

原著論文

フラボノイド類のTHM生成能の評価

松尾 宏, 永淵義孝, 中村又善

フラボノイド類は高いTHMFPを有するNOMの一つであり, 野菜や果実などに広く含まれている。それらの加工の過程で水中に溶出し河川等に流出しているため, 下流の水道水源に影響を及ぼしている可能性も考えられる。市販のフラボノイド類15種類の標準品について, 水溶解性及びTHMFPを検討し評価を行った。20 で比較的飽和溶解度の大きいフラボノイド類(DOC: 30-40mg/l)はFisetin, Flavanone, HesperetinおよびFustinであった。THM生成率が300-400 $\mu\text{g}/\text{mg} \cdot \text{C}$ と高いフラボノイド類はMorinであった。総合的評価として, 飽和溶解度におけるTHMFPの高いフラボノイド類(THMFP: 4000-6000 $\mu\text{g}/\text{l}$)はNaringenin, HesperetinおよびQuercetinであった。THMの定量下限値1 $\mu\text{g}/\text{l}$ 未満の影響で評価する場合, Naringenin, HesperetinおよびQuercetinについてはTHMFPから換算して, これらのフラボノイド類を含む廃液の最大で10000倍程度の希釈が必要と推定された。

[キーワード : フラボノイド, NOM, THM, THMFP, 水道]

1 はじめに

水中の有機物質と塩素が反応し, 有機塩素化合物が生成する。このような過程で生成する消毒副生成物のうちトリハロメタン (THM) は, 比較的分析が簡易なため水道水の水質基準になっており, 基準値は4種類のTHMの含量が100 $\mu\text{g}/\text{l}$ 以下と定められている。THMはこれらの毒性による健康リスクをできるだけ低く抑えるために, THM生成の要因となっている前駆物質, いわゆるTHM生成能 (THMFP) を有する物質の研究が続けられてきた¹⁾。自然の土壤に由来するフミン, あるいはダム湖の藻類に由来する物質などにTHMFPがあることが知られている^{2), 3)}。食品工場の排水中にも高いTHMFPを有するフラボノイド類が含まれていることが報告されている⁴⁾。フラボノイド類は, 本来自然由来の有機物 (Natural Organic Matter: NOM) の一つであり, 野菜や果実などに広く含まれている。それらの加工の過程で水中に溶出し, 河川等に流出している。下流の水道水源に影響を及ぼしている可能性も考えられるため, 市販のフラボノイド類の標準品について, 水溶解性及びTHMFPを検討し, 水道水源への影響評価を行ったので報告する。

2 実験方法

2・1 試薬

2・1・1 精製水

イオン交換水に過マンガン酸カリウムを添加して蒸留し, 更に再蒸留したのち, 活性炭入り塩化カルシウム管を付けた三角フラスコに保存した。

2・1・2 次亜塩素酸ナトリウム溶液

市販の食品添加物用の次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素量約5%)を使用した。使用時にヨウ素滴定法により, 有効塩素量を測定した。

2・1・3 THM 標準溶液

和光純薬製のTHM標準液(クロロホルム, プロモジクロロメタン, ジプロモクロロメタン, プロモホルム溶液) 1mg/mlをメタノールで適宜希釈して使用した。

2・1・4 フラボノイド類標準溶液

フラボノイド類として次の試薬 (Laboratories Sargetおよび和光純薬工業製) を購入し, 使用した。

(1) フラボン類(Flavones)

Flavone, Luteolin, 6-Hydroxyflavone,
7-Hydroxyflavone

(2) フラボノール類(Flavonols)

Fisetin, Morin, Quercetin

(3) フラバノン類(Flavanones)

Flavanone, Naringenin, Hesperetin

(4) フラバノール類(Flavanonols)

Fustin

(5) イソフラボン類(Isoflavones)

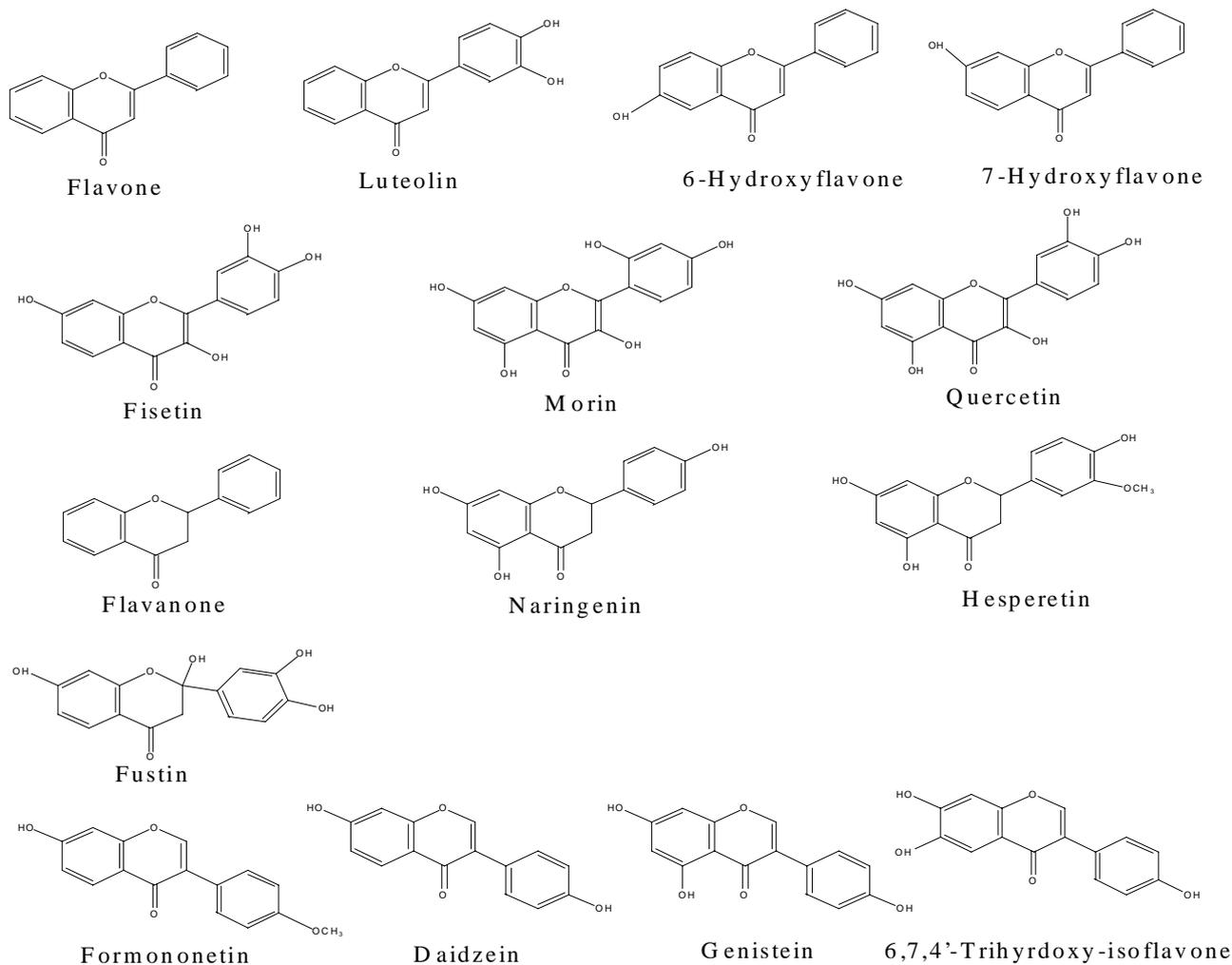


図1 フラボノイド類の構造式

Formononetin, Daidzein, Genistein,
6,7,4'-Trihydroxy-isoflavone

これらのフラボノイド類の化学構造式を図1に示す。

2・1・5 フラボノイド類溶液の調製

フラボノイド類は水に溶けにくいので、精製水250mlに対して過飽和状態になるようにフラボノイド類試薬を5-30mg入れて、10分間超音波洗浄器内で処理した後、更に20℃で24時間スターラーで攪拌し、溶解後に0.45 μmのメンブレンフィルターでろ過した。ろ液の溶解性炭素濃度(DOC)を測定し、このろ液のDOCが1.2mg/l(0.1mM)になるように精製水で希釈したものを供試試料とした。

2・2 分析方法

2・2・1 DOC

DOCはTOC計(島津TOC5000)を用い測定した。フラボノイド類溶液ろ液のTCおよびICを測定して、TCとICの値の差をDOCとした。

2・2・2 THMFP

表1 ガスクロマトグラフの測定条件

装置	柳本G-80
検出器	ECD
カラム	20%シリコーンDC550/Chromosorb W(AW-DMCS)(60-80mesh)3mmID×3mガラスカラム
カラム温度	90
注入口温度	200
検出器温度	200
キャリアーガス	窒素ガス 25ml/min
注入量	50 μl

2・1・5で調製したフラボノイド類試薬の水溶液を100mlのフラン瓶に注入し、それぞれ塩素濃度がCl換算で0.2mM、0.5mMになるように次亜塩素酸ナトリウム溶液をマイクロシリンジで添加した。つぎにpHが7.0±0.2となるように0.01N硫酸あるいは0.01N水酸化ナトリウム溶液で調整した。調整後、20℃の恒温槽で24時間反応させた。この試料に亜硫酸ナトリウム数粒と(1+10)リン酸1滴を加えて反応を停止させた。この試料20mlを容積26 mlの

バイアル瓶に分取し、ヘッドスペース・ガスクロマトグラフ法で生成したTHMを測定した。ガスクロマトグラフの測定条件は表1に示すとおりである。

3 実験結果と考察

3.1 溶解度

本実験の溶解条件で得られたフラボノイド類ろ液を飽和溶液、ろ液のDOCを飽和溶解度と以下表記する。20での飽和溶解度に関する結果を図2に示す。

DOC値が30-40mg/lの比較的溶解性の大きいフラボノイド類はFisetin, Flavanone, HesperetinおよびFustinであった。DOC値が5mg/l以下の比較的溶解性の小さいフラボノイド類はLuteolin, 6-Hydroxyflavone, 7-Hydroxyflavone, Morin, Formononetin, DaidzeinおよびGenisteinであった。

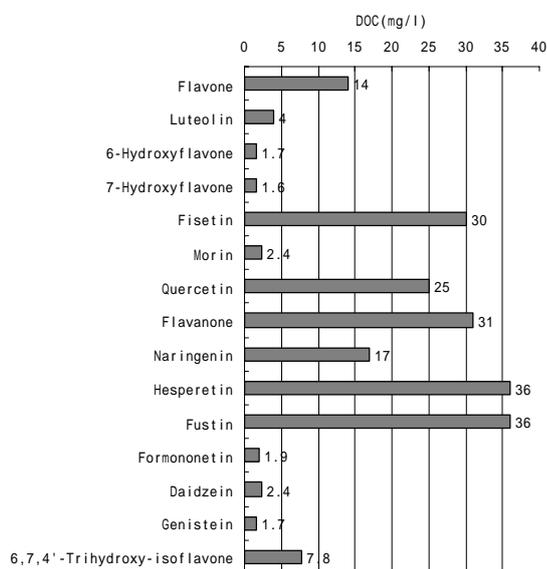


図2 フラボノイド類の飽和溶解度

3.2 フラボノイド類のTHM生成率

有機物質のTHMFPを評価する指標としてTHM生成率を用いた。THM生成率は炭素1mg当たりのTHMFPを表現する。THM生成率は炭素換算濃度1.2mg/lの条件下で測定されたTHMFPの測定値を基に次式により算定した。

$$\text{THM生成率} (\mu\text{g}/\text{mg} \cdot \text{C}) = \text{THMFP} (\mu\text{g}/\text{l}) / 1.2 (\text{mg}/\text{l})$$

フラボノイド類のTHMFPの測定から求められたTHM生成率を図3に示す。なお、調製した塩素濃度条件0.2mMおよび

0.5mMは食品工場工程排水におけるTHMPに対するフラボノイド類の寄与率を調査した既報の条件に準じた^{4),5)}

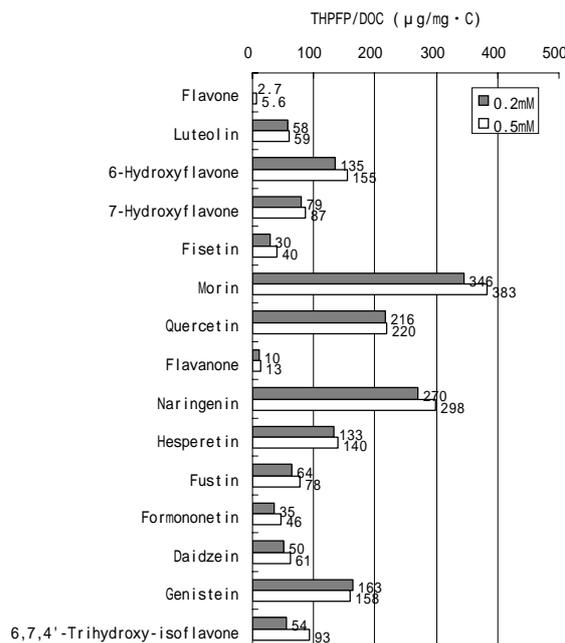


図3 フラボノイド類のTHM生成率

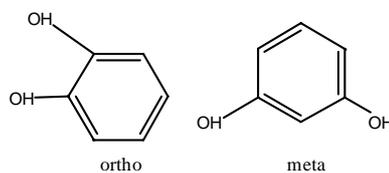


図4 水酸基の配位図

THM生成率が100-200 $\mu\text{g}/\text{mg} \cdot \text{C}$ のフラボノイド類は、6-Hydroxyflavone, HesperetinおよびGenisteinであり、200-300 $\mu\text{g}/\text{mg} \cdot \text{C}$ のフラボノイド類はQuercetinおよびNaringeninで、300-400 $\mu\text{g}/\text{mg} \cdot \text{C}$ のフラボノイド類はMorinであった。

これらの6種類のフラボノイド類は、フミンのTHM生成率(32 $\mu\text{g}/\text{mg} \cdot \text{C}$ 程度)と比較しても3-10倍程度の非常に高いTHM生成率であることを示している。

THM生成率の非常に高いMorin, QuercetinおよびNaringeninはメタ位に水酸基(OH)を有する化学構造になっている。イソフラボン類の6,7,4'-Trihydroxy-isoflavoneとGenisteinは構造異性体で、図4に示すような水酸基がオルト位とメタ位に配置している点で異なる。THM生成率は後者が前者の1.7-2.5程度高い値を示した。長谷川らのCatecholとResolcinolのクロロホルム生成能の実験

結果もメタ位にOHを有するResolcinolの生成能がオルト位のCatecholよりも高いとの報告と一致する⁶⁾。また、富田らの1,3-ジヒドロベンゼン構造を持つフラボンがクロロホルム生成に大きな役割を示しているという推定を裏付けるものとなった⁷⁾。一方、水酸基を持たないFlavone, FlavanoneのTHM生成率は低い値であった。このことから水酸基の数と配位がフラボノイド類のTHM生成率に大きく関与しているものと推察された。

また、THM生成率は添加塩素濃度が0.2mMのときよりも0.5mMの条件下のほうがGenisteinを除いて高くなる傾向を示した。これは、基質と塩素との反応が前駆物質の濃度に対する単純な一次反応でなく、R.R.Trussellらが示すように反応速度が[前駆物質濃度] × [塩素添加物濃度]⁸⁾に比例する反応に属すると推察される⁹⁾。

3.3 フラボノイド類のTHMFPの評価

飽和溶解度とTHM生成率から20の飽和溶解度におけるTHMFPを次式により算定した。

$$\text{THMFP}(\mu\text{g/l}) = \text{THM生成率}(\mu\text{g/mg}\cdot\text{C}) \times \text{DOC}(\text{mg/l})$$

飽和溶解度におけるフラボノイド類のTHMFPを図5に示す。

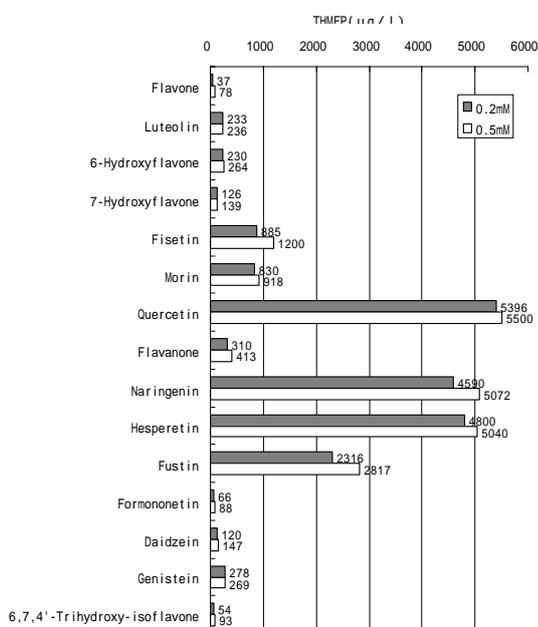


図5 フラボノイド類のTHMFP (20 飽和溶解度)

THMFPが4000-6000 μg/l と高い値を示したのはNaringenin, Hesperetin, Quercetinであった。2000-4000

μg/lの範囲にはFustinがあり、その他は塩素添加量が0.2mMで1000 μg/l以下のTHMFPであった。

Naringenin, Hesperetinはミカン、レモンなどの柑橘類やモモに含まれており、Quercetinはタマネギ、ソバ、リンゴ、トマト、チャなどに含まれている^{9),10)}。食品工場などで、これらを加工する際、工程排水が集合し総合排水として系外に放出されることになる。

河川の下流方向に水道取水口がある場合、河川流量によつての希釈倍率で、その影響が推測できると考えられる。THMの定量下限値1 μg/l未満の影響で評価する場合、Naringenin, HesperetinおよびQuercetinについてはTHMFPから換算して、フラボノイド類を含む廃液の最大で10000倍程度の希釈が必要と考えられた。

なお、流下過程でのフラボノイド類の生分解、水道施設での前塩素処理などの浄化処理は考慮していないので、実際には影響は更に小さくなると考えられる。

4 まとめ

実験結果を要約するとつぎのとおりである。

- 1) DOC値が30-40mg/lの比較的溶解性の大きいフラボノイド類はFisetin, Flavanone, Hesperetin, Fustinであった。
- 2) THM生成率が100-200 μg/mg・Cのフラボノイド類は、6-Hydroxyflavone, HesperetinおよびGenistein、200-300 μg/mg・Cのフラボノイド類はQuercetin、Naringeninで、300-400 μg/mg・Cのフラボノイド類はMorinであった。
- 3) 水酸基の数と配位がフラボノイド類のTHM生成率に大きく関与しているものと推察された。
- 4) THMFPが4000-6000 μg/l と高い値を示したのはNaringenin, HesperetinおよびQuercetinであった。2000-4000 μg/lの範囲にはFustinがあり、その他は塩素添加量が0.2mMで1000 μg/l以下のTHMFPmaxであった。
- 5) THMの定量下限値1 μg/l以下の影響で評価する場合、Naringenin, HesperetinおよびQuercetinについてはTHMFPから換算して、フラボノイド類を含む廃液の最大10000倍程度の希釈が必要と考えられた。

文献

- 1) 環境庁：低沸点有機塩素化合物の生成要因物質の制御に関する研究，環境保全成果集（昭和57年度版）
- 2) Rook, J.J: Formation of Haloforms during Chlorination of Natural Water, Water Treatment and Examination, 23, 234-243, 1974

- 3) 福島博他：藻類増殖過程で生成されるトリハロメタン前駆物質の評価，水質汚濁研究，6(3)，41-47，1983.
- 4) 松尾宏他：事業場排水中のトリハロメタン前駆物質の検討 - みかん缶詰工場排水中のフラバノン類 - ，水質汚濁研究，12(9)，44-50，1989.
- 5) 松尾宏他：事業場排水中のトリハロメタン前駆物質の検討 - 豆腐・油揚げ製造業排水中のイソフラボン類 - 用水と廃水，32(5)，25-30，1990.
- 6) 長谷川一夫他：塩素処理による有機化合物のクロロホルム生成特性，水質汚濁研究，6(3)，17-25，1983.
- 7) 富田基郎他：モデル化合物を用いたトリハロメタン生成反応機構の解析，衛生化学，28，21-27，1982.
- 8) R.R.Trussell et al.: The Formation of Trihalomethanes, Jour.AWWA., 70, 604, 1978.
- 9) 栄養学ハンドブック編集委員会：栄養学ハンドブック，技報堂，1045-1050，1953.
- 10) 稲垣勲：植物化学，医歯薬出版，186-2015，1959.

Estimation of THMFP Using Some Flavonoid Standards

Hiroshi MATSUO, Yoshitaka NAGAFUCHI and Matayoshi NAKAMURA

*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,
Mukaizano 39, Dazaifu, 818-0135, Japan*

Vegetables and fruits contain Flavonoids, a type of natural organic matter (NOM). Flavonoids dissolve into water in the manufacturing process and outflows may reach the drinking water. Using 15 commercial Flavonoid standards, their solubility and THMFP were examined. Flavonoid solubility as DOC of 30 to 40mg/l under saturated solubility at 20 °C were Fisetin, Flavanone, Hesperetin and Fustin. Morin, the highest THMFP value by DOC was between 300 and 400 °g/mgC. Calculating from solubility and THMFP value by DOC, higher THMFP values under saturation were shown by Naringenin, Hesperetin and Quercetin. It was assumed that Flavonoids such as Naringenin etc. would have to be diluted about 10000-fold when estimated under the influence of less than 1 °g/l of THM.

[Key words; Flavonoid, NOM, THM, THMFP, drinking water]