

# 下水処理水の新たな 生物検定方法の検討調査

調査報告

---

'95 下水道新技術研究所年報ダイジェスト 1995 No.20



建設大臣認定機関

財団法人 下水道新技術推進機構

# 序 文

我が国の下水道普及率は50%を越えるまでになりましたが、地域間の整備格差の是正をはじめ、なお多くの課題に直面しています。

このため、平成8年度を初年度とする第8次下水道整備五箇年計画では、普及の後れている中小市町村を中心とした整備の促進や、総合的な雨水対策、閉鎖性水域での高度処理の推進、処理水・汚泥・下水熱等の利用、ネットワークとしての下水道管渠の活用など各種の施策を積極的に展開することとしています。こうした数多くの課題に的確に対応するためには、各分野での必要な技術の開発と事業への導入が益々重要になっています。

本機構は平成4年9月28日に設立以来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、下水道事業の効率的かつ円滑な推進を図るべく新しい技術の研究・開発に取り組んでまいりました。

平成7年度の研究課題は、継続課題を含めて、公的機関からの新技術活用モデル事業である「焼却灰を原料にした園芸用人工培土の製造の実用化研究」他52課題、民間企業から「光ファイバーケーブル対応型下水道管渠資材の開発」他13課題、固有研究3課題の合計70課題の調査研究及び審査証明3課題を実施しました。

本書は、建設省土木研究所からの受託研究の『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 遠 山 啓

# 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、多種類の微量有害物質が環境中に放出されており、水環境も汚染されている実態が明らかになりつつある。これらの汚染物質の全てを個別に計量評価することは不可能であり、また汚染物質の相乗作用もあることから、総括的に評価する種々の指標が研究されている。このなかでも、生物に対する影響を試験する生物検定（バイオアッセイ）法は、このような汚染の相乗効果等も評価できる可能性があることから、水環境汚染の総合的評価のために研究されている。

建設省土木研究所では、下水処理水の水質を安全性の観点から評価する種々の生物検定法について調査している。この一環として、変異原性試験を用いる生物検定法について調査した。

本調査は、下水処理水の安全性評価手法の確立を最終目標とし、水環境の安全性の評価手法として研究されている各種変異原性試験について調査検討し、この中から数種の試験方法を選択し、実際の下水処理水等を試料として試験することにより手法と評価方法について基礎的検討を行ったものである。

## 調査内容

平成4年度から7年度までの調査において、次の項目について調査検討を行った。

- ①微生物を用いる変異原性試験に関する調査
- ②試料濃縮方法に関する調査
- ③実試料と標準物質を用いた試験

## 調査結果

[微生物を用いる変異原性試験の調査]

表1 調査対象変異原性試験法の比較

試験方法	Ames試験 *1	Rec-Assay *2	umu-test	ウムラック
試験菌株	Salmonella ryphimurium TA98, TA100	Bucillus subtilis HI7(rec-), M45(rec+)	Salmonella ryphimurium TA1535/pSK1002	Salmonella ryphimurium
測定項目	変異原性菌株の コロニー数	2種の菌株への 生育阻害の差	酵素活性 ( $\beta$ -galactosidase)	酵素活性 ( $\beta$ -galactosidase)
判定基準	変異株コロニー数が溶媒 対象の2倍以上で、かつ 復帰変異数が用量依存性 を示す場合、陽性とする	$R_{50} \geq 1.3$ (Kanamycinの $R_{50}=1.3$ ) その他の基準 Rec-gram Rec-volume	溶媒対象の酵素活性の2 倍以上	溶媒対象の酵素活性の2 倍以上
適用時の問題	下水中のヒステジンが影 響する可能性がある	微量物質の影響が有る	着色物質の影響が有る	含有物質の影響が有る
急性毒性の影響	変異原性が低く出る	菌への毒性の差が影響	計算で除外	影響有り
試験 条件	無菌操作	必要	必要	不要
	培養時間	2日	1日	半日
	操作時間	3日	2日	1日

\*1 実試料に対する試験は実施せず。 \*2 液体 Preincubation法

微生物を用いる変異原性試験として、微生物の種類と手法との組み合わせにより、多くの試験方法が提案されているが、その中で、水環境調査への適用研究が報告されている試験法の中から、Ames試験、Rec-Assay、umu-test、ウムラックについて調査研究した。これら試験方法の概要を表-1に示す。

Rec-Assay、umu-test、ウムラックについて実試料を用いて試験した結果、umu-testの検出感度が高かった。

#### [試料濃縮方法調査]

水環境中の変異原物質は非常に微量であるので、変異原性試験において有意な結果が得られる濃度まで試料中の対象物質を選択的に濃縮しなければならない。

本調査では、濃縮倍率が高く、変異原物質の回収率が高いと報告されている樹脂カラム吸着法を用いることとした。吸着用樹脂としては、多くの変異原物質を吸着する特性を持つSep-Pak C-18を採用し、再抽出溶媒にはメタノールを選択した。

#### [実試料と標準物質を用いた試験]

A処理場（生活排水主体）、B処理場（工場排水主体）の2処理場の流入下水、塩素消毒後の処理水等を実試料として、Rec-Assay、umu-test、ウムラックを用いて試験した。また、試験手法の再現性の調査および既報との比較を行うため、表-2に示す標準物質について試験概要に示す試験を行った。

umu-testでは667倍濃縮で、A処理場では代謝活性物質S-9mix(+)(-)系のいずれの場合も変異原性が陽性となったのに対し、B処理場ではS-9mix(+ )系だけが陽性となったことから、処理場により変異原物質が異なることが推察された。

各試験法の比較では、ウムラックはumu-testに比べ試験操作が簡便であるが、熟練を必要とする面があり、また、同じ濃縮倍率ではumu-testの方がウムラックより強い変異原性が検出されており、検出感度が高かった。

Rec-Assayは、種々の微量物質が混在している下水の場合には、変異原性を厳密に測定

表-2 標準物質と試験結果の概要

略称	一般名	概要	試験概要
4NQO	4-Nitroquinoline-1-oxide	代表的な発ガン性芳香族ニトロ化合物の一つで、代謝作用の有無で変異原性が異なる	Rec-Assay試験、umu-test検証 S-9mix(-)で強い変異原性を示した
MMC	Mitomycin-C	DNA合成を特異的に阻害する抗生物質で、アルキル化剤の一種である。	Rec-Assay試験検証 S-9mix(+)(-)で強い変異原性を示した
TCE	Tri-chloroethylene	発ガン性のある揮発性の有機塩素化合物 有機溶剤として使用	Rec-Assay試験検証 試験中に揮散し、測定不可
TMTD	テウラム	急性毒性のある農薬(殺菌剤) Ames-testで変異原性ありとされている	umu-testに対する急性毒性の影響を評価するため使用 顕著な影響がみられなかった
TBC	チオベンカルブ (ベンチオカーブ)	農薬(除草剤) 変異原性、慢性毒性に関する試験データが未公表	umu-testに対する急性毒性の影響を評価するため使用 顕著な影響がみられなかった
AF-2	Furylfuramide	ニトロフラン系殺菌剤 1965年7月食品添加物に指定、1974年9月発ガン性ありとして食品添加物から指定削除	umu-testに対する急性毒性の影響を評価するため使用 顕著な影響がみられなかった
2AA	2-Amino-anthracene	多環芳香族炭化水素化合物 自動車排ガス等に含まれる発ガン性物質	umu-test検証 S-9mix(+)で変異原性を示す
Trp-p-2	3-Amino-1-methyl-5H-pirido- [4.3-b] indole	食品等の加熱蛋白に含まれる ヘテロサイクリックアミンの一種	umu-test検証 S-9mix(-)で変異原性を示す

していない可能性が考えられる。

以上のことから、umu-testを下水処理水の  
変異原性試験手法として選択することとした。

## まとめと今後の課題

- 変異原物質を濃縮する方法として、Sep-Pak C-18による樹脂吸着法を選択した。この時に再溶出溶媒にはメタノールを選択した。
- 試料濃縮時のpHによる影響は明確ではなかった。
- 実試料を用いて試験した手法の中ではumu-testの検出感度が高かった。
- umu-testは、細菌の酵素活性を検出する試験方法であるので、供試菌体の活性を同一にするなどの試験条件を一定にしなければならない。このため、試験手法を細部にわたり設定した。
- 2 下水処理場の処理水で、代謝活性物質の

有無により変異原性に違いがあったことから、変異原物質が処理場により異なることが推察された。

本調査では、umu-testの結果を定性的に評価しており、濃縮倍率を加味した定量評価は行っていない。

高い倍率で濃縮したものに  
変異原性が検出されたとしても、ただちに環境に影響があるとはいえず、また、変異原性が検出されても、ただちに人や他の生物に影響があるとは限らない。

このため、定量的評価方法として提案されている、標準物質と比較して定量評価する手法や、人の生涯にわたる摂取によって生じる障害リスクが、あるきわめて低い危険率よりさらに低いならば実質的に安全であるとするVSD (virtually safe dose) の考え方等を踏まえて、人や他の生物に対する影響をも考慮した定量的評価方法について、さらに検討する必要がある。

•この調査に関する問い合わせは

研究第一部長

佐藤和明

研究第一部  
主任研究員

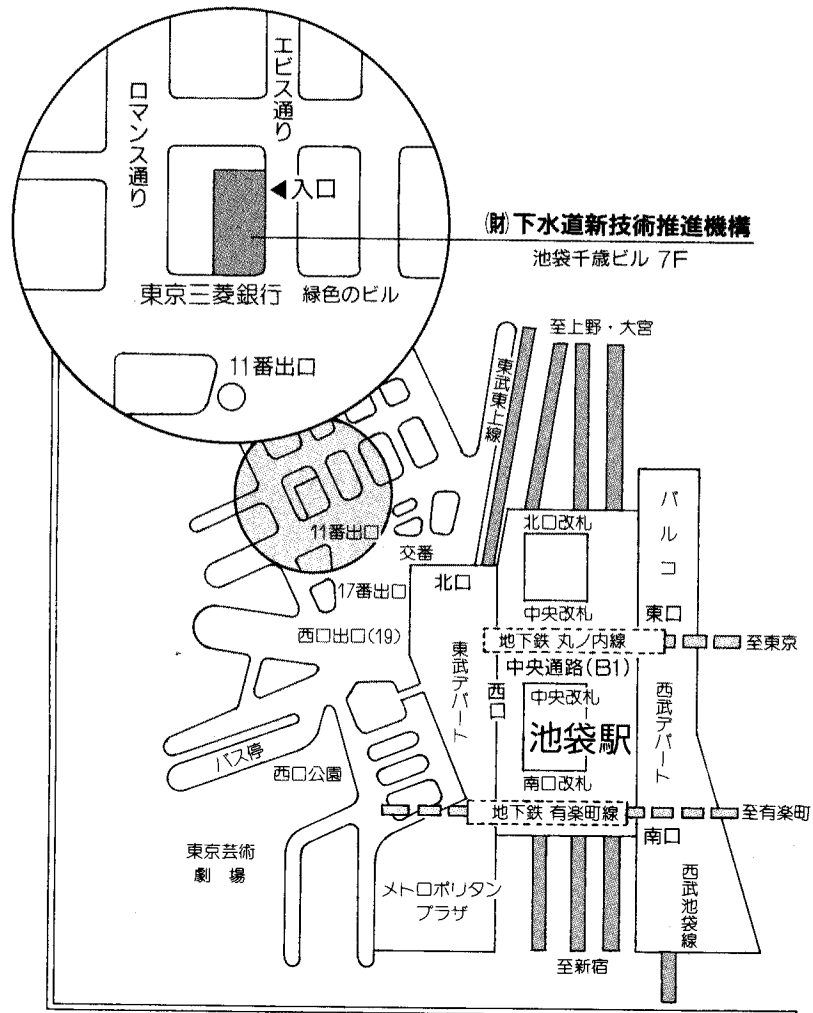
伊藤久明

研究第一部  
主任研究員

関根富明

技術部研究員

水見直孝



## 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