

変異原性生成能と農薬測定による水道原水の安全性評価

廃棄物・有害物管理工学研究室 狩野美代
指導教員 小松俊哉 姫野修司

1. はじめに

水道では、平成 15 年に「水質基準の省令」が改正されたことにより 101 種の農薬全てが水質管理目標設定項目に位置づけられ総農薬方式で評価されることになった。総農薬方式への改正に伴い、測定する農薬は各水道事業者が選定し測定を行うようになったが、農薬は、技術情報保護の問題などから、水質管理に十分な情報があるとは言いがたい。また、農薬の使用量などは正確な情報は無く、流通量として都道府県においてどれだけ出荷しているか、までにとどまっており、水源管理に必要な流域別の情報に関しては正確な情報が得られないというのが実情であることから、重要農薬を優先的に選定する考え方が検討されている¹⁾。

農薬は農薬取締法によって変異原性が評価されているため、強い変異原性を示す農薬はほとんど使用されていないと考えられる。しかし、農薬を多く含むと考えられる水道原水において著しく高い変異原性が観察されたという報告もある²⁾。水道水の安全性を変異原性の観点から考えると、浄水処理工程において散布された農薬が強い変異原性物質を生成するかどうかを検討する必要があり、これにより優先的農薬を考える際の重要な因子となる可能性がある。水道原水に流入する農薬は、農薬原体のみではなく生分解代謝物も考えられる。現に、農薬の代謝物が水道原水から検出されているこ

とを考えると、それらの塩素処理物が変異原性を示す可能性があることを想定しての評価も重要になってくると考えられる。また、新潟県は、全国でも農薬流通量が全国第 3 位と高く、水道原水における農薬管理が重要であると考えられる。

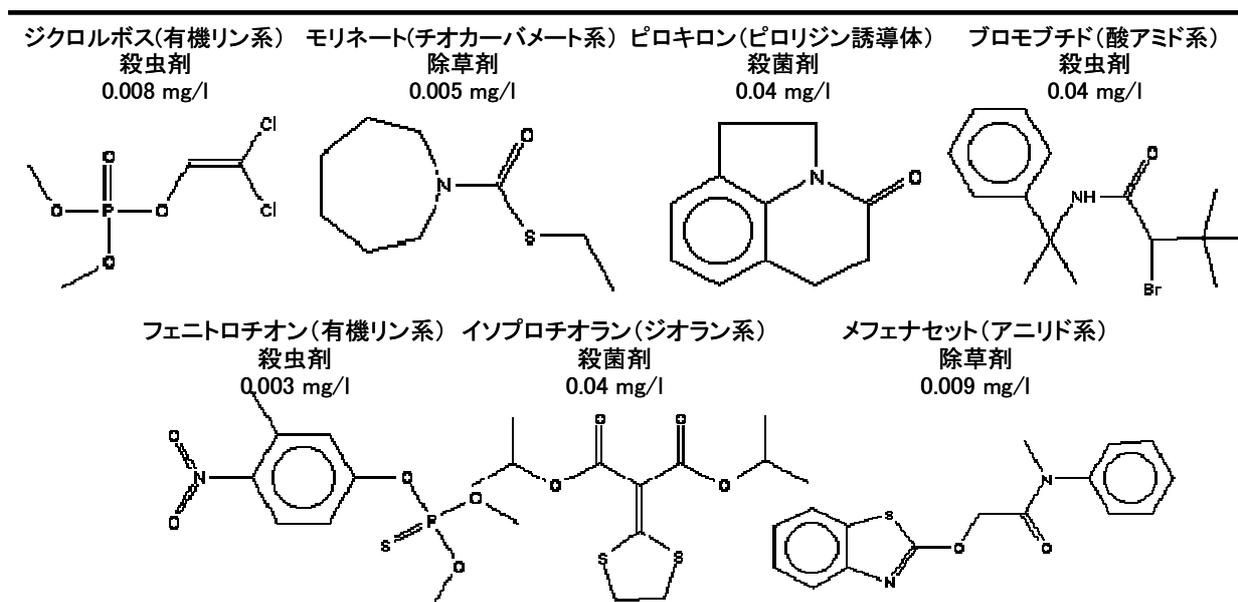
本研究では、より安全側での水質評価を行うため、高梨らによって提案されている変異原性生成能 Mutagen Formation Potential (以下 MFP)³⁾ を用いて水道原水に含まれる可能性のある 101 農薬のうち、重要と考えられる農薬を実測および文献調査等により選定し、評価することとした。さらに、水道原水においては、農薬原体のみではなく農薬の代謝物も検出されている。これから、農薬の生分解代謝物の MFP を測定することにより、水道水のさらなる安全面から見た水質評価を行うこととした。

2. 試験方法

2.1. 試験対象農薬

変異原性試験に用いる農薬は 101 農薬のうち、県内河川・浄水における農薬の検出実績や県内農薬流通量の調査結果などを用いて選定を行った。また、散布された農薬が流出する可能性がある 6 月から 8 月にわたり、県内河川および用水路 4 地点での採水を行い農薬の実測を行った。その結果、文献調査においては 6 種、実測

表 1 対象農薬



においては1種の農薬7種、ジクロロボス、モリネート、ピロキロン、ブロモブチド、フェニトロチオン、イソプロチオラン、メフェナセットを選出した。試験対象農薬の構造系、用途、水道水中の目標値および構造式を表-1に示す。

2.2. 試料の調整

試料は蒸留水に農薬を添加し農薬水溶液を用いた。その際の農薬水溶液の濃度は、重量濃度ではなく水溶液中のDOC濃度に従って設定し、各農薬の水溶性の差から2、4mg-C/lとした。なお、添加した農薬が完全に溶解していること、用いた蒸留水が変異原性を有さないということを確認している。また、生分解試験は、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）の分解度試験に基づき、DOC濃度を調整した各農薬水溶液に30 mg SS/lになるよう活性汚泥を添加し、7日間試験を行った。分解度試験により得られた試料中には、農薬代謝物とは無関係な物質が存在することが考えられるが、これらを分離することは困難であるため、本研究では、分解度試験において得られた試料を農薬の生分解代謝物と定義した。なお、農薬を添加しない系も同条件下で試験を行った。

塩素処理は、MFPの測定についての既報³⁾に準じて行い、塩素処理から24時間後に変異原性物質の吸着に広く用いられているSep-Pak Plus CSP-800カートリッジ（日本ウォーターズ製）を使用し脱離溶媒にはジメチルスルホキシド（DMSO）を用いて固相抽出した。なお、濃縮倍率は、DOC濃度に応じて決定した。

2.3. Ames 変異原性試験およびGC/MS 測定

Ames 変異原性試験は、*Salmonella typhimurium* TA100株（塩基対置換型）を用い、代謝活性化剤を加えない（-S9mix）条件を用いて旧労働省のガイドブックに示されているプレインキュベーション法（37℃、20分）に準じて行った。各実験での復帰コロニー数を計測した結果から用量作用直線の勾配から求めた農薬原体1mg-Cあたりの正味の復帰コロニー数（net revertants/mg-C）として変異原性の強度を示した。また、MR値（陰性対照試験の復帰コロニー数との比）によっても分類し、MR値が1.4未満で変異原性が認められない（陰性）と判断し、1.4以上2.0未満を擬陽性、2.0以上を陽性とした。

なお、毎回の陰性対照試験および陽性対照試験の結果は安定しており、試験日が異なる

Ames 試験結果を比較することに問題は認められなかった。

農薬の塩素分解性や生分解性の確認は、浄水試験方法に基づきPS-2カートリッジを使用しアセトン抽出し、四重極型GC/MSを用いて行った。

3. 結果および考察

3.1. 農薬原体の変異原性

農薬原体の変異原性試験を行った結果を表-2に示す。ジクロロボス以外の農薬6種においては、陰性対照試験結果との有意差は認められず、変異原性無しという結果になった。唯一、変異原性を示したのが有機リン系農薬オキシ型のジクロロボスであり、MR値が2.9となった。

表-2 農薬原体の変異原性試験結果

	原体	
	(net rev./mg-C)	MR値
ジクロロボス	1050	2.9
モリネート	49	1.1
ピロキロン	29	1.1
ブロモブチド	6	1.0
フェニトロチオン	5	1.0
イソプロチオラン	25	1.1
メフェナセット	210	1.2

3.2. 農薬原体のMFP

塩素処理24時間後の農薬残存率を表-3に塩素処理物の変異原試験を行った結果を表-4に示す。農薬残存率は新井らの報告⁴⁾とほぼ同程度であり、分子中に-Sを含む、モリネート、フェニトロチオン、イソプロチオランは分解されやすく、今回7種類の農薬中で最も分解しにくかった農薬はピロキロンだった。また、変異原性試験の結果、全農薬において陽性または擬陽性となり、これら農薬原体が水道原水中に存在した場合、塩素分解性のよいと考えられる農薬であっても、変異原前駆物質になりえるということが明らかとなった。

最も高い変異原性を示した農薬は、フェニトロチオンであった。有機リン系チオノ型（P=S）であるフェニトロチオンは、塩素処理によりフェニトロチオンオキシソン体（P=O）になることが知られている。本研究でも塩素処理後TIC分析により、主な塩素処理物としてフェニトロチオンオキシソン体（m/z 244,109）を確認した（図-1）。なお、フェニトロチオンオキシソン体生成率の最大値は、120分後において88%とされている。

る。

一方、有機リン系オキシ型のジクロロボスの塩素処理により 40%程度分解されると同時に、変異原性が減少したことからジクロロボスの塩素処理物は変異原性を有しておらず、原水中に存在しても変異原前駆物質ではないということが明らかとなった。

3.2. 農薬の生分解代謝物の MFP

7種類の農薬生分解試験を行った際の農薬残存率と MFP 結果を表-5、表-6 に示す。なお、データは、各農薬のみかけの正味の復帰コロニー数からblankで得られた正味の復帰コロニー数を引くことで、農薬自体の正味復帰コロニー数とした。ただし、農薬原体、原体 MFP と生分解代謝物 MFP の濃縮倍率は異なるため、MR 値の比較は行えない。原体農薬の MFP 値と生分解 MFP 値を比較すると、原体 MFP 値より生分解代謝物の MFP が低減したものの、増加したものの 2 グループに分けられた。MFP

表-3 塩素処理 24 時間後農薬残存率

	農薬残存率 (%)
ジクロロボス	61.9
モリネート	11.6
ピロキロン	>100
プロモブチド	91.7
フェニトロチオン	5.7
イソプロチオラン	4.9
メフェナセット	64.5

表-4 農薬原体 MFP

	原体 MFP (net rev./mg-C)	MR 値
ジクロロボス	415	2.1
モリネート	284	1.7
ピロキロン	500	1.9
プロモブチド	329	1.4
フェニトロチオン	751	2.4
イソプロチオラン	294	1.8
メフェナセット	293	1.4

が低減した農薬はジクロロボス、プロモブチドの 2 種類であった。生分解後の農薬残存率はジクロロボスで約 26%、プロモブチドで約 40%であった。これらを生分解後の DOC 残存率と比較すると、同程度の残存率を有しており、DOC 濃度からみた農薬予想濃度と農薬濃度との差が約 10%程度の違いであった。今回の用いた 2 種の農薬は、生分解により代謝物の生成は少なく概ね無機化されることが考えられた。これらからジクロロボスは農薬原体に、プロモブチドは農薬原体の塩素処理物に変異原性を有していることが示唆された。

その他の農薬生分解代謝物の MFP は、全て原体 MFP よりも上昇していることが分かった。最も高い MFP を有していた農薬は、フェニトロチオンであった。フェニトロチオンは生分解されることでおよそ 50%程度削減された。したがって、残存したフェニトロチオンに塩素処理を行うと図-1 のように塩素処理生成物中のかなり高い割合でフェニトロチオンオキソン体が生成すると考えられる。フェニトロチオンオキソン体は非変異原性と報告されているため、原体 MFP と生分解代謝物の MFP の増加率からみると、フェニトロチオンオキソン体以外の高い比活性を持つ変異原前駆物質となり得るものが含まれていることが考えられた。生分解後のフェニトロチオンの TIC を図-2 に示す。フェニトロチオン原体以外に 7 個のピークが確認され、これら物質のうち強い変異原前駆物質が存在することが示唆されたが、本研究では同定までは行えなかった。

4. まとめ

総農薬方式の改正に伴い、測定優先順位農薬の考えを基に、本研究では、変異原性からみた各農薬の評価を行った。ジクロロボス、プロモブチド、フェニトロチオンの 3 種類の殺虫剤と、ピロキロン、イソプロチオランの 2 種類の殺菌剤、モリネート、メフェナセットの 2 種類の除

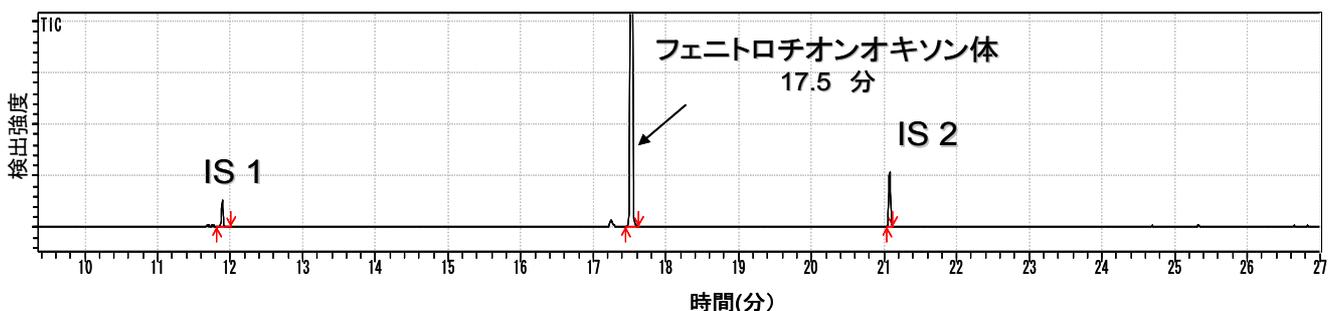


図-1 塩素処理後のフェニトロチオンの TIC

草剤の7種類の農薬を対象として、農薬原体およびその生分解代謝物の塩素処理が浄水場において塩素処理されたときに変異原性物質を生成するかの検討を行った。本研究の主な結論は以下ようになる。

- 1) 原体の変異原性が最も高かった農薬はジクロロボスであり、他の農薬は塩素処理されることで変異原性が増加したが、ジクロロボスにおいては低下した。よって、ジクロロボスは浄水場においては変異原前駆物質になりえない農薬と考えられたが、原体の変異原性が高いため、環境水中において注意すべき農薬であることが明らかとなった。
- 2) 原体 MFP および生分解代謝物 MFP が高かった農薬はピロキロン、フェニトロチオンであり、原体および生分解代謝物の両方において注意すべき農薬であることが考えられた。特にフェニトロチオンは、原体 MFP で 751 (net

rev./mg-C)、生分解代謝物 MFP で 1998 (net rev./mg-C) と今回用いた農薬の中で最も高い値を示した。また、生分解により数多くの生分解代謝物が生成されることが確認されたことから、変異原前駆物質となっていることが考えられた。さらに、フェニトロチオンは塩素処理により塩素分解性の悪いオキソ体に変化することから、水道水の安全性の面からみると7種の中で最も問題となる農薬であったといえる。

3) その他4種の農薬は、農薬原体 MFP および代謝物 MFP の両方で原体よりも変異原性強度は上昇したが、変異原性の観点からはさほど問題となる農薬ではないと考えられた。

浄水場における農薬の評価は塩素処理分解性によるものが多い。しかし、本研究では水道水の安全性の面から塩素分解性だけでなく、変異原性との関係も重要であることを示すことができた。また、農薬原体の MFP だけでなく生分解代謝物の MFP を調べることで、重要農薬の安全性について多面的に評価することができた。

-参考文献-

- 1) 鎌田素之ら：水道における農薬監視のあり方と調査実態，衛生工学シンポジウム論文集，13 47-50 (2005)
- 2) 高梨啓和ら：農薬とそれらの生分解代謝物の変異原性物質生成能 (MFP)，用水と廃水，42 (2) 39-44 (2006)
- 3) Takanashi, H. ら：Method for measuring mutagen formation potential (MFP) on chlorination as a new water quality index, *Water Research*, 35 1627-1634 (2001) .
- 4) 新井崇子ら：農薬の分子構造別の塩素分解性に関する研究，水環境学会誌，28 (7) 437-444 (2005)
- 5) Onodera ら：Changes in genetic and enzymatic inhibiting effects of organophosphorus pesticides during aqueous chlorination, *J. Environmental Chemistry*, 5 (1) 65-71 (1995)

表-5 生分解による農薬残存率

	生分解残存率 (%)
ジクロロボス	26.0
モリネート	86.0
ピロキロン	>100
プロモブチド	39.9
フェニトロチオン	46.3
イソプロチオラン	64.0
メフェナセット	4.1

表-6 生分解代謝物の MFP

	生分解代謝物MFP (net rev./mg-C) MR値	
ジクロロボス	48	1.2
モリネート	643	1.5
ピロキロン	790	1.5
プロモブチド	115	1.2
フェニトロチオン	1998	2.8
イソプロチオラン	558	1.7
メフェナセット	540	1.4

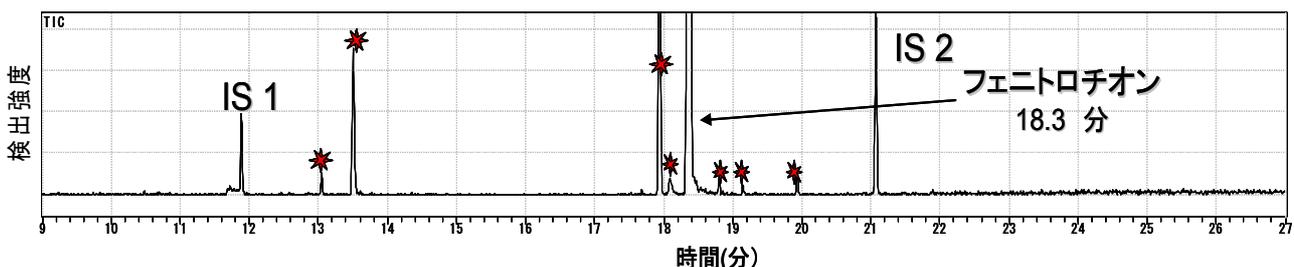


図-2 生分解後のフェニトロチオンの TIC