

バイオアッセイによる水処理の評価

Evaluation of Water Treatments by Bioassays

鈴木基之*・金 範洙*・孫 晋彦*・酒井康行*・迫田章義**

Motoyuki SUZUKI, Berm-Soo KIM, Jin-Eon SOHN, Yasuyuki SAKAI and Akiyoshi SAKODA

1. はじめに

産業活動や生活様式の高度化に従って水道水源である河川や湖沼等の水域の汚濁が進行し、各種の化学物質が検出されるようになってきている。そこで1993年に水道水質基準が大幅に改定され、化学物質の規制項目が多数追加された。そこでは水道水の浄水過程での生成が確認された物質や新しく環境水中に見られるようになった微量有害物質なども考慮されている。環境水やそこから得られる飲料水の実質的安全性を高めるためには、この水質基準に含まれている特定の有害物質だけでなく、構造が未知あるいは未同定の化学物質の安全性も考慮に入れる必要があり、浄水処理においてはそれらを除去するための対策も必要となると考えられる。安全でおいしい飲料水を得るために、従来の浄水処理システムにオゾン処理などの高度浄水処理を付加することが一般的になりつつあるが、浄水処理における処理水水質の評価も特定の化学物質の濃度のみ基ついており、長時間の摂取における安全性が確認されているとは言いがたいのが現状と言えよう。

より人体影響を直接的に示す毒性評価手法のひとつに生体応答を指標とする、いわゆるバイオアッセイがあるが現在、水質評価に用いられているバイオアッセイは Ames Salmonella / microsome assay だけである。これは一般に Ames 試験¹⁾と呼ばれており、広義に遺伝毒性の指標とされている。しかし、最近では更に信頼性の高い人体影響評価のために一般細胞毒性試験も提案されていて²⁾、水道水ともなる各種環境水が高い細胞毒性を持っていることも報告されている³⁾。しかし、水処理プロセスの水質の安全性を遺伝毒性試験や細胞毒性試験によって総合的に評価しようとする試みはほとんどない。

本研究ではモデル汚染水として農薬添加地下水を用い、特にオゾン処理における変異原性と一般細胞毒性の変化を実験的に検討した。

2. 実験方法

2.1 モデル化学物質と水処理過程

水道水質基準、監視項目にある農薬の中から7種類を選び、東大生研の地下水に AP assay による TIG-1 細胞の容量作用曲線から得た ED50 (Effective Dose, Fig. 1) になる濃度を添加した水をモデル水として、Fig. 2 のように各回分処理を行った。オゾン処理は Ozonizer (富士電機社製, POX-10) を用いオゾン濃度は 3 mg/l で接触時間は 5 分とした。活性炭処理は早い吸脱着率が報告されている⁴⁾、活性炭素繊維 A-15 (Activated Carbon Fiber; ACF, 大阪ガス社製, A-15) を 1 g/l 添加し、3 時間振とうした。その後、

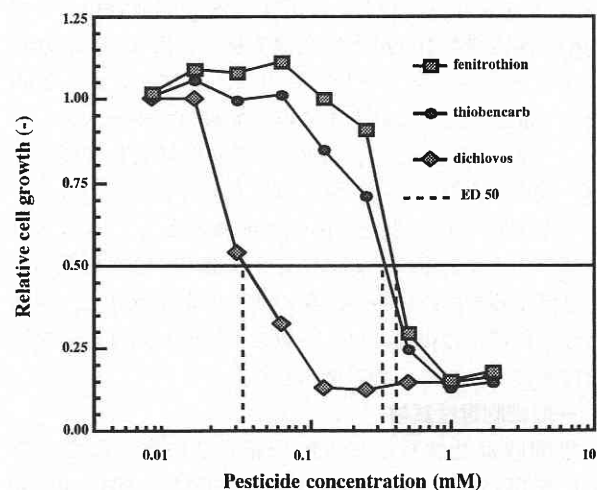


Fig. 1 Dose response curves of TIG-1

*東京大学生産技術研究所 第4部

**東京大学生産技術研究所 附属計測技術開発センター

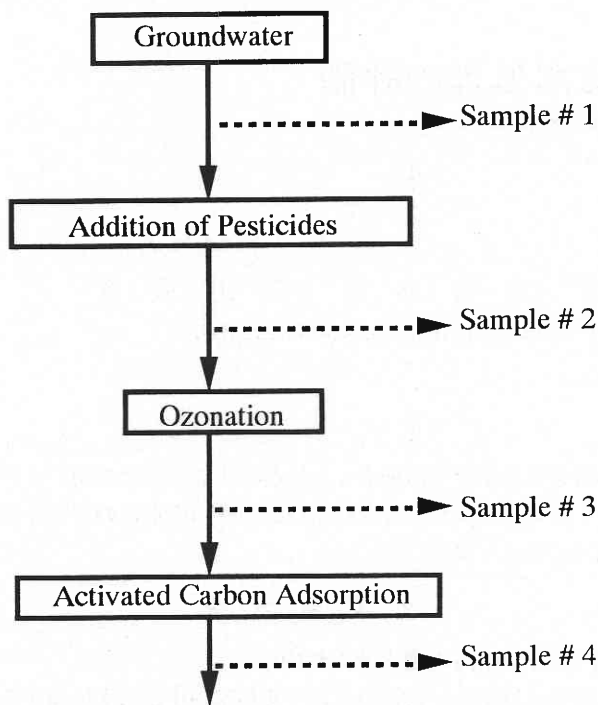


Fig. 2 The flow of experimental water treatments and preparation of sample waters.

1 μm , 0.22 μm の順でろ過し, ACF を除去した. 各処理水の農薬の原体濃度は GC/MS (島津社製, ガスクロマトグラフ部: GC-17 A, マススペクトルメータ部: QP-5000) により求めた.

2.2 変異原性試験

菌株は *Salmonella Typhimurim* TA100 を用い, 日本水道協会「上水試験方法」に準じてプレインキュベーション法で行った⁵⁾. すなわち, TA100 を 37°C で 9 時間前培養した液 100 μl に各処理水 100 μl と緩衝液を加え, 37°C で 20 分間プレインキュベーションしたものに, ソフトアガー 2 ml を加えて混合した. これを予め作っておいたベースアガーのプレートに均一に広げ, 37°C で 48 時間培養して復帰コロニー数を数えた. この試験には同じ条件の試験を 2 枚のプレートで行った. また, 陽性対照物質として 4-ニトロキノリン-1 オキシド (4NQO) を 2 段階で, 原水を用いた陰性対照試験を同時に行い, 菌の活性等を確認した. 試験結果は各処理水の復帰コロニー数の平均値と陰性対照試験での自然復帰コロニーの差で示した.

2.3 一般細胞毒性試験

一般細胞毒性試験はヒト胎児正常 2 倍体細胞である TIG-1⁶⁾ を用いた. TIG-1 細胞を初期密度 1×10^4 cells/ml で 96 穴プレート中に播種して一日培養した後, モデル原

水および各処理水から調製した FBS 5% 添加の DME 培地でさらに 6 日間培養後, 細胞内の加水分解酵素である Acid Phosphatase (AP) の活性評価に基づいた発色反応を吸光度 (405 nm) で測定する AP assay⁷⁾ を行った. 吸光度と生細胞数が比例することを用いて細胞数を測定し, 毒性による細胞増殖阻害を評価した. データは 6 ウェルの平均値とした.

3. 結果と考察

3.1 標準水処理条件における細胞毒性と変異原性

一般的なオゾンと吸着処理した時の変異原性と細胞毒性結果を fig. 3, 4 に示す. Thiobencarb の場合オゾン処理後にもまだ原体と同じくらいの細胞増殖阻害が残っていて, これはその副生産物が毒性を持っているからだと考えられる. 活性炭処理でその毒性が少しは回復してはいるが完全にはなくなってはいない. これはその副生産物が他の有機物の影響で吸着でとれなかったと考えられる. 変異原性は変化が見られなかった. Dichlorvos の場合はオゾン処理後細胞増殖はもっと阻害されて活性炭処理でもその毒性は除去できなかった. 変異原性では復帰コロニー数がオゾン処理で若干多くなって活性炭処理後にも変化は見られなかった. Fenitrothion 添加水ではオゾン処理で細胞毒性は完全になくなり原水の細胞増殖とほぼ同様な細胞の成長

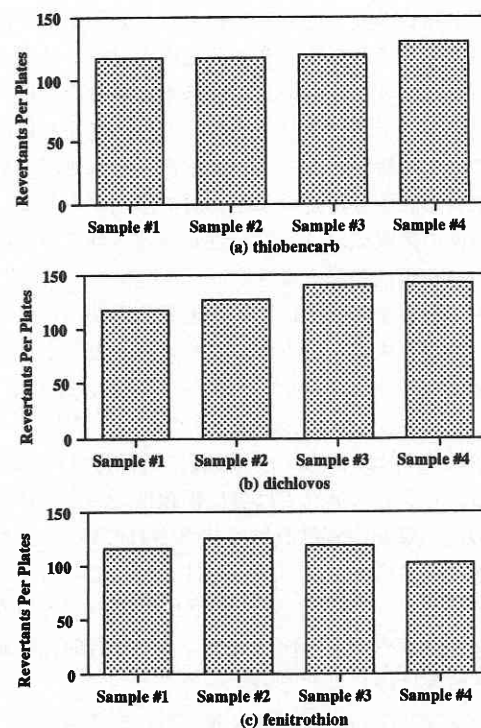


Fig. 3 Mutagenic activity when the water samples used for culture.

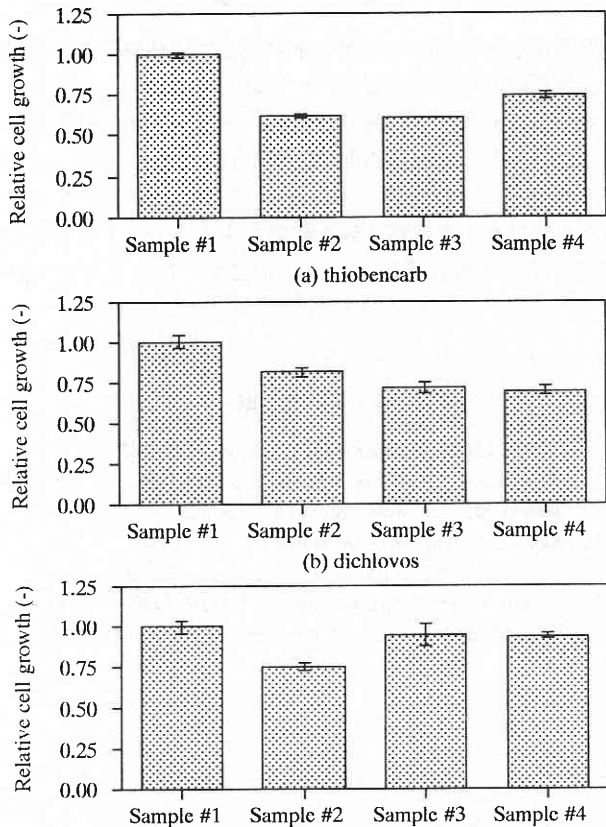


Fig. 4 Relative cell growth when the water samples used for culture.

がみられた.. 変異原性ではオゾン処理で復帰コロニー数が減り、活性炭処理で更に減った。

3.2 オゾン処理時間による細胞毒性、変異原性と農薬濃度の変化

一連のオゾンと活性炭処理の結果、細胞毒性と変異原性はオゾン処理によって明確に変わることが分かりオゾン処理時間による細胞毒性と変異原性の変化を調べた。Fig. 5 の Thiobencarb 添加水ではオゾン処理時間経過で農薬の濃度が減っているのに対して変異原性と細胞毒性は処理時間の増加に伴い高くなっている。これは thiobencarb 自体は変異原性を持っていないが、オゾン酸化物が細胞毒性と変異原性を持っていることだと思われる。Dichlorvos の場合はオゾン処理で原体は Fig. 6 のように素早く破壊されるが、処理2分後に若干強くなった細胞毒性はオゾン処理の最後まで変化が見られなかった。Fig. 7 の Fenitrothion 添加水の場合は原体が処理されることにより細胞毒性はすぐ回復するが、変異原性はオゾン処理最後で高くなった。以上のような結果を農薬7種類に対して細胞毒性と変異原性をまとめて示したのが Fig. 8 である。図の X 軸と Y 軸の 0 を

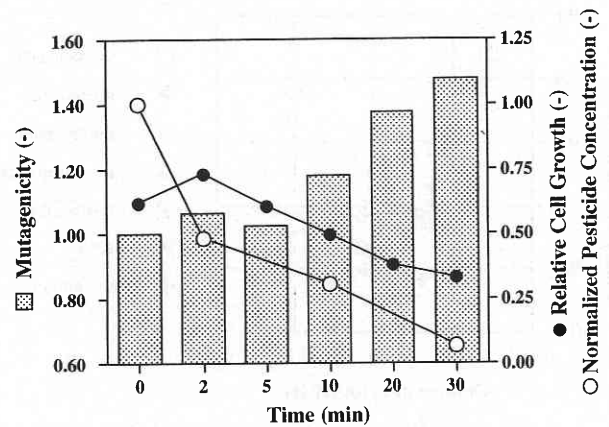


Fig. 5 Changes of mutagenicity, cytotoxicity and thiobencarb concentration with ozonation time.

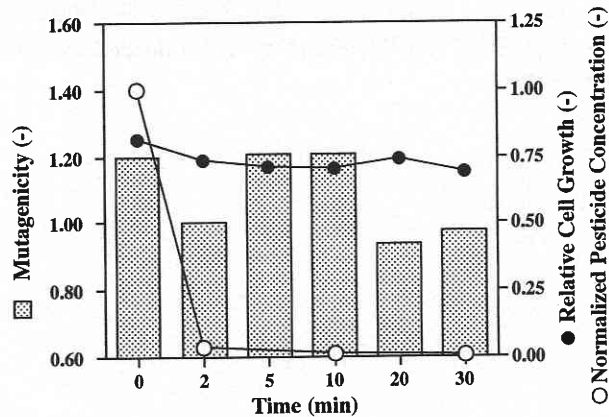


Fig. 6 Changes of mutagenicity, cytotoxicity and dichlorvos concentration with ozonation time.

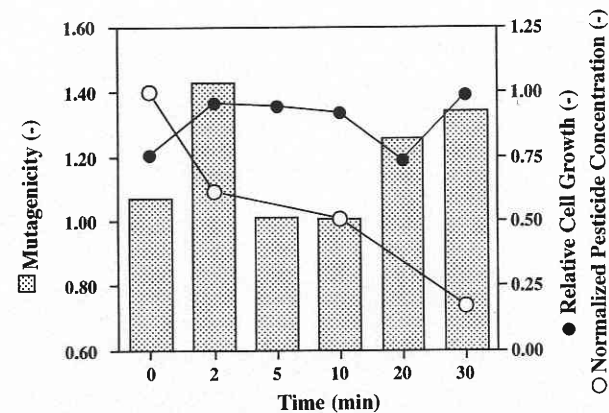


Fig. 7 Changes of mutagenicity, cytotoxicity and fenitrothion concentration with ozonation time.

基準にして右上に変化する fenitrothion 添加水は細胞毒性はなくなり変異原性だけが高くなることを、左下に変化する

研 究 速 報

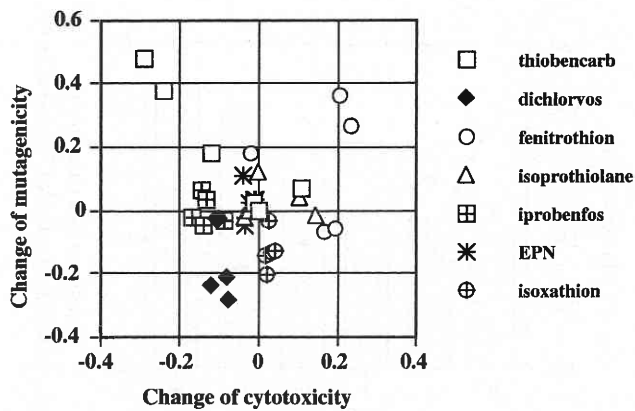


Fig. 8 Comparison of changes of cytotoxicity and mutagenicity of ozonized pesticides solution.

る dichlorvos てんかすいでは逆に細胞毒性だけが強くなることを示すことであり、左上に変化すること即ち細胞毒性でも変異原性でも毒性が検出されたのは thiobencarb の場合だけであった。

4. 結 論

農薬添加水を用いた一連の浄水処理では細胞毒性と変異原性は相関関係がなかった。オゾン処理時間の経過による農薬の濃度変化は、変異原性や細胞毒性の変化と対応しなかったことは、原体濃度のみで水質を評価することは危険であり、人間の健康に対してもっと信頼できる結果を得るために総合的な毒性評価を可能にするバイオアッセイの開発と浄水処理の評価への導入が必要であると考えられる。

(1997年12月24日受理)

参 考 文 献

- 1) Ames, B.N. *et al.*, *Mutation Res.*, 31, 347-364 (1975).
- 2) 内海英雄ら, *用水と廃水*, 35, 303-310 (1993).
- 3) Suzuki, M. *et al.*, *Water Research*, submitted.
- 4) Sakoda, A. *et al.*, *Water Research*, 21, 717 (1987).
- 5) 「上水試験方法」(1993) 日本水道協会, 558-563.
- 6) Ohashi, M., *et al.*, *Exp. Geront.*, 15, 121-133 (1992).
- 7) Connolly, D. T. *et al.*, *Anal. Biochem.*, 152, 136-140 (1986).