

枯草菌 Rec-assay 法と GC/MS による水道水源水質の 微量化学物質汚染調査

筑波大学 学生員 江藤 正典

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

1.はじめに 本研究では、変異原性試験の一つである枯草菌 Rec-assay 法を用いて、U市の重要な水道水源であるK川水系の河川、湖沼水に関してその毒性評価を行った。また GC/MS によってそれらの環境水中に含まれる微量化学物質の挙動を調査した。

2.枯草菌 Rec-assay 法の原理 枯草菌 Rec-assay 法は、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、組み換え修復機構欠損株（以下 Rec-）は修復機構が 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から検定試料の DNA 損傷性を検出する。

3.調査方法の概略 採水はU市内の重要な水道水源である K 川流域の 5 地点で行い、中でも主に N 分水槽の水に関してその DNA 損傷性や細胞毒性の推移を調査した。また塩素を加えることにより水中の毒性が増加するかどうかについても調査した。水中に存在する微量化学物質の動態についてはガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)によって定性・定量分析を行った。試料の濃縮には固相抽出カートリッジの CSP800 と XAD-2000 樹脂を用い、取水した環境水を DMSO(ジメチルスルホキシド)で 2ml から 4ml に濃縮した。GC/MS 用のサンプルはジクロロメタンで 5ml になるように濃縮した。塩素の添加についてはその濃度が 3.5~4.5mg/l になるように添加し、ガラス瓶に入れて 20℃ で 24 時間保存した後濃縮を行った。

4.調査結果と考察 N分水槽の調査については平成 7 年 6 月から 8 年の 1 月にかけて平均月 2 回のペースで行った。濃縮用樹脂は 6 月から 8 月が CSP800、10 月から 1 月にかけては XAD2000 で行い、9 月と 10 月についてはその両方で比較した。図 1 に N 分水槽の Rec-assay 試験結果を示す。CSP800 の場合は Rec+菌に対する毒性の方が大きくなるため Rec-volume が 0 あるいはマイナスとなり、XAD2000 では小さいながらも Rec-volume はプラスになっていることが多い。しかし Rec-volume がマイナスやわずかなプラスの値である場合、それらは Rec+菌と Rec-菌との増殖阻害曲線がほとんど重なっているかあるいは反転しているため

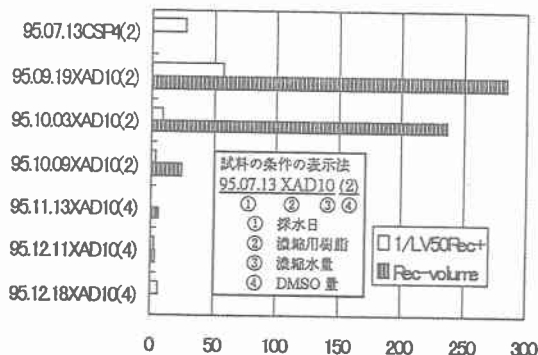


図 1 中山分水槽の DNA 損傷性と細胞毒性の変化

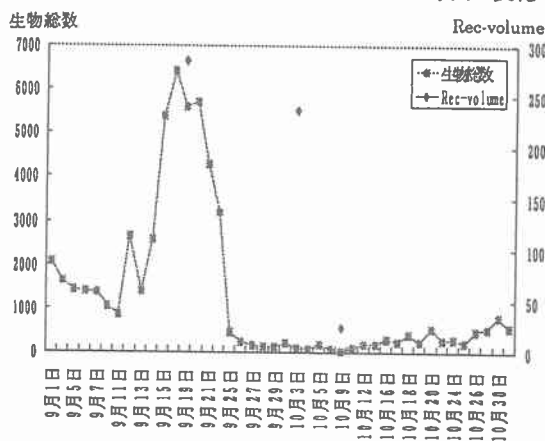


図 2 K川ダム原水の生物総数とN分水槽の
DNA 損傷性の比較

あり、多少の数値の差はほとんど誤差の範囲内であると思われる。このため、毒性値が小さいものについては図中の掲載を省略した。一年の前半と後半では樹脂が異なるため厳密に比較はできないが、夏の終わりから秋の始めにかけて毒性が強くなり、冬が近づくにつれて弱くなっている傾向にあるようだ。9月19日と10月3日ではXAD2000の場合Rec-volumeが200を越えているが、同一採水日の試料についてCSP800で濃縮したものでRec-assayを行った場合DNA損傷性は検出されなかった。よって、Rec-assayのために試料の濃縮を行う場合はCSP800よりもXAD2000の方が効率的にDNA損傷性物質を吸着できるものと思われる。

図1中でN分水槽でDNA損傷性が見られた場合とK川ダム原水中の生物数とを比較したものを図2に示した。これにより、環境水中のDNA損傷性は生物数だけでなくその他の化学物質との関連があるものと推定される。

N分水槽で塩素添加の有無による細胞毒性の変化を比較したものが図3である。いずれの濃縮用樹脂においても、塩素を加えることによりRec+菌に対する毒性強度はおおむね強くなっていることがわかる。しかしこのときDNA損傷性はほとんど検出されていない。つまり、塩素添加により飲料水としての危険度が増加している可能性が大きいものの、DNA損傷性の増加は見られなかったと言うことができる。GC/MSによってこのときの水中の化学物質の挙動を調べたところ、塩素添加によって物質の濃度が増減のどちらに傾くかは一概には言えず、特に見られるべき傾向はなかった。しかし、塩素添加によって分子量の大きい物質の種類数は増加し、分子量の小さい物質の種類数は減少するという傾向は見られた。

同一採水日において、CSP800を用いた場合の上～下流域間の細胞毒性強度の変化を調べたものを図4に示す。このとき4地点のいずれにおいてもRec-菌よりもRec+菌に対する毒性の方が大きく、DNA損傷性は検出されなかった。上流河川のAとBに比べK川ダムは細胞毒性が小さく、N分水槽もAに比べると小さいため、下流域になるほど細胞毒性が増加するとは言えない。XAD-2000の場合は全体的に毒性が小さく実験誤差の範囲内と思われたため掲載は省略した。

5.まとめ 本研究から得られた知見をまとめると、(1)今回の試料に関して言えば、CSP800よりもXAD-2000を用いる方がよりRec-assayのための濃縮に適していることがわかった。(2)DNA損傷性は晩夏から初秋に比較的高い値が検出されたものの、それ以外の季節には検出されなかった。(3)塩素を加えることで水中の細胞毒性が増加することが確認された。(4)K川流域内において、下流域になるにつれて毒性が増加するという傾向は見られなかった。(5)Rec-菌よりもRec+菌の方が強い増殖阻害を受けることが多く、Rec-assay法によって環境水中のDNA損傷性を正しく評価することは難しいという結論に達した。

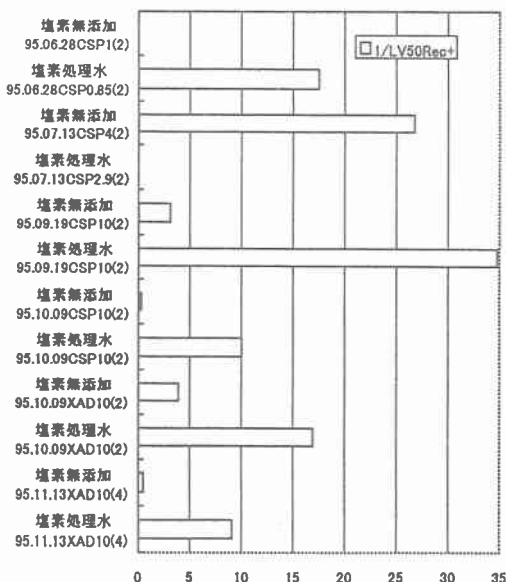


図3 N分水槽の塩素処理前後の細胞毒性の変動

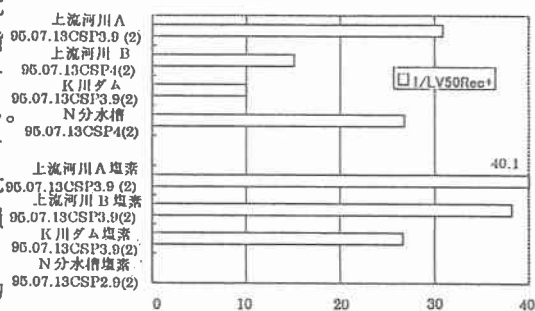


図4 CSP800を用いた場合のK川流域内の細胞毒性の変動