

31 降水の変異原性に関する研究

富山県立大学短期大学部環境工学科 奥川光治, 天野智順

1. はじめに

人工の化学物質や非意図的に生成される化学物質による水環境の汚染が問題になっている。これら化学物質を適切に管理するためには環境中での動態を評価することが重要である。本研究は微量化学物質の水環境中での動態を解明することを目的とした研究の一環であり、総括的指標としての変異原性に着目している。本論文では、河川流域への化学物質の流入経路として重要な降水を対象に実施した調査の結果から、降水の変異原性の季節変化特性および地域変動特性について解明する。

2. 調査・分析方法

調査は1993年12月から1998年1月までに12回実施した。95年7月には2日間にわたり連続して降水を採取した。調査地点(Fig. 1)は富山県射水郡小杉町(住宅団地, 12回とも実施), 富山県東砺波郡福野町(住宅地, 96年12月, 97年10月の2回実施), 富山県東砺波郡平村(山林内, 97年10月に実施)および富山県東砺波郡上平村(山林内, 98年1月に実施)である。小杉町は富山市と高岡市の中間にあたり都市近郊の地域であり、福野町は砺波平野の南部に位置する。平村は福野町から南方の山間部にあり、上平村はさらに南方の山間部に位置する。小杉での調査結果からは降水の変異原性の季節変化特性を解明した。また、全4地点の調査結果から降水の変異原性の地域変動特性を解明した。降水の採取には直径39cmのステンレス製ボールまたは90cm×60cmのステンレス板から製作した採取装置を使用した。雪の場合には実験室で約40℃の湯を用いて溶解するか、ステンレス製鍋で低温を保つようにコンロで加熱して溶解した。

変異原性試験(Ames test)は試料水をグラスファイバーフィルター(ADVANTEC製, GB140)で濾過して分画した溶存態(Sol)ならびに懸濁態(Part)のサンプルそれぞれについて、S9mix添加(+S9mix), 無添加(-S9mix)の両条件で、*Salmonella typhimurium* TA98およびTA100株を用いたプレインキュベ

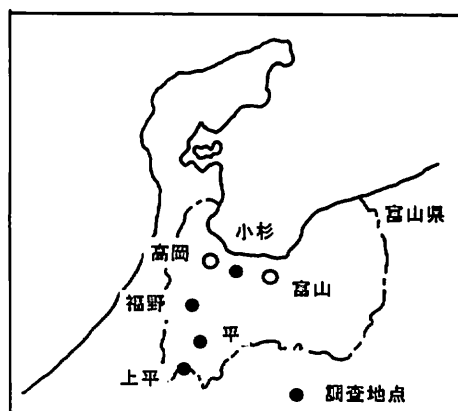


Fig. 1 調査地点.

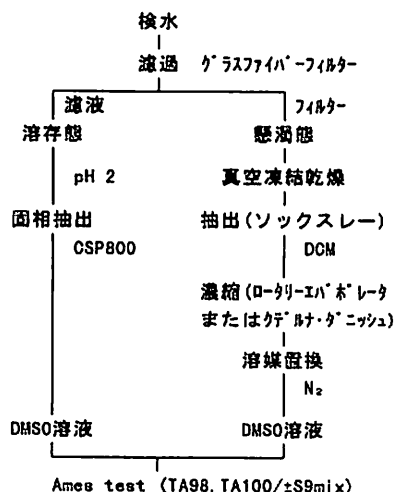


Fig. 2 変異原性試験のサンプル前処理手順.

ーション法により行なった(日本薬学会, 1990). すなわち, 試験条件は溶存態ならびに懸濁態のサンプルそれぞれについてTA98/-S9mix(-98), TA98/+S9mix(+98), TA100/-S9mix(-100), TA100/+S9mix(+100)の4条件である. Fig. 2 に示すように, 溶存態のサンプルは原則として4 Lを固相抽出カートリッジ Sep-Pak Plus CSP800(Waters製)で吸着したあと, DMSO 2 mL に抽出・濃縮し, 試験に供した. また, 懸濁態のサンプルは試料濾過後のグラスファイバーフィルターをジクロロメタン 150 mL でソックスレー抽出したのち, クデルナ・ダニッシュ装置またはロータリエバポレータで濃縮し, さらに窒素ガス気流下(40°C)でDMSO 2 mL に溶媒置換し, 試験に供した.

変異原性試験の評価基準は Table 1 のとおりとした. すなわち, 試料と陰性対照の復帰変異コロニー数の比をMR値とし, MR値 ≥ 2.0 の場合は陽性(++), $2.0 > \text{MR値} \geq 1.5$ の場合は擬陽性(+), $1.5 > \text{MR値} \geq 0.7$ の場合は陰性(-)と判定した. また, 生育阻害(T)は顕微鏡による background lawn の確認によるか $0.7 > \text{MR値}$ の場合とした. なお, 溶存態サンプルも懸濁態サンプルも試料量は原則として4 Lとしたが, 4 L でない場合は4 L に換算してMR値を求めた.

3. 結果および考察

3.1 季節変化特性

本節では, 93年12月から98年1月までの小杉における調査結果から, 降水の変異原性の季節変化特性について解析する. Table 2 は Table 1 の評価基準に基づき, その調査結果を示したものである. また, Fig. 3 は溶存態サンプルのMR値の季節変化を, Fig. 4 は懸濁態サンプルのMR値の季節変化を示したものである. これらの図表から降水の変異原性についてまとめると, 以下のとおりである.

溶存態サンプルでは, S9mix無添加の場合, 陽性または擬陽性となることが多く, 13サンプルのうち, TA98株では7サンプル, TA100株では11サンプルが陽性または擬陽性であった. さらに, TA98株では $1.5 > \text{MR値} \geq 1.3$ の場合が3サンプルあった. S9mixを添加し, 代謝活性化をした場合は変異

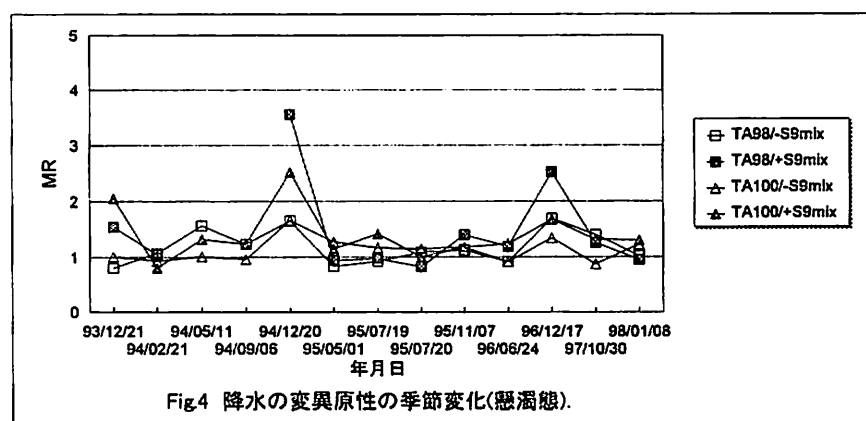
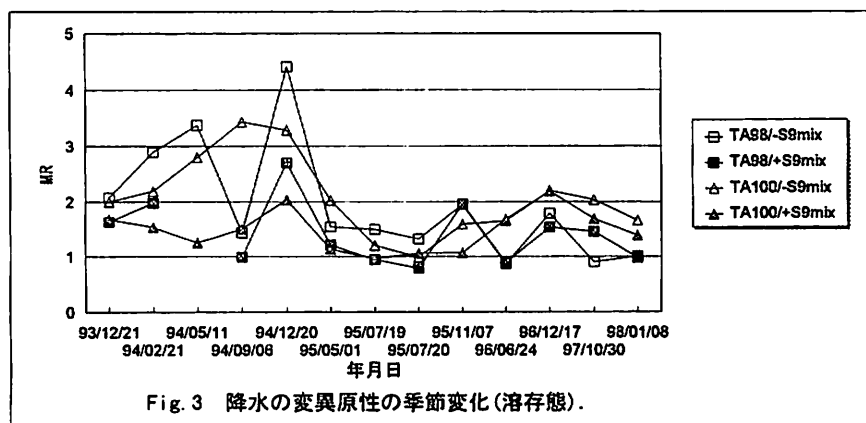
Table 1 変異原性の評価基準.

記号	定義
++	陽性, $2.0 \leq \text{MR値}$
+	擬陽性, $1.5 \leq \text{MR値} < 2.0$
-	陰性, $0.7 \leq \text{MR値} < 1.5$
T	生育阻害, 顕微鏡またはMR値 < 0.7

$$\text{MR値} = \frac{\text{試料の復帰変異コロニー数}}{\text{陰性対照の復帰変異コロニー数}}$$

Table 2 降水の変異原性の季節変化(小杉).

調査日	TA98/-S9mix		TA98/+S9mix		TA100/-S9mix		TA100/+S9mix	
	溶存態	懸濁態	溶存態	懸濁態	溶存態	懸濁態	溶存態	懸濁態
93/12/21	++	-	+	+	++	-	+	++
94/02/21	++	-	+	-	++	-	+	-
94/05/11	++	+	-	-	++	-	-	-
94/09/06	-	-	-	-	++	-	+	-
94/12/20	++	+	++	++	++	+	++	++
95/05/01	+	-	T	-	++	-	-	-
95/07/19	-	-	-	-	-	-	-	-
95/07/20	-	-	-	-	-	-	-	-
95/11/07	+	T	+	-	+	-	-	-
96/06/24	-	-	-	-	+	-	+	-
96/12/17	+	+	+	++	++	-	++	+
97/10/30	-	-	-	-	++	-	+	-
98/01/08	-	-	-	-	+	-	-	-



原性が弱まる傾向にあった。懸濁態サンプルで変異原性が認められることは溶存態サンプルより少なかった。すなわち、S9mix無添加の場合、TA98、TA100株とも陽性になることはなく、擬陽性を示したのが13サンプル中それぞれ3サンプルと1サンプルであった。代謝活性化をした場合は変異原性が強まる傾向にあり、両株とも2サンプルが陽性を示した。

冬季のサンプルでは変異原性が認められることが多かったのに対し、夏季のサンプルでは変異原性がないか弱い傾向のときが少なからずあった。もっとも、98年1月のように冬季でも変異原性あまり認められないこともあった。これは調査時の降水条件の影響によるものと考えられる。Table 3は各調査時の先行無降雨時間、先行降水量などについてまとめたものである。変異原性があまり認められないときの降水条件について見てみると、95年5月、97年10月、98年1月は先行無降雨時間が1~2日と短く、95年7月は先行無降雨時間が短い上に先行降水量が記録的に多かったことがわかる。逆に、94年12月は先行無降雨時間がやや短いにも関わらず変異原性が強い。また、96年6月は先行無降雨時間が6日以上と長い、変異原性は弱かった。この傾向は94年5月、94年9月にも認められた。以上のことから、降水の変異原性は冬季に強く、夏季に弱い傾向に加え、調査時の降水条件の影響を受けていることがわかる。

変異原性を発現する原因物質としては排気ガス由来の多環芳香族炭化水素(PAH)やその誘導体あるいは農薬などが考えられる。しかし、農薬の使用量は春季から夏季に多く、降水中的の農薬濃度もそれを反映しているのに対し、降水の変異原性は冬季に強い傾向があるので、農薬が変異原性発現

Table 3 降水調査時の降水条件.

調査日	採取した 降水量 mm	採取開始 までの当日 降水量 mm	先行無降雨 時間	先行降雨			先行降水量 mm	
				月日	降水量 mm	最大降雨 強度 mm/h	5日間	10日間
93/12/21	23.0	0.0	3 d 0 h	12/17-18	14.0	3.0	15.0	62.0
94/02/21	13.0	0.0	7 d 2 h	2/12-14 *1	21.5	4.5	0.5	23.5
94/05/11	11.0	0.0	5 d 0 h	5/4-6	10.5	2.5	4.0	23.5
94/09/06	8.0	1.0	8 d 19 h	8/28 *2	4.0	2.5	1.0	5.0
94/12/20	8.6	0.0	2 d 3 h	12/18 *3	32.0	5.5	50.0	62.5
95/05/01	9.0	0.0	1 d 1 h	4/29-30	17.5	3.0	20.0	32.0
95/07/19	47.0	0.0	2 d 3 h	7/16-17 *4	56.5	13.0	85.5	245.5
95/07/20	36.5	47.0						
95/11/07	21.5	0.0	3 d 14 h	11/1-4	77.0	7.5	41.5	80.5
96/06/24	58.5	0.0	6 d 13 h	6/17-18 *5	41.0	28.5	1.0	57.0
96/12/17	41.0	1.5	4 d 1 h	12/13	5.0	2.5	5.0	19.5
97/10/30	1.0	0.5	2 d 13 h	10/26-27 *6	26.0	3.0	29.0	32.0
98/01/08	41.0	1.0	1 d 2 h	1/4-7	43.0	4.0	43.0	57.0

*1: 2/20 0.5 mm, *2: 9/2 1.0 mm, *3: 12/19 0.5 mm, *4: 7/18 1.0 mm

*5: 6/19 1.0 mm, *6: 1.0 mm

の原因とは考えられない。一方、PAHは冬高夏低の季節変化を示すことが報告されており(奥川・楠井, 1996), 変異原性の季節変化の傾向と一致しており興味深い。PAHは大気中で容易にニトロ化されたり, 多環芳香族炭化水素ニトロ誘導体(ニトロPAH)が自動車排ガスから検出されることから, 降水中にもニトロPAHが含まれていると考えられる。本研究の調査結果において, 溶存態サンプルでは-S9mixの条件で変異原性が強いことから, 原因物質はニトロPAHである可能性が示唆される。懸濁態サンプルでは+S9mixの条件でより変異原性を示すので, 原因物質はPAHであると思われる。

3.2 地域変動特性

次に, 96年12月, 97年10月, 98年1月の調査結果(Table 4 ならびに Fig. 5, 6, 7)から降水の変異原性の地域変動特性について解明する。変異原性が陰性の場合, MR値を比較するのはあまり意味がないので, 少なくとも1地点で陽性または擬陽性を示す場合を比較する。

96年12月(Fig. 5)においては, 溶存態サンプルの場合, 4条件とも福野より小杉の方が変異原性が強かったことがわかり, 都市活動を反映していると考えられる。しかし, 懸濁態サンプルでは福野の方が変異原性が強い傾向にあった。97年10月の調査(Fig. 6)は人為的な活動の少ない平を調査地点に追加して行なった。溶存態サンプルのTA98/+S9mixの条件では, 小杉のみ陰性で他2地点では擬陽性を示したが, MR値は小杉でも1.45であり, ほぼ変異原性の強さは変わらないといえる。これは溶存態サンプルのTA100/+S9mixの条件でも同様であった。溶存態サンプルのTA100/-S9mixの条件では平に比べ, 福野と小杉の変異原性が強かった。98年1月の調査(Fig. 7)では平よりもさらに山間部の上平を調査地点とした。この調査時は Table 5 に示すように先行無降雨時間が短く, 先行降水量が多かったため, 変異原性を示す試験条件は少なかった。溶存態サンプルのTA100/-S9mixの条件では小杉の方が, 懸濁態のTA98/-S9mixの条件では上平の方が擬陽性を示した。

Table 4 降水の変異原性の地域変動.

調査日	TA98/-S9mix		TA98/+S9mix		TA100/-S9mix		TA100/+S9mix	
	溶存態	懸濁態	溶存態	懸濁態	溶存態	懸濁態	溶存態	懸濁態
96/12/17F	+	-	-	++	+	-	+	++
96/12/17K	+	+	+	++	++	-	++	+
97/10/30T	-	-	+	-	+	-	+	-
97/10/30F	-	-	+	-	++	-	-	-
97/10/30K	-	-	-	-	++	-	+	-
98/01/08KT	-	+	-	-	-	-	-	-
98/01/08K	-	-	-	-	+	-	-	-

地点-K:小杉, F:福野, T:平, KT:上平.

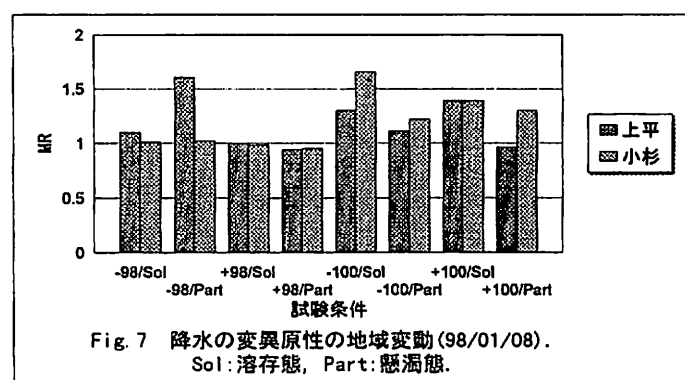
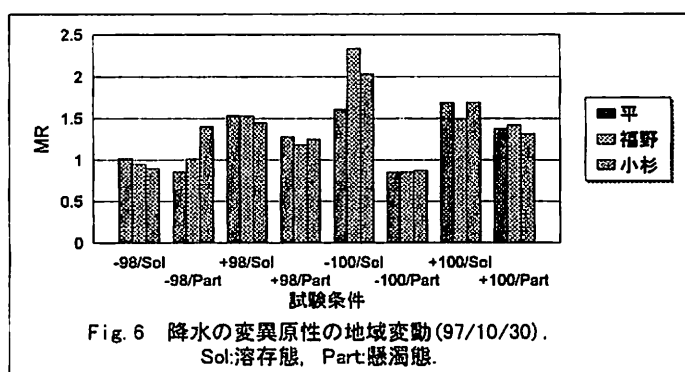
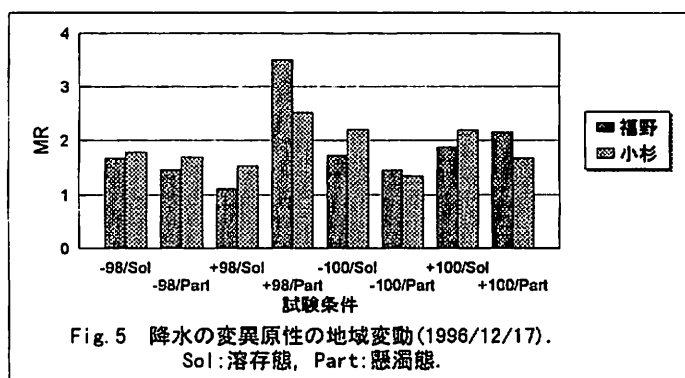


Table 5 降水調査時の降水条件.

調査日 調査地点	採取した 降水量 mm	採取開始 までの当日 降水量 mm	先行無降雨 時間	先行降雨			先行降水量 mm	
				月日	降水量 mm	最大降雨 強度 mm/h	5日間	10日間
96/12/17F	30.0	11.0	3 d 20 h	12/13	8.0	4.0	9.0	32.0
96/12/17K	41.0	1.5	4 d 1 h	12/13	5.0	2.5	5.0	19.5
97/10/30T	6.0	0.0	2 d 21 h	10/26-27 *1	67.0	7.0	68.0	68.0
97/10/30F	6.0	2.0	2 d 12 h	10/26-28 *2	35.0	6.0	38.0	41.0
97/10/30K	1.0	0.5	2 d 13 h	10/26-27 *3	26.0	3.0	29.0	32.0
98/01/08KT	(33.0) *4	0.0	1 d 0 h	1/4-7	77.0	5.0	77.0	106.0
98/01/08K	41.0	1.0	1 d 2 h	1/4-7	43.0	4.0	43.0	57.0

地点-K: 小杉, F: 福野, T: 平, KT: 上平.

*1: 10/29 1.0 mm, *2: 10/29 1.0 mm, *3: 1.0 mm, *4: 新雷を採取.

以上3回の調査結果を総合すると、人為的活動の大きい地点から山間部の地点まで降水の変異原性はさほど差がないことがわかる。同時に重要なことは、清浄と考えられる山間部の降水でも人為的活動の大きい平野部の降水と同程度に変異原性が認められたことである。これは雨あるいは雪の形成過程で変異原物質が取り込まれていることを示していると考えられる。

4. おわりに

降水を対象に実施した調査の結果から、降水の変異原性の季節変化特性および地域変動特性について解明した。得られた結論は以下のとおりである。(1)溶存態サンプルでは直接変異原性が陽性または擬陽性となることが多かった。代謝活性化をした場合は変異原性が弱まる傾向にあった。(2)懸濁態サンプルで変異原性が認められることは溶存態サンプルより少なかった。代謝活性化をした場合は変異原性が強まる傾向にあった。(3)降水の変異原性は冬季に強く、夏季に弱い傾向に加え、先行無降雨時間、先行降水量など調査時の降水条件の影響を受けていることがわかった。(4)変異原性を発現する原因物質は排気ガス由来のPAHやニトロPAHである可能性が示唆された。(5)人為的活動の大きい地点から山間部の地点まで降水の変異原性はさほど差がないことがわかった。(6)清浄と考えられる山間部の降水でも人為的活動の大きい平野部の降水と同程度に変異原性が認められた。

本研究の一部は平成5年度および平成6～7年度文部省科学研究費補助金（一般研究(C)，課題番号05680494および06680547）を得て実施されたものである。記して謝意を表したい。また、研究の遂行にあたり、1993～1997年のゼミ学生、アルバイトの方々の協力を得た。あわせて感謝の意を表する次第である。

〔参考文献〕

- 奥川光治・楠井隆史(1996)第30回日本水環境学会年会講演集, 507.
日本薬学会(1990)衛生試験法・注解, 235-245.