

下水処理場内での枯草菌Rec-assayを用いたDNA損傷性物質の消長に関する検討

京都大学工学部 学生員○滝上英孝
京都大学工学部 正員 松井三郎

京都大学工学部 学生員 山本裕史

1.はじめに

現在、水資源の有効活用が不可欠になってきており、一度下水処理場で処理、放流した水を下流域で水道水用に取水するといったことはごく当然のように行われている。下水処理はBOD負荷の除去の観点からは十分な役割を果してきたものの、琵琶湖・淀川水系などでは水道水取水口の上流にある下水処理場の放流水内に強いDNA損傷性を検出される¹⁾²⁾など、微量汚濁物質の制御は未だ不十分であると考えざるを得ない。そこで本研究においては枯草菌Rec-assayによって、下水処理プロセスにおけるDNA損傷性をはじめとした毒性物質の処理効果に関する検討を行った。

2.枯草菌Rec-assayの原理

Rec-assayとは好気性、グラム陽性の桿菌である枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の野生株Rec+ (H17) と変異株Rec- (M45) のDNA修復機構の違いを利用して化学物質のDNA損傷性を検出する方法である。検定試料にDNA損傷性がある場合、Rec-はDNAに障害を受けてもそれを修復する機構を欠くため、両者の生存率に差が生じる。この差を数学的に表現することによってDNA損傷性を評価でき、定性的指標としてS-probitといったものが考案されている(図1)。河川水や下水といった環境水に対しても、試料水の濃縮を行うことによってRec-assayに適用することができる。

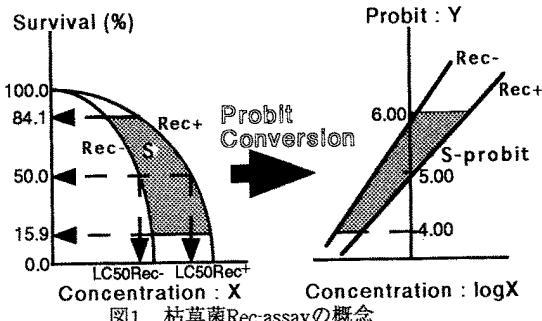


図1 枯草菌Rec-assayの概念

3.下水処理場での調査の概略

流域下水道の終末処理場であるK市のA処理場において調査を行った。処理方式は凝聚剤添加活性汚泥循環変法+砂ろ過法を採用している。この処理方式は標準活性汚泥法の2次処理機能を拡大して硝化、脱窒を行い、PAC (ポリ塩化アルミニウム) を添加後砂ろ過を付加する高度処理を行うことによって、窒素およびリンの効率的な除去を目指したものであり(図2)、実際放流水のBODやSS、CODといった有機指標は良好な状況であるといえる(表1)。

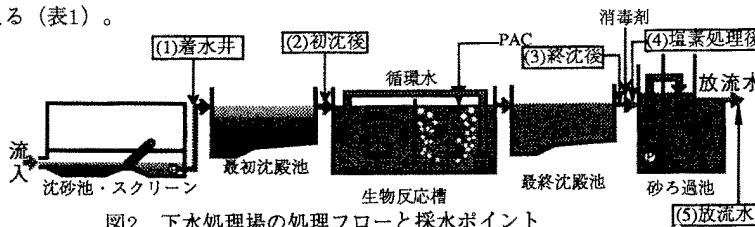


図2 下水処理場の処理フローと採水ポイント

採水ポイントは、スクリーンおよびポンプ室を経た最初沈殿池の入口(以下着水井とする)、生物反応槽の入口(以下、初沈後)、最終沈殿池越流水(以下、終沈後)、次亜塩素酸投入後の砂ろ過池の入口(以下塩素処理後)放流水渠(以下、放流水)を選択した(図2)。試料採取量は18LでXAD-2を用いた濃縮方法により10mL濃縮試料(濃縮倍率1800倍)を作製した。

表1 各水質指標値

試料	採水時刻	水温(℃)	E-260	TOC(mg/L)	COD _{Cr} (mg/L)	pH	BOD(mg/L)	COD _{Mn} (mg/L)	T-N(mg/L)	T-P(mg/L)
着水井	11:25	24.9	57	0.836	334	7.4	160	98.0	42.8	5.02
初沈後	11:10	24.5	46	0.689	66	7.6	80	53.1	25.7	2.63
終沈後	11:00	25.0	10	0.087	40	6.7	5.0	8.5	7.2	0.08
塩素処理後	10:50	25.3	9	0.069	34	NM	NM	NM	NM	NM
放流水	10:00	24.8	9	0.070	26	NM	1.6	5.6	7.4	ND

点線よりも右のものについては1日間の1時間毎流量比例のコンボジット値

ND:未検出 NM:欠測

4. 結果および考察

表1、表2、図3に各水質指標測定結果およびRec-assay試験結果を示す。

まず、Rec-assayの直接試験(S9mix)の結果をみると着水井と初沈後のサンプルがDNA損傷性逆転の結果を示しているが、LC50値はRec+、Rec-とともに1桁程度の濃縮倍率の強い毒性を示していて、生物反応槽を経た終沈後ではLC50Rec-がLC50Rec+を下回っており、逆転の原因物質の吸着分解が進んだと考えられる一方でDNA損傷性物質の存在が逆に示唆されている。生物反応槽の前後では、先年の公共下水道の調査²⁾と異なりTOCをはじめとした水質指標の負荷の70~90%除去されているとともに、Rec+が4.52→52.7、Rec-が7.13→46.8とともにLC50値が1オーダー程度改善していることから総合的な毒性の低減がみられると解釈できる。塩素処理についてはRec+、Rec-とともに50%以上の改善がみられ、塩素処理によりXAD-2で捕捉した物質の構成が変化し、毒性が弱まると解釈できる。砂ろ過を経た放流水については前の4ポイントを採取した処理系と別の処理系との混合水なので毒性物質の量的および質的相違があるものと考えられる。

放流水の毒性レベルを琵琶湖・淀川水系の河川データ³⁾と比較するとRec+への毒性がやや強く中流域の水質に属するが、Rec-では水質の良好な地点と同程度で、少なくともDNA損傷性はRec-assayでみる限り、琵琶湖・淀川水系の上流部の汚染レベルに近い良好な水質であるといえる。

代謝活性酵素系(S9mix)添加の間接試験系では、放流水サンプルのRec+の結果を除いて全ての生存率曲線が濃縮倍率の高い方にシフトし、毒性が弱まっている。しかし、着水井、初沈後のサンプルでは逆転の傾向を示し、生物反応槽の前後で陰性に変化し、塩素処理後、放流水でも直接試験と同等の傾向がみられ、初沈後と終沈後で大幅な毒性の低減がみられるなど類似性があると考えられる。

5. まとめおよび今後の課題

高度処理を採用している流域下水道の終末処理場において、流入下水から処理法流水に至るまでのプロセス水を採取し、XAD-2で濃縮を行いRec-assayに供した結果、下水流入水や初沈越流水のサンプルの毒性レベルが非常に高いものの、DNA損傷性逆転と判定されたが、生物反応槽を経た終沈後では逆転の原因物質の吸着および分解が進んだと考えられる一方で、DNA損傷性物質の存在が逆に示唆された。また、生物反応槽の前後に注目すると、Rec+、Rec-とともにLC50値が1オーダー改善されることから総合的な毒性の低減がみられ、有機性分解との間に高い相関性がみられた。

下水処理場における毒性物質の負荷の処理効果を評価する際に重要なのは、生物反応槽における毒性物質の挙動および消長を把握することである。今後、様々な処理条件の異なる処理場で調査を行い、DNA損傷性物質をはじめとした毒性物質の処理状況を把握するとともに、下水そのものの毒性にも着目していくことが必要であろう。

参考文献

- 佐谷戸安好、早津彦哉他：都市河川水の生物評価に関する研究、第23回水質汚濁学会講演集、367-368、1989
- 松井三郎：環境にやさしい下水道のあり方に関する調査、土木学会編、55-62、1993
- 松井三郎：環境にやさしい下水道のあり方に関する調査、土木学会編、37-44、1991

表2 DNA損傷性試験結果

試料名	S-9mix 添加の有無	LC50Rec+(-)	LC50Rec-(-)	S-probit
着水井	-	3.08	4.33	-0.295(r)
	+	23.3	31.2	-0.254(r)
初沈後	-	4.52	7.13	-0.397(r)
	+	45.4	54.4	-0.158(r)
終沈後	-	52.7	46.8	0.102(-)
	+	161.7	148.6	0.073(-)
塩素処理後	-	95.5	82.9	0.122(+)
	+	321.3	179.8	0.504(+)
放流水	-	97.6	63.1	0.379(+)
	+	121.7	117.9	0.028(-)

(DNA損傷性結果判定) +: 陽性, -: 陰性, r: 逆転

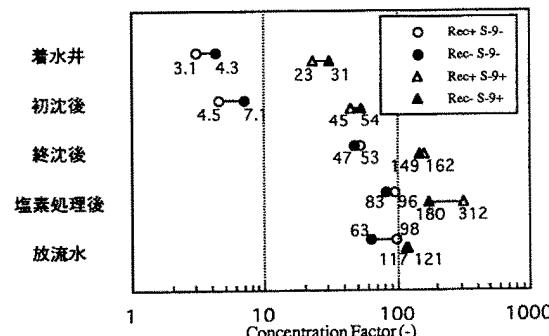


図3 処理場内のLC50値の変化