

金沢大学 建設工学科 正員 松井三郎
 金沢大学 山本良子
 金沢大学 大学院 学生員 ○徳川正弘

1. はじめに

水環境の安全性の検討は、従来までの生体及び生態系が受ける急性及び慢性毒性を評価対象とする段階から、遺伝的毒性、換言すれば、環境変異原性をも含めた新たな段階にきている。上水道において、塩素処理過程で生成するトリハロメタン等の有機塩素化合物は、環境変異原物質であり、このことから安全性の再検討が必要とされている。ところで、上水道と同様に、下水処理においても塩素添加が行なわれており、より多くの有機塩素化合物が、新たな水質汚染・環境変異原物質として放出されている疑いがある。本研究では、微生物による変異原性検出法の一つとして我々が改良したRec-Assay液体培地法を用いて、下水を塩素処理して生成させた有機塩素化合物の変異原性を確認し、対象試水の水質、塩素注入率、PHの変化により、微生物の増殖に及ぼす影響を調べ、有機塩素化合物の生成量との関係を検討してみた。

2. 実験原理及び方法

突然変異誘起物質は、遺伝子DNAに作用してDNAに損傷を与える。損傷の程度により、細胞致死の原因となるが、一般に、DNA損傷部分は、細胞の有する修復機構により大部分が修復される。ところが、最近の研究で、修復能力を遺伝的に欠損した微生物株が多数分離されている。これらの修復能力欠損株は、修復能力のある野生株に比べ、変異原物質に暴露すると著しく死にやすい。これらの化学物質に対する致死感受性差を調べることで、変異原性の有無を評価するのがRec-Assay法である¹⁾。実験には、枯草菌(*Bacillus subtilis*)の野生株NIG17(Rec⁺)と修復能力欠損株NIG45(Rec⁻)を用いた。実験方法は、L字管にnutrient brothを5.0 ml、検査物質溶液を0.6 ml、前培養した枯草菌液を0.4 ml注入し、振とう培養する(37℃、71 rpm)。そして、検査物質が含まれないコントロールの濁度が100に達するまで、検査物質の濃度を段階的に変えて注入したすべてのL字管の濁度を測定し、片対数方眼紙に増殖曲線を描く。ここで検査物質溶液として、終末処理場最終沈殿池流出水を塩素処理したものを使用する。塩素処理では、次亜塩素酸ナトリウムを所定の割合に注入し、20時間前後の反応時間をとった。脱塩素処理として、過剰のアンモニアを加え、次に、真空濃縮法により所定の倍率に濃縮を行なう。この際、ウォーターバスの水温は20℃前後とした。最後に、0.05 μmのMillipore Filterにより塩素処理水をろ過滅菌する。

3. 実験結果及び考察

(1) 塩素注入率の影響

塩素処理の際、注入率をA処理場最終沈殿池流出水の場合、10.0、20.0、40.0 mg-Cl/lの3段階に、またB処理場最終沈殿池流出水の場合、10.0、40.0、80.0 mg-Cl/lの3段階に設定した。Rec⁺では、A、Bともに増殖阻害がほとんど現れないが(図-1,3)、Rec⁻では、ともに塩素注入率に比例して増殖阻害が現れている(図-2,4)。これは、塩素注入率に比例して有機塩素化合物(主に、クロロホルム等のトリハロメタン類)が生成した結果であろうと推察され、

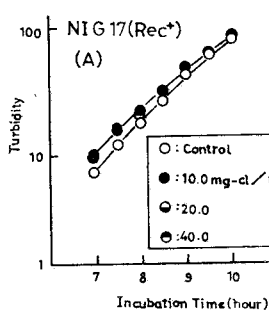


Fig. 1

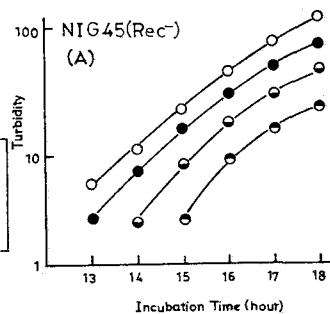


Fig. 2

クロロホルム生成に関する報告に対応している。²⁾

(2) PHの影響 塩素処理前に、水酸化ナトリウムにより、PHを7、9、11の3段階に調整し、その後、塩素注入率をすべて10.0 mg- α /lとして塩素処理した。濃縮倍率は10倍である。Rec⁺では、増殖阻害はほとんど現れないが(図-5)、Rec⁻では、高PHでの塩素処理ほど増殖阻害が強く現われている。これは、PHの上昇により、クロロホルム生成量がPH5~11の範囲で指数関数的に増加するという報告に対応している。²⁾

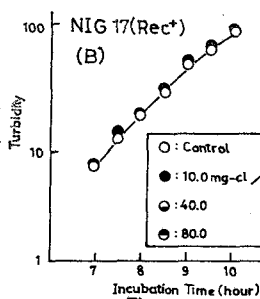


Fig. 3

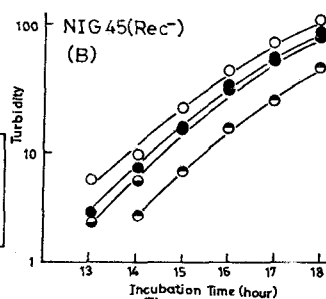


Fig. 4

Table 1 塩素注入率変化時の使用試料水質

	PH	TOC (PPM)	NH ₃ -N (mg/l)	COD (PPM)
A	7.01	19.0	4.66	40.0
B	6.32	8.8	4.64	28.8

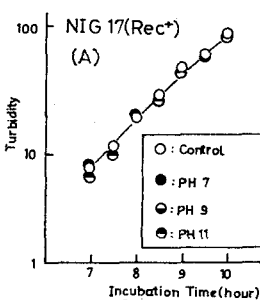


Fig. 5

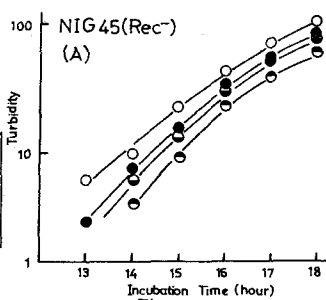


Fig. 6

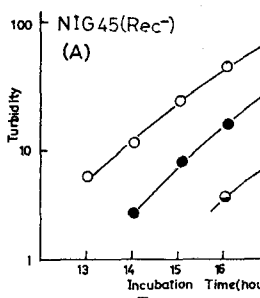


Fig. 7

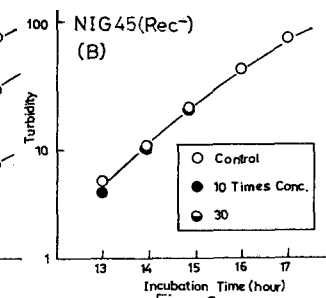


Fig. 8

(3) 下水中の変異原物質の影響 本実験のサンプルとして、A及びBの終末処理場最終沈殿池流出水を使用した。塩素処理を行わない流出水そのものを、10倍、30倍に濃縮して検査物質溶液として調べると、A処理場の場合に増殖阻害が認められ(図-7)、B処理場の場合に認められなかった(図-8)。A処理場には、染料廃水等の工場廃水が流入しており、それに対し、B処理場は家庭廃水のみである。図-7及び2はA処理場の同一サンプルによる塩素処理前後のRec⁻における増殖曲線である。10倍濃縮の増殖曲線を比較すると、塩素注入率10 mg- α /l、20 mg- α /lでは、塩素処理前より増殖阻害が小さく現われている。これは、塩素処理により変異原物質が酸化変質したものと考えられる。このことは、変異原物質の種類によらず、塩素処理が逆に変異原物質除去に有効である場合を示唆している。

4. おわりに

本実験では、Rec⁻で、有機塩素化合物によると考えられる増殖阻害が確認された。Rec⁺で増殖阻害を確認するためには、有機塩素化合物の濃度を高める必要がある。このことより、Rec⁺とRec⁻では致死濃度の差が大きいと考えられ、下水の塩素処理により生成された有機塩素化合物の変異原性は陽性であると思われる。また、塩素注入率の増加、PHの上昇により有機塩素化合物の生成量が増加すること、微生物の増殖阻害を調べることによって確認できた。そして、下水中の変異原物質の種類により、逆に塩素処理が変異原物質除去に有効であるとえられる場合がある。

<謝辞> 本研究を進めるにあたり、検水採取にご協力いただいた金沢市下水道部、土木部の方々、ならびに、終始援助いただいた金沢大学がん研究所吉川寛教授、村上清史助教授に感謝します。また、この研究をともに進め卒業していた庄田匡一郎君にも感謝します。

<参考文献> 1) 田島弥太郎、吉田俊秀、賀田恒夫；化学物質の突然変異性の検出法、講談社、1973

2) 宗宮功、遠藤伸一、藤井滋穂；塩素処理に関する基礎的研究(Ⅳ)、下水道協会誌、Vol. 17 No. 188、1980