ベンゾフェノン及び誘導体の塩素処理物の変異原性

山本 貴士¹⁾, 中島 大介¹⁾, 後藤 純雄¹⁾, 小野寺祐夫²⁾,
安原 昭夫¹⁾, 酒井 伸一¹⁾, 相馬 光之³⁾

¹⁾国立環境研究所 (〒305-8506 茨城県つくば市小野川16-2)

²⁾東京理科大学薬学部 (〒278-8510 千葉県野田市山崎2641)

³⁾静岡県立大学大学院生活健康科学研究科 (〒422-8526 静岡県静岡市谷田52-1)

[平成16年 3月16日受理]

Mutagenicity of Chlorination Products of Benzophenone and Its Derivatives

Takashi YAMAMOTO¹⁾, Daisuke NAKAJIMA¹⁾, Sumio GOTO¹⁾, Sukeo ONODERA²⁾,
Akio YASUHARA¹⁾, Shin-ichi SAKAI¹⁾ and Mitsuyuki SOMA³⁾

¹⁾National Institute for Environmental Studies
(16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506)

²⁾Tokyo University of Science, Faculty of Pharmaceutical Sciences
(2641 Yamazaki, Noda, Chiba 278-8510)

³⁾Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka
(52-1 Yada, Shizuoka, Shizuoka 422-8526)

[Received March 16, 2004]

Summary

Six kinds of benzophenone and its derivatives were suspended in water and chlorinated with sodium hypochlorite at pH 4, 7, and 10. Chlorination products were extracted with dichloromethane and concentrated. Concentrated samples were subjected to mutagenicity tests and GC/MS analysis. Benzophenone (BP) and 2-hydroxy-4-octyloxybenzophenone (HOBP) did not consume chlorine. Contrary, 2,4-dihydroxybenzophenone (DHBP) and 2,2'-dihydroxy-4-methoxybenzophenone (DHMBP) consumed almost all of chlorine. Several chlorinated compounds were detected by GC/MS analysis in the chlorination products, except BP. Many of them were chlorobenzophenones and chlorophenolic compounds.

Mutagenicity of chlorinated products was tested by Ames assay using *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. Chlorination products of DHBP, DHMBP, and 2,2'-dihydroxy-4,4'-dimethoxybenzophenone (DHDMBP) showed relatively high mutagenicity. On the other hands, HOBP did not show mutagenicity. BP showed highly growth inhibition to TA98 and TA100. Generally, the mutagenicity of chlorination products of benzophenones was metabolism-inactive, and increased at low pH. The mutagenic potencies did not depend on the amounts of the major products. Thus, to evaluate the safety of chlorination products of landfill leachates properly, not only chemical analysis but also bio-assay technique should be needed.

Key words: benzophenones, plastic additives, chlorination, mutagenicity

1. はじめに

今日、我々の生活環境の至るところで多くのプラスチック製品が使用されており、またそれらには可塑剤、難燃剤、酸化防止剤、紫外線吸収剤等多種類のプラスチック添加物が含まれている。こうしたプラスチック製品が最終処分場に投棄された場合、添加物が原体のまま、あるいは何らかの変化を受けて浸出水や空気中に移行する可能性がある。Yasuhara らは、1994～1995年に国内19ヶ所の処分場の浸出水を収集し、含有される有機成分の分析を行った^{1,2)}。その結果、100種を超える有機化合物が検出され、その中には難燃剤である有機リン酸エステル、可塑剤であるフタル酸エステルばかりでなく、紫外線吸収剤のベンゾフェノン等のプラスチック添加物が含まれていた。このベンゾフェノンは処分場浸出水19試料中15試料から検出されており、その濃度範囲は不検出～16.5 $\mu\text{g}/\ell$ であった^{1,2)}。プラスチック添加剤である紫外線吸収剤の代表的なものには、ベンゾフェノンとその誘導体がある。ベンゾフェノン系紫外線吸収剤の市場規模は1995年で約550トンとされている³⁾。ベンゾフェノン類 (BPs) は化粧品や石鹸の保香料等としても使用されており⁴⁾、こうした用途で使用された BPs は生活排水などへ移行する可能性がある。都市河川水や底質中で BPs が検出されているが^{5,6)}、こうした生活排水由来であると考えられる。

一方、最終処分場や下水処理場には塩素殺菌設備があり、浸出水や処理水は河川等に放流する際には塩素処理が施される。従って、処分場浸出水や下水中の有機化合物はそのまま放流されるか、あるいは添加された塩素と反応し、何らかの形に変化していることが考えられる。以前、我々はビスフェノール A の塩素処理について報告した⁷⁾。ビスフェノール A はポリカーボネート樹脂の原料や塩化ビニル製品の安定剤等に使用されており、処分場浸出水や環境水中から頻繁に検出される物質であるが^{1,2,8,9)}、塩素水中で容易に塩素化されて塩素化ビスフェノール A や塩素化フェノール系化合物を生成することが明らかとなった。

そこで本研究では、BPs が河川等に放流される前に塩素処理が施され、その過程で塩素と反応して毒性を有する物質に変化する可能性について検討した。即ち、6種類の BPs の塩素処理モデル実験を行い、その塩素処理生成物の変異原性や生成物について検討した。

2. 実験方法

2. 1 試料と試薬

ベンゾフェノン (BP)、2-ヒドロキシ-4-オクチルオキシベンゾフェノン (HOBP)、2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン (HMBP)、2,4-ジヒドロキシベンゾ

フェノン (DHBP)、2,2'-ジヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン (DHMBP)、2,2'-ジヒドロキシ-4,4'-ジメトキシベンゾフェノン (DHDMBP) の各 BPs は、いずれも和光純薬製の特級のものを使用した。これらの構造式及び GC 保持時間を Table 1 に示した。次亜塩素酸ナトリウム溶液は和光純薬製の食品添加用のものを使用した。亜硫酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、塩酸は市販特級品を使用した。ジクロロメタン、塩化ナトリウム、硫酸ナトリウムは和光純薬製の環境分析用を使用した。精製水は EDS-5S 純水製造システム (日本ミリポア製) で調製したものをを使用した。

2. 2 ベンゾフェノン類の塩素処理及び抽出

実験条件を Table 2 に示す。BPs の塩素処理は、小野寺らの方法¹⁰⁾を一部改変して行った。即ち、BPs (約 100mg) を 5 ml のメタノールに溶解して 1 ℓ の精製水に添加し、試料溶液とした。次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素量: 110mg) を試料に添加し、0.1 mol/ ℓ 塩酸または水酸化ナトリウム溶液を直ちに加え、pH を 4, 7, 10 に調整した。そのまま室温 (約 22 $^{\circ}\text{C}$) で 60 分間攪拌を続けて反応させた。

反応後、反応溶液の一部 (約 2 ml) を分取し、残留塩素計 (水道機工製 CRT-1000) を用いて残留塩素を測定した。残りの溶液には亜硫酸ナトリウム 1 g を加えて残留塩素を除いた。得られた反応液に塩酸を加え酸性 (pH < 3) とし、これに塩化ナトリウム 30g を加えて溶かし、ジクロロメタン 60 ml を加えて 10 分間振とう抽出した。これを 3 回繰り返して、得られたジクロロメタン抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水した。一部 (約 1 ml) を GC/MS 分析用に分取し、残りをロータリーエバポレーター (浴温 40 $^{\circ}\text{C}$) 及び窒素気流下で濃縮した。これを 8 ml に定容し、一定量を分取して弱い窒素気流下でジクロロメタンを除き、タール状物質を得た。これを DMSO に溶解し、Ames 試験 (ブレインキュベーション法)¹¹⁾に供した。

2. 3 GC/MS 分析

抽出液を GC/MS により分析した。GC/MS 装置は Model 6890 plus GC/5973N MSD (アジレント製) を使用した。キャピラリーカラムは HP-5MS (30m $\times$ 0.25mm $\times$ 0.25 μm , アジレント製) を使用した。昇温条件は 60 $^{\circ}\text{C}$ で 1 分保持、その後 280 $^{\circ}\text{C}$ まで 10 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ で昇温し、5 分間保持とした。キャリアガスは He、流速は毎分 1 ml とした。注入法はスプリットレス、注入口温度は 280 $^{\circ}\text{C}$ 、注入量は 1 $\mu\ell$ とした。イオン化法は EI、イオン化室温度は 230 $^{\circ}\text{C}$ とした。定性分析はスキャン測定で行い、質量数範囲は $m/z = 35 \sim 550$ 、スキャン速度は 1.4 スキャン/秒とした。定量分析は選択イオン検出

Table 1 Chemical structure and GC retention times data of benzophenone and its derivatives tested in this work

Chemicals tested*	M.W.	Substituents**				GC retention time (min)
		2	2'	4	4'	
BP	182	H	H	H	H	13.9
HOBP	326	OH	H	OC ₈ H ₁₇	H	24.2
HMBP	228	OH	H	OCH ₃	H	18.1
DHBP	214	OH	H	OH	H	18.9
DHMBP	244	OH	OH	OCH ₃	H	19.3
DHDMBP	274	OH	OH	OCH ₃	OCH ₃	22.0

* BP = benzophenone, HOBP = 2-hydroxy-4-octyloxybenzophenone, HMBP = 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone, DHBP = 2,4-dihydroxybenzophenone, DHMBP = 2,2'-dihydroxy-4-methoxybenzophenone, DHDMBP = 2,2'-dihydroxy-4,4'-dimethoxybenzophenone.

** Structure and numbering scheme of benzophenone are shown in below.

Table 2 Reaction conditions for the chlorination of benzophenones

Compounds	Initial pH	Initial BP amount		Molar ratio	Chlorine residue (mg/l)	Extract amount (mg)	BP residue* (mg)	Product amount (mg)
		(mg/l)	(mmol/l)					
BP	4.15	104.3	0.572	5.42	103	84.4	83.0	1.5
	7.27	104.2	0.572	5.43	104	77.6	87.2	0.0
	9.80	107.9	0.592	5.24	117	84.0	84.4	0.0
HOBP	3.93	102.4	0.314	9.89	101	77.7	30.4	47.3
	7.06	102.7	0.315	9.86	88	76.4	36.1	40.3
	9.96	102.6	0.314	9.87	105	92.0	35.6	56.4
HMBP	4.17	101.5	0.445	6.98	39	72.2	34.8	37.5
	7.11	101.2	0.443	7.00	30	53.0	39.5	13.5
	9.93	101.6	0.445	6.97	44	81.5	31.1	50.4
DHBP	3.89	103.9	0.485	6.40	0	60.5	7.6	52.8
	7.16	103.7	0.484	6.41	0	62.0	5.4	56.6
	10.37	108.0	0.504	6.15	0	58.4	8.1	50.4
DHMBP	3.89	101.2	0.414	7.49	0.55	78.4	19.1	59.2
	7.05	101.6	0.416	7.46	0	78.5	19.1	59.3
	10.12	101.5	0.416	7.47	0	68.3	14.2	54.1
DHDMBP	3.84	102.2	0.373	8.33	86	75.2	63.8	11.3
	7.01	100.7	0.367	8.45	64	81.5	65.5	16.0
	9.91	103.2	0.376	8.25	29	73.5	56.8	16.6

Initial Chlorine concentration: 110 mg/l (3.10 mmol/l); Reaction temperature: 22 - 23 °C.

* BP residues were determined by GC/MS.

(SIM) 測定で行い、モニターイオン質量数は $m/z = 182$ (BP), 326 (HOBP), 227 (HMBP), 213 (DHBP), 244 (DHMBP), 274 (DHDMBP) とした。

2. 4 変異原性試験

試験菌株には *Salmonella typhimurium* TA98¹²⁾ 及び TA100¹²⁾ を用いた。滅菌したアルミキャップ付試験管に試料の DMSO 溶液と菌懸濁液を取り、S9mix 添加条件 (+S9) では S9mix を、無添加条件 (-S9) では 0.1mol/l リン酸ナトリウム緩衝液を加えた。37℃ で 20 分間ブレインキュベーション後、軟寒天を加えて混合してプレート上に広げた。37℃ で 48 時間培養後、復帰コロニー数を計測した。S9mix はコファクターなどの入った凍結乾燥品と S9 溶液のセット (オリエンタル酵母工業社製エームステスト用 S9/コファクター A セット) を用いて調製した。試料溶液を溶媒対照を含めて DMSO で 7 段階に希釈し (dose), 各 dose あたり 2 枚のプレートを用いて試験した。また、陽性対照として +S9 条件ではベンゾ[a]ピレン (BaP), -S9 条件では 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド (AF2) を用いた。変異原性の判定では、dose-response が良好なもので、復帰コロニー数が自然復帰コロニー数の 1.5 ~ 2 倍のものを疑陽性、2 倍以上のものを陽性とした。また必要に応じてプレート表面を顕微鏡観察し、菌の生育阻害作用が生じているかどうか判定した。

3. 結果と考察

3. 1 ベンゾフェノン類の塩素との反応

用水・廃水の塩素処理では、通常、溶存有機物量に応じて 5 ~ 30mg/l となるように塩素ガスの注入が行われる。しかし、用水・廃水の塩素ガス注入口周辺では一時的に 100 ~ 1000mg/l になることもあり、攪拌によって 5 ~ 30mg/l の平均値に達する。従って、今回の実験では塩素濃度を現実に起こり得る 100mg/l とした。

ベンゾフェノン類 (BPs) の塩素処理における残留塩素量を Table 2 に示す。BP と HOBP はいずれの pH でもほとんど塩素を消費しなかった。逆に、DHBP と DHMBP は完全に塩素を消費した。HMBP では 100mg の基質あたり約 66 ~ 80mg の塩素が消費された。DHDMBP の塩素消費量は、pH 4 では 24mg/100mg BPs, pH 7 では 46mg/100mg BPs, pH10 では 81mg/100mg BPs と反応時の pH による差が顕著であり、塩基性側で消費量が増える傾向が認められた。芳香環の塩素置換は求電子反応であり、水酸基やメトキシ基等の電子供与性の置換基が存在する場合に反応が促進される¹³⁾。従って、HOBP を除くベンゾフェノン誘導体は BP よりも容易に塩素化され、塩素を消費したものと考えられる。HOBP は 2-位に水酸基を有するものの、4-位のオクチルオキシ基による

立体障害のために塩素化が阻害され、塩素を消費しなかったものと考えられる。

BPs の残存量を Table 2 に示す。塩素を消費しなかった BP では初期量の 80% 以上がジクロロメタン抽出物中に回収されたが、塩素を完全に消費した DHMBP や DHBP ではジクロロメタン抽出物中の残存量は初期量の 25% 未満と少なかった。その他の BPs では、残存量は初期量の 30 ~ 65% 程度であった。

3. 2 ベンゾフェノン類の塩素処理生成物中の化合物

BPs の塩素処理反応物を推定するため、GC/MS 分析を行った。Fig. 1 に DHMBP の各 pH での塩素処理生成物のトータルイオンクロマトグラム (TIC) の例を示した。

塩素処理では、各 BPs の原体は全ての塩素処理水から検出されたが、BP は原体以外のピークを認めなかった。このことは 3. 1 の結果と一致している。

各 BPs の塩素化物は、BP 以外の試料で確認された。HOBP や DHBP の塩素化物のマススペクトルにおいて、ベンゾイル基 (C_6H_5CO-) に由来する $m/z = 77, 105$ のフラグメントイオンがみられることから、塩素置換は置換基のある側の芳香環で起きていることが分かった。また、DHMBP の塩素化物のマススペクトルにおいて、ヒドロキシベンゾイル基 (HOC_6H_4CO-) に由来する $m/z = 93, 121$ のピークが確認されたことから、塩素置換はメトキシ基のある側の芳香環で起きていることが分かった。

また、HMBP や DHMBP, DHDMBP の塩素処理生成物中にトリクロロ-3-メトキシフェノール (保持時間 12.8 分), DHBP の塩素処理生成物中にクロロ-1,3-ジヒドロキシベンゼン類が確認された。これらは、塩素化の進んだ BPs がさらに塩素化され、ベンゾフェノン骨格部分で開裂して生成したものと考えられる。

その他、未同定のピークとして、HMBP の塩素処理生成物では $M^+ = 264$ のモノクロロ体化合物 (18.6 分) や $M^+ = 330$ のトリクロロ体化合物 (20.1 分) が推定された。また、DHBP の塩素処理生成物では $M^+ = 214$ のジクロロ体化合物 (13.5 分) や $M^+ = 248$ のトリクロロ体化合物 (14.2 分) が推定された。DHMBP の塩素処理生成物では $M^+ = 310$ のジクロロ体化合物 (保持時間 22.8 分) や $M^+ = 344$ のトリクロロ体化合物 (24.3 分) が推定された。これらは水酸基が酸化されたキノン体と考えられる。DHDMBP の塩素処理生成物では、メチル化体の化合物 (22.4 分) やアセチル化体の化合物 (22.8 分) が推定された。

以上の GC/MS 分析結果より、ベンゾフェノン誘導体の塩素化では、置換基のある側の芳香環で段階的に塩素化が起これ、続く塩素化によりベンゾフェノン骨格が開裂して塩素化フェノール性化合物を生成する等の経路を

経て分解が進行することが分かった。

3. 3 ベンゾフェノン類塩素処理生成物の変異原性

ベンゾフェノン類塩素処理生成物の変異原性試験結果を Table 3 に、また用量-反応曲線の例を Fig. 2 に示す。

なお、今回使用した 6 種類の BPs (未反応物) は、TA98, TA100 株に対して変異原性を示さなかった。まず、塩素処理反応液の抽出物について、反応に供した BPs 量あたりの変異原性 (rev/mg BPs) を求めた。

BP の塩素処理生成物は、初期 pH によらず TA98 及び

Fig. 1 Total ion chromatograms of the extracts of chlorine-treated DHMBP solutions
(a) Treated at pH 4; (b) treated at pH 7; (c) treated at pH 10

Table 3 Mutagenicity of the chlorination products of benzophenones

Compounds	Initial pH	Mutagenicity (revantants/mg-BP) *				Mutagenicity (revantants/mg-products) **			
		TA98-S9	TA98+S9	TA100-S9	TA100+S9	TA98-S9	TA98+S9	TA100-S9	TA100+S9
BP	4.15	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	7.27	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	9.80	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
HOBP	3.93	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	7.06	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	9.96	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
HMBP	4.17	480 ^t	ND	3,100 ^t	ND	1,300 ^t	ND	8,500 ^t	ND
	7.11	430 ^t	ND	4,200 ^t	ND	3,200 ^t	ND	31,000 ^t	ND
	9.93	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DHBP	3.89	9,900 ^t	ND	44,000 ^t	ND	19,000 ^t	ND	86,000 ^t	ND
	7.16	4,500 ^t	ND	39,000 ^t	ND	8,100 ^t	ND	71,000 ^t	ND
	10.37	4,500 ^t	ND	14,000 ^t	ND	9,600 ^t	ND	30,000 ^t	ND
DHMBP	3.89	7,400 ^t	450 ^t	57,000 ^t	2,800 ^t	13,000 ^t	770 ^t	97,000 ^t	4,700 ^t
	7.05	8,400 ^t	450 ^t	90,000 ^t	3,000 ^t	14,000 ^t	770 ^t	150,000 ^t	5,100 ^t
	10.12	1,800 ^t	390 ^t	46,000 ^t	740	2,400 ^t	500 ^t	60,000 ^t	960
DHDMBP	3.84	190 ^t	70	12,000 ^t	290	1,700 ^t	640	100,000	2,600
	7.01	560 ^t	60	2,400 ^t	290	3,500 ^t	400	15,000 ^t	1,800
	9.91	1,500 ^t	40	1,800	220	9,100 ^t	240	11,000	1,300

* revertants/mg of initial benzophenones; ** revertants/mg of chlorination products which deduced the weight of unchlorinated benzophenones from that of chlorination mixture extract. ND: Mutagenicity was not observed within 1000 μ g/plate for HOBP, 500 μ g/plate for HMBP, 250 μ g/plate for BP and 100 μ g/plate for DHBP; t: Toxicity was observed. Italic: pseudo-mutagenic.

Fig. 2 Dose-response curves obtained for dichloromethane extracts of chlorine-treated DHMBP solutions by *Salmonella* preincubation assay

(a) TA98, -S9; (b) TA100, -S9; (c) TA98, +S9; (d) TA100, +S9

Symbols: ● pH 4, ○ pH 7, × pH 10

TA100菌株に対して強い生育阻害作用を示した。3. 1の項で記述したように、BPはほとんど塩素を消費せず、GC/MS分析でもBP以外のピークは検出されなかったもので、この結果はBP原体の有するサルモネラ菌に対する生育阻害によるものと考えられる。HOBPの塩素処理生成物は、試験した濃度範囲で生育阻害、変異原性ともに示さなかった。HMBPの塩素処理生成物は初期pHが4, 7の試料でTA98株及びTA100株のS9mix無添加条件下(-S9)で弱い変異原性を示した(擬陽性)。DHBPの塩素処理生成物はTA98株及びTA100株-S9で変異原性を示し、初期pHが低いほど変異原性が強かった。DHMBP, DHDMBPの塩素処理生成物もTA98株及びTA100株で変異原性を示したが、+S9よりも-S9で変異原性が強かった。DHDMBPの塩素処理生成物は酸性側で変異原性が強かったが、DHMBPではpH 7で最も強い変異原性を認めた。

これらの抽出物には未反応のBPsも残っており、それらの量をGC/MSにより定量し、抽出物重量から差し引いて求めた塩素処理生成物の変異原比活性(revertants/mg products)も求めた(Table 3)。基本的な傾向は変わらず、DHDMBP, DHMBP, DHBPの塩素処理生成物で陽性、HMBPの塩素処理生成物で擬陽性を示した。陽性を示したものの内では、総じてDHMBPとDHBPで比較の変異原性が強く、DHDMBPはこれらよりも若干弱いという結果となった。

以上より、DHMBP, DHBP, DHDMBPの塩素処理生成物の変異原性の特徴として、(i) TA98株, TA100株のいずれにおいても変異原性を示す、(ii) S9mixによる代

謝を受けると変異原性は減少する、(iii) 酸性側で変異原性が強い、ということが示唆された。これらの結果は、水中有機物の塩素処理で生成する化合物が、一般に、TA100に感受性が高く、S9mixによる代謝を必要としない、いわゆる、塩基対置換型の直接変異原物質であるとする報告¹⁰⁾と一致している。

3. 4 ベンゾフェノン類の塩素処理によって生成する変異原性物質の構造推定

Table 4に、各塩素処理生成物のGC/MS分析によって検出されたピークとその強度をまとめて示した。HMBPの塩素処理生成物の場合、各pHの変異原性の強さと検出ピークとの関係から、保持時間18.6分の $M^+=264$ のピークまたは20.1分の $M^+=330$ のピークが、その活性本体である可能性が考えられた。これに対してDHBPの場合、TA98(-S9)に対する活性がpH 4の場合に高いが、この活性は保持時間14.2分の $M^+=248$ のピークによる可能性もあるが、詳細は不明である。また、DHMBP及びDHDMBPの場合は、変異原性強さのパターンと一致する検出ピークは認められず、微量であるが強い変異原性を示す化合物が生成していることが強く示唆された。

以上のように、BPsの塩素処理によって生成する変異原性物質は、一般にその生成量が比較的多い主要成分によるものではないことが示唆された。このことは、塩素処理された浸出水等の安全性評価の際に、GC/MS等の化学分析だけではなく、バイオアッセイを併用することの必要性を示唆するものである。今後、今回使用したBPsの中で最も強い活性を示したDHMBP反応生成物に

Table 4 Peaks of the chlorination products of benzophenones identified by GC/MS measurements

	r.time (min)	presumed structure	relative peak intensity		
			pH 4	pH 7	pH 10
HMBP	7.9	benzoic acid	2	4	1
	12.8	trichloro-3-methoxyphenol	2	1	2
	18.1	HMBP	47	75	35
	18.6	M ⁺ =264, include Cl	5	4	
	19.5	HMBP-Cl	19	8	
	20.1	M ⁺ =330, include Cl ₃	3	2	
	20.4	HMBP-Cl ₂	6	4	60
	20.6	HMBP-Cl	5	2	
DHBP	7.9	benzoic acid	4	4	3
	13.5	M ⁺ =214, include Cl ₂	5	2	
	14.2	M ⁺ =248, include Cl ₃	6		
	18.9	DHBP	37	19	39
	20.5	DHBP-Cl ₂	41	70	51
DHMBP	6.9	M ⁺ =208, include Cl ₄			2
	12.8	trichloro-3-methoxyphenol	3		3
	13.4	M ⁺ =178, include Cl ₃	3		
	19.3	DHMBP	42	59	29
	20.7	DHMBP-Cl	4	6	1
	21.1	M ⁺ =388, include Cl ₄	1		1
	21.5	DHMBP-Cl ₂	2	4	3
	21.6	DHMBP-Cl	2	1	5
	22.8	M ⁺ =310, include Cl ₂	23	6	38
	23.3	DHMBP-Cl ₃	1		4
	24.3	M ⁺ =344, include Cl ₃	4	2	5
DHDMBP	6.9	M ⁺ =208, include Cl ₃			1
	11.5	dichloro-1,3-dimethoxybenzene	0		
	12.6	trichloro-1,3-dimethoxybenzene	0		
	12.8	trichloro-3-methoxyphenol			6
	22.0	DHDMBP	86	89	80
	22.4	DHDMBP-methyl	2	3	3
	22.8	DHDMBP-acetyl	4	3	3
	23.8	M ⁺ =356, include Cl ₂			2

ついて、その分画等による活性本体の探索について、検討を進める予定である。

要 約

6種類のベンゾフェノン及びその誘導体を pH 4, 7, 10 に調整した水中で塩素処理を行い、抽出物の変異原性試験と GC/MS 分析を行った。ベンゾフェノン (BP) と2-ヒドロキシ-4-オクタロキシベンゾフェノン (HOBP)

は塩素を消費しなかったが、2,4-ジヒドロキシベンゾフェノン (DHBP) と2,2'-ジヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン (DHMBP) は完全に塩素を消費した。BP の塩素処理生成物を除いて GC/MS 分析によって塩素化合物が検出され、主要成分は塩素化ベンゾフェノン類、塩素化フェノール性化合物であった。

変異原性試験は *Salmonella typhimurium* TA98及び TA100を用いた Ames 法によって行った。DHMBP,

DHBP, 2,2'-ジヒドロキシ-4,4'-ジメトキシベンゾフェノン (DHDMBP) の塩素処理生成物は比較的高い変異原性を示した。しかし, HOBP の塩素処理生成物は変異原性を示さなかった。なお, 塩素処理生成物を生成しなかった BP 原体は, TA98及び TA100に強い生育阻害を示した。ベンゾフェノン類の塩素処理生成物の変異原性は, 総じて S9mix を加えると減少するか消失し, 低 pH で高くなる傾向を示した。変異原性の強さは GC/MS で検出された主要成分の量とは必ずしも対応しておらず, 浸出水等の塩素処理生成物の安全性評価の際に, GC/MS 等の化学分析だけでなく, バイオアッセイを併用することの必要性が示唆された。

文 献

- 1) Yasuhara, A., Shiraishi, H., Nishikawa, M., Yamamoto, T., Uehiro, T., Nakasugi, O., Okumura, T., Kenmotsu, K., Fukui, H., Nagase, M., Ono, Y., Kawagoshi, Y., Baba, K. and Noma, Y.: Determination of organic components in leachates from hazardous waste disposal sites in Japan by gas-chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **774**, 321-332 (1997)
- 2) Yasuhara, A., Shiraishi, H., Nishikawa, M., Yamamoto, T., Nakasugi, O., Okumura, T., Kenmotsu, K., Fukui, H., Nagase, M. and Kawagoshi, Y.: Organic components in leachates from hazardous waste disposal sites. *Waste Manage. Res.*, **17**, 186-197 (1999)
- 3) 大手良之: 紫外線吸収剤 (UVA), pp56, 「高分子添加剤の新展開」, 日本化学会, 高分子学会編, 日刊工業新聞社, 東京 (1998)
- 4) Wang, S.-P. and Lee, W.-T.: Determination of benzophenones in a cosmetic matrix by supercritical fluid extraction and capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, **987**, 269-275 (2003)
- 5) Benfenati, E., Toro, N.D., Fanelli, R., Lualdi, G., Tridico, R., Stella, G., Buscaini, P. and Stimilli, L.: Characterization of organic and inorganic pollutants in the Adige river (Italy). *Chemosphere*, **25**, 1665-1674 (1992)
- 6) Ricking, M., Schwarzbauer, J. and Franke, S.: Molecular markers of anthropogenic activity in sediments of the Havel and Spree Rivers (Germany). *Water Res.*, **37**, 2607-2617 (2003)
- 7) Yamamoto, T. and Yasuhara, A.: Aqueous chlorination of bisphenol A-formation of chlorinated bisphenol A congeners and phenolic compounds. *Chemosphere*, **46**, 1215-1223 (2002)
- 8) Yamamoto, T., Yasuhara, A., Shiraishi, H. and Nakasugi, O.: Bisphenol A in hazardous waste landfill leachates. *Chemosphere*, **42**, 415-418 (2001)
- 9) Lee, H.B. and Peart, T.E.: Determination of bisphenol A in sewage effluent and sludge by solid-phase and supercritical fluid extraction and gas chromatography/mass spectrometry. *J. AOAC Intern.*, **83**, 290-297 (2000)
- 10) 小野寺祐夫, 吉松慶一郎, 齊藤寿代, 内田 彩: フェノール化合物の塩素処理による変異原物質の生成挙動及びそれらの変異原物質生成能, 衛生化学, **44**, 289-299 (1998)
- 11) Yahagi, T., Nagao, M., Seino, Y., Matsushima, T., Sugimura, T. and Okada, M.: Mutagenicities of N-nitrosoamines on *Salmonella*. *Mutation Res.*, **48**, 121-130 (1977)
- 12) Maron, D.M. and Ames, B.N.: Revised methods for *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Res.*, **113**, 173-215 (1983)
- 13) McMurry, J. (伊東 徹, 児玉三明, 荻野敏夫, 深澤義正, 通 元夫訳): 置換芳香環における置換基の効果, pp574-578, 「有機化学 第5版」, 東京化学同人, 東京 (2001)