

1992年度

# 下水道新技術研究所年報

## ダイジェスト

---

下水処理水の新たな生物検定方法  
の検討調査

財団法人 下水道新技術推進機構

# 序 文

生活大国をめざすわが国の下水道事業がかかえている多様な課題を解決するため、下水道に係わる新技術の研究及び開発を行い、下水道事業への導入を促進し、下水道事業の効率的かつ円滑な推進を図ることを目的に、本機構は、設立以来、新しい技術の研究・開発と実用化に取り組んでまいりました。

本報告書は、下水道新技術研究所における平成4年度の研究成果をとりまとめたものです。

平成4年度は、建設省新技術活用モデル事業として『省面積型下水処理技術の実用化研究』『下水汚泥セメント資源化技術の実用化研究』、下水道技術開発連絡会議での共同研究として『下水道用施設管理ロボットの開発基礎調査』『下水道施設からの有用物回収技術に関する基礎調査』『下水道の長期的技術開発課題に関する基礎調査』、建設省下水道部からの受託として『下水道情報の電算化に関する調査』、建設省土木研究所からの受託として『下水汚泥のエネルギー利用に関する調査』『下水道施設の補修更新方法に関する調査』『下水処理水の新たな生物検定方法の検討調査』、日本下水道事業団からの受託として『小規模処理場の省力化の需要調査及び集約管理システム評価モデルに関する調査』『広域汚泥処理における溶融施設の機能向上調査』の11課題について平成4年度分の調査研究を完了しました。

本書は、建設省土木研究所より委託された『下水処理水の新たな生物検定方法の検討調査』についてその概要を報告するものであります。

この報告書が実務の中で積極的に活用されることを願う次第です。

財団法人 下水道新技術推進機構

理事長 井前勝人

# 下水処理水の新たな生物検定方法 の検討調査

## はじめに

近年、水域環境の水質保全や水の安全性に対して関心が高まっているため、総括的な安全性の指標の一つとして、生物に与える変異原性等の生物検定が注目されている。

そこで、建設省土木研究所の委託をうけて、水質を安全性の観点から評価する方法を確立することを目的として調査を行うことになった。そのため、平成4年度では、これまでの試験・調査例等の文献調査を行い、生物検定方法のうちの一方法を選んで試験を実施した。

## 調査内容

平成4年度調査では、微生物を対象にした生物検定方法に関する文献調査を主として行い、

また、生物検定方法の中から一方法を選んで試験を行った。具体的には①生物検定用試料濃縮方法の文献調査②水の安全性に関する生物検定方法の文献調査③標準物質を用いた試験—の3項目について検討した。

## 調査結果

### ①生物検定用試料濃縮方法の調査

生物の検定を行う際に有意な試験結果を得るには、環境試料の濃縮操作が必要になる。濃縮方法としては樹脂カラム吸着法、溶媒抽出法、ブルーレイオン吸着法、凍結乾燥濃縮法、中空糸膜濃縮法—などがある。

河川水や水道水を対象にした変異原性試験では、下水や下水処理水を対象とする場合に比べて濃縮倍率が大きい。文献調査による濃縮倍

率の比較ではおおよそ、中空糸膜、樹脂吸着〉ブルーレイオン〉溶媒抽出〉凍結濃縮一の順になる。また、作業的、時間的な容易さでは中空糸膜、溶媒抽出が最も容易で、以下ブルーレイオンー凍結濃縮ー樹脂吸着の順となる。

いずれの濃縮法も長所、短所があり、濃縮を行う際には、各濃縮法の特徴を十分理解した上で、試料の特性に応じた方法を選択する必要がある。

## ②水の安全性に関する生物検定方法の調査

ここでは、水の安全性に関する生物検定のうち遺伝毒性試験に着目して文献調査を行った。遺伝毒性試験には微生物を用いるのが、検索期間の短さ、経費の安さ、検索の容易さの点から有利である。

微生物を用いた遺伝毒性試験としては、変異原性試験があるが、その代表的なAmesテスト、umuテスト、Rec-Assay法の3つの方法の原理・手順等について文献調査を行い整理した。このうち各変異原性試験の比較等について述べられている文献には次のようなものがあった。

▽umuテストはAmesテストに比較して致死作用を示す物質を含む場合に有効である。<sup>1)</sup>▽一般にumu-testとAmes-testの発ガン性に対する感度、特性、正確度はほぼ同程度とされている。有機塩素化合物を中心とした場合、発ガン性との関係で見ると、枯草菌Rec-Assayは、Ames-testで検出されていない物質を陽性として検出している。<sup>2)</sup>▽killing等の問題となってい

るAmes法における変異原試験にはumu-test及びRec-assay法が有効と示唆された。<sup>3)</sup>

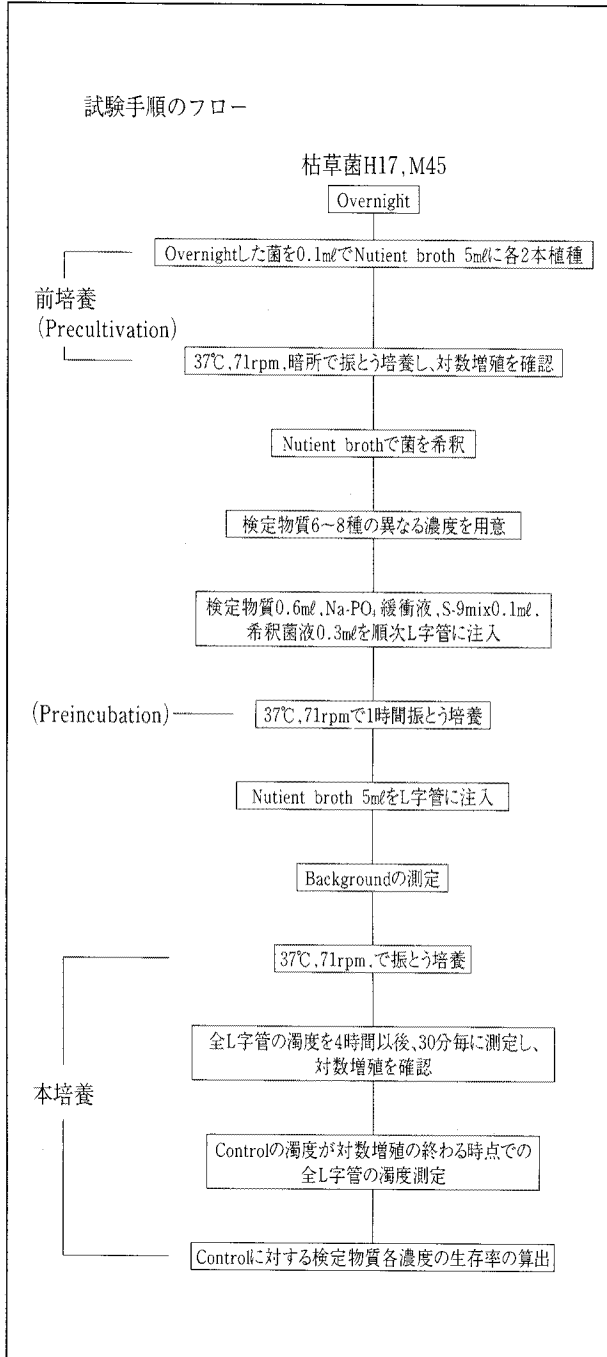
1) 森田啓次郎 他：環境水域における変異原性物質の抽出法の検討、全国公害研究誌Vol.16.No.3(1991)。2) 松井三郎 他：レックアッセイ・ウムテスト、第25回水質汚濁学会講演集。3) 小瀬洋喜 他：陸水域における環境変異原物質の動態に関する研究、水質保全研究成果集

## ③標準物質を用いた試験

水の安全性に関する生物検定方法の一つとして、Rec-Assay法の一つである枯草菌Rec-Assay液体法について、試験手順の検討と試験を行った(図-1)。Rec-Assay法はDNAの修復機能を利用する方法で、この場合は枯草菌(*Bacillus subtilis*)の野生株Rec<sup>+</sup>と組換え修復機構欠損株Rec<sup>-</sup>を用い、両株のDNA修復機構の違いを利用して、化学物質のDNA損傷性を検出する。Rec<sup>+</sup>菌はDNAに損傷を受けても修復できるが、Rec<sup>-</sup>菌は組換え修復を司る遺伝子を欠損しているため、組換え修復を誘導できない。従って、化学物質がDNA損傷性を持っている場合、Rec<sup>-</sup>菌の生存率の方が低くなる。

試験はAmesテストやumuテストで変異原性の評価の定まった4-ニトロキノリン-オキシド(4NQO)、マイトマイシン-C(MMC)、トリクロロエチレン(TCE)の3つの物性に特徴のある標準物質を用いて行い、変異原性の評価は松井ら<sup>4)</sup>の提示しているR50(50%致死濃度比)より評価した。実験の結果、揮発性物質のTCEについては、ほとんどが気相に移ってしまったため評価できなかったが、4NQO、

図-1 枯草菌(Bacillus subtilis)Rec-assay液体法



MMCについては変異原性の評価を行い、R50値を示すことができた。(表-1)

4) 松井三郎 他：枯草菌Rec-Assay液体法による水環境変異原の検出方法 第25回水質汚濁学会講演集, 3

表-1 標準物質の試験結果

標準物質	S-9 mix	R50	変異原性の評価
4NQO	+		変異原性なし
	-	14.1	変異原性あり
MMC	+	6.76	変異原性あり
	-	6.47	変異原性あり
TCCE	+		判定できず
	-		判定できず

$$R50(50\%致死濃度比) = \frac{C50Rec + (Rec+の50\%致死濃度)}{C50Rec - (Rec-の50\%致死濃度)}$$

## まとめ

文献調査により試料の濃縮方法や水の安全性に関する生物検定等の基礎的な知識を得ることができた。そして、変異原性試験方法として、枯草菌Rec-Assay液体法の手順を検討し、試験を行って標準物質の変異原性を認めることができた。

5年度はumuテストについても調査を行うとともに、さらに両法の適用性についての検討を進める予定である。また、今年度、課題として残った揮発性物質の枯草菌Rec-Assay液体法の試験方法の検討も併せて行う予定である。

---

●この研究に関する問い合わせは

技術部長

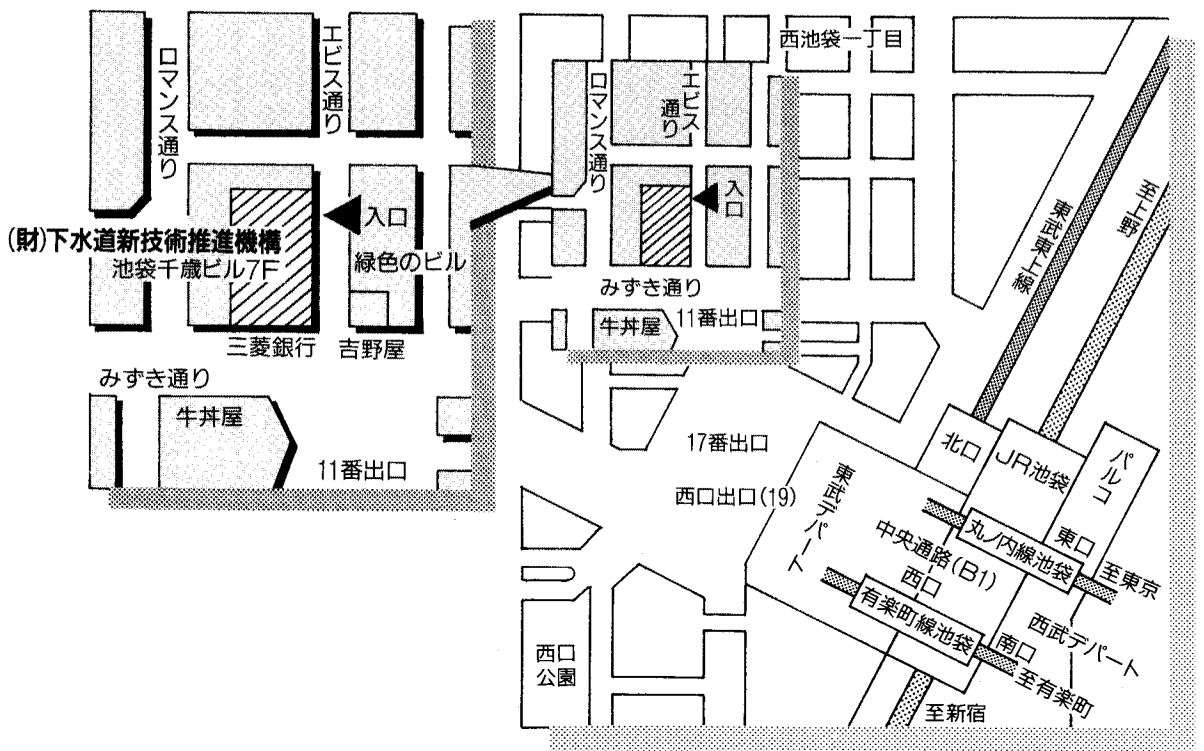
村上 忠弘

技術部  
技術課長

村上 孝雄

研究第二部  
研究員

深尾 忠司



## 財団法人 下水道新技術推進機構

〒171 東京都豊島区西池袋1丁目22番8号 池袋千歳ビル7階  
 TEL 03-5951-1331 FAX 03-5951-1333