

画像解析を導入した染色体異常試験による消毒処理水の安全評価

徳島大学工業短期大学部 正員○伊藤 慎彦
京都大学工学部 正員 住友 恒

1. はじめに

本文は、上水消毒剤として塩素、二酸化塩素、クロラミン、オゾンを取りあげ、各消毒剤で濃縮自然水を処理し、その処理水の変異原性を比較検討したものである。変異原性試験としては、チャイニーズ・ハムスター肺細胞 (CHL) を用いた染色体異常試験を行った。さらに本研究では、異常がおきた染色体を画像解析によって検出し、定量化しているのが特徴である。

表1 琵琶湖水と濃縮琵琶湖水の水質

	pH	E ₂₆₀	過マンガン酸カリウム消費量 (mg/l)
琵琶湖水 ('92.5.29)	7.08	0.060	3.6
濃縮琵琶湖水	7.11	10	1650

2. 実験方法

本研究では、消毒副生成物全体の染色体異常誘発性を測定することを目的に、最初に自然水を濃縮した上で消毒処理を行い、処理水をそのまま染色体異常試験に供する方法を採った。すなわち、琵琶湖南湖表流水をXAD-2樹脂に通水した後、吸着成分をジエチルエーテルで抽出し、乾固した残渣を蒸留水に再溶解して濃縮湖水を作製する。この試料に消毒剤を加えて処理し、これをそのまま染色体異常試験の試料とした。濃縮湖水の水質を原水と比較して表1に示す。濃縮湖水は200mMリン酸緩衝液とし、pHを7.2±0.1に調整した。

塩素処理は次亜塩素酸ナトリウム液を添加して行った。反応は70時間静置して行い、この間に添加した塩素の98%以上が消費された。オゾン処理は、オゾン発生器 (三菱オゾナイザOS-1N-A) で発生させたオゾンを最長1時間まで曝気した。クロラミンと二酸化塩素については、数千mg-Cl/lの消費量となるように、いずれも曝気によって消毒剤を添加した。クロラミン処理は、pH10, 170g/lの塩化アンモニウム溶液に対し、次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加し、空気曝気してえられるクロラミンを試料中へ導入した。曝気は最長51時間まで行った。二酸化塩素処理は、13g/l亜塩素酸ナトリウム溶液に(1+9)硫酸を添加し、空気曝気してえられる二酸化塩素を試料中へ導入した。曝気は最長12時間まで行った。脱消毒剤を添加すると変異原物質をも還元作用を受けて変異原活性が著しく減少することが認められているため、脱消毒剤は添加しなかった。

染色体異常試験には新生チャイニーズ・ハムスターの肺細胞 (細胞名CHL/1U, 大日本製薬) を使用した。本細胞はEagle MEM 90% + ウシ胎児血清10%の培養液を用い、37℃で継代培養しておく。pHを7.2±0.1に調整した試料を添加し、24時間培養した後、染色体標本作製した。図1に示すように、染色体像を直接テレビカメラより入力し、画像解析を行った (Nikon LUZEX2D 使用)。図2に染色体異常の典型例を示す¹⁾。このうち画像解

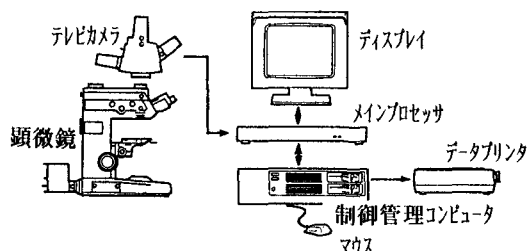
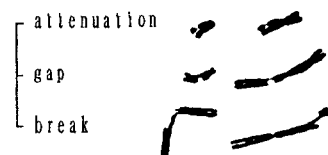


図1 顕微鏡-画像処理システム

1. 切断型



2. 交換型

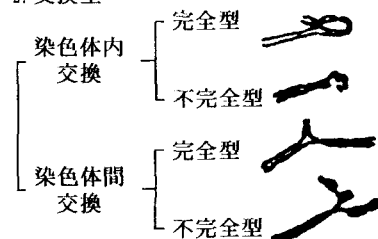


図2 染色体異常の典型例

析により交換型異常染色体を検出、定量化した²⁾。

3. 実験結果

各消毒処理による E_{260} 減少を図3に、また処理水の染色体異常試験結果を図4に示す。横軸は消毒剤の消費量を $\text{mg-Cl}/\ell$ または $\text{mg-O}_3/\ell$ で表示してある。図4の縦軸は50細胞の染色体像を画像解析した結果、検出された交換型異常染色体の数を表す。このうち、二酸化塩素処理水中には亜塩素酸イオン(ClO_2^-)が蓄積する結果、試料の細胞毒性が強くなりそのままでは染色体の観察が不可能であった。染色体の観察が可能な ClO_2^- の試料中濃度は $55\text{mg-Cl}/\ell$ 以下であったので、二酸化塩素処理水を6日間放置して ClO_2^- がこの濃度以下に減少したものを試料とした。結果的に二酸化塩素消費量 $1850\text{mg-Cl}/\ell$ までの試料の試験を行うことができた。

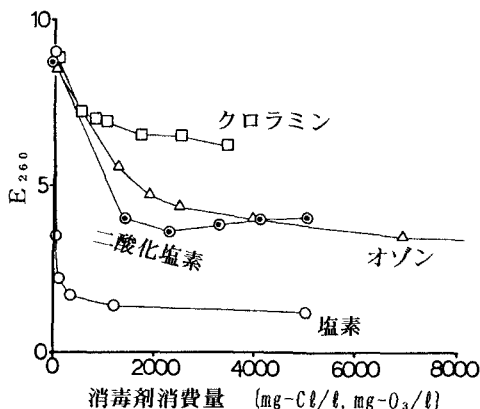


図3 消毒処理による E_{260} の減少

4. 塩素と代替消毒剤の比較

二酸化塩素について

1) 染色体異常誘発性は塩素処理水よりも弱かったが、有意に認められた。2) E_{260} 消費量は塩素より小さかった。3) 亜塩素酸イオン(ClO_2^-)が蓄積する結果、処理水の細胞毒性が認められた。まず、染色体異常誘発性は塩素処理水よりも弱い点で好ましい。しかし、処理水に別の毒性が加わる点に注意が必要になる。 ClO_2^- の他、少量生成していると思われる塩素酸イオン(ClO_3^-)、さらに ClO_2 とあわせて、二酸化塩素処理ではこれらの無機副生成物の監視は怠れないと考えられる。

クロラミンについて

1) 処理水による染色体異常の有意な生成は認められなかった。2) E_{260} 消費量は最も小さかった。本実験における湖水の濃縮倍率、クロラミン消費量の範囲では染色体異常誘発性を認めなかった点が注目される。消毒力は弱いものの変異原性を低くおさえることから代替消毒剤としての意義が見いだせる。

オゾンについて

1) 染色体異常誘発性は、低消費量範囲では認められないが、高消費量範囲では塩素処理水以上となった。2) E_{260} 消費量は塩素より小さかった。消毒にオゾンを使用する範囲では、塩素と比較して染色体異常誘発性は低くおさえられると考えられる。一方、高注入率範囲で増大する点が注目され、消毒ではなく他の用途に、オゾンを高注入率で使用する時注意が必要である。

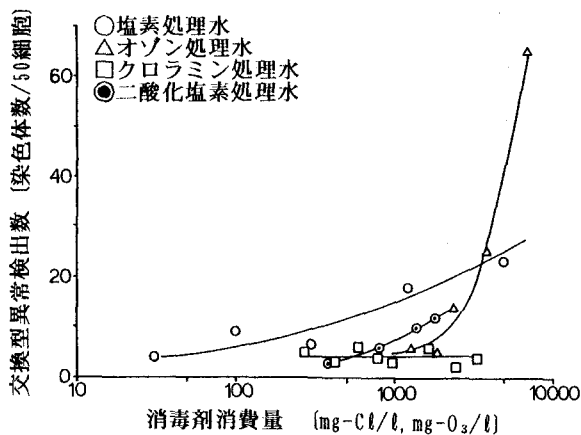


図4 消毒処理水の染色体異常誘発性

参考文献 1) 日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会編、化学物質による染色体異常アトラス、朝倉書店、1988 2) 住友恒、伊藤禎彦、画像解析を導入した染色体異常試験法の開発、衛生工学研究論文集、Vol. 26, pp. 107-115, 1990