorophenol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	0.2	53
2,3,4,6-Tetrachlorophenol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	0.2	53
Pentachlorophenol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	0.8	53
2-Methylphenol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	0.3	53
3-Methylphenol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	0.6	53
4-Methylphenol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	19	53
Catechol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	3.3	53
Resorcinol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	1.2	53
Hydroquinone	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	0.3	53
Oricinol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	1.9	53
Phloroglucinol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	0.8	53
Pyrogarol	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	0.4	53
Humic acid	1-200	NEG	NEG	POS	NEG	3.2/ μg	53
<u>Polynuclear aromatic hydrocarbons</u>							
Naphthalene (N)	10-200	POS	NEG	NEG	NEG	0.81	58
1-Methyl-N	10-200	POS	NEG	NEG	NEG	0.66	58
2-Methyl-N	10-200	POS	NEG	NEG	NEG	0.54	58
1,2-Dimethyl-N	10-200	NEG	NEG	NEG	NEG	0	58
1,3-Dimethyl-N	10-200	POS	NEG	NEG	NEG	0.38	58
Anthracene (A)	10-200	NEG	POS	NEG	NEG	0.2	59
2-Methyl-A	10-200	NEG	POS	NEG	NEG	0.56	59
9-Methyl-A	10-200	NEG	POS	NEG	NEG	0.14	59
9,10-Dimethyl-A	10-200	NEG	POS	NEG	NEG	0.21	59
Phenanthrene (P)	10-200	POS	NEG	NEG	NEG	0.23	59
1-Methyl-P	10-200	POS	NEG	NEG	NEG	1.04	59
2-Methyl-P	10-200	POS	NEG	NEG	NEG	2.11	59
Spontaneous (DMSO)	100 μl	24	32	99	120	mean revertants/plate	
Positive control 2-NF	2 μg	588				mean revertants/plate	
NaN ₃	1 μg			858		mean revertants/plate	
B(a)P	5 μg		578		763	mean revertants/plate	

* NEG, negative response in the tester strains; ** POS, positive response in the tester strains.

ノールの変異原生成能は出発物質換算で約 19 revertants/nmol であり (Table 4),⁵³⁾ ジエチルエーテル層より水層に分布した。同様な性質を示す変異原物質がカテコールの塩素処理液中にも存在した。これらの結果は有機物に汚染された河川水が塩素処理において変異原生成能を有するとする報告例^{13,43)}と一致した。なお、ベンゼントリー、テトラー及びペンタカルボン酸溶液を塩素処理しても変異原生成能は観察されなかった。

水道水に存在する多環芳香族炭化水素 (PAHs)、塩素化 PAHs 及びそれらの酸化体は、給・配水管及び貯水タンクの防錆用内面コーラール塗装剤から溶出した後、残留塩素との反応で生成したと報告された。^{56,57)} PAHs は水中塩素との反応が緩慢である (Table 1) が、Onodera *et al.* は高濃度にするにより芳香環への塩素置換、塩素付加及び酸化反応が進行して変異原活性の化合物に変化することを報告した。ナフタレン化合物,⁵⁸⁾ アントラセン/フェナンスレン⁵⁹⁾及び四環芳香族炭化水素⁶⁰⁾への塩素置換やこれらの酸化反応は原体の化学構造及び水溶液の pH に強く依存した。変異原性物質は酸性条件下で生成し易く,^{61,62)} いずれも TA98 試験系で陽性であった。

タンパク質、脂質、糖質は三大栄養素と言われ、ヒトの日常生活に不可欠の食品である。食品加工工場の排水及び日常の調理過程からこれらの一部が下水道に流入し、下水処理プロセスを経て、最終的に受水域の汚染源となる。食品成分のアミノ酸⁶³⁻⁶⁶⁾又は脂肪酸^{67,68)}と活性塩素との反応を検討した研究例は比較的多いが、塩素処理生成物の変異原性に関する報告例は極めて少ない。^{69,70)} しかも、これらの報告例では変異原性を示す塩素処理副生成物の化学構造は明らかにされていない。同様に、山下⁷¹⁾は数種アミノ酸の塩素処理生成物の Ames 試験から陽性結果を得たが、変異原物質は同定していない。また、オレイン酸、リノール酸及びリノレン酸と水中塩素との反応生成物を Ames 試験したが、陽性結果が検出されなかった。⁷²⁾

Holmbom *et al.*⁴⁴⁾ はパルプ廃液から強変異原性物質 MX [3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxyl-2(5H)furanone] を単離・同定し、水道水にも存在すること⁴⁵⁾を報告したが、これに続く塩素処理水中の変異原物質の単離・構造決定に関する報告例は少

ない。Onodera *et al.* は 4-メチルフェノールの塩素処理液から変異原活性を示す PCMPs⁵⁰⁾ 及び塩素化メチルセミキノン (2,6-dichloro-4-hydroxy-4-methylcyclohexa-2,5-dien-1-one)⁵¹⁾ を単離した。いずれも 4-メチルフェノールと塩素との初期反応で生成し、前者は中性、後者は弱酸性条件で安定であった。また、単純フェノール、塩素化フェノール及び二価フェノールの塩素処理液に存在する変異原性物質 *o*-ベンゾキノン⁵²⁾ をフェナジン誘導体として GC による定量分析に成功した。さらに 4-アルキルフェノールの塩素処理液に存在する塩素化アルキルセミキノン^{54,55)} を GC/MS で定量した。これら変異原物質はいずれも塩素処理の初期段階でフェノールへの塩素置換及び酸化反応で生成したと考えられた。

3-2. 食品添加物及び PPCPs の非意図的化学品物質

3-2-1. 食品添加物 食品の変質や腐敗を防止する目的で多数の化学合成物が指定され、食品添加物として日常的に使用されている。これらの中には防かび剤のジフェニル、*o*-フェニルフェノール (OPP)、酸化防止剤のジブチルヒドロキシトルエン (BHT) 及びジブチルヒドロキシアニソール (BHA) が含まれる。OPP は分子中にベンゼン環を有し、BHT 及び BHA は自らが容易に酸化されることによって食品の酸化を防止する。Table 1 の OPP の塩素消費量が極めて多いことから、多数の塩素化生成物が予測された。これらの中で芳香環への塩素置換反応、塩素置換体への酸化反応及び重合反応によって生成したと考えられる化合物を検出した。²⁹⁾ BHA は BHT より塩素に対する反応性が高く、芳香環への塩素置換反応及び塩素置換体の酸化反応が容易に進み、塩素化キノン体に変化した。⁷³⁾ BHA をオゾン処理したときにもキノン体の生成が確認されている。⁷⁴⁾ また、BHT から塩素置換体及び水酸化体が検出された。⁷³⁾

3-2-2. 医薬品及び身体保護製品 医薬品及び身体保護成分 (PCPPs) は分子中に芳香環、それらのエーテル、窒素及び硫黄原子などを含有し、塩素に高い反応性を示すものが存在する。Prinkston and Sedlak¹⁸⁾ は下水処理施設の塩素消毒で芳香族エーテルやアミン含有医薬品が塩素と速やかに反応し、芳香環の塩素置換体や塩素化アミンへと変化するが、脱塩素剤のチオ硫酸を加えると塩素化アミン

は親化合物に戻ることを報告した。Bedner and MacCrehan²¹⁾ は抗炎症薬アセトアミノフェンが塩素との反応で変異原活性を示す 1,4-ベンゾキノン及び *N*-アセチル-*p*-ベンゾキノニイミンに変化することを報告した。

Onodera *et al.* は幅広い抗菌作用を示す Triclosan が活性塩素と反応して、フェノール環への塩素置換反応により 4 及び 5 塩素化体が生成し、さらに過剰の塩素と反応して相当する塩素化フェノールへ加水分解されることを報告した。⁴⁰⁾ また、ヒト及び家畜用医薬品として過去に使用され、強い変異原活性を示す抗菌剤の NFZ⁷⁵⁾ は活性塩素と中性条件で速やかに反応し、その変異原活性を失うとともに、分子中の $-C=N-$ 結合の開裂により 5-ニトロ-2-フルアルデヒド (NFA)、5-ニトロフロイック酸 (NFOA) やセミカルバジド (SEM) に変化することを報告した。これら生成物のうち NFA 及び NFOA の変異原性強度は、それぞれ、NFZ のそれ (約 2600 revertants per nmol on TA100) の 1000 分の 1 及び 10000 分の 5 程度であった。さらに、紫外線吸収剤の ODPABA⁷⁶⁾ の塩素処理では芳香環への塩素置換が先行し、脱メチル化に続いて速やかに塩素化安息香酸及びオクチルアルコールに変化した。初期反応の生成物は Ames 試験に用いた試験菌に対して強い抗菌作用を示した。

3-3. 塩素消毒副生成物 (非意図的生成化学物質) の安全性評価

3-3-1. P=O 型有機リン系農薬の ChE 阻害作用

Table 2 に示したように、水中有機リン系農薬は塩素処理により P=O 型有機リン化合物に変換され、塩素処理水中で比較的安定に存在した。P=O 型有機リン化合物の殺虫効果が極めて高いことから、これらの馬血清コリンエステラーゼ (ChE) に対する阻害活性を測定した。Table 5 に塩素処理の前後における P=S 型及び P=O 型有機リン系農薬の 50% ChE 阻害活性の変化をまとめた。⁷⁷⁾ P=S 型有機リン系農薬の ChE 阻害活性が処理後に 50-1000 倍に達する大きな変化が観察された。水中の活性塩素濃度が 100 mg/l より高濃度では生成した P=O 型有機リン化合物の分解が促進され、また pH 8.0 の弱アルカリ性で不安定な生成物も存在した。これらの ChE 阻害活性の増強を用いた水中及び農作物中の高感度確認試験法を提案した。

有機リン系農薬によって汚染された水道原水を塩素消毒すると毒性増強の結果となることから、これらをオゾン、紫外線照射及び両者の併用処理による分解試験を行った。⁷⁸⁾ P=S 型有機リン系農薬水溶液をオゾン単独で 30 分間処理すると、原体農薬の分解が観察されるものの、生成した P=O 型有機リン化合物が残留して ChE に対する阻害作用増強の結果となった。また、UV 単独照射では P=O 型有機リン化合物は生成しないが、P=S 型有機リン系農薬の分解が緩慢であることが分かった。これに対し、オゾン/UV 照射同時処理では生成した P=O 型有機リン化合物の分解も速やかに進行し、ChE に対する阻害活性も減少した。

3-3-2. 塩素消毒副生成物 (非意図的生成化学物質) の変異原活性作用

3-1-2. C. で有機物の塩素処理における Ames 変異原物質の生成能とそれらの生成メカニズムについて述べた。ここでは塩素処理した有機リン系殺虫剤及びフェノール化合物水溶液から得られた反応混合物を TLC で分画し、P=O 型有機リン化合物、塩素化プレダイオキシシン及び塩素化アルキルセミキノンを単離してそれらの Ames 試験を行った (Table 6)。ブタミフォス、クロルピリフォス、イソフェンフォス及びトルクロフォスの各オクソンを除いて、ダイアゾオクソン及びマラオクソンに塩基対置換型、EPN オクソン、スミオクソン、マラオクソン及びパラオクソンにフレームシフト型の変異原活性が認められた。しかし、それらの変異原活性は一部を除いて低いことが分かった。⁷⁹⁾

典型的なプレダイオキシシンの Triclosan 及びフェノールの PCPPs は試験菌株に対して強い殺菌効果がみられた。しかし、4-アルキルフェノールから生成した PCPPs は、弱いながらも、塩基対置換型の変異原活性を示した。⁴¹⁾ 一方、塩素との初期反応で生成する塩素化 4-アルキルセミキノンは塩基対置換型の変異原活性を示し、その活性はアルキル鎖長に比例して低下傾向がみられるものの、Ames 試験の陽性対照とするアジ化ナトリウムの活性とほぼ同程度であった。⁵³⁾

3-4. 水道、河川及び海域における有機物汚染の事例調査研究

3-4-1. 揮発性及び難揮発性有機ハロゲンの生成と存在 タイ王国 Bangkok 首都圏の 3 ヲ所の浄

Table 5. Cholinesterase Inhibition Assays of Organophosphorus Pesticides before and after Chlorination with Hypochlorite in Water, Using Horse Serum Cholinesterase⁷⁷⁾

Common, trade or code name	Specific group component	Concentration of pesticide in water (mol/l) ^{a)}		A/B
		A: before	B: after chlorination ^{b)}	
Butamifos	P=S	1.8×10^{-4}	3.6×10^{-6}	200
Chloropyrifos	P=S	8.0×10^{-4}	6.4×10^{-6}	125
Diazinon	P=S, Pyridyl	3.2×10^{-5}	3.2×10^{-8}	1000
Disyston (Disulfon)	P=S, C-S-C	1.0×10^{-3}	2.0×10^{-5}	50
EPN	P=S, NO ₂	6.4×10^{-4}	1.6×10^{-6}	400
Ethion	(P=S) ₂	5.0×10^{-5}	1.3×10^{-8}	384
Fenitrothion (Sumithion)	P=S, NO ₂	1.6×10^{-3}	3.2×10^{-6}	500
Isofenphos	P=S, NHCH (Me) ₂	1.0×10^{-2}	1.6×10^{-6}	625
Isoxathion	P=S	1.0×10^{-2}	2.0×10^{-6}	5000
Lectophos	P=S, NO ₂	1.6×10^{-3}	3.2×10^{-6}	500
Malathion	P=S, C=C	2.3×10^{-3}	1.0×10^{-4}	23
Methyl parathion	P=S, NO ₂	2.5×10^{-3}	2.0×10^{-5}	125
Papthion (MPP)	P=S, CO ₂ Et	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-4}	100
Parathion	P=S, NO ₂	4.0×10^{-5}	2.5×10^{-7}	160
Dichlorvos (DDVP)	P=O, C=C	2.5×10^{-6}	2.5×10^{-6}	1
Trichlorfon (DEP)	P=O	1.5×10^{-5}	4.0×10^{-6}	3.75
Diazoxon	P=O, Pyridyl	5.0×10^{-7}	3.2×10^{-7}	1.19
Malaoxon	P=O, C=C	3.3×10^{-5}	1.0×10^{-4}	0.33
Methyl paraoxon	P=O, NO ₂	1.3×10^{-5}	2.0×10^{-5}	0.65
Paraoxon	P=O, NO ₂	2.5×10^{-7}	2.5×10^{-7}	1
Phosvel-oxon	P=O, NO ₂	3.0×10^{-6}	5.0×10^{-6}	0.6
Sumioxon	P=O, NO ₂	4.0×10^{-6}	3.2×10^{-6}	1.25

^{a)} The concentration of inhibitor necessary to effect 50% reduction in horse serum cholinesterase assay. ^{b)} Reaction mixtures of organophosphorus pesticides (0.001–0.4 mmol/l) and an excess hypochlorite in buffered water of pH 7.0 were prepared and then diluted them with distilled water for their ChE inhibiting assays.

水処理場のうち、Bangkhen が最も大きな水道水供給施設である。水道原水は、河口から 40 km 上流まで感潮河川であるため、80 km 上流から採取していた。1984 年 5 月（乾季）、浄水処理場職員の協力を得て処理プラントの各施設及び首都圏水道公社職員の協力を得て市内約 300 ヲ所の給水施設から試料水を採水し、THMs をヘッド・スペース/GLC/ECD により分析した。浄水処理施設の前塩素処理で平均 50 µg/l、最終塩素処理で平均 100 µg/l の THM を検出し、THMs の発生源が浄水処理施設における前及び後塩素消毒であることを再確認した。Bangkok 市内 300 ヲ所の採水試料のうち、地下水利用地区では不検出、給・配水地区では平均約 100 µg/l の THM を検出した。^{80,81)}

多摩川は 1970 年代初めまで、首都圏人口 70% の水道水を供給していた。高度経済成長期に流域の都市化及び工業化が進行して河川の汚染が臨界状態に

達したため、その後、水道原水を利根川から取水している。首都圏の水不足解消策として、再利用を目的にして、多摩川の THMs と TOX による汚染現状及び塩素処理におけるこれらの生成能を、1986–1987 年の 1 年間、調査した。⁸²⁾ 河口から上流 8 地点の河川水は THMs による汚染が観察されなかったが、TOX による汚染が 25–45 µg/l 検出され、農業及び産業排水由来の有機ハロゲンの流入が考えられた。初期塩素濃度を 10 mg/l で河川水試料を 1 時間塩素処理したときの THMs 生成能が 30–100 µg/l、TOX 生成能が 160–420 µg/l となり、都市化が進んだ中流域及び下流域で大きな値が得られた。中流域の河川水を塩素処理すると、有機塩素より有機臭素化合物の割合が高くなる現象がみられた。⁸³⁾ また、多摩川中流域の底質微生物を用いて、本来 THMs 生成能がないグルコース、アルブミン及びビステアリン酸をインキュベートしたところ、THMs 及び

Table 6. Mutagenic Potencies (MP) of Nonintentional Chemical Substances Formed in the Reactions of Aqueous Organic Compound Solutions and Isolated by Using Thin-layer Chromatographic Fractionation in the Reaction Mixtures

Compound examined	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Mutagenic response in the tester strain				MP in the strain (net revertants per nmol)	Reference
		TA98		TA100			
		without S9	with S9	without S9	with S9		
Organophosphorus pesticides (P=O type)							
Butamifos-oxon	5-1000	NEG*	NEG	NEG	NEG	0	79
Chlorpyrifos-oxon	5-1000	NEG	NEG	NEG	?	0	79
Diazoxon	5-1000	NEG	NEG	POS**	NEG	0.1	79
EPN-oxon	5-1000	POS	NEG	NEG	NEG	0.7	79
Sumioxon	5-1000	NEG	POS	NEG	NEG	0.5	79
Isofenphos-oxon	5-1000	POS	NEG	NEG	NEG	1.4	79
Isoxaaxon	5-1000	NEG	NEG	NEG	NEG	0	79
Malaoxon	5-1000	NEG	POS	POS	NEG	2	79
Paraoxon	5-1000	NEG	POS	NEG	?	2.6	79
Tolclofos-oxon	5-1000	NEG	NEG	NEG	NEG	0	79
Polychlorinated phenoxyphenols (PCPPs including predioxin)							
Triclosan	1-50	TOX***	NEG	TOX	NEG	0	41
PCPPs from phenol	1-50	NEG	NEG	NEG	NEG	0	41
2-Methylated PCPPs	1-300	NEG	NEG	POS	NEG	0	41
4-Methylated PCPPs	1-300	NEG	NEG	POS	NEG	1.18	41
2-Ethylated PCPPs	1-300	NEG	NEG	POS	NEG	0	41
4-Ethylated PCPPs	1-300	NEG	NEG	POS	NEG	0.34	41
4-Propylated PCPPs	1-300	NEG	NEG	POS	NEG	0.27	41
4-Butylated PCPPs	1-300	NEG	NEG	POS	NEG	0.1	41
4-Pentylated PCPPs	1-300	NEG	NEG	POS	NEG	0.04	41
4-Hexylated PCPPs	1-300	NEG	NEG	POS	NEG	0.03	41
4-Heptylated PCPPs	1-300	NEG	NEG	POS	NEG	0.01	41
4-Octylated PCPPs	1-300	NEG	NEG	POS	NEG	0.01	41
4-Nonylated PCPPs	1-300	NEG	NEG	NEG	NEG	0	41
Chlorinated alkylseminquinones							
Cl ₂ -4-Methylseminquinone	1-100	NEG	NEG	POS	NEG	24	54
Cl ₂ -4-Ethylseminquinone	1-100	NEG	NEG	POS	NEG	16	54
Cl ₂ -4-Propylseminquinone	1-100	NEG	NEG	POS	NEG	13	54
Cl ₂ -4-Butylseminquinone	1-100	NEG	NEG	POS	NEG	11	54
Cl ₂ -4-Pentylseminquinone	1-100	NEG	NEG	POS	NEG	10	54
Cl ₂ -4-Hexylseminquinone	1-100	NEG	NEG	POS	NEG	7	54
Positive control: 2-NF							
NaN ₃		31		33		net revertants per nmol	
B(a)P		28		37		net revertants per nmol	

* NEG, negative response in the tester strain; ** POS, positive response in the tester strain; *** TOX, killing effect.

TOX 生成能が急上昇し、河川における微生物活動と有機ハロゲン生成能との関係に重要な関係があることを観察した。⁸⁴⁾

多摩川の上流域（河合キャンプ場→羽村堰）は農林業、中流域は（日野橋→田園調布堰）は住宅地及び都市活動及び下流域は（田園調布堰→大師橋）産業活動地帯である。これら 8 地点から 1994 年に底質試料を、また、日野橋近くから底質及び小魚（モ

ロコ）試料を採取してダイオキシン分析を行った。多摩川底質中のダイオキシン類は他の河川底質中の濃度と比べて大きな違いがみられないが、羽村堰及び田園調布堰で 2 つの極大ピークを持つ特徴があった。⁸⁵⁾ それぞれの上流から運ばれたダイオキシン類を含む土砂がこれらの堰で堆積し、極大ピークが観察されたと解釈した。ダイオキシン類の異性体/同族体分布パターンの解析から、上流域では農業由来

及び中流域では都市廃棄物焼却由来及び下流域では産業由来と考えられた。都市廃棄物焼却施設の排水が流れ込む地点の底質は四塩素化から八塩素化ダイオキシン類にかけて濃度の高くなる同族体パターンを示したが、そこに生息するモロコはこの逆パターンとなった。⁸⁶⁾

3-4-2. タイ王国四大河川河口域の脂溶性有機物汚染 タイ王国の四大河川 (Chao Phraya, Bang Pakong, Tha-Chin 及び Mae Kong) は農業用水や水道原水として重要な役割を担っている。河口域はいずれも感潮河川であり、シャム湾で起こる海洋汚染の影響を受け易い。1984年の乾季及び雨期、これらの河口域及びシャム湾から採水した試料の四塩素化炭素抽出物を GC/MS で分析した。⁸⁷⁾ 検出された脂溶性有機物は C₁₇-C₃₃ の *n*-Alkanes (C₂₆ をピークとする濃度分布パターン) 及びフタル酸エステル (DBP, DEHP) であった。PAHs 成分はほとんど検出されなかった。Chao Phraya 河の河口域 (14 km) の乾季試料水が最も高い濃度 (1.2 mg/l) を示し、Bangkok 市内 (44 km 上流, 0.3 mg/l) よりさらに上流域 (142.6 km, 0.7 mg/l) が比較的高濃度であった。⁸⁷⁾ Bang Pakong 及び Tha-Chin 河の河口域の有機物汚染は比較的低く、シャム湾の海水ではほとんど検出されなかった。雨期の試料水はいずれも低濃度となり、雨水が効果的に有機物汚染を低下させる役割を果たしていた。これらの結果は微生物活動に基づく自然由来の有機物と石油・石炭産業由来の有機物との複合汚染であることを示唆する。

3-4-3. 河川水/魚介類の有機塩素系及び有機リン系農薬汚染 1984年 Bangkok 首都圏を縦断するチャオプラヤ河の河川水と底質及び、1989年シャム湾海域から採取した食用ミドリイガイの有機塩素系農薬汚染を調査した。乾季 (4月) の河川水に各種の有機塩素系農薬が高頻度に検出され、特にアルドリンとその微生物代謝産物デイルドリン, p,p'-DDT とその微生物代謝産物 p,p'-DDE 及び p,p'-DDD が、雨期 (10月) のそれらに比べてやや高濃度 (平均 0.23 µg/l) に存在していた。⁸⁸⁾ マラリヤの媒介蚊駆除に依然としてこれら農薬が使用されていることを反映した。シャム湾には内陸部から河川水が流入しているほか、沿岸で魚介類の養殖場が散在しており、そこで使用された有機塩素系農薬による魚介類の汚染が懸念された。ミドリイガイの溶媒抽

出物には、河川水の有機塩素系農薬汚染を反映して、DDT 代謝産物、アルドリンとデイルドリンが高頻度に検出され、それぞれ、0.39-7.41, 0.31-1.3 及び 0.02-0.73 pg/kg-wet の濃度範囲であったが、食用に供するのに問題がないと判断した。⁸⁹⁾

1970年以降、東京首都圏における水道原水は多摩川から利根川水系に代わったが、この流域のうち、江戸川における農薬汚染及びこれを原水とした水道水の農薬濃度を共同研究により調査した。1995年前後における調査結果を別にまとめたので、⁹⁰⁾ それの参照をお願いしたい。

3-4-4. 水道水の変異原性物質の存在及び変異原活性の季節変動 水道水中に存在する変異原性物質は原水の塩素消毒により生成することを既に「3-1-2. C. 及び 3-3-2. の塩素消毒副生成物 (非意図的生成物質) の変異原活性作用」の項で述べた。朝霞浄水処理場から給水されている水道水を、1985年 XAD-2 樹脂カラム及び活性炭カラム吸着法によって有機溶媒抽出物を調製し、Ames 試験を行った。XAD 樹脂カラム法による抽出有機物は TA98 より TA100 株系で強い変異原陽性の結果を示し、肝代謝系を組み込むことにより活性が低下した。⁹¹⁾ 活性炭カラム法による抽出有機物についても同様な傾向が認められた。しかし、これら抽出有機物のポリアミドプレート及びクロロホルム展開液による TLC 分画から、XAD 抽出物に無極性の変異原性物質、活性炭抽出物に極性の変異原物質が主に存在し、その化学種と活性に違いがみられた。⁹²⁾ これらの結果から、水道水に存在する変異原性物質の化学種及びそれらの活性強度が分離・分析法に強く依存することが分かった。

1988年及び1994年の XAD-2 樹脂カラム吸着法によって得られた抽出有機物の Ames 試験は、いずれも、6月から変異原活性が上昇し、台風の影響があったものの、翌年の2月まで高水準を維持した。⁹³⁾ 上に述べたと同様の TLC 分画及び Ames 試験から、夏季の試料水には弱極性変異原物質が、春季及び冬季の試料水に弱極性及び無極性変異原物質が存在した。⁹⁴⁾ 2008年1月から12月、千葉県北西部の水道原水 (江戸川) 及びそれを原水とした水道水から採取した試料水の変異原物質は、前者がフレームシフト型及び後者が塩基対置換型であることを明らかにした。⁹⁵⁾

3-4-5. 利根運河における農薬・PPCPsの分布と季節変動 利根運河は千葉県柏市船戸の利根川右岸から分派し、流山市深井新田の江戸川左岸に至る全長 8.5 km の人工構築河川である。現在、運河としての役割を終えて、平常時に水が流れていない。また、流域の宅地開発による生活雑排水の増加や下水道整備の遅れから、簡易浄化槽を通過した汚水が直接、運河水と合流する。しかし、江戸川と合流した河川水はその直下流の金町浄水場の原水となるため、利根運河流域の有機物汚染状況を把握する必要があった。

2006 年 1 月から 1 年間、利根運河流域 3 地点（利根川合流点、中間点及び江戸川合流点）から試料水を採取し、酢酸エチル抽出物を調製して ChE 阻害物質濃度の流域変化及び季節変動を調査した。⁹⁶⁾ 利根川合流点では有機リン系農薬が検出限界以下、微量の有機リン酸エステル及び水田除草剤が検出された。中間点では微量の有機リン系農薬、有機リン酸エステル及び水田除草剤、また、江戸川合流点では中間点と同様の ChE 阻害物質を、それぞれ、検出した。これら ChE 阻害物質濃度の季節変動は農薬散布期間を反映して 4 月末から上昇し、7 月から減少する傾向を示した。試料水の ChE 阻害試験は GC/MS の測定結果を反映し、塩素処理後に ChE 阻害活性の急上昇が認められたことから、塩素処理と ChE 試験法の組み合わせによる試験法が環境水の安全性評価に有効であることを実証した。

2006 年 4 月から 1 年間、上で述べた利根運河の同一地点から試料水を採取し、ミクロ固相抽出装置で試料調製を行い、抽出液中の Triclosan 濃度の流域分布及び季節変動を調査した。幅広い抗菌作用を示す Triclosan は医療用石鹸、シャンプー、歯磨き粉及び脱臭剤として使用され、1996 年の大阪府堺市で発生した O157 事件を契機にしてその使用量が急増した。利根川合流地点近傍ではほとんど検出されないが、新興住宅地の多い利根運河駅に近い中間点で初めて検出され、江戸川合流地点で最も高い濃度 (30 ng/l) が検出された。⁹⁷⁾ 水中 Triclosan 濃度の季節変動は、利根運河中間点の場合、4 月から 6 月に高く、江戸川合流地点では年間変動が観察されなかった。中間点の直下流に流入する新興住宅地からの排水溝で、水使用量の多い正午に最も高い Triclosan 濃度が検出された。したがって、利根運

河における Triclosan の発生源は新興住宅地からの排水であろうと考えられた。

下水処理施設における非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) の除去に関する報告例は「3-1-1. 有機物の塩素消費量」の項で述べた。利根運河の利根川合流点、中間点、中間点の直下流の排水溝及び江戸川合流点から試料水を採取し、固相抽出操作を行って GC/MS/MS 分析した。これと平行して NSAIDs の薬理作用である Cyclooxygenase (COX) 阻害試験の環境毒性評価への適用性を検討した。⁹⁸⁾ GC/MS/MS 分析によりすべての採取地点から NSAIDs が検出され、特に中間点直下流の排水溝で高濃度になった。COX 阻害試験は GC/MS/MS の結果とよい一致を示した。しかし、GC/MS/MS 及び COX 阻害試験による環境毒性の評価について、さらに改善すべき点が残された。

わが国の下水とその放流水中に多数の PPCPs が存在することが報告されているが、^{22,99)} 河川水の調査報告例は少ない。¹⁰⁰⁾ 菅野らは、2008 年千葉県北西地帯における水道原水及び水道水中の鎮痛剤クロタミトン及び昆虫忌避剤 DEET 濃度の季節変動に関する調査を行った。前者の濃度は晩秋から早春に、後者のそれは晩春から初秋に高くなる傾向があり、これら PPCPs の使用時期を反映した結果となった。¹⁰¹⁾ 両者の濃度は下水処理施設の流入及び放流水で大きな差はなく、^{29,100)} クロタミトンが粉末活性炭単処理、砂ろ過及び塩素処理で除去されない⁹⁹⁾と言われている。しかし、調査した浄水処理施設における DEET の除去率は平均 90%、クロタミトンのそれは平均 74%と計算された。

4. 今後の展望

筆者の独断と偏見により「上・下水の塩素処理液中に存在する非意図的の化学物質の生成機構と安全性評価」に関する研究のあゆみを述べた。ヒトの健康被害や生態系破壊をもたらす意図的の生成化学物質の環境汚染研究は、問題発生の発掘→発生頻度や発生範囲の予備調査→当該物質の分析法を含めた正確な健康被害や生態系破壊状況評価法の開発→当該物質の除去や被害状況の改善を含めた問題解決の技術開発→環境汚染実態の本格調査→行政による被害者の救済と環境修復のように進展してきたと考えられる。

一方、非意図的の化学物質については、国際的に取りあげられた「トリハロメタン」や「ダイオキシン

環境汚染」問題に対しては迅速な社会の対応がみられた。しかし、アスベスト事件のように、環境汚染が進行して30年後に健康被害や生態影響が顕在化した問題に対して、1985年に「水道水とアスベストの関係」が議論されたが、その後の社会的取り組みは不十分であった。本稿で取りあげた非意図的生成化学物質は、慢性的曝露の結果、毒性発現レベルに達したとき、初めてその健康影響や生態影響が顕在化する。その間及びその後の疾病者が受ける心身の苦しみや環境修復に要する社会的コストは莫大なものになる。これまでの予防医学に対する社会的コストに加えて、「非意図的生成化学物質」に対する社会的関心が高まることを望む。

謝辞 最後に、この研究分野への道をお導き下さいました東京理科大学薬学部衛生化学教室の故中井教授、石倉教授及び故鈴木教授に深謝します。薬学部助手として歩み始めたときに手取り・足取りご指導・ご鞭撻を賜りました日本薬学会衛生化学調査委員会の諸先生に重ねて深謝します。また、衛生化学教室及び環境科学研究室でともに学んだ卒業研究生及び大学院生の諸君と楽しい研究生活を送れたことに感謝します。

REFERENCES

- 1) Rook J. J., *Water Treat. Exam.*, **23**, 234-243 (1974).
- 2) Bellar T. A., Lichtenberg J. J., *J. Am. Water Works Assoc.*, **66**, 703-706 (1974).
- 3) Olie K., Vermeulen P. L., Hutzinger O., *Chemosphere*, **8**, 455-459 (1977).
- 4) Yagi S., *Shuki no Kenkyu*, **30**, 309-319 (1989).
- 5) Kawarazaki T., *Suishitsu Odaku Kenkyu*, **8**, 2-6 (1985).
- 6) Ministry of Health and Welfare, Act on New Drinking Water Quality Standards, Act No. 264, 1992.
- 7) Ames B. N., McCann J., Yamasaki E., *Mutat. Res.*, **31**, 347-364 (1975).
- 8) Yahagi T., *Proteins, Nucleic Acids and Enzymes*, **20**, 178-1189 (1975).
- 9) Ellman G. L., Courtney K. D., Ander Jr. V., Featherstone R. M., *Biochem. Pharmacol.*, **7**, 88-95 (1961).
- 10) Uchiyama M., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **15**, 208-210 (1969).
- 11) Swain C. G., Crist D. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 3195-3200 (1972).
- 12) Snoeyink V. L., Jenkins D., "Water Chemistry," John Wiley & Sons, Inc., New York, 1980, pp. 386-403.
- 13) Cheh A. M., Skochdopole J., Koski P., Cole L., *Science*, **207**, 90-91 (1980).
- 14) Onodera S., Tabata M., Ishikura S., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **26**, 33-40 (1980).
- 15) Onodera S., Proceedings on 27th Open Seminar of Japan Environmental Chemical Society, Tokyo 1999, pp. 41-49.
- 16) Deinzer M., Schaumburg F., Klein E., *Environ. Health Perspect.*, **24**, 209-239 (1978).
- 17) Fukuyama M. Y., Tan H., Wheeler W. B., Wei C.-I., *Environ. Health Perspect.*, **69**, 267-274 (1986).
- 18) Prinkston K. E., Sedlak D. K., *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 4019-4025 (2004).
- 19) Huber M. M., Korhonen S., Ternes T. A., von Gunten U., *Water Res.*, **39**, 3607-3617 (2005).
- 20) Nakada N., Komori K., Suzuki Y., *Environ. Sci.*, **12**, 359-369 (2005).
- 21) Bedner M., MacCrehan W. A., *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 516-522 (2006).
- 22) Nakada N., Tanishima T., Shinohara H., Kiri K., Takada H., *Water Res.*, **40**, 3297-3303 (2006).
- 23) Bedner N., MacCrehan W. A., *Chemosphere*, **65**, 2130-2137 (2006).
- 24) Onodera S., Ishikura S., Tanaka K., Kagawa Y., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **22**, 196-205 (1976).
- 25) Onodera S., Kato J., Kamonzeki Y., Ishikura S., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **23**, 331-338 (1977).
- 26) Onodera S., Tabata M., Suzuki S., Ishikura S., *J. Chromatogr.*, **200**, 137-144 (1980).
- 27) Onodera S., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **54**, 1249-1250 (1981).
- 28) Onodera S., Matsuda M., Ishikura S., Suzuki S., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **28**, 146-154 (1982).
- 29) Onodera S., Iino N., Matsuda M., Ishikura S., *J. Chromatogr.*, **265**, 201-213 (1983).
- 30) Onodera S., Udagawa T., Tabata M., Ishikura

- S., *J. Chromatogr.*, **287**, 176–182 (1984).
- 31) Onodera S., Yamada K., Yamaji K., Ishikura S., *J. Chromatogr.*, **288**, 91–100 (1984).
- 32) Jensen S., Renberg L., *Ambio*, **1**, 62–65 (1972).
- 33) Sanderman W., Stockman H., Casten R., *Chem. Ber.*, **90**, 690–692 (1957).
- 34) Onodera S., Yamada K., Yamaji Y., Ishikura S., Suzuki S., *J. Chromatogr.*, **254**, 293–302 (1986).
- 35) Onodera S., Ogawa M., Yamawaki C., Suzuki S., *Chemosphere*, **19**, 675–680 (1989).
- 36) Onodera S., Takahashi M., Suzuki S., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **39**, 20–28 (1993).
- 37) Onodera S., Takahashi T., Takemoto S., Oh-i T., *J. Health Sci.*, **54**, 423–431 (2008).
- 38) Onodera S., Kibayashi K., *J. Environ. Chem.*, **19**, 67–75 (2009).
- 39) Kawakami T., Nishi I., Kishi T., Onodera S., *J. Environ. Sci. Health. Part A Toxic/Hazard. Subst. Environ. Eng.*, **44**, 641–647 (2009).
- 40) Onodera S., Ogawa M., Suzuki S., *J. Chromatogr.*, **392**, 267–275 (1987).
- 41) Onodera S., Takahashi M., Ogawa M., Suzuki S., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **41**, 212–219 (1995).
- 42) Rapson W. H., Nazer M. A., Sutssky V., *Bull. Environ. Coantm. Toxicol.*, **24**, 590–601 (1980).
- 43) Maruoka S., Yamanaka S., *Mutat. Res.*, **79**, 381–386 (1980).
- 44) Holmbon B. R., Voss R. H., Mortimer R. D., Wong A., *Tappi*, **64**, 172–174 (1981).
- 45) Holmbon B. R., Voss R. H., Mortimer R. D., Wond A., *Environ. Sci. Technol.*, **18**, 333–337 (1984).
- 46) Onodera S., Hirose Y., Ishikura S., *J. Environ. Chem.*, **5**, 65–71 (1995).
- 47) Onodera S., Usui Y., Fuji M., Suzuki S., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **28**, 160–163 (1982).
- 48) Onodera S., Akutsu R., Furuta M., Usui Y., Fujii M., Suzuki S., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **30**, 33–39 (1984).
- 49) Onodera S., Maruyama S., Ishikura S., Suzuki S., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **31**, 171–178 (1985).
- 50) Onodera S., Yamashita M., Ishikura S., Suzuki S., *J. Chromatogr.*, **360**, 137–150 (1986).
- 51) Onodera S., Uchida A., Nakajima C., *J. Chromatogr. A.*, **699**, 291–296 (1995).
- 52) Onodera S., Yoshimatsu K., Yonaha M., *J. Environ. Chem.*, **7**, 31–37 (1997).
- 53) Onodera S., Yoshimatsu K., Saito H., Uchida A., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **44**, 289–300 (1998).
- 54) Onodera S., Sakota M., Kuwahara M., Mori Y., *J. Environ. Chem.*, **12**, 353–360 (2002).
- 55) Onodera S., Hayashi T., Fujiyama T., Oh-i T., Mori Y., Kawahara M., Ezoe Y., Nakajima D., Goto S., *J. Environ. Chem.*, **16**, 229–237 (2006).
- 56) Alben K., *Anal. Chem.*, **52**, 1825–1828 (1980); *Environ. Sci. Technol.*, **14**, 468–470 (1980).
- 57) Oyler A. R., Bodenner D. L., Weich K. J., Luikkonen R. J., Carlson R. M., Kopperman H. L., Cople R., *Anal. Chem.*, **50**, 837–842 (1978).
- 58) Onodera S., Muratani T., Kobatake N., Suzuki S., *J. Chromatogr.*, **370**, 259–274 (1986).
- 59) Onodera S., Igarashi K., Fukuda A., Ouchi J., Suzuki S., *J. Chromatogr.*, **466**, 233–249 (1989).
- 60) Mori Y., Goto S., Onodera S., Naito S., Matsushita H., *Chemosphere*, **22**, 495–501 (1991).
- 61) Onodera S., Muratani T., Igarashi K., Fukuda A., Suzuki S., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **36**, 201–210 (1990).
- 62) Onodera S., Igarashi K., Fukuda A., Ouchi J., Suzuki S., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **40**, 233–243 (1994).
- 63) Burleson J. L., Peyton G. R., Glaze W. H., *Environ. Sci. Technol.*, **14**, 1354–1359 (1980).
- 64) Sakurai E., Sawamura R., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **29**, 368–375 (1983).
- 65) Ishikawa S., Fujino H., Yasuda K., Shigemori N., *Suishitsu Odaku Kenkyu*, **9**, 786–792 (1986).
- 66) Trehy M. L., Yost R. A., Miles C. J., *Environ. Sci. Technol.*, **20**, 1117–1122 (1986).
- 67) Ghanbari, H. A., Wheeler W. B., Kirk J. R., *J. Food Sci.*, **47**, 482–485 (1982).
- 68) Gibson T. M., Haley J., Righton M., Watts C. D., *Environ. Technol. Lett.*, **7**, 365–372

- (1986).
- 69) Susasmuth R., *Mutat. Res.*, **105**, 23–28 (1982).
- 70) Vogel E. W., Zijlstra J. A., Blijieven G. G. H., *Mutat. Res.*, **107**, 53–77 (1983).
- 71) Yamashita M., Master Thesis of Graduate School of Pharmacy, Tokyo University of Science (1986).
- 72) Onodera S., Iriko S., Suzuki S., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **38**, 247–257 (1992).
- 73) Takiguchi A., Tsuda A., Yoshikawa S., Nakajima D., Goto S., Onodera S., *J. Environ. Chem.*, **16**, 219–228 (2006).
- 74) Lau T. K., Chu W., Graham N., *Water Res.*, **41**, 765–774 (2007).
- 75) Nakamura H., Kawakami T., Niino T., Takahashi Y., Onodera S., *J. Toxicol. Sci.*, **33**, 621–629 (2008).
- 76) Nakajima M., Kawakami T., Niino T., Takahashi Y., Onodera S., *J. Health Sci.*, **55**, 363–371 (2009).
- 77) Onodera S., Wakabayashi S., Furukawa N., Ogawa T., Matsuura Y., Manabe K., Suzuki S., Ishikura S., Suzuki S., *J. Environ. Chem.*, **2**, 547–556 (1992).
- 78) Onodera S., Machida S., Yamao K., Iwasaki T., Nishikori K., Arai K., *J. Environ. Chem.*, **3**, 261–270 (1993).
- 79) Onodera S., Maeda S., Saito A., *J. Environ. Chem.*, **5**, 617–681 (1995).
- 80) Onodera S., Siriwong C., Tabucanon M., *J. Sci. Soc. Thailand*, **10**, 221–235 (1984).
- 81) Onodera S., Tabucanon M., Ubanichikul S., *Asian Environment*, **7**, 26–30 (1985).
- 82) Onodera S., Nishikawa T., Suzuki S., *J. Chromatogr.*, **409**, 259–270 (1987).
- 83) Onodera S., Nishikawa T., Igarashi K., Nishimura A., Suzuki S., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **35**, 9–18 (1989).
- 84) Onodera S., Nishikawa T., Igarashi K., Nishimura A., Suzuki S., *J. Contam. Hydrol.*, **9**, 155–173 (1992).
- 85) Onodera S., Sugimoto M., Takagi T., Tanaka K., *J. Health Sci.*, **45**, 1–7 (1999).
- 86) Onodera S., Sugimoto M., Takagi T., Tanaka K., *J. Environ. Chem.*, **9**, 53–59 (1999).
- 87) Onodera S., Chattikunrong W., Saito K., Phongbetchara R., Tabucanon M., *J. Chromatogr.*, **392**, 295–308 (1987).
- 88) Onodera S., Tabucanon M., *J. Sci. Soc. Thailand*, **12**, 225–238 (1986).
- 89) Siriwong C., Hironaka H., Onodera S., Tabucanon M., *Mar. Pollut. Bull.*, **22**, 510–516 (1991).
- 90) Onodera S., “Safety of Drinking Water by Contamination with Pesticides, The Characteristics and Advanced Technology of Water – for Agriculture, Foods, and Medicals–,” NTS Inc., Tokyo, 2004, pp. 265–275.
- 91) Onodera S., Yoshimatsu K., Saito H., Suzuki S., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **34**, 389–400 (1988).
- 92) Onodera S., Yoshimatsu K., Saito H., Suzuki S., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **35**, 1–8 (1989).
- 93) Onodera S., *J. Chromatogr.*, **557**, 413–427 (1991).
- 94) Onodera S., Oda K., Goto S., Nakanishi A., *Arch. Complex Environ. Studies*, **13**, 43–55 (2001).
- 95) Kanno A., Master Thesis of Graduate School of Pharmacy, Tokyo University of Science (2008).
- 96) Kawakami T., Takezawa A., Nishi I., Watanabe E., Yun H., Ishizaka M., Onodera S., *Ecotoxicology*, **17**, 221–228 (2008).
- 97) Nishi I., Tawakami T., Onodera S., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **80**, 163–166 (2008).
- 98) Nishi I., Komuro T., Kawakami T., Onodera S., *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **58**, 535–542 (2010).
- 99) Okuda T., Kobayashi Y., Nagao R., Yamashita N., Tanaka H., Tanaka S., Fuji S., Konishi C., Houwa I., *Water Sci. Technol.*, **57**, 65–71 (2008).
- 100) Nakada N., Komori K., Suzuki Y., Konishi C., Houwa I., Tanaka H., *Water Sci. Technol.*, **56**, 133–140 (2007).
- 101) Kanno A., Tomizawa T., Nishi I., Kishi T., Kawakami T., Takahashi Y., Onodera S., *J. Environ. Chem.* **20**, 121–125 (2010).