

変異原性生成能を指標とした信濃川下流域水道原水の安全性評価

廃棄物・有害物管理工学研究室 三田美紀
指導教官 小松俊哉 藤田昌一 姫野修司

1. 背景および目的

信濃川は全流域面積 11,900 km² (全国第3位), 総延長 367 km (全国第1位), 総水量 約 160 億 m³ (全国第1位)とわが国屈指の大川であり、千曲川として長野県内の74市町村を流れた後、新潟県に入り57市町村を流れて日本海に注ぐ。その流域人口は約300万人に及ぶ。

信濃川の表流水は多くの地点で水道原水として用いられており、水道水には種々の微量化学物質が含まれていることから、その総合的な安全性評価にはバイオアッセイ法が有効であり、遺伝子毒性の観点からは変異原性を評価する代表的なバイオアッセイ法である Ames 変異原性試験が有効である。この試験を用いて、1990年の調査では、信濃川を原水とする水道水においても、変異原性(化学物質などが細胞のもつDNAに作用して突然変異を引き起こす能力)を示すことが報告された¹⁾。また、1993年の調査では、新潟市は全国的にみてやや高いレベルにあったことが示された²⁾。このため、水道水における変異原性の低減が望まれている。

水道水が変異原性を示す主要な原因としては、水道原水中に含まれる変異原前駆物質が、衛生的に不可欠である塩素処理により変異原性物質に変化するためである。したがって、水道水の変異原性は水道原水に大きく支配されることから、変異原性の低減には、水道原水中にどの程度変異原前駆物質が含まれているのかを評価することが重要となってくる。

その変異原前駆物質強度の指標として、塩素を添加した水試料の変異原性を測定する、変異原性生成能(Mutagen Formation Potential: MFP)が提案されている³⁾。

そこで、本研究では、Ames 変異原性試験

により信濃川下流域における水道水の変異原性強度の把握を行なった後、水道原水の安全性評価を変異原性生成能によって行なうことを目的とした。同時に、季節や地点による変動をみた。さらに、他の水質項目との相関性もみた。

2. 実験方法

2.1 試料

試料水は、水道水として信濃川下流域にある6浄水場、水道原水として浄水場付近の6地点と補完のため2地点(地点)、バックグラウンドとして長岡市内の山頂付近地点を採水した。採水地点を図1に示す。

水道水は2002年1月から2002年12月までの計12回、水道原水については2001年10月から2002年12月までの計15回、バックグラウンドとしては2002年11月の1回の採水をしており、天候が続き水質が安定したと考えられる平日の昼間に、5Lのポリタンクにより浄水場内の水道水と河川の表流水を採水した。

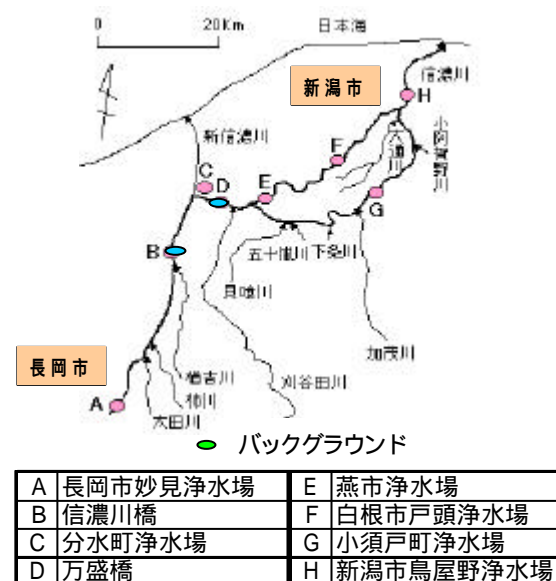


図1. 採水地点

2.2 水質項目の測定

変異原性生成能と水質項目との相関等を見るため、水温、pH、水中有機物の総濃度である TOC、河川の人的汚染指標としてのアンモニア性窒素、硝酸性窒素、亜硝酸性窒素を測定した。

2.3 塩素処理

塩素処理を行なう前に、SS は凝集沈澱で除去されると考えられるので、採取した河川水を 1 μm Glass Fiber にて吸引濾過を行なった。

塩素処理は、試料水中の変異原前駆物質を変異原性に变化させて変異原性生成能を測定するため行なった。pH 7 ± 0.2 に調整した後、約 5,000 mg / L の次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いて、下式より求めた量の塩素をよく攪拌しながら添加し、20 の恒温器で 24 ± 2 時間静置した。

$$[\text{NH}_4^+ - \text{N}] < 0.2 \text{ mg / L } \quad V = 2 \text{ L}$$

$$A = V \times [\text{TOC}] \times (3 \sim 4)$$

$$[\text{NH}_4^+ - \text{N}] \geq 0.2 \text{ mg / L } \quad V = 2 \text{ L}$$

$$A = V \times \{ [\text{TOC}] \times (3 \sim 4) + [\text{NH}_4^+ - \text{N}] - 0.2 \} \times 9 \}$$

2.4 実験方法（濃縮・回収）

河川水中に含まれる変異原性物質は微量であるため、濃縮・回収して試験する必要がある。実験方法は既報⁴⁾に従った。濃縮・回収方法に吸着脱離法を採用し、吸着剤として高性能吸着樹脂である CSP-800 および PS-2（日本ウォーターズ製）を使用した。CSP-800、PS-2 とともに幅広い有機物を吸着できるが、極性の強い物質は吸着しにくい。一方、水中の有機物にはカルボキシル基等の弱酸性基をもち、中性付近で解離して極性となっているものが多い。このため、試料水を低くすることによりカルボキシル基等の解離を抑えれば、吸着回収率が高くなることが明らかとなっているため、あらかじめ硫酸を用いて pH = 2 に調整した試料を使用した。なお、濃縮ポンプ（Water 製）を使用し、通水速度 50 mL / min、濃縮倍率 1,000 倍の条件で濃

縮した。

濃縮後、吸着物質の回収にはメタノールポンプ（Water 製）を使用した。溶媒であるジメチルスルホキシド（DMSO）を 0.15 mL / min で通水し、CSP-800 および PS-2 吸着樹脂カラム内の水が DMSO に置換され、滴下液面の変化で DMSO が流出し始めたことが確認されてからネジ口瓶に 2 mL を採水し、濃縮された Ames 変異原性試験用の試料とした。

2.5 Ames 変異原性試験方法

Ames 変異原性試験方法は労働省のガイドブックに準じて行なった⁵⁾。代表的な変異株である *Salmonella typhimurium* TA98 株および TA100 株を用い、37、20 分間ブレインキュベーション法により行なった。

1 検体につき DMSO により溶解した試料の濃度は 25、50、100 μL / plate の 3 段階（2 プレートずつ）に分注した。菌体の活性を確認するために、検体の添加量と同量の DMSO のみを添加した 4 枚のプレートを用いた陰性対照試験と、- S9 の場合には 4 - ニトロキノリン - 1 - オキシド（4NQO）、+ S9 の場合には 2 - アミノアントラセン（2AA）を用いて 2 枚のプレートを用いた陽性対照試験を毎回行なった。また、S9mix を添加することにより、代謝化された試料の変異原性も調べた。これら TA98 ± S9 および TA100 ± S9 の 4 条件について検討した。

各実験での復帰コロニー数を計数した結果から、試料水換算の検液添加量と復帰コロニー数との用量 - 作用関係を描き、回帰直線の勾配を最小二乗法で求め、濃縮前の試料 1 L に換算した正味の復帰コロニー数 [net rev. / L] として変異原性の強度を表示した。さらに、MR 値すなわち、試料の復帰コロニー数の自然復帰コロニー数に対する比で表わし、MR 値 < 1.4 で明確な変異原性が認められないと判断した。

3. 結果および考察

3.1 水道水の変異原性強度の把握

3.1.1 変異原性強度

信濃川下流域における水道原水は TA100 - S9 条件の寄与率が最も高く、また、日本における都市域での水道水の変異原性も同型の変異原性を示すという検討結果が報告されている⁶⁾。よって、以後この条件のみで試験することとした。

水道水の変異原性試験結果を表 1、図 2 に示す。なお、表 1 では平均値をとる際に、N.D. は MR 値= 1.4 の正味の復帰コホー数として計算し、図 2 ではその値を表示した。

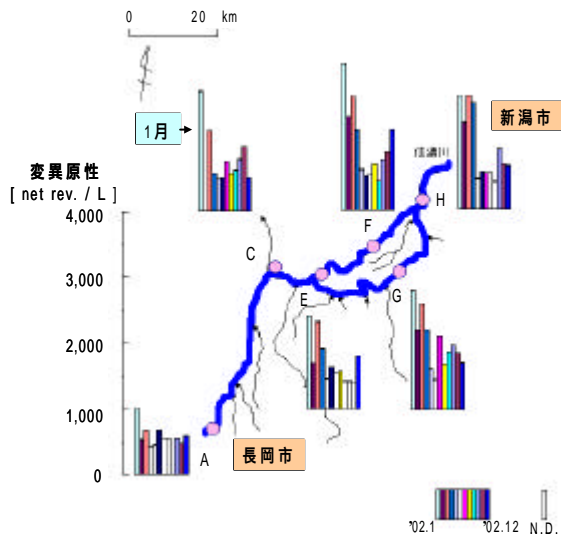


図2. 水道水の変異原性強度結果

表 1 より、変異原性は 1 月から 3 月においてほぼ全地点で陽性を示した。また、5 月から 9 月には N.D. の割合が高かった。

図 2 からは、地点 A では他の地点と比べて低めであった。また、地点 A を除く全地点で棒グラフは U 字型であることが読み取れた。これは、冬期・春期に変異原性強度は高いのではないかと推定された。

3.1.2 季節変動および地点変動

季節および採水地点における特徴や傾向を示すために、統計処理である Mann - Whitney 検定を行なった⁷⁾。その結果によると、変異原性の季節変動は、夏期・秋季より冬期・春期の方が変異原性は統計的に有意に ($p < 0.05$) 高かった(表 1)。これは冬期・春期に高いという傾向を示す日本全国における水道水の変異原性レベルの報告と一致した²⁾。

一方、地点変動については、季節変動ほどの差はなかったものの、測定範囲内における最上流にある地点 A より、下流域にある地点 F, G の方が変異原性は統計的に有意に ($p < 0.05$) 高かった(表 1)。また、地点別の平均値とも合わせてみると、測定範囲内の上流地点より下流地点の方が変異原性は高かった。このことから、流下に伴う変異原性の増加傾向が認められた。

表1. 水道水の変異原性強度結果

地点 \ 月		[net rev. / L]												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	平均
上流	A	1,050	520	670	N.D.	N.D.	680	N.D.	N.D.	-	540	480	580	590
	C	1,750	-	1,180	570	480	490	740	560	620	780	970	490	790
	E	1,410	690	1,300	910	N.D.	640	N.D.	570	N.D.	N.D.	N.D.	800	710
	F	2,230	1,430	1,710	1,220	620	500	N.D.	690	440	770	870	1,180	1,000
下流	G	1,810	1,170	1,560	1,180	610	N.D.	1,070	690	870	970	860	710	1,000
	H	1,690	1,260	1,670	1,610	N.D.	560	540	N.D.	N.D.	910	670	660	920
平均		1,700	1,000	1,300	990	520	560	660	600	550	730	710	740	
N.D.		<470	<430	<420	<420	<460	<460	<540	<540	<410	<410	<390	<490	

未測定: - | 1.4 < MR 値: 陽性 | 1.4 MR 値 < 2.0: 擬陽性 | 2.0 MR 値: 陽性

* 季節変動は、Mann - Whitney検定を行なった結果、5月より12月の方が変異原性は統計的に有意に ($p < 0.05$) 高かった。

* 地点変動については、Mann - Whitney検定を行なった結果、地点Aより地点F, Gの方が変異原性は統計的に有意に ($p < 0.05$) 高かった。

3.1.3 水道水の安全性評価

現在、水道水をはじめとする水試料について、変異原性に対する閾値が定められていない。そこで、発がんリスクと関連させた評価（生涯発がんリスク 10^{-5} ）により安全性評価を行なった。これより、3,000 net rev. / L の場合、できる限り対策を施した方がよいと考えられるリスクレベルの 10^{-5} に相当することが知見として得られている³⁾。すなわち、3,000 net rev. / L 未満であれば、この水道水についてはリスクレベルが低いという判断となる。

年平均値は 590 ~ 1,000 net rev. / L であり、発がんリスクと関連させた評価からは、リスクレベルは低いと判断された。しかし、1月から4月（冬期・春期）において変異原性は高めであることから、この時期の特に測定範囲内の下流地点については、水道水の変異原性は留意する必要があると考えられた。

次に、1993年に行なった日本全国の水道水の変異原性調査と比較した²⁾。これより、新潟県については 1,900 ~ 3,600 net rev. / L と本研究より高い値であった。これはやや汚染の進んだ新潟市を選んだためである。それを考慮しても、調査結果が平均 2,600 net rev. / L だったのに対し、今回新潟市において 920 net rev. / L になったのは、十分下がったと言える。10年前とは浄水工程を変えていないこと、また BOD 値は減少している（10年前：2.0 mg / L，現在：1.2 mg / L）ことから、下水道の整備（新潟県の下水道普及率：1993年 24.6%，2002年 47.2%）等によって、人間活動に由来する変異原前駆物質が減少したものと思われる。

また、日本都市部の水道水の変異原性は平均 2,000 net rev. / L 程度であることから、年平均値より信濃川を原水とする水道水は日本全国からみて随分低いレベルであることがわかった。

3.2 水道原水の安全性評価

3.2.1 変異原性生成能強度

2001年10月において4条件で行った変異原性生成能強度結果を表2に示す。なお、MR値による評価は表1と同様である。

表2. 4条件で行なった変異原性強度 [net rev. / L]

地点	条件	TA98 - S9	TA98 + S9	TA100 - S9	TA100 + S9
上流	A	320	N.D.	1,120	N.D.
	B	410	N.D.	1,060	N.D.
	C	390	N.D.	1,220	N.D.
	D	340	N.D.	1,320	N.D.
	E	340	N.D.	1,260	N.D.
	F	400	N.D.	450	N.D.
下流	G	390	N.D.	1,200	N.D.
	H	290	N.D.	1,570	N.D.
N.D.		< 130	< 120	< 450	< 440

これより、信濃川下流域は代謝活性剤 S9mix 添加条件での変異原性は全てにおいて陰性であり、代謝活性化されると変異原性は弱くなることが明らかとなった。また、TA100 - S9 条件の寄与率が最も高いことから、以後この条件のみで試験することとした。

TA100 - S9 条件の寄与率が最も高いという結果は、河川水の変異原性生成能を測定した信川ら⁶⁾、鶴崎⁸⁾の報告と一致した。このことは、一般的に、塩素処理によって河川水の有機化学物質の塩素化反応により、変異原性のある有機塩素化合物が生成したためである。その主な変異原性物質は塩基対置換型の直接変異原性物質であると考えられた。

2001年10月から2002年12月までの TA100 - S9 条件で行なった変異原性生成能強度結果を表3、図3に示す。また、表3では平均値をとる際に、N.D.はMR値=1.4の正味の復帰コロニー数として計算し、図3ではその値を表示した。

表3より、変異原性生成能は2001年10月、12月および2002年1月においてほぼ全地点で陽性を示した。また、地点G、Hの全ての

地点で陽性もしくは擬陽性であった。2月から7月までは下流ほど変異原性が高くなる傾向がみられた。特に、地点Bについて変異原性生成能が高いのは、長岡市内を流れる都市小河川である柿川の影響を受けていると考えられる¹⁾。

図3からは、各地点ともに棒グラフはU字型であることが読み取れた。これは、冬期に変異原性生成能強度は高いのではないかと推定された。

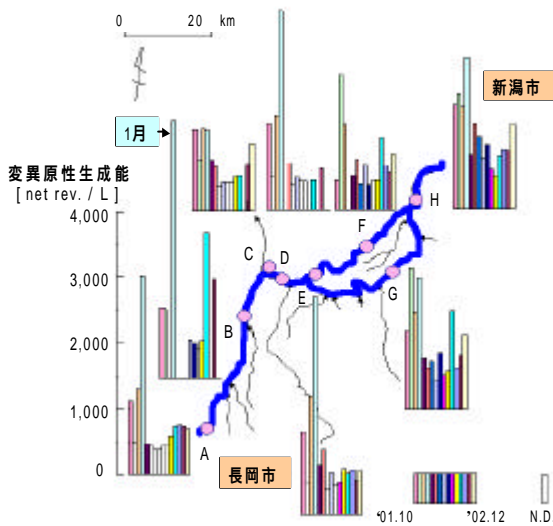


図3. 水道原水の変異原性生成能強度結果

3.2.2. 水質項目との相関

TOC, アンモニア性窒素, 亜硝酸性窒素 + 硝酸性窒素と変異原性生成能強度との相関を図4に示す。これらより、すべての水質項目と変異原性生成能との相関はいずれも小さく、従来の水質値から変異原性生成能のレベルを推算することはできなかった。したがって、これら一般的な水質値とは別に変異原性生成能を測定して水道原水の水質評価を行なうことが必要である。

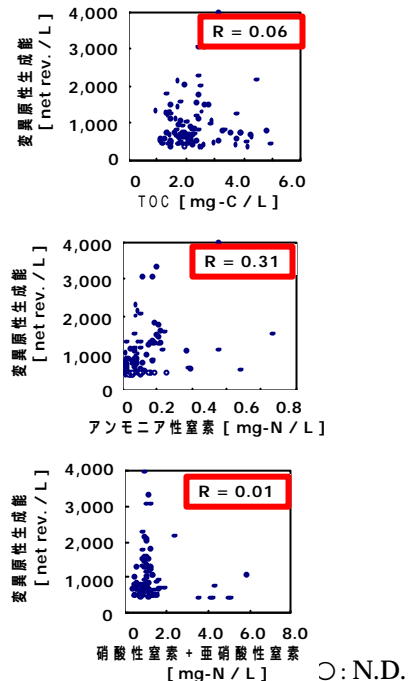


図4. 水質項目との相関

表3. 水道原水の変異原性生成能強度結果

地点	月	[net rev. / L]												平均			
		'01-10	11	12	02-1	2	3	4	5	6	7	8	9		10	11	12
上流	A	1,120	N.D.	1,290	3,050	470	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	590	720	750	720	700	800	
	B	1,060	1,030	-	3,950	-	-	-	580	520	N.D.	570	2,150	-	1,500	1,300	
	C	1,220	760	1,240	1,250	760	670	N.D.	430	N.D.	N.D.	520	550	-	710	1,020	740
	D	1,320	N.D.	1,420	3,050	-	710	N.D.	500	N.D.	N.D.	-	460	-	630	-	900
	E	1,260	N.D.	1,780	3,290	750	990	N.D.	640	N.D.	490	670	620	680	520	680	910
下流	F	450	2,040	1,290	-	520	760	400	680	380	N.D.	450	1,110	680	580	830	760
	G	1,200	2,130	1,480	2,000	780	640	730	440	850	520	580	1,490	630	820	1,130	1,000
	H	1,570	1,750	1,540	2,280	820	1,280	1,060	790	960	600	510	810	910	900	1,280	1,100
	平均	1,200	1,200	1,400	2,700	680	780	530	560	560	480	560	990	730	800	940	
	N.D.	< 450	< 500	< 500	< 570	< 450	< 440	< 380	< 390	< 440	< 440	< 390	< 450	< 380	< 390	< 410	

*季節変動は、Mann - Whitney検定を行なった結果、2~8月より9~12月の方が変異原性は統計的に有意に (p<0.05) 高かった。

*地点変動については、Mann - Whitney検定を行なった結果、地点A, C, D, E, F, Gより地点B, Hの方が変異原性は統計的に有意に (p<0.05) 高かった。

3.2.3. 季節変動および地点変動

変異原性生成能の季節変動は、春期・夏期より秋季・冬期の方が変異原性は統計的に有意に ($p < 0.05$) 高かった(表 3)。また、補完のための 2 地点を除いても同様の結果を得た。これは、冬期に高いという傾向を示す淀川水系⁹⁾や吉井川水系⁸⁾の報告と一致した。

一方、地点変動については、季節変動ほどの差はなかったものの、測定範囲内において上流である地点 B や最下流地点である地点 H の方が、その他の地点よりも変異原性は統計的に有意に ($p < 0.05$) 高かった(表 3)。このことについては、地点 B については 19 万人都市である長岡市、地点 H については 53 万人都市である新潟市を通ることから、人的汚染の可能性や難分解性の有機物の流入によるものと考えられた。

3.2.4. 水道原水の安全性評価

実験値より水道水の変異原性と水道原水の変異原性生成能と有意な差は認められなかったことより、発がんリスクと関連させた評価を用いることとした。これはすなわち、3,000 net rev. / L 未満であれば、この水道原水についてもリスクレベルが低いという判断となる。

表 3 より、年平均値は 740 ~ 1,300 net rev. / L であり、リスクレベルは低かった。しかし、2002 年 1 月での地点 A, B, D, E において 3,000 net rev. / L 以上であった。このように、1 月においては他の月と比べて変異原性は高めであり、安全な水道原水を取水しているとはいいいにくい。

比較のため、人的汚染の少ないと考えられる長岡市内の山頂付近の小河川をバックグラウンドとして変異原性生成能を測定し、比較した。結果より、バックグラウンドは、信濃川下流域の水道原水との大きな差は認められなかった。

したがって、変異原性生成能強度は季節変動することやバックグラウンドとは大きな差は認められなかったことから、信濃川下流域の変異原前駆物質は主に山林腐葉土や落ち葉

の植物による自然由来であることと推定され、これが信濃川下流域において変異原性を検出した第一因子であると考えられた。

一方、変異原性の低い春期および夏期において、流下に伴い変異原性生成能強度が増大した。この要因は、人的汚染由来による変異原性物質の増加とみられ、これが第二因子であると推定された。

以上から、信濃川下流域における水道原水のリスクレベルは低いと結論付けられる。

<参考文献>

- 1) 田中一浩、守田康彦、高橋敬雄：新潟県内の水道水・河川水の変異原性について，水環境学会誌，16(9)657 - 665(1993)
- 2) 浦野紘平、高梨啓和、岡部文枝、藤江幸一：水道水の Ames 変異原性に関する研究第 3 報 日本の水道水の変異原性レベルの解析，水環境学会誌，18(12)1001 - 1011(1995)
- 3) 高梨啓和：変異原性による水道水の安全管理手法に関する研究，東京大学大学院博士論文，(1999)
- 4) 浦野紘平、高梨啓和、金澤伸浩、岡部文枝、藤江幸一：水道水の Ames 変異原性に関する研究第 2 報 高性能吸着剤を用いた変異原性物質の濃縮・回収方法，水環境学会誌，17(7)461 - 469(1994)
- 5) 中央労働災害防止協会：安衛法における変異原性試験，中災防，(1991)
- 6) 信川貴子、讃岐田訓：消毒処理水の副生成物についての変異原性による水質評価，環境技術，28(8)579 - 585(1999)
- 7) 柳井久江：4steps エクセル統計，星雲社，(2001)
- 8) 鵜崎実：吉井川水系（塩素処理水）のサルモネラ菌による変異原性調査，生物学に関する試験研究論叢，(12)15 - 22(1997)
- 9) 信川貴子、市原真紀子、讃岐田訓：変異原性および THM 生成能を指標にした淀川水系の水質環境評価，水環境学会誌，24(3)168 - 174(2001)