

## Ames 変異原性試験による信濃川・江戸川流域の水道水および原水の水質評価

廃棄物・有害物管理工学研究室 古関健一

指導教官 小松俊哉 藤田昌一 姫野修司

## 1. 背景および目的

水道水の安全性は、厚生労働省が定める水質基準項目などにより浄水場で厳しく管理されているが、近年、その水質項目には記載されていない微量有害物質の存在が明らかになってきている。それは特に、浄水工程での水系感染症防止、および有害物質の無害化等のために行う塩素処理によって非意図的に生成される消毒副生成物である。消毒副生成物は多種多様であり、個々の物質の分析による管理が困難なため、包括的な毒性評価が可能なバイオアッセイ法による安全性管理が有効である。特に遺伝子毒性の観点からは、変異原性を評価する代表的な試験方法である Ames 変異原性試験が有効である。

昨年度、本研究室では Ames 変異原性試験により信濃川流域 6 地点における水道水の変異原性について調査を行い、その強度は全国平均に比べて低い値であること、10 年前の調査に比べて低減化が確認されたこと、低いながらも冬・春期に高くなる傾向があること、さらに最下流部で高くなる傾向があること、などを明らかにした<sup>1)</sup>。また、水道水の変異原性はその原水水質に大きく左右されるため、原水中に含まれる変異原前駆物質の強度の指標として、原水を塩素処理した際の変異原性を測定する変異原性生成能 (Mutagen Formation Potential : MFP) という指標<sup>2)</sup>を用いた水質調査も同時に行い、ほとんどの季節と地点で原水 MFP のレベルは低めであること、低いながらも秋・冬期で高くなる傾向があること、水質項目との相関性が低いことなどを明らかにした<sup>1)</sup>。

しかしながら、信濃川流域の水道水の変異原性と原水 MFP を、他流域と比較することでその特徴や相違性を把握することが必要であり、さらに、これらを浄水プロセスと複合して評価していくことも重要なことと考えられる。

そこで本研究では、信濃川流域と、信濃川とは対象的な都市河川流域の水道水の変異原性と原水 MFP について調査し、それらを浄水プロセスと複合して評価することで、その関係を明らかにすることを目的とした。

## 2. 実験方法

### 2.1 試料

信濃川とは対象的な都市河川として利根川水系の江戸川を選定し、2003 年 3 月から 2004 年 2 月までの計 12 ヶ月間、毎月 1 回採水を行い、信濃川流域 3 地点と江戸川流域 1 地点の水道水の変異原性について、その強度や特徴について調査を行った。ただし、江戸川は 2003 年 5 月からの採水とした。さらに、原水 MFP について同じ期間、信濃川 3 地点と江戸川 2 地点で測定し、水道水の変異原性を原水 MFP と浄水プロセスとを複合して解析し評価を行った。図 1 に採水地点を示す。

試料水は、すぐに濃縮ができない場合には5℃で冷蔵保存したが、原水は採水を行った日、またはその次の日に、保持孔径1 μm Glass Fiber Filterでろ過を施した後、保存することにした。

## 2.2 水質項目の測定

水道水の変異原性、および原水MFPと水質項目との相関等を検討するため、水温とpHは採水の際に、また、試料水中の溶解性有機態炭素(DOC)、不飽和結合を持つ有機物、すなわち生物難分解性の有機物の指標として $E_{260}$ (今年度新たに測定)、河川の人的汚染指標としてのアンモニア性窒素( $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ )、亜硝酸性窒素( $\text{NO}_2^- - \text{N}$ )、硝酸性窒素( $\text{NO}_3^- - \text{N}$ )は採水後なるべく早く測定した。ただし、水道水についてはDOCのみとした。

## 2.3 塩素処理

塩素処理は、原水中の変異原前駆物質を変異原性物質に変化させて、MFPを測定するために行った。その方法は既報<sup>2)</sup>に従った。

## 2.4 試料水中の変異原性物質の濃縮と回収

試料水中に含まれる変異原性物質は微量であるため、濃縮・回収して試験に供する必要がある。その方法は既報<sup>3)</sup>に従った。吸着剤として高性能吸着樹脂であるSep-Pak Plus PS-2(日本ウォーターズ製)を使用した。濃縮操作には定流量ポンプ(Waters製)を使用して、通水速度30 mL/min、濃縮倍率1,000倍の条件で濃縮した。その後、カラム内に吸着された物質の回収にはメタロールポンプ(日興エンジニアリング製)を使用し、ジメチルスルホキシド(DMSO)を流速0.15 mL/minで通水し、脱離液2 mLをねじ口ビンに採集して、濃縮された試料の回収を完了させた。

## 2.5 Ames 変異原性試験

Ames 変異原性試験方法は労働省のガイドブック<sup>4)</sup>に準じて行った。代表的な変異株であるSalmonella typhimurium TA100株を用い、代謝活性物質S9mix無添加(-S9)で、37℃、20分間のプレインキュベーション法で行った。1検体につきDMSOにより溶解した試料の濃度は50, 100 μL/plateの2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、4-ニトロキノリン-1-オキシド(4NQO)による2枚のプレートを用いた陽性対照試験を毎回行った。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(Mutation Ratio)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し、MR値<1.4で陰性、1.4<MR値<2.0で擬陽性、2.0<MR値で陽性と判断した。

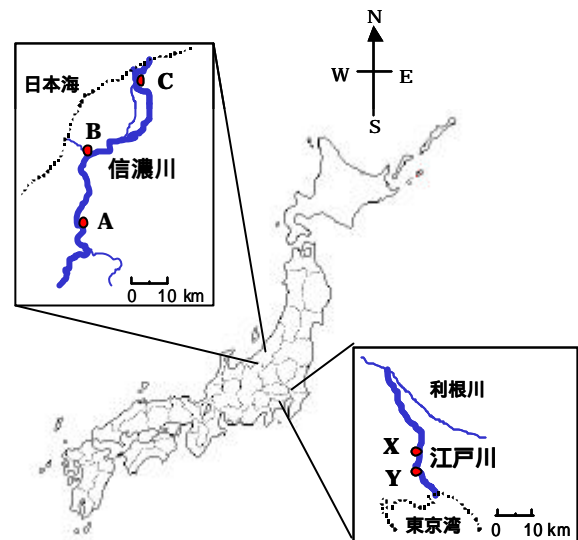


図1 採水地点

### 3. 結果および考察

#### 3.1 信濃川・江戸川流域の原水 MFP

信濃川と江戸川流域の原水 MFP の試験結果を表 1 に示す。信濃川流域 3 地点と江戸川流域 2 地点の原水 MFP は、全ての地点と月で検出限界未満 (N.D.) はなく、60 検体中 53 検体が陽性だった。その強度は、平均値で信濃川流域が 1,460 net rev./L、江戸川流域が 1,730 net rev./L であり、後者の方が約 2 割高かった。季節および採水地点における特徴や傾向を示すために、ノンパラメトリック検定の統計処理である Mann - Whitney 検定を行った結果、両流域における地点による差は、信濃川流域の A 地点よりも、C 地点が統計的に有意 ( $p < 0.05$ ) に高く、流下に伴う MFP 増加傾向が認められた。一方、江戸川流域 2 地点はほぼ同レベルであった。季節変動は、信濃川流域で夏季 (6,7,8 月) と秋季 (9,10,11 月) が春季 (3,4,5 月) に比べて、かつ夏季が冬季 (12,1,2 月) に比べて統計的に有意 ( $p < 0.05$ ) に高かったが、江戸川流域では季節による有意な差は認められなかった。次に、一般的な水質項目との相関性を、流域を区分してみた場合について図 2, 3 に示すが、DOC、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  とはいずれも相関性が低かったが、両流域ともに  $\text{E}_{260}$  との間に相関性が認められ、特に江戸川で高かった。

表 1 原水 MFP の試験結果

		[ net rev./L ]												
地点	月	2003.3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	2004.1	2	mean
A		940	1370	940	1150	1280	2040	2170	1400	1440	1440	820	1110	1340
B		1210	1080	880	1590	1750	2250	1530	1330	1430	1560	1040	1110	1400
C		1290	1740	1530	1620	2130	1770	1490	2010	1330	1990	1730	1220	1650
X		2050	1140	1600	2980	2180	1520	1950	1460	1230	1480	1230	1430	1690
Y		1980	1040	1750	2890	2420	1240	2450	1410	1370	1620	1230	1920	1780

1.4 MR値 < 2.0 : 擬陽性 2.0 MR値 : 陽性

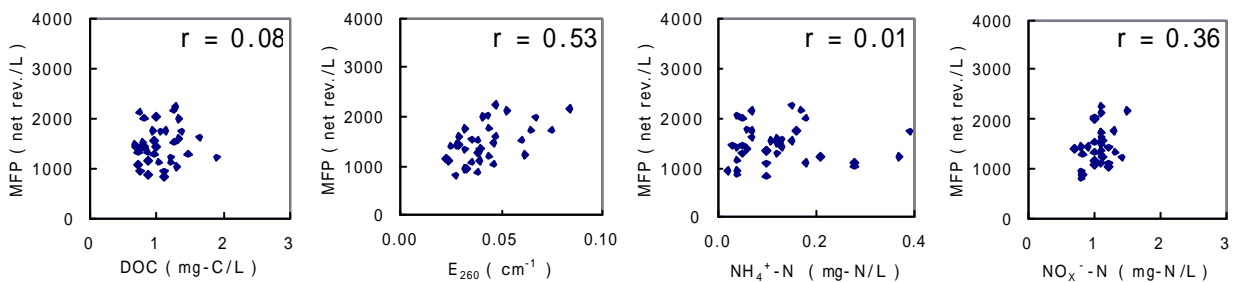


図 2 信濃川流域の原水 MFP と水質項目との相関性

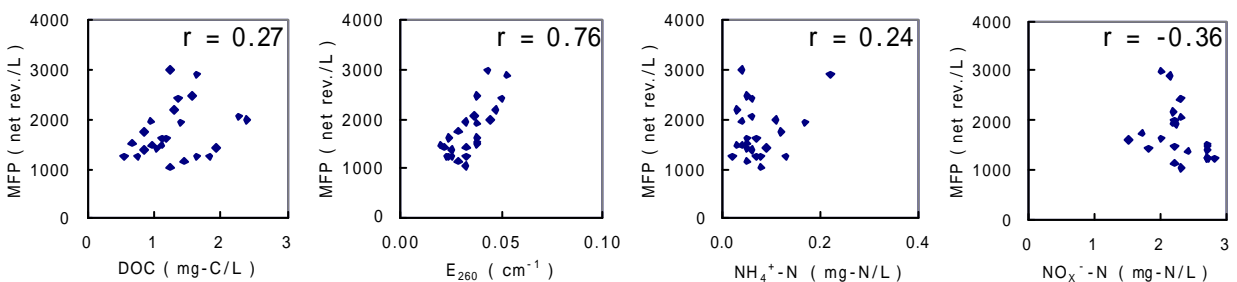


図 3 江戸川流域の原水 MFP と水質項目との相関性

### 3.2 信濃川・江戸川流域の水道水の変異原性

信濃川と江戸川流域の水道水の変異原性の試験結果を表2に示す。両流域の水道水の変異原性は、全ての地点と月で N.D. はなく、46 検体中 29 検体が陽性だった。その強度は平均値で、信濃川流域が 1,140 net rev./L、江戸川流域が 940 net rev./L であり、前者の方が約 2 割高く、統計的にも有意 ( $p < 0.05$ ) であった。しかしながらこれらの結果は、1993 年の全国的な都市部水道水の変異原性レベル<sup>5)</sup>と比べて、かなり低いものと考えられた。地点による差は、信濃川流域で B 地点と C 地点の水道水が、A 地点より統計的に有意 ( $p < 0.05$ ) に高かった。しかし、季節変動は両流域において認められなかった。また、DOC との相関性を図 4 に示すが、両流域において相関性は認められなかった。

表2 水道水の変異原性の試験結果

		[ net rev./L ]												
地点	月	2003.3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	2004.1	2	Average
A		1070	650	750	1050	980	1550	1150	980	970	700	1010	790	970
B		1010	1240	1060	1390	1150	1660	1200	1090	1110	990	1390	1230	1210
C		1100	1200	1450	970	1210	1230	1080	920	1570	1520	1620	1060	1240
Y				990	990	880	610	780	1030	890	1040	1330	870	940

1.4 MR値 < 2.0 : 擬陽性 2.0 MR値 : 陽性

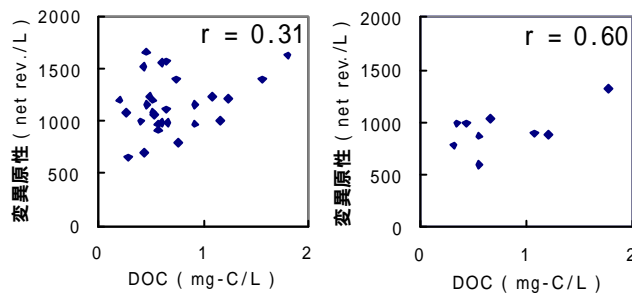


図4 水道水の変異原性と DOC の相関性

### 3.3 原水 MFP と浄水プロセスとを複合した水道水の変異原性の評価

以上のように、原水 MFP は江戸川流域の方が高いが、水道水の変異原性は信濃川流域の方が高いことが明らかになった。さらに、両流域における水道水の変異原性が、原水 MFP に対して、信濃川流域で平均 22 %、江戸川流域で平均 47 %低減しており、両流域で低減率に差が認められた。この原因として、浄水プロセスが深く関わっているものと考えられた。両流域における浄水プロセスを図 5 に示す。信濃川流域の浄水場のプロセスは、凝集沈殿 + 急速ろ過方式 (通常処理) であるのに対し、江戸川流域ではこの通常処理と、オゾン + 生物活性炭 (高度処理) の 2 系列のプロセスにより給水 (混合比 約 6 : 4) している。したがって、高度処理の効果により江戸川流域の水道水の変異原性は低くなっているものと考えられ、高度処理による変異原性や消毒副生成物の低減を論じた既報<sup>2,6)</sup>からも推察ができた。

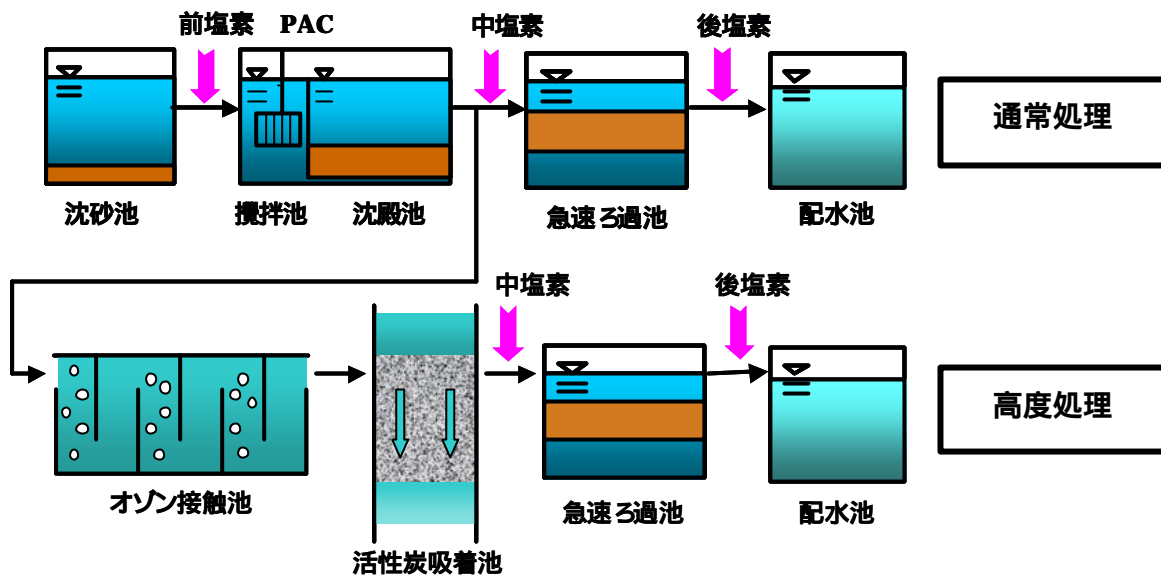


図5 信濃川・江戸川流域浄水場の浄水プロセス

また、信濃川流域において通常処理の塩素注入位置の違いによる、原水 MFP と水道水の変異原性の関係を整理した結果を表3へ示すが、前塩素処理を行っている場合には、MFP と水道水の変異原性の差が小さく、一方、行っていない場合は MFP と比べて十分低減していることがわかった。したがって、前塩素処理を行わないことが水道水の変異原性を低減化させる上で効果的であることが考えられた。

表3 信濃川流域浄水場の塩素注入位置の違いによる原水 MFP に対する水道水の変異原性の低減率

	塩素注入位置	MFP 低減率
A	中塩素	28%
B	前塩素	14%
C	6~10月：中塩素	40%
	11~5月：前塩素	12%

#### 4. 結論

信濃川流域と江戸川流域の水道水と原水の変異原性について調査し、以下の結果を得た。

- 1) 原水 MFP は江戸川流域の方が約 2 割高かった。
- 2) 両流域ともに原水 MFP と  $E_{260}$  との間に相関性が認められた。
- 3) 水道水の変異原性は信濃川流域の方が約 2 割高かった。
- 4) 江戸川流域において、原水 MFP が高いのにも関わらず水道水の変異原性が低いのは、両流域の浄水プロセスの違いから、高度処理の効果と考えられた。
- 5) 通常処理においては、前塩素処理を行わないことが、変異原性を低減する上で効果的と考えられた。

<参考文献>

- 1)三田美紀ら：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，長岡技術科学大学大学院工学研究科修士論文 (2002)
  - 2)H.Takanashi et al. : Method for measuring mutagen formation potential (MFP) on chlorination as a new water quality index , Water Research Vol.35 No.7 1627-1634 (2001)
  - 3)浦野鉦平ら：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 Vol.17 461-469 (1994)
  - 4)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)
  - 5)浦野紘平ら：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 Vol.18 1001-1011 (1995)
  - 6)鵜川昌弘ら：高度浄水処理システムの消毒剤副生成物質生性能による処理性と安全性の評価，大阪府立公衛研報 第 38 号 43-52 (2000)
-