

II-661

降水の変異原性と水質

富山県立大学短期大学部 正会員 奥川 光治
正会員 楠井 隆史

1. はじめに

人工化学物質の使用や非意図的な化学物質の生成が、技術革新の進展とともに増加したことにより、微量化学物質による水環境の汚染が問題になっている。これら化学物質を適切に管理するためには環境中での動態を評価することが重要である。本研究は微量化学物質の総括的指標としての変異原性に着目し、その水環境中での動態を解明することを目的としており、今回は河川流域への化学物質の流入経路として重要な降水の変異原性に焦点を絞り解析した。

2. 調査・分析方法

調査は1993年12月から1994年12月まで2～4ヶ月に1回の頻度で5回実施した。降水の採取地点は富山県中央部の富山県立大学である。降水の採取には直径39cmのステンレス製ボール4個を使用し、雪の場合には実験室で約40℃の湯を用いて溶解した。分析項目は、変異原性(Ames test)の他に、pH、電気伝導率(EC)、SS、紫外外部吸光度(50mmセル、260nm; E_{260})、COD_{Cr}等である。Ames testは溶存態ならびに懸濁態のサンプルそれぞれについて、S9mix添加、無添加の両条件で、*Salmonella typhimurium* TA98およびTA100株を用いたブレインキュベーション法により行なった(日本薬学会, 1990)。溶存態のサンプルは、Fig.1に示すとおり、原則として4Lを固相抽出カートリッジ Sep-Pak Plus CSP800 (Waters製)で吸着したあと、DMSO 2mLに抽出・濃縮し、試験に供した。また、懸濁態のサンプルは、Fig.2に示すとおり、濾過水量2～4Lのグラスファイバーフィルターをジクロロメタン150mLでソックスレー抽出したのち、クデルナーダニッシュ濃縮および窒素ガス吹き付け(40℃)によりDMSO 2mLに溶媒置換し、試験に供した。

3. 調査結果および考察

Table 1に降水の変異原性試験の結果を示す。ここに、変異原性試験の評価基準は以下のとおりとした。すなわち、試料と陰性対照の復帰コロニー数の比をMR値とし、MR値 ≥ 2.0 の場合は陽性(++), $2.0 > \text{MR値} \geq 1.5$ の場合は擬陽性(+), $1.5 > \text{MR値} \geq 0.7$ の場合は陰性(-)と判定した。なお、溶存態も懸濁態も、 $1.5 > \text{MR値}$ で試料量が4Lより少ない場合は4Lに換算してMR値を求め、MR値 ≥ 1.5 となる場合には(+)と表示した。また、生育阻害(T)は顕微鏡によるBackground lawnの確認によるか $0.7 > \text{MR値}$ の場合とした。さらに、試料の投与量の増加とともに一旦コロニー数が増加し $1.5 > \text{MR値} \geq 1.3$ となったあと、生育阻害が見られる場合は+Tと表示した。Table 1より、

- (1) Filtrate sample
4 L as a rule
with a glass fiber filter ($0.5 \mu\text{m}$)
- (2) Adjust pH to 2.0
4 L of filtrated sample
with H_2SO_4 (1+100)
- (3) Solid phase extraction
with Sep-Pak Plus CSP800 (made in Waters)
feed sample at $10\text{--}50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$
- (4) Desorb
feed DMSO at $0.15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$
collect 2 mL of effluent

Fig.1 Preparation method of soluble samples for Ames test (Urano et al. 1994).

- (1) Filtrate sample
4 L as a rule
with a glass fiber filter ($0.5 \mu\text{m}$)
- (2) Freeze-dry a glass fiber filter
- (3) Extract the filter by the Soxhlet method
with 150 mL of dichloromethane
at 45 C, for 24 hrs
- (4) Dehydrate the solvent extract
with anhydrous sodium sulfate
- (5) Concentrate the solvent extract
at 45 C, with a Kuderna-Danish apparatus
- (6) Exchange solvent to 2 mL of DMSO
at 40 C, under a stream of nitrogen

Fig.2 Preparation method of particulate samples for Ames test (USEPA, 1985).

Table 1 Mutagenicity of precipitation. ++ : positive, + : quasi-positive, - : negative, (+) : quasi-positive if the sample volume is 4 L.
Sol. : soluble, Part. : particulate.

Date	TA98--S9mix		TA98+S9mix		TA100--S9mix		TA100+S9mix	
	Sol.	Part.	Sol.	Part.	Sol.	Part.	Sol.	Part.
93/12/21	++		+		++		+	
94/02/21	++	-	+	-	++	-	+	-
94/05/11	++	(+)			++	-	-	-
94/09/06	(+)	-	-		++	-	(+)	-
94/12/20	++	+	++	++	++	+	+	++

Table 2 Sample amount/volume.

Date	Sample amount/volume	
	Soluble mL	Particulate mg/mL
93/12/21	4000	
94/02/21	4000	10.5/4000
94/05/11	4000	29.1/3000
94/09/06	3195	8.8/2945
94/12/20	3145	28.9/3385

(1) 溶存態のサンプルの場合、S9mix無添加では、TA98株で4サンプルが陽性で、1サンプルが擬陽性、また、TA100株では5サンプルとも陽性であった。S9mixを添加し、代謝活性化をした場合は変異原性が弱まる傾向にあり、TA98株で1サンプルが陽性、2サンプルが擬陽性で、1サンプルは陰性であった。TA100株では4サンプルが擬陽性で、1サンプルが陰性であった。(2) 懸濁態のサンプルでは溶存態よりも変異原性が認められる頻度がずっと小さくなった。すなわち、S9mix無添加では、TA98株で2サンプルが擬陽性で、2サンプルが陰性であった。また、TA100株では1サンプルの擬陽性を除いて陰性であった。S9mixを添加した場合も同様であるが、94年12月20日のサンプルでは代謝活性

Table 3 Results of the survey for precipitation.

	93/12/21	94/02/21	94/05/11	94/09/06	94/12/20
Starting date	93/12/21	94/02/21	94/05/11	94/09/06	94/12/20
Starting time	15:55	08:50	08:50	12:15	22:00
Ending date	93/12/22	94/02/22	94/05/12	94/09/07	94/12/21
Ending time	13:20	08:40	09:00	08:40	17:30
Weather	rain-snow	rain-snow	rain	rain	rain
Precipitation(mm)	23.0	13.0	11.0	8.0	8.6
Sampling volume(L)	11.0	10.0	6.2	4.1	4.1
pH	4.7	4.2	4.8	3.5	4.1
EC($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	58.4	129	22.2	51.7	61.0
SS($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	1.8	2.6	8.6	2.9	8.7
E ₂₅₀	0.103	0.130	0.047	0.041	0.220
TCOD _{Cr} ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	6.7	10.6	8.0	6.2	8.1
SCOD _{Cr} ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	6.7	9.5	4.4	4.7	7.2
PCOD _{Cr} ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0.0	1.1	3.7	1.5	0.8
NH ₄ ⁺ ($\mu\text{gN}\cdot\text{L}^{-1}$)	168	452	262	316	543
NO ₂ ⁻ ($\mu\text{gN}\cdot\text{L}^{-1}$)	<5	<5	<5	<5	<5
NO ₃ ⁻ ($\mu\text{gN}\cdot\text{L}^{-1}$)	103	252	449	623	621
F ⁻ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	36.4	106	24.2	29.9	55.7
Cl ⁻ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	13.2	28.7	0.477	0.692	6.90
Br ⁻ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	40.1	83.0	<5	<5	21.6
SO ₄ ²⁻ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	3.73	5.79	1.83	3.62	4.66
Li ⁺ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	<1	<1	<1	<1	<1
Na ⁺ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	6.69	14.1	0.297	0.182	4.02
K ⁺ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0.354	0.625	0.203	0.0906	0.327

化により変異原性が強まった。懸濁態のサンプルで変異原性が認められるのは Table 2 に示すように懸濁物量が多いときであった。(3) 変異原性を発現する原因物質としては排ガス由来の多環芳香族炭化水素や農薬などが考えられるが、少なくとも12月と2月は使用量からみて農薬が原因とは考えられない。

Table 3 に調査の概要と降水の水質を示す。特徴的なことを列挙すると、(1) pHは3.5~4.7であった。(2) EC, F⁻, Cl⁻, Br⁻, SO₄²⁻, Na⁺, K⁺は冬季に高い値を示した。これは季節風の影響で海塩粒子が多く含まれることを示している。(3) 溶存態で変異原性の弱かった94/05/11, 94/09/06のE₂₅₀とSCOD_{Cr}は冬季と比較してやや低い値であった。(4) COD_{Cr}は懸濁態よりも溶存態の方が多かった。これは変異原性試験の傾向と一致する。

4. まとめ

降水の変異原性(Ames test)を溶存態と懸濁態とに分けて解明するとともに水質についても示した。得られた知見を要約すると、(1) 溶存態で変異原性が認められることが多かった。また、S9mixを添加すると変異原性が弱まる傾向にあった。(2) 懸濁態では溶存態よりも変異原性が認められる頻度が小さかったが、懸濁物量が多いときには変異原性が認められた。

【参考文献】 日本薬学会(1990) 衛生試験法・注解。

浦野ら(1994) 水環境学会誌, 第17巻, 第7号, 451-460。

USEPA(1985) EPA/600/4-85/058, 175-187。