

B-6

活性汚泥由来有機物の毒性評価に関する研究

北海道大学工学研究科都市環境工学専攻 ○成田 裕樹
 同上 船水 尚行
 同上 高桑 哲男
 北里大学薬学部公衆衛生学教室 市川 大介
 同上 国本 学

1. はじめに

環境中に存在する多種多様な化学物質の生物に対する影響評価方法として、パイオアッセイは有効な方法の一つである¹⁾²⁾。その中でもヒト由来培養細胞系を用いた手法は、環境水のヒトや生態系への有害性を簡易かつ多角的に評価、監視可能な方法として注目されている³⁾。

一方、下水処理水中には、流入下水中に含まれる難生物分解有機物の他に、活性汚泥微生物由来有機物も残留していると考えられる。これら微生物由来物質のヒトや生態系への有害性を評価することは、処理水全体の毒性を制御する上で重要であると考えられる。

本研究では、下水処理施設における活性汚泥微生物由来有機物の毒性の把握を目的として、細胞毒性試験を行った。

2. 方法

2. 1 連続送気試験

活性汚泥を基質無添加で連続送気することにより、活性汚泥微生物の死滅により菌体由来有機物が増加することを予想して、連続送気試験を行った。活性汚泥試料として、標準活性汚泥法にて運転されている下水処理施設の返送汚泥を用いた。供試汚泥は同処理場より2度採取した。採取した返送汚泥は、重力濃縮により約2倍濃度に濃縮して使用した。供試汚泥の性状を表-1に示す。

表-1 供試汚泥の性状

	採取日	MLSS (mg/L)	MLVSS (mg/L)
RUN-1	2003/4/25	6,966	5,086
RUN-2	2003/7/11	4,292	2,920

濃縮した返送汚泥を基質無添加状態、20℃にて連続送気した。送気開始後6, 30, 102, 150, 174時間後に汚泥を採取し、0.45 μ m メンブレンフィルターにてろ過を行った。ろ過後の試料をSep-PakC18カートリッジ（日本 Waters 製）に通水し、溶出した極性試料を親水性分画試料とした。なお、濃縮操作は行わなかった。

2. 2 バイオアッセイ

培養細胞として、ヒト由来神経芽細胞腫細胞 NB-1 及びヒト由来乳がん細胞 MCF7 を用いた。凍結保存した各細胞を解凍後、96 ウェルマイクロプレートに播き込みを行い、48 時間培養した。試料濃度が最大 80% となるように培地混合試料及び希釈系列を作成し、48 時間曝露した。曝露終了後、クリスタルバイオレット染色法によって生存率を推定した。EC50 値は、データ解析ソフトを用い、細胞生存曲線をシグモイド曲線にカーブフィットした後算出した。

3. 結果及び考察

3. 1 溶液中有機物濃度の推移

図-1 及び図-2 に RUN-1 及び RUN-2 における有機物濃度の推移を示す。

RUN-1, RUN-2 共に送気時間の増加に伴い全有機物濃度は増加した。送気開始後 6 時間の全有機物濃度は RUN-1, RUN-2 共に 15mg/L 程度であったが、150 時間後の全有機物濃度は RUN-1 が 70mg/L 程度であり、RUN-2 より高かった。RUN-1 では親水性分画の増加が著しかったが、RUN-2 では、親水性、疎水性分画ともに緩やかに増加した。

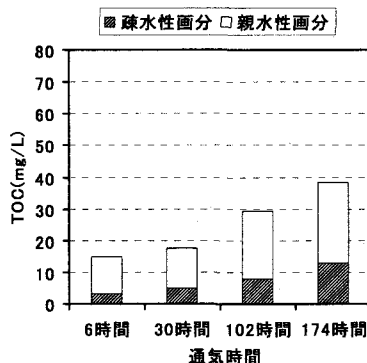
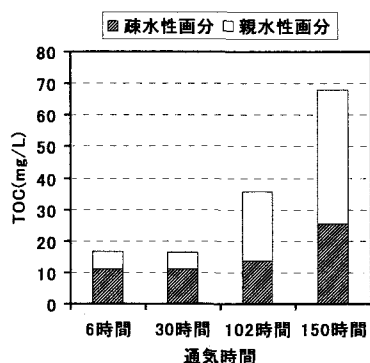


図-1 RUN-1 における有機物濃度の推移 図-2 RUN-2 における有機物濃度の推移

表-1 より、RUN-1 の供試汚泥 MLVSS 濃度が 5,086mg/L であるのに対し、RUN-2 は 2,920mg/L であり、汚泥濃度が異なった。このため、最終濃度に差が生じたと考えられる。

3. 2 毒性試験結果

表-2 に毒性試験における logEC50 値を示す。

表-2 logEC50 値 (単位: mg-TOC/L)

		6 時間	30 時間	102 時間	150 時間	174 時間	平均
RUN-1	全有機物	2.052	1.628	2.024	2.396	—	2.025
	親水性分画	1.122	0.840	1.221	1.055	—	1.060
RUN-2	全有機物	1.695	1.477	1.765	—	2.135	1.768
	親水性分画	1.931	1.863	1.959	—	1.812	1.891

図-3, -4 に RUN-1 の NB-1 細胞を用いた毒性試験結果を示す。図-3 には過試料 (全有機物)、図-4 には Sep-Pak 溶出試料 (親水性分画) の結果を示した。

全有機物の毒性は、送気時間の増加に伴い低下する傾向であった。一方、親水性分画の毒性は、送気時間に関わらず有機物濃度に応じて増加する傾向を示した。また、親水性分画の EC50 値の方が、全有機物の値よりも低かった。

図-5, -6 に RUN-2 の MCF7 細胞を用いた毒性試験結果を示す。図-5 には全有機物、図-6 には親水性分画の結果を示した。

全有機物の毒性は、送気時間の増加に伴い低下する傾向であったが、RUN-1 の結果ほど明確ではなかった。親水性分画の毒性は、通有機物濃度に応じて増加する傾向を示したが、親水性分画の EC50 値は全有機物に対して高く、RUN-1 とは異なる傾向を示した。

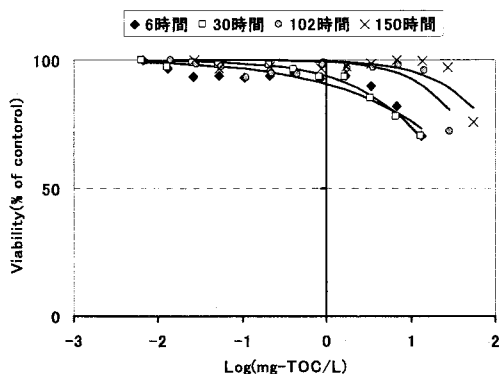


図-3 RUN-1, 全有機物

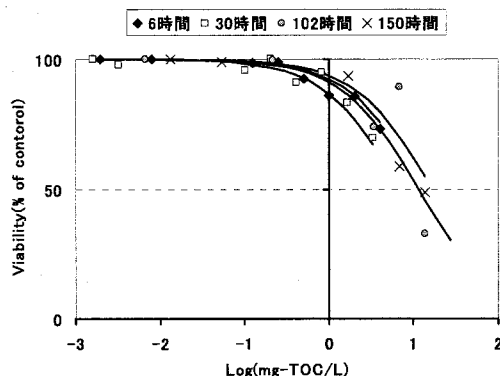


図-4 RUN-1 親水性分画

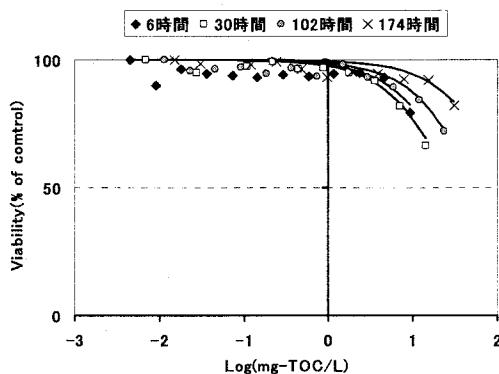


図-5 RUN-2, 全有機物

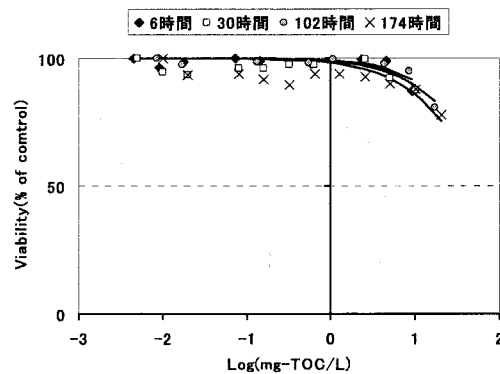


図-6 RUN-2 親水性分画

RUN-1の親水性分画logEC₅₀値は、1.060mg-TOC/Lであるのに対し、RUN-2は1,890 mg-TOC/Lであり、RUN-1とRUN-2の毒性傾向の相違は、有機物濃度によるものではなかった。これらの相違原因を明確にするためには、毒性を呈する物質の特定及び、それらの物質と供試汚泥の性状、送気等の環境条件との関係について調査する必要があると考えられる。

4. まとめ

- 1) 送気活性汚泥ろ過試料の全有機物濃度は送気時間の増加に伴い上昇するが、単位有機物量当たりの細胞毒性は弱くなった。
- 2) 親水性分画の単位有機物当たりの容量-反応曲線の傾向は、経過時間に関わらずほぼ同様であった。
- 3) 本実験系において、微生物由来有機物中に毒性を呈する物質が存在する可能性が示唆された。

参考文献

- 1) 国本 学, 安原 昭夫, 相馬 悠子, 中杉 修身(1996)哺乳動物培養細胞系を用いた水環境試料の毒性評価, 水環境学会誌, 19,855-860.
- 2) 鈴木 基之, 内海 英雄(1998)バイオアッセイ 水環境のリスク管理, 講談社, 42-54
- 3) 福島 寿和, 藤原 朋広, 杉浦 則夫, 本田 靖, 須戸 幹, 井上 隆信, 花里 孝幸, 大久保 卓也, 国本 学(2002)ヒト由来培養細胞系を用いた簡易バイオアッセイによる湖水試料中の有害性総合評価の試み, 水環境学会誌, 25,119-124.