

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 24 日現在

機関番号：32701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25340102

研究課題名(和文) 土壌における消毒剤散布が及ぼす消毒副生成物の発現および消長に関する研究

研究課題名(英文) Study on the influence of disinfection reactants, and their time-variation in soil after disinfectant spraying.

研究代表者

高木 敬彦 (TAKAGI, YUKIHIKO)

麻布大学・獣医学部・教授

研究者番号：30163182

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：感染症流行時に酪農関連施設周辺で使用される各種消毒剤の土壌環境への影響を調べた。各施設周辺に多い種類の土壌を採取し、塩素系消毒剤、アルカリ系消毒剤、複合製剤を散布後、7種類の有機溶媒を使用して超音波抽出したものを変異原性試験に供した。その結果、塩素系消毒剤散布土壌アセトン抽出物等で強い変異原性が検出され、その多くは直接型の塩基対置換型の物質だった。各土壌で、副生成物の変異原性は時間の経過とともに減少し、特に変異原性が強いものほど1年後には約80%以上が減少した。副生成物をガスクロマトグラフ質量分析計で分析した結果、ベンズアルデヒド等、変異原性物質の存在が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The impact on the soil environment of disinfectants used in dairy-related facilities for preventing the spread of infections has been examined. Several soil samples were collected from surrounding area. Disinfectants containing chlorine, alkaline disinfectants, and combination drugs, were sprayed on these soil samples. Organic matter in the soil disinfectant reactant compounds was extracted by the ultrasonic extraction method, using 7 organic solvents respectively. As a result, high mutagenic activity such as acetone was detected of in several solvent extracts to chlorine-based disinfectants. And there were many cases of direct acting mutagens causing base pair changes. Mutagenic by-products in soil tend to decrease over time, so even the particularly high mutagenic activities was reduced by more than about 80% after 1 year. The products were analyzed using a GC-MS, which suggested that several chemicals showing mutagenicity such benzaldehyde were present.

研究分野：獣医公衆衛生学

キーワード：消毒剤 土壌 副生成物質 変異原性 消長

1. 研究開始当初の背景

近年、国内では鳥インフルエンザの発生が増加し、平成 22 年より 2 年続けて、鳥インフルエンザ H5N1 亜型の強毒株が検出されている。さらに平成 22 年には国内で口蹄疫も発生した。これらの疾病は近隣諸国でも発生が報告されており、今後も日本国内へのウイルスの侵入などの脅威は拭えない。一般に、これらの感染症対策の主なものに消毒剤の使用があり、感染症以外の疾病においても消毒剤の散布は有効とされている。現在、各種消毒剤は発生地域の消毒のみならず、予防の観点からも幅広く使用されている。このため消毒の散布範囲は畜舎や畜舎周辺の土壤に留まらず、さらに広範囲の周辺地域にも拡がっている可能性が高い。一方、過度な使用は、環境への負荷が懸念され、特に畜舎内や畜舎周辺の土壤への消毒剤の散布は、有害な副生成物の問題を引き起こす危険性は否定できない。今後も感染症対策として、消毒剤による畜舎やその周辺への消毒作業の規模は拡大し、近隣地域で感染症が発生した場合は、さらに大量の消毒剤が周辺地域や道路等にも散布されることが十分想定されるものの、散布に起因する環境への負荷や、有害な消毒副生成物の土壤中における挙動に関する研究はあまり見当たらず不明な点が多い。このため、各種消毒剤の散布が及ぼす土壤環境への負荷についての調査・研究は重要である。そこで、これまでの土壤への使用歴を確認し、その対象となる各消毒剤について、副生成物の発現実態やその消長、さらに原因物質の解明を目指した。

2. 研究の目的

環境中の消毒副生成物の問題は、水道水で起きることがよく知られている。浄水場では塩素剤を添加した結果、水道水中に元来含まれている有機物との反応で、消毒副生成物[トリハロメタン類 (THMs) に代表される多くの有機ハロゲン化合物]が生成され、一部のものには、発がん性や変異原性を示すことが指摘されている。消毒副生成物の前駆物質であるフミン酸、フルボ酸などの物質は土壤中にも含まれており、これらの物質と消毒の過程で残留する塩素が反応して有機ハロゲン化合物が土壤中でも生成する可能性がある。本研究では、首都圏の酪農関連施設周辺土壤を調査し、研究対象土壤試料を選定して消毒剤の散布によって発現が危惧される有害な消毒副生成物について、変異原性検出を指標に有害な副生成物発現の原因となる消毒剤の種類、当該副生成物の環境中での動態、及び原因と目される変異原性物質の検索を行った。

3. 研究の方法

本研究に供した土壤は、首都圏における 760 カ所の酪農関連施設の位置確認を行い、その周辺土壤を調べ、分布度の高い上位 3 種

類と同種類の土壤を異なる地点から 2 か所ずつ(計 6 か所)それぞれ各 5kg 採取した。使用した消毒剤は過去に土壤への使用歴のある塩素系消毒剤・アルカリ系消毒剤・複合製剤を用いた。

試料の調製は、採取した 6 土壤をそれぞれよく混合して均一化した後、1 土壤につき、それぞれ専用のトレ-4 個(3 消毒剤用及びブランク用)に 500g 入れた後、消毒剤水溶液(5% 塩素系消毒剤、10% アルカリ系消毒剤、0.1% 複合製剤)をそれぞれ対応するトレ- に添加して反応させてから乾燥させた。乾燥後、各 30g 取り出して共栓三角フラスコに入れ、7 種の有機溶媒をそれぞれ 300ml 各添加して超音波抽出法で抽出した。得られた各溶媒抽出物は変異原性試験当日まで -80 で冷凍保存した。ブランク(消毒剤非散布土壤)も同様にして調製した。得られた各抽出物の変異原性は *Salmonella* Typhimurium TA98 株及び TA100 株を使用した microsuspension 法を用いて S9mix 添加及び無添加条件下で測定した。

副生成物中の変異原性物質の定性・定量分析は、ガスクロマトグラフ/質量分析計 GC6890/5973MSD を用いてスキャンモードにて分析し、その結果から SIM 測定により土壤中の変異原性物質を定量した。

4. 研究成果

本研究では、分布度の高い上位 3 種類の土壤(黒ボク土、灰色低地土及び褐色低地土)を用いて、変異原性を示す副生成物の抽出に最適な有機溶媒を選定するためと同種の土壤を 2 か所ずつ採取して研究を行った結果、(1) 黒ボク土、灰色低地土、褐色低地土に各消毒剤を散布した後に生成される変異原性は、塩素系消毒剤の散布後に強いことが認められた。アルカリ系消毒剤の散布でも一部で認められたものの、低い値となり、複合製剤散布後ではほとんど認められなかった。

(2) 土壤における溶媒抽出物の変異原性を比較した結果の 1 例(黒ボク土)を図 1 に示す。

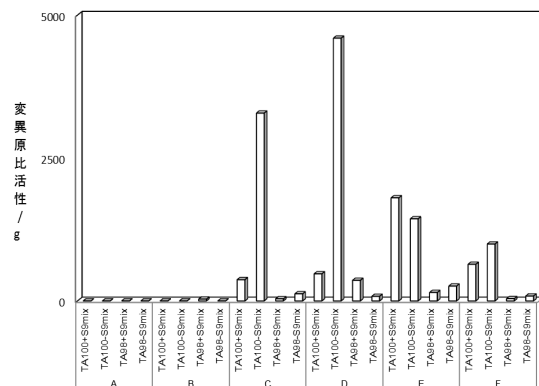


図 1 塩素系消毒剤添加黒ぼく土溶媒抽出物の変異原性

A: シクロヘキサン, B: ヘキサン,  
C: アセトニトリル, D: アセトン,  
E: エタノール, F: 酢酸エチル

抽出が安定的に行われなかったメタノールを除く6有機溶媒では、アセトン抽出物及びアセトニトリル抽出物で強い傾向を示したものの、すべての土壌で比較的安定して抽出できたのはアセトンであった。また、塩素系消毒剤散布後に生成される変異原性物質は塩基対置換型の直接変異原性物質が多いことが示唆された。

(3) 他の市販塩素系消毒剤においても6土壌において同様に副生成物に強い変異原性が認められた。

(4) 散布後に生成される副生成物の変異原性の消長について灰色低地土での結果を図2に示す。

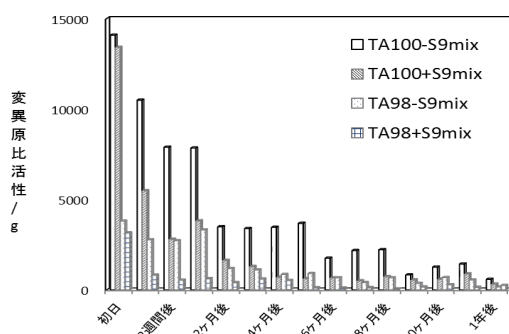


図2 塩素系消毒剤散布灰色低地土における副生成物の消長

塩素系消毒剤添加後に生成される副生成物の変異原性の強さは土壌により異なる変異原性は時間の経過とともに低下し、特に変異原性が強いものほど1年後には約80%以上低下した。

(5) 塩素系消毒剤副生成物をガスクロマトグラフ質量分析計で分析した結果の1例を図3に示す。

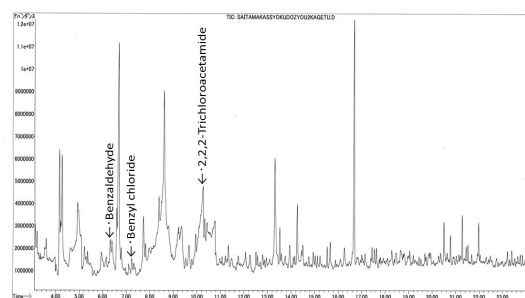


図3 塩素系消毒剤散布褐色低地土におけるクロマトグラムの1例

今回はこれまで17種の物質について検討した結果、ベンズアルデヒド等3種の変異原性物質が検出され、副生成物の変異原性に一部寄与している可能性が示唆された。

本研究結果から、土壌を消毒する場合、アルカリ系消毒剤を使用することにより、有害な副生成物の発現による二次汚染が起きにくいこと、塩素系消毒剤を使用した場合、副生成物中に長期に変異原性物質が残存するが、土壌の種類や地域の状況によっても異なる

可能性があることから、土壌に使用した場合は、その後のモニタリングによるチェックが必要であることが示唆された。

#### 引用文献

Y. Takagi, S. Hisamatsu, Y. Maekawa, D. Nakajima, S. Kageyama, S. Goto. Mutagenicity of the Chlorination Reactant of Cow Dung and Horse Dung. J. Environ. Chem.21 (4), 321-324 (2011)  
N.Y. Kado, D. Langley and E..A simple Modification of Salmonella liquid-incubation assay increased sensitivity for detecting mutagens in human urine. Mutat. Res.121, 25-32(1983)

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計1 件)

高木敬彦, 岩間茉莉奈, 田邊梨紗, 岩屋大志郎, 杉田和俊, 後藤純雄, 大倉利明, 消毒剤散布が及ぼす土壌環境への影響第24回環境化学会討論会, 2015年5月25日, 札幌コンベンションセンター(札幌市)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

高木敬彦 (TAKAGI YUKIHIKO)  
麻布大学 獣医学部・教授

研究者番号：  
30163182

(2)研究分担者 ( )

研究者番号：

(3)連携研究者 ( )

研究者番号：