

II - 650

枯草菌Rec-assay法による環境水の毒性及び変異原性に関する研究

五洋建設（株） 正員 土岡真樹  
 山口大学工学部 正員 関根雅彦  
 山口大学工学部 正員 浮田正夫

はじめに 本研究では、変異原性試験のひとつで、DNA損傷試験である枯草菌Rec-assayを河川水、ダム湖水また難分解性物質を含有する写真廃液、下水道廃水、廃棄物処分場廃水に適用し、DNA損傷物質の環境中での動態を調査し、その水質評価を行った。

枯草菌Rec-assay法の原理 枯草菌Rec-assayは、特定の一部の遺伝子が異なる二種類の同一生物間に現れる生物学的な応答の差を利用した変異原性試験である。枯草菌の野生株（以下Rec+）はDNAに傷を受けてもそれを修復できるが、組換え修復機構欠損株（以下Rec-）は修復機能がRec+菌に比べて劣り、検定試料にDNA損傷性がある場合、Rec-菌の方がRec+菌に比べ強い増殖阻害を受けて生存率が低くなる。検定試料にDNA損傷性がない場合、両株は同一の増殖阻害を受け生存率に差は生じない。この増殖阻害曲線のずれによって、検定試料のDNA損傷性を検出する。

環境水のDNA損傷性試験 河川の実験結果を図1に、ダムの実験結果を図2に示した。一般毒性についてはダム湖、河川でその1/LV50（LV50=Rec+に50%の致死率をもたらすだけの濃縮に用いた環境水量(L)）は低い値をとった。茶畑、ゴルフ場など汚染源に近い河川の一般毒性は、他の河川に比べ若干増していた。DNA損傷性については、ダム湖、河川で高いDNA損傷性を示すものが多く認められた。毒性物質の河川中の動態については、図3に示したように厚東川水系では下流に向かうに従い、一般毒性及びDNA損傷性は増加して汚染が進行する状況が分かった。長門峡水系では上流である長門峡の一般毒性、DNA損傷性が高く、河口部では海水の希釈のためか低下した。また、豊田湖において表層及び底泥直上水における一般毒性、DNA損傷性の違いを調査した結果、両層においてその差は認められなかった。環境水についてまとめると、河川及びダム湖の一般毒性は、下水処理場に比べ低い値を示したが、DNA損傷性は高い値を示すサンプルがあった。しかし、調査時期により毒性が検出できない場合があり、その原因を明確にするため連続調査などの詳細な調査が必要である。

写真廃液のDNA損傷性試験 図4に各処理段階における実験結果の平均値を示した。一般毒性、D

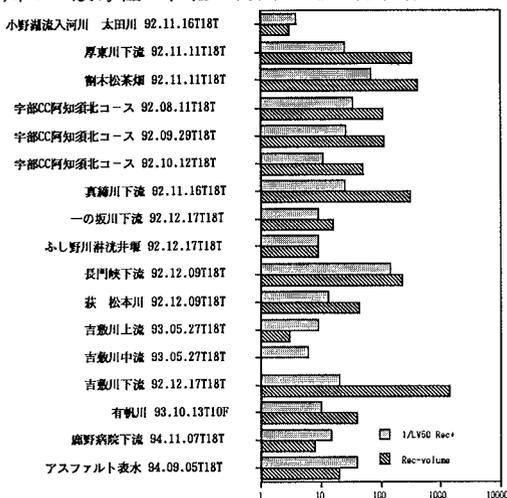


図1 河川のRec-assay結果

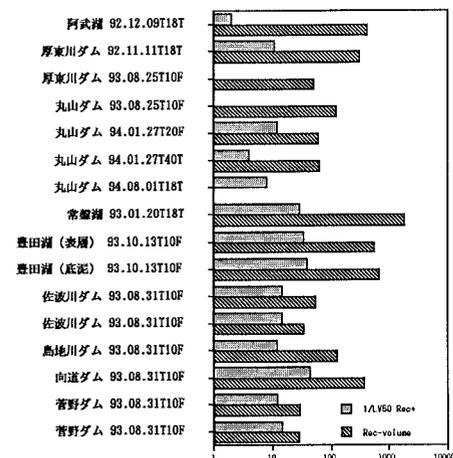


図2 ダム湖のRec-assay結果

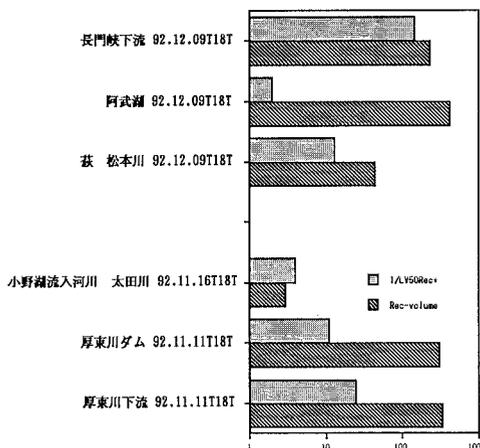


図3 同一水系における1/LV50Rec+、Rec-volumeの変動

NA損傷性については、原水は高い一般毒性を示したが、処理の進行に伴い一般毒性が低減された。特に、原水が一次生物処理されると一般毒性は急激に低下した。また、一次生物処理水を電解処理するとオゾン処理するの 비해、高いDNA損傷性を示した。この処理方法の違いによりDNA損傷性に差が生じると推定できたが、その原因は明確にできなかった。また、図5にGC/MSによる分析結果を示した。Y軸はGC/MS分析におけるピーク面積で、このピーク面積は物質量を表す。図5において、原水の15-30分に検出される物質量が一次生物処理後大幅に減少したが、5-10分に検出される物質量は増加している。一次生物処理水の5-10分に検出される物質がオゾン、電解処理後、電解処理水では検出されず、オゾン処理水でも急激に減少している。Rec-assayとGC/MSの分析結果を比較するとRec-volumeの変動とGC/MS分析結果における20-25分に検出される物質量が同一の挙動を示し、20-25分に検出された物質がDNA損傷物質と推定できたが、物質の同定は出来なかった。写真廃液についてまとめると、写真廃液を一次生物、オゾン、電解処理する事により、一般毒性、DNA損傷性の処理効果が認められた。また、DNA損傷性のみについて考えるならば、原水を一次生物処理し、電解処理するより、オゾンにより処理する方法がより優れている。

**下水処理場廃水のDNA損傷性試験** 図6にRec-assay実験結果を示した。一般毒性については生下水が高かった。し尿及び一般廃棄物処理施設からの処理水は流入下水に比べ低い値になり、沈砂池に送られる下水の一般毒性は、生下水に最も影響される。また、最初沈砂池に送られる濃縮槽からの上澄み液も高い値を示した。次亜塩素酸ソーダ注入前後では同程度の一般毒性を示した。このように、下水処理による一般毒性の低減が認められた。DNA損傷性については、生下水、し尿処理水、一般廃棄物処理水は、同程度の値をとった。流入水は高い値を示したが、次亜塩素酸ソーダ注入前後ではその低減が認められた。また、合併式浄化槽の処理水の実験結果は、下水処理場の塩素注入後の排水と同程度の一般毒性が認められたが、DNA損傷性については検出されなかった。下水処理場廃水についてまとめると、下水処理場において流入下水が処理されるに従い、一般毒性、DNA損傷性の低減が認められた。次亜塩素酸ソーダ注入前後では、その一般毒性、DNA損傷性の変動は認められない。

**廃棄物処分場廃水のDNA損傷性試験** 図6にRec-assay実験結果を示した。実験結果を見ると、一般毒性もDNA損傷性も下水処理場に比べ、小さい値をとった。一般的に廃棄物処分場の浸出液は高い毒性を示すと思われるが、今回調査した廃棄物処分場は、搬入物がおもにガラス、鉄さび、建設廃材であった事、先行降雨が少なかった事等によりこのような結果になったと推測できる。廃棄物処分場廃水についてまとめると、廃棄物処分場浸出水の一般毒性、DNA損傷性は低い値をとった。ただし、調査地点数が少ないため、すべての廃棄物処分場についてこのような結果とはいえず、今後多数の調査を行い、データを積み重ねて廃棄物処理場における一般毒性、DNA損傷性の実態を把握することが望まれる。

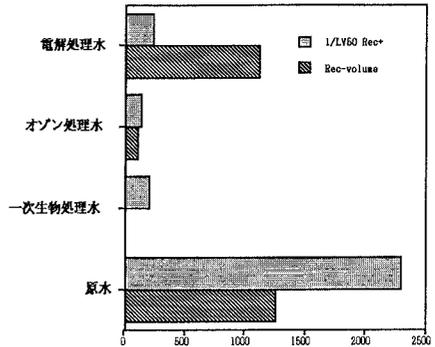


図4 写真廃液処理段階別の1/LV50Rec+ Rec-volumeの平均値

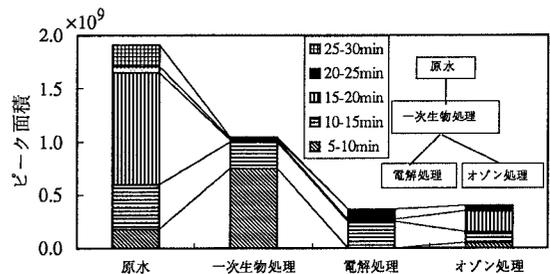


図5 写真廃液のGC/MSによる5分間隔ピーク面積分析結果

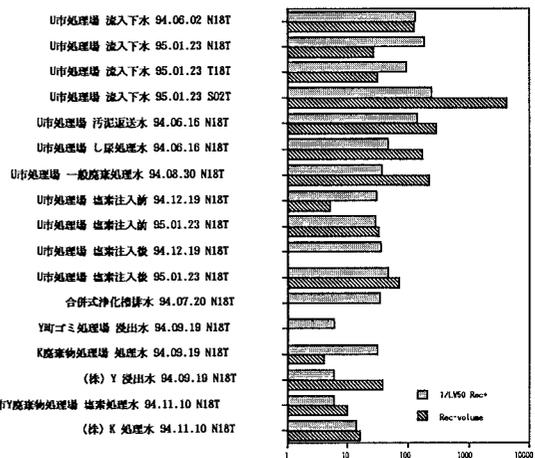


図6 下水処理場、廃棄物処分場のRec-assay結果