

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24710079

研究課題名(和文)浄化槽放流水の遺伝子毒性の解明と塩素処理等による削減効果

研究課題名(英文)Clarification on the Genotoxicity of Effluents from Johkasous and Reduction Effects by Several Treatments such as Chlorination

研究代表者

久保 隆 (KUBO, Takashi)

長崎大学・産学官連携戦略本部・助教

研究者番号：40397089

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、浄化槽放流水の遺伝子毒性を試験するための前処理方法を決定し、モデル地域の家庭排水の遺伝子毒性を調べた。その結果、各地域の遺伝子毒性の強さは、合併浄化槽 > 単独浄化槽 > コミュニティプラント > 汲み取り槽の順となった。試験した放流水の遺伝子毒性強度は、処理方式等によって10倍以上も異なること、および一般的な日本の水道水の値よりも数十倍～百倍程度高いことを初めて明らかにした。さらに、各種の薬剤を用いて遺伝子毒性の削減を試みたが、削減効果は予想に反するものであった。塩素との反応では、アンモニア性窒素が遊離塩素との反応で消失した後、更に遊離塩素を添加すると遺伝子毒性が急に増加すること等を示した。

研究成果の概要(英文)：Concentration methods for the genotoxicity test of effluents from johkasous were decided and the genotoxicity of domestic wastewater in several model areas were investigated by using the methods. As a result, the order of intension of the genotoxicity was as follows; Gappei-johkasou > Tandoku-johkasou > Community plant > Vault toilet. The genotoxicity varied more than 10 times depending on the treatment methods and sampling sites. Moreover, it was revealed for the first time that the values of the genotoxicity in the present study were several ten to hundred times higher than that of Japanese typical tap water. In addition, reduction of the genotoxicity using several reagents was attempted. However the results were different from expectations. As for reactions with chlorine, it was shown that the genotoxicity became stronger if free chlorine was added further after ammonia nitrogen had almost disappeared by a reaction with free chlorine.

研究分野：環境安全学

キーワード：遺伝子毒性 浄化槽 umu試験 バイオアッセイ 固相抽出 塩素処理

1. 研究開始当初の背景

(1) 社会的情勢

近年、化学物質管理の抜本的な見直しが必要な課題となっている。2006年には、グローバルな政策的枠組みとして「国際的な化学物質管理のための戦略的アプローチ」(SAICM)が採択され、化学物質によるヒトの健康や環境への悪影響を2020年までに最小限にするための取り組みが始まっている。また、EUでは2007年に始まった化学物質管理に関する新しい規則の中で、遺伝子毒性物質を高懸念物質として位置づけ、ひととき厳格な管理を求めている。よって、近い将来、遺伝子毒性物質によるヒトの健康影響を最小限にするための行動が、世界的に求められるようになると思われる。一方、我が国の環境化学物質の管理には、遺伝子毒性の観点ほとんど反映されていない。したがって、我が国においても、遺伝子毒性物質の発生源や環境動態、蓄積量、リスク比較に基づく対策の優先順位等についてのより詳細な調査研究が、今後益々強く求められると推察される。

(2) 研究動向

水試料の遺伝子毒性についての研究報告は比較的多い。それらの知見によれば、河川水中の遺伝子毒性物質の起源としては、下水処理場、工場排水、畜産排水、道路路面排水を含む雨水等が考えられている。これまでの研究により下水処理場の放流水の遺伝子毒性は顕著に高いことがわかってきているが、その他の発生源についての知見は少ない。とくに小型の下水処理場とも言える浄化槽については、比較的強い遺伝子毒性を有する可能性が高いと考えられるが、遺伝子毒性の視点で報告された例はほとんど無い。このことは、浄化槽の運転状況(保守・点検の頻度、清掃の状況、処理水の放流先等)が各家庭や地域で異なることや、各浄化槽の規模が小さく、放流量が少ないこと等に起因していると考えられる。

(3) これまでの申請者らの取り組み

水中に微量に存在する遺伝子毒性物質を適切に評価するために、申請者らは、代表的な遺伝子毒性試験の一つであるumu試験の感度を向上させるとともに、水試料中の遺伝子毒性物質の濃縮方法を開発してきた。また、試験結果を定量的に評価する方法を提案し、水道水を始め、河川水や下水処理場放流水、さらには底質や大気等の遺伝子毒性を定量的に評価し、相互に比較できる遺伝子毒性データを蓄積してきている。

2. 研究の目的

本研究では、遺伝子毒性物質が浄化槽から放出される実態と効果的な遺伝子毒性削減対策を明らかにすることを目的とする。遺伝子毒性の実態を明らかにするために、まず適

切な試料水前処理方法を確立し、この方法を用いて、単独浄化槽、合併浄化槽、コミュニティプラント等からの放流水の遺伝子毒性を定量評価する。遺伝子毒性削減対策については、塩素処理の他、いくつかの薬剤を用いた処理を試みる。

3. 研究の方法

(1) 遺伝子毒性試験

遺伝子毒性試験は様々なものが提案されているが、本研究では、試験操作に多大な費用を必要とせず、優れた再現性・操作性に特長をもつumu試験を用いた。この試験法は我が国で開発され、ISOで規格化されているため国際的に広く実施されている。試験結果は、「放流水1mL当たりの遺伝子毒性誘発率」として定量評価した。なお、検液そのものの遺伝子毒性だけでなく、検液が代謝活性化剤によって代謝された後の遺伝子毒性も試験した。

(2) モデル地域の選定と採水

本研究では、個別住宅ごとのばらつきを抑えるため、単独浄化槽、合併浄化槽、および汲み取り槽が集中している地域の排水路(河川等に合流する前の側溝)から採水した。また、地域共同利用型の大型合併浄化槽とも言えるコミュニティプラントの放流水も対象とした。なお、日内変動を抑えるため、時間を空けて複数回の採水を行った。

(3) 試料水前処理方法

様々なモデル地域で採水した水試料をガラス繊維ろ紙でろ過した後、pHを5段階(pH2~12)に調整し、5種類のカートリッジで固相抽出を行った。これらをジメチルスルホキシド(DMSO)で溶出した濃縮液をumu試験に供した。

(4) 薬剤添加による遺伝子毒性の変化

まず、し尿系排水の処理水のみを得るため、単独浄化槽の処理水(曝気槽の水)を採水した。そこに5種の還元剤(亜硫酸ナトリウム、シュウ酸、チオ硫酸ナトリウム、硫酸鉄(II)、アスコルビン酸)を添加して遺伝子毒性の増減を調べた。また、アンモニアストリッピングにより試料水のアンモニア性窒素濃度を4段階に調整し、それぞれに6段階の濃度の次亜塩素酸ナトリウムを添加した場合の遺伝子毒性を調べた。これらの反応条件は、20、30分とした。

4. 研究成果

(1) 試料水前処理方法

結果の例として、合併浄化槽地域で採取した水試料の遺伝子毒性をpHおよびカートリッジ毎にまとめたものを図1に示した。図より、pH2とpH9.5で相対的に高い遺伝子毒性を示した。この原因は遺伝子毒性を有し、かつ酸性または塩基性の官能基を持つ化学

物質が含まれていたためと考えられる。すなわち、通水時の pH によって回収される遺伝子毒性物質が異なっていることが示唆された。また pH12 で処理すると、どのカートリッジで濃縮しても遺伝子毒性を示さなくなった。この原因は強アルカリ性のため、カートリッジ内の吸着用微粒子が膨潤し、吸着あるいは脱離が十分に行われなかったためと推察される。このように、浄化槽放流水中には塩基性官能基をもつ遺伝子毒性物質も存在するものの、pH2 で濃縮した場合に遺伝子毒性が最も強く検出されることが分かった。

吸着剤については、活性炭カートリッジ (AC2) を除けば、大きな差は見られなかった。AC2 で抽出を行うと遺伝子毒性が極めて低くなったが、これは活性炭の吸着力が他の4種の吸着剤よりも強く、遺伝子毒性物質を活性炭から溶出できなかつたためと考えられる。

以上は結果の一例だが、他のモデル地域や、他の試験条件 (代謝活性化剤を添加した試験) でも、ほぼ同等の結果が得られた。よって本研究では、特別な場合を除き、試料水の濃縮には HLB あるいは PS2 (共にポリマー系の樹脂) を用い、濃縮時の試料水は pH2 に調整して行うこととした。

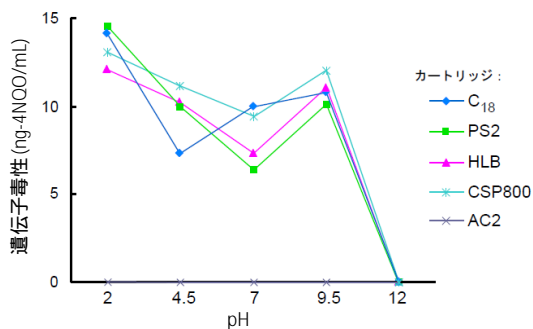


図 1 pH 及び吸着剤による遺伝子毒性の違い

(2) モデル地域毎の遺伝子毒性の比較

モデル地域の家庭排水の遺伝子毒性を調べた結果は、図 2 および図 3 のようになった。試験した放流水の遺伝子毒性強度は、未検出 ~ 29 ng-4NQO/mL (代謝活性化剤を添加しない場合)、及び未検出 ~ 120 ng-2AA/mL (代謝活性化剤を添加した場合) となり、処理方式と採水地域等によって 10 倍以上も異なることが分かった。なお、代謝活性化の有無によって、陽性対照物質が異なるため、陽性対照換算値としては代謝活性化剤を添加した場合の方が大きな値となっているが、換算前の値で比較すると、すべてのサンプルにおいて代謝活性化剤を添加しない場合の方が遺伝子毒性が強く検出された。

一般的な日本の水道水の遺伝子毒性強度は、0.2 ng-4NQO/mL 程度である。よって、本研究により、試験した放流水の遺伝子毒性が一般的な水道水よりも数十倍 ~ 百倍程度

高いことを初めて明らかにできた。これまで、水道水の遺伝子毒性はよく研究されてきたが、浄化槽放流水の遺伝子毒性についても更なる調査研究が必要であると考えられる。

また、代謝活性化剤の添加の有無にかかわらず、各地域の遺伝子毒性の強さは、合併浄化槽 > 単独浄化槽 > コミュニティプラント > 汲み取り槽の順となった。し尿が流入する単独浄化槽、合併浄化槽、コミュニティプラントの地域では必ず遺伝子毒性が検出されたが、し尿が流入しない汲み取り槽地域では、ほとんど遺伝子毒性が検出されなかった。このことより、家庭排水中の遺伝子毒性物質は、主にし尿に由来していることが示唆された。一般に、合併浄化槽は単独浄化槽よりも処理能力が高いと考えられるが、本研究では、予想に反して合併浄化槽地域の遺伝子毒性が最も高く、単独浄化槽地域の遺伝子毒性はコミュニティプラントと同レベルであった。これは、全生活排水が処理される合併浄化槽やコミュニティプラントに対して、し尿系排水しか処理しない単独浄化槽では放流水全体 (未処理の生活雑排水を含む) の変動が大きくなるのが原因の一つではないかと考えられる。すなわち、一日に時間を空けて複数回の採水を行ってはいるものの、採水時に大量の風呂水等が流入することによって単独浄化槽地域の放流水の遺伝子毒性物質が希釈されている可能性が考えられる。

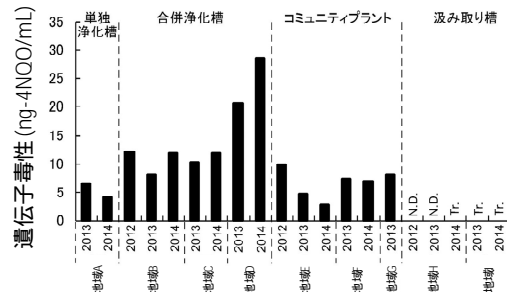


図 2 試料水の遺伝子毒性強度 (代謝無し)

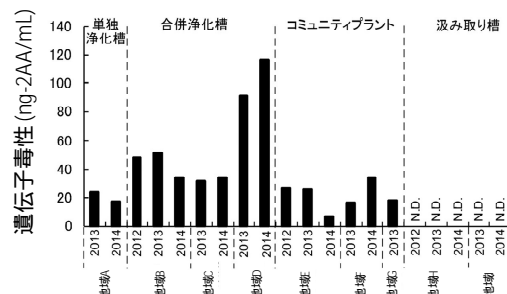


図 3 試料水の遺伝子毒性強度 (代謝有り)

(3) 薬剤添加による遺伝子毒性の変化

既報によれば、下水処理場で処理された排水は、亜硫酸ナトリウムの添加、あるいはアンモニア性窒素濃度が低い条件での次亜塩

素酸ナトリウムの添加によって、遺伝子毒性が削減されると報告されている。そこで、まず単独浄化槽の処理水に亜硫酸ナトリウム等、5種の還元剤を添加して遺伝子毒性の増減を調べたが、予想に反して大きな削減効果は得られなかった。また、次亜塩素酸ナトリウムを添加した場合、アンモニア性窒素濃度にかかわらず遺伝子毒性が増大した(図4、5)とくに、アンモニア性窒素が遊離塩素と反応し尽くした後、更なる遊離塩素の添加によって遺伝子毒性が急に倍増した(図4、6)。このことより、浄化槽での処理水に添加された遊離塩素は、有機物と反応して遺伝子毒性物質を生成するがアンモニアとも反応し消費されること、及び、アンモニアが無い状況ではそのほとんどが有機物との反応に使われ遺伝子毒性物質を生成することが示唆された。代謝有りの場合には、遺伝子毒性の増加が若干早く、遊離塩素が完全に消費し尽くされる前から増加し始めている。これにはアンモニアと塩素との反応で生じるクロラミンが関与している可能性がある。なお、既報との違いについては更なる検討が必要だが、下水処理場に流入するし尿以外の物質が影響している可能性がある。いずれについても、今後の研究が期待される。

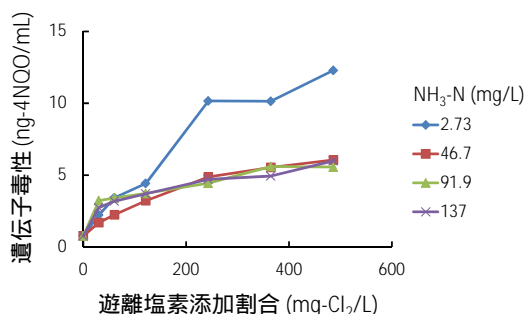


図4 塩素処理による遺伝子毒性の変化(代謝無し)

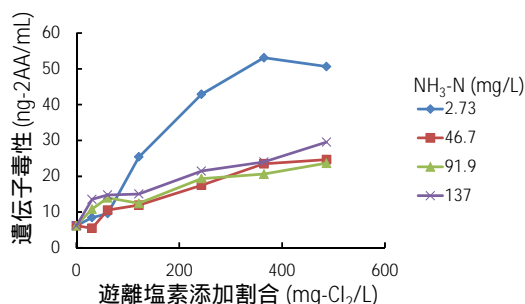


図5 塩素処理による遺伝子毒性の変化(代謝有り)

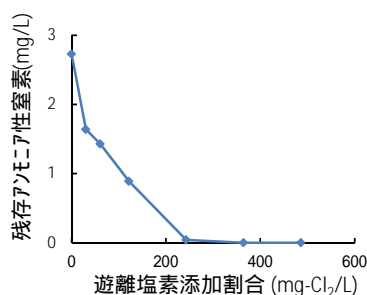


図6 塩素処理による残存アンモニア性窒素の変化(初期アンモニア性窒素: 2.73 mg/L)

<引用文献>

Lisha Wang et al., Effect of Ammonia Nitrogen and Dissolved Organic Matter Fractions on the Genotoxicity of Wastewater Effluent during Chlorine Disinfection, *Environ. Sci. Technol.*, 41, 2007, 160-165.

Qianyuan Wu et al., Removal of Genotoxicity in Chlorinated Secondary Effluent of a Domestic Wastewater Treatment Plant during Dechlorination, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 19, 2012, 1-7.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0件)

[学会発表](計 2件)

Takashi Kubo, Wenzhi Bai, Hiroki Yamashita and Yuji Takao, Effect of Chlorination on the Genotoxicity of Treated Water from Flush Toilet Wastewater Treatment Tanks, Water and Environment Technology Conference 2015, 5th-6th August 2015, Nihon University (Chiyoda-ku, Tokyo)

Bai Wenzhi、久保隆、高尾雄二、浄化槽処理後の家庭排水の遺伝子毒性強度に関する研究、第一回生態毒理学学術研究会、2014年4月24-26日、嘉興市(中華人民共和国)

6. 研究組織

(1)研究代表者

久保 隆 (KUBO, Takashi)
長崎大学・産学官連携戦略本部・助教
研究者番号: 40397089

(2)研究協力者

BAI, Wenzhi
長崎大学・水産・環境科学総合研究科・大学院生