

河川水の変異原性調査と原因物質の検索について

佐々木裕子 木瀬晴美* 菊地幹夫
(*非常勤研究員)

要 旨

都内の5河川8地点で採水した河川水の変異原性試験と農薬分析を実施した。同時に個々の農薬、農薬代謝物の標準品の変異原性試験を行い、それらの結果から、環境基準、要監視項目に設定されている農薬類は河川の変異原性に影響を与えていないことが明らかとなった。また、河川の変異原性は①フレームシフト型で、特に芳香族アミンに感受性の高い菌株で検出率・活性が高い、②生活排水の寄与の高い河川で変異原性が高い、という結果が得られた。そこで、し尿中に含まれる複素芳香族アミンTrp-P-1、Trp-P-2の存在を検索したところ、この2物質が河川水中に存在し、河川水(多摩川調布取水堰採水)の変異原性に1.1~5.8%程度寄与していることが明らかとなった。

Monitoring and Identification of Ames Mutagenic Compounds in River Water

Yuko Sasaki, Harumi Kise* and Mikio Kikuchi

*Associate researcher

Summary

River water samples were collected between 1995 and 1996 from 8 different sites in five rivers in Tokyo. The extracts were tested with the Ames *Salmonella*/microsome assay. Each individual pesticide was also evaluated for mutagenicity and its concentration in river water measured by GC/MS analysis. No correlation between the mutagenicity of river water and the pesticides was observed. More than half of the riverwaters showed indirect-acting mutagenicity of frameshift type, especially with YG1024 suggesting the possible presence of aromatic amines. The mutagenic activity of the downstream section of the Tama river, which was mainly contaminated with domestic waste water, showed higher frequency and potency. The downstream samples collected by use of blue chitin column, which adsorbed aromatic hydrocarbons selectively, were analyzed using HPLC and GC/MS. Very low level heterocyclic amines, Trp-P-1 and Trp-P-2, were detected. The sum of mutagenic activity of Trp-P-1 and Trp-P-2, were estimated to account for approximately 1.1~5.8% of the total mutagenic activity of the downstream of the Tama river.

1 はじめに

水環境中から工業、農業をはじめ様々な人間活動に由来する多くの化学物質が検出され、ヒトの健康への影響が憂慮されている。しかし、個々の化学物質の有害性や環境中の存在量から、多種多様な化学物質による複合的

な影響を評価することには限界がある。そこで、有害性の総括的な評価法のひとつとして各地の河川にも適用されている¹⁻⁴⁾変異原性試験を用い、東京都内の河川の調査を実施した。

次いで、河川水の変異原性の原因物質検索の一環とし

て、平成5年に環境基準・要監視項目に追加された農薬について変異原性との関連を検討した。

また、河川の変異原性の検討を進めるに伴って検出菌株の特性から、芳香族アミンの存在が推測された。そこで、加熱食品中の強変異原物質⁵⁾でヒトのし尿中からも検出⁶⁾されている複素芳香族アミン(3-アミノ-1,4-ジメチル-5H-ピリド [4,3-b] インドール(以下「Trp-P-1」と言う。))、3-アミノ-1-メチル-5H-ピリド [4,3-b] インドール(以下「Trp-P-2」と言う。))の河川水の変異原性への関与を検討したので報告する。

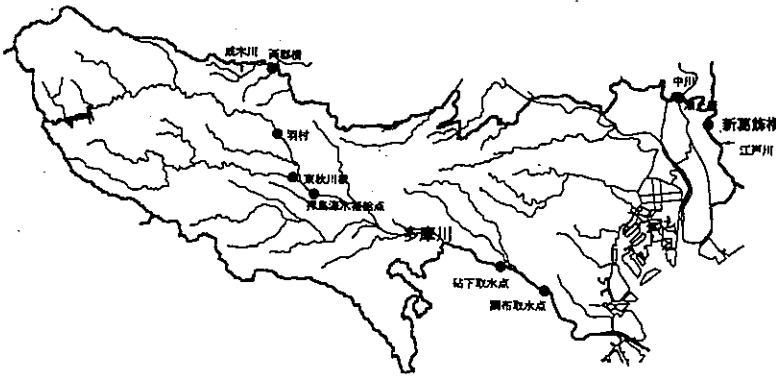


図1 都内河川の調査地点

2 調査方法

(1) 試料採取と前処理

図1に示す5河川8地点において、1995年5月から8月まで2週間ごとに8回、1996年2月に1回採水を行った。変異原性試験用には、3ℓの河川水をろ過(1μm)後、固相カラム(Sep pak PS-2)に、流速15ml/minで通水した。通水後、固相カラムをジクロロメタンで溶出し、ジメチルスルフォキシドに転溶し、ろ過滅菌(0.22 μm)して検体とした。

農薬分析用には、河川水5ℓをディスク型固相シート(エムポアディスク)を用いて固相抽出し、ジクロロメタンで溶出した。抽出液は無水硫酸ナトリウムカラムで脱水し、窒素ガスで定容にして検体とした。

Trp-P-1、Trp-P-2分析用には、多摩川調布取水堰において、50ℓと100ℓ計2回採水し、早津らが開発した⁷⁾銅フタロシアニン-ポリ-N-アセチルグルコサミン(以下「ブルーキッチン」と言う。)を充填したカラムに通水し、メタノール/アンモニア(50:1, v/v)で溶出を行った。抽出液は減圧下で濃縮後、窒素ガスで溶

媒を留去し、再びメタノールに溶解して検体とした。

(2) 変異原性試験

AmesらのサルモネラTA100、TA98株及び両株のニトロ還元酵素、アセチル転移酵素活性を高めた派生株YG1021、YG1024、YG1026、YG1029の4菌株⁸⁾を用いた。河川水に対しては、フレームシフト型のTA98株とYG1024株を用いて試験を実施し、高い変異原性を示した河川水検体の一部(砧下取水点、調布取水堰)は他の4菌株の試験を加えた。農薬標準品、農薬代謝分解物(和光純薬工業又はジーエルサイエンス製)は、フレームシフト、塩基置換の両タイプの変異原性の有無を明らかにするため、上記6菌株で試験を実施した。試験方法は薬物代謝酵素添加(フェノバルビタール+ナフトフラボン誘導ラット肝S9mix、以下「+S9」と言う。)、無添加(以下「-S9」と言う。)の両条件でプレインキュベーション法で行った。変異原性の判定は、復帰変異コロニー数が自然復帰変異コロニー数の2倍以上あり、量-反応関係がある場合を陽性とした。

(3) ガスクロマトグラフ質量分析

ア 農薬36種はGC/MS(QP-5000、島津製)を用い、SIM法で0.1μg/ℓを検出限界として、下記条件で一斉分析を行った。

カラム: DB-5 30m × 0.25mm × 0.1μm
 昇温条件 50℃(2)-20℃/min-100℃(0)-10℃/min
 -170℃(0)-5℃/min-245℃(0)

注入口温度: 250℃
 インターフェース温度: 250℃

注入法: スプリットレス

イ ブルーキッチン抽出物は、GC/MS(GC: HP5980、MS: AX505、日本電子製)を用い、下記条件でTrp-P-1、Trp-P-2の同定を行った。

カラム: HP-5 30m × 0.32mm × 0.25μm
 昇温条件 50℃(1)-10℃/min-210℃(10)

注入口温度: 250℃
 インターフェース温度: 250℃

注入法: スプリットレス イオン化電圧 70eV

(4) 高速液体クロマトグラフ分析

ブルーキッチン抽出物は下記2条件で分析し、確認・

定量を行った。

ア 条件1

HPLC(HLC-803D, 東ソー製) 蛍光検出器 (F1000, 日立製)

励起波長266nm、蛍光波長397nm 流速 1 ml/min

カラム: ODS 4.6×150 mm (ウォーターズ製)

カラム温度 35℃

移動相: 12%CH₃CN/25mM H₃PO₄/Na₂HPO₄ (pH 2)

イ 条件2

HPLC(ウォーターズ 600)

蛍光検出器(ウォーターズ 470)

励起波長、蛍光波長、流速は同上、

カラム: ODS 4.6×250 mm(TSK-GEL, 東ソー製)

カラム温度 40℃

移動相: 20% CH₃CN/20mM H₃PO₄(pH 2)

3 結果と考察

(1) 河川水の変異原性

図2に、調査した5河川8地点のTA98、YG1024株±S9での変異原性を示した。

同一水系5地点で測定した多摩川と支川の秋川の場合は、人為的な汚染の流入が少ない上流部の羽村取水堰と秋川東秋川橋で春、夏、冬の9回いずれも変異原性は不検出であった。中流部の拝島原水補給点ではYG1024株+S9で9回中3回変異原性が認められた。流域人口が多い砧下取水点、調布取水堰では常時YG1024+S9で変異原性が検出され、この2地点の変異原性が調査8地点中で最も高かった。更にこの2地点ではYG1024-S9やTA98 ±S9でも数回変異原性が検出された。なお、川を下るに従って変異原性が増す傾向が見られたものの、この2地点間には変異原性の大きな違いは認められないことから、拝島一砧下間に主な変異原物質の発生源があると推測された。

中川潮止橋、江戸川新葛飾橋の場合には、YG1024株の+S9で9回中3~7回、YG1024-S9で江戸川で2回変異原性が検出された。中川や江戸川は当所の化学物質モニタリング⁹⁾や、今回の農業調査でも他の調査地点より化学物質や農薬が検出されている。一方、高い変異原性を示した多摩川は、これら河川に比べ家庭や事務所などの生活排水の割合の高い¹⁰⁾河川である。パルプ¹¹⁾や

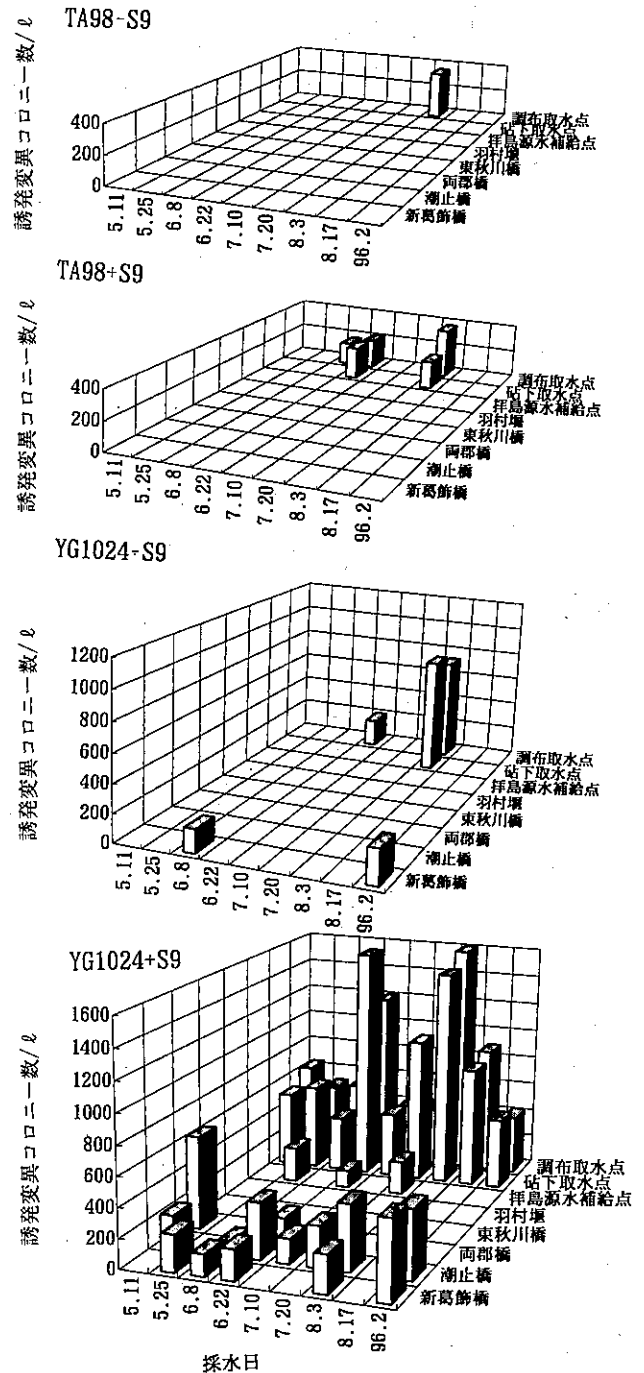


図2 都内河川8地点の変異原性

染色¹²⁾などの工場排水から変異原物質の検出は報告されているが、今回の結果から東京都内の河川では工場排水より生活排水の方がより変異原性へ寄与していると考えられる。

なお、測定期間中常時変異原性が検出された多摩川砧下、調布取水堰では9回の測定中変異原性は約4倍の変動を示した。他の地点でも変異原性は活性の変動や断続的な検出が見られた。しかし、季節的な傾向は認められ

ず、この変動が発生源側の要因か河川流量の変化による希釈など他の要因によるものかは明らかではなかった。

今回、検討した5河川中4河川からフレームシフト型の変異原物質の存在が認められた。また、その変異原性はいずれの地点においてもYG1024株でS9 mix添加時に特に高い検出回数、変異原性が見られた。Watanabeらは芳香族アミン類がS9 mix添加時に親株のTA98に比べYG1024株で変異原性の上昇を示すことを報告している⁹⁾。そのため、今回の結果から河川水中に芳香族アミン類の存在が推測された。

ただし、多摩川の砧下取水点、調布取水堰や江戸川新葛飾橋の場合、9回中2回フレームシフト型の直接変異原性が検出された。すなわち、芳香族アミンタイプの定常的な流入に加え、時として他の変異原物質の流入があ

ることが示唆された。

なお、一部検体について実施した他の4菌株での試験のうちTA98株のニトロ還元酵素活性を高めたYG1021株では、TA98株に比べ変異原活性の上昇はなく、ニトロアレンの関与の可能性は認められなかった。TA100、YG1026、YG1029株の結果はいずれも変異原性は不検出で、河川水の変異原性に影響するだけの塩基置換型の変異原物質が存在しないことが明らかとなった。

(2) 河川水中での農薬検出状況と農薬類の変異原性

表1に1995年5月から8月までの8回分の河川水を分析し、0.1 $\mu\text{g}/\ell$ 以上の濃度が検出された19種の農薬の検出状況を示した。このうち、流域に広い農耕地を持つ中川潮止橋は36種中18種と検出農薬数も多く、検出濃度も調査地点中最も高かった。江戸川新葛飾橋は検出農

表1 河川水中の農薬検出状況

	$\mu\text{g}/\ell$				
	多摩川		中川	江戸川	成木川
	砧下	調布取水堰	潮止橋	新葛飾橋	両郡橋
イキシチオン	~0.0001(1/8)	(0/8)	~0.0010(7/8)	~0.0002(2/8)	(0/8)
イ ^o ロ ^o ン ^o フォス	~0.0002(1/8)	~0.0002(1/8)	~0.0125(7/8)	~0.0005(2/8)	~0.0040(1/8)
エス ^o ロカルブ	(0/8)	(0/8)	~0.0004(3/8)	(0/8)	(0/8)
NAC	(0/8)	(0/8)	(0/8)	~0.0001(1/8)	(0/8)
ジクロロホス	~0.0001(3/8)	~0.0001(3/8)	~0.0001(1/8)	(0/8)	~0.0003(1/8)
シマジン	~0.0002(2/8)	~0.0001(1/8)	~0.0004(2/8)	~0.0001(3/8)	(0/8)
シメリン	(0/8)	(0/8)	~0.0013(7/8)	(0/8)	(0/8)
ダイアジン	~0.0002(1/8)	~0.0002(1/8)	~0.0006(5/8)	~0.0003(2/8)	~0.0003(1/8)
ベンチカルブ	~0.0001(1/8)	~0.0001(1/8)	~0.0017(6/8)	~0.0001(2/8)	(0/8)
ピリタ ^o フェンチオン	(0/8)	(0/8)	~0.0201(2/8)	(0/8)	(0/8)
フサイト	(0/8)	(0/8)	~0.0001(1/8)	(0/8)	(0/8)
プロフェジン	(0/8)	(0/8)	~0.0001(2/8)	(0/8)	(0/8)
プレチクロール	(0/8)	(0/8)	~0.0005(5/8)	~0.0001(1/8)	(0/8)
プロモ ^o チ ^o	(0/8)	(0/8)	~0.0012(6/8)	~0.0003(2/8)	(0/8)
フルトラニル	(0/8)	(0/8)	~0.0005(3/8)	~0.0001(2/8)	~0.0008(3/8)
フェニトロチオン	~0.0002(3/8)	~0.0004(4/8)	~0.0005(2/8)	(0/8)	(0/8)
フェノ ^o カルブ	(0/8)	(0/8)	~0.0090(6/8)	~0.0004(5/8)	(0/8)
メフェネット	~0.0002(1/8)	~0.0002(1/8)	~0.0220(7/8)	~0.0033(4/8)	(0/8)
モリネート	~0.0001(1/8)	(0/8)	~0.0022(6/8)	(0/8)	(0/8)

注1) : 不検出~最大濃度(検出検体数/総検体数)、ブランクは不検出。

注2) : 測定期間中、全地点で不検出農薬: イキシチオン、EPN、イ^oロ^oン^oフォス、EDDP、ブタミフォス、クロル^oリ^oフォス、TPN、CNP、トルクロフォスチル、ECP、トリシラ^oール、プロミ^oチ^o、プロ^oナ^oール、ベン^oメ^oリン、マラチオン、メ^oロ^oル、

注3) : 多摩川羽村取水堰、拝島原水補給点並びに秋川東秋川橋は、測定期間中36農薬すべて不検出であった。

薬数11種とこれに続き、多摩川、成木川の検出数は少なかった。

表2、3に環境基準項目や要監視項目等を中心とする農薬と農薬の代謝分解物の6菌株±S9でのμg 当たりの変異原性を示した。検討した17種の農薬と6種の農薬代謝分解物のうち農薬7種、代謝分解物2種に変異原性が

認められた。

変異原性陽性の農薬や農薬代謝分解物は、キャプタンを除き、いずれも河川水と異なる塩基置換型の変異原性を示した。その変異原性は環境中の代表的変異原物質であるベンツ(a)ピレン (TA98 +S9、320コロニー/μg) や1-ニトロピレン (TA98-S9、2,100コロニー/

表2 農薬類の変異原性

誘発変異コロニー数/μg

	TA98		YG1021		YG1024		TA100		YG1026		YG1029	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
イキサチオン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
イプロチオン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EPN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7	-	1.3
イプロキシス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
キシン銅	-	-	-	-	-	-	-	4.3	-	13.9	-	13
キャプタン	12	0.2	11	1.4	18	1.3	72	1.4	49.5	2.7	63	3.4
クロタロニル	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
クロルピロフェン	-	-	-	-	-	-	-	1.4	0.87	2.3	2.1	14
ジクロロホス	-	-	-	-	-	-	-	0.08	0.07	-	-	-
シマジン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ダイアジン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
チオベンカルブ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
チクラム	-	-	-	-	-	-	-	0.51	0.8	1.1	-	1.5
プロメチ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
フェニトチオン	-	-	-	-	-	-	1.4	0.46	0.17	0.34	0.45	0.61
プロキサミト	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
フェノカルブ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注) -は不検出。

表3 農薬代謝物の変異原性結果

誘発変異コロニー数/μg

	TA98		YG1021		YG124		TA100		YG1026		YG1029	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
チオベンカルブ スルホン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
プロメチ 脱臭素体	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
フェニトチオン オキソン	-	-	-	-	-	-	0.44	0.43	0.53	0.49	0.51	1.61
3-メチル-4-ニトロフェノール	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p-クロトルエン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p-クロロベンジクロライド	-	-	-	-	-	-	3.3	-	3.9	0.79	-	-

注) -は不検出。

μg) などと比べかなり低かった。唯一フレームシフト型の変異原性も示したキャプタンの場合でも、変異原性は低く (YG1024 +S9、1.3 コロニー/μg)、河川の変異原性に影響するとは考えられなかった。

更に直接の関連のみならず、6月22日の例 (図3) に見られるように、検出農薬濃度と変異原性との汚染傾向は異なっている。DDTなどを現在でも使用している国では農薬が河川の変異原性に影響する例¹³⁾が報告されているものの、日本では水系を汚染する可能性のある農薬は河川の変異原性には関与せず、変異原性も農薬汚染の指標にはならないことが示唆された。

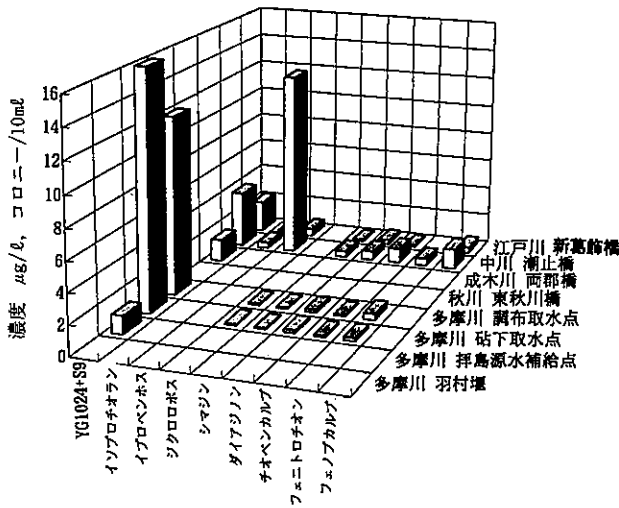


図3 河川水の農薬濃度と変異原性の関係
—1995年6月22日採水—

(3) 複素芳香族アミンの検出と河川の変異原性

変異原性試験が、環境基準項目、要監視項目などのスクリーニング法とはならないことが明らかとなったが、一方では、河川中に現在監視・規制されている項目以外に変異原性を示す汚染物質の存在が示唆された。

そこで、河川水から三環以上の多環芳香族炭化水素を選択的にブルーキチンを用いて濃縮し、YG1024+S9から推定された芳香族アミンについて、HPLCで検討した。図4に示すように、保持時間から複素芳香族アミンのTrp-P-1、Trp-P-2の存在が示唆された。そこで、HPLC条件1、2に示したように溶離液の組成やカラムを代え、両条件で標準品と保持時間が一致することを確認した。

次に、GC/MSを用いた両標準物質のマススペクトル (図5) では分子イオンピークのみが高かったため、同イオンをモニターイオンとしてSIM法で検討した。そ

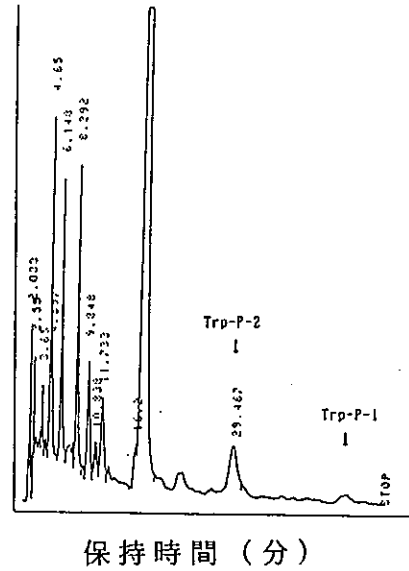


図4 河川水ブルーキチン抽出物のHPLCクロマトグラム
—多摩川調布取水堰におけるTrp-P-1、Trp-P-2—

の結果、図6に見られるようにTrp-P-1、Trp-P-2の存在が確認された。

表4に、河川水のHPLCによる定量結果とYG1024株+S9での変異原性を示した。いずれもその存在量は極微量ではあるが、2回の結果で見限り河川水中にはTrp-P-2の方が多く存在していた。また、Trp-P-1、Trp-P-2の変異原性を標準品で検討したところ各々YG1024株+S9でμg当たり87,300コロニー、100,900コロニーという結果が得られた。そのため、調布取水堰の河川水の変異原性は他の共存物質による相乗/相殺作用などないと仮定するとその1.1~5.8%がTrp-P-1、Trp-P-2によるものと推定される。

表4 多摩川調布取水堰における河川水の変異原性とTrp-P-1とTrp-P-2濃度

	YG1024 +S9	Trp-P-1	Trp-P-2
1995. 12	325 コロニー/ℓ	0.10ng/ℓ	0.12ng/ℓ
1996. 2	1,100 コロニー/ℓ	0.03ng/ℓ	0.08ng/ℓ

複素芳香族アミンは、加熱食品のみならずヒトのし尿中に検出されている。更に最近では、流入都市下水¹⁴⁾、し尿処理場等の排水¹⁵⁾からTrp-P-2の検出が報告されて

いる。これらの知見から、今回検出されたTrp-P-1、Trp-P-2は人間のし尿由来で、排水処理で完全には分解せず河川に流入したものと考える。

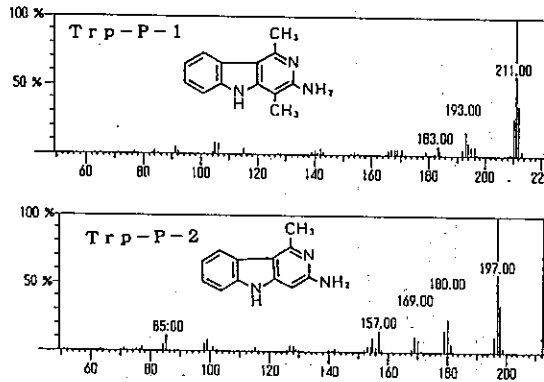


図5 Trp-P-1、Trp-P-2標準品のGC/MSマスペクトル

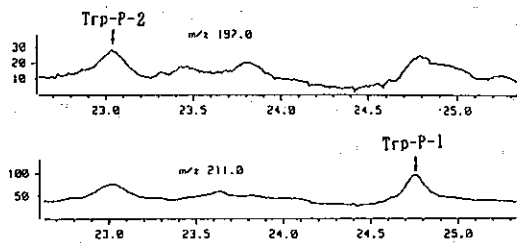


図6 河川水ブルーキッチン抽出物のGC/MS(SIM)クロマトグラム
—多摩川調布取水堰におけるTrp-P-1、Trp-P-2—

4 まとめ

都内河川の変異原性試験と農薬、Trp-P-1、Trp-P-2の測定から、次のような結果を得た。

- ① 東京都内の河川水の変異原性はフレームシフト型で、特に芳香族アミンに感受性の高いYG1024株でS9 mix存在下で高い変異原性が認められた。それに加え時としてフレームシフト型の直接変異原物質の流入があることが明らかとなった。
- ② 水環境保全のため監視・規制されている農薬のうち変異原性を示す農薬は、塩基置換型で変異原性も低く、河川水の変異原性には関与していないことが明らかとなった。
- ③ 変異原物質の排出源として流域の状況から生活系排水の関与の可能性が示唆された。
- ④ 生活系排水に含まれるし尿由来と考えられるTrp

-P-1、Trp-P-2が河川水中から検出され、河川の変異原性の原因のひとつであることが明らかとなった。

変異原性試験は多くの汚染物質が共存する媒体を総合的に評価すると同時に、多成分試料の中から未知の有害物質の検索するにも有効な手段である。今回、変異原性試験と分析を用いて多くの環境汚染物質の中から強変異原物質の複素芳香族アミンTrp-P-1、Trp-P-2を河川水中に見いだした。これら物質に由来する変異原性は河川水の総変異原性の数%であるが、複素芳香族アミン類は加熱食品などから20種ほど検出されている。そのため、これら物質群が河川水の変異原性に大きく影響している可能性があり、他の変異原物質の検索と合わせ明らかにしていきたい。

謝 辞

ブルーキッチンをご恵与下さいました岡山大学早津博士、サルモネラY G株をご恵与下さいました国立衛生試験所能美博士に深く感謝申し上げます。本研究に際し、採水や農薬分析にご協力下さいました東京都環境保全局水質監視課と(株)帝人エコサイエンスに深く感謝致します。

引用文献

- 1) Muraoka, S. and S. Yamanaka: Mutagenicity in *Salmonella typhimurium* tester strains of XAD-2 ether extracts, recovered from Katsura river water in Kyoto city, and its fractions, Mutation Res., **102**, p.13-26 (1982).
- 2) Sakamoto, H. and H. Hayatsu: A simple method for monitoring mutagenicity of river water. Mutagens in Yodo river system, Kyoto-Osaka, Bull. Environ. Contam. Toxicol., **44**, p.521-528 (1990).
- 3) Filipic, M.: Mutagenicity and toxicity of water extracts from the Sora river area, **342**, p.1-8 (1995).
- 4) Kusamran, W. R. et al.: Mutagenicities of Bangkok and Tokyo river waters, Mutation Res., **325**, p.99-104 (1994).
- 5) Wakabayashi, K. et al.: Food-derived mutagens and carcinogens, Cancer Res., **52**, p.

2092s-2098s(1992).

- 6) Hayatsu, H. *et al.* : Mutagenicity of human urine caused by ingestion of fried ground beef, *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, **76**, p. 445-448 (1985).
- 7) Hayatsu, H. *et al.* : A short-column technique for concentrating mutagens/carcinogens having polycyclic structures, **235**, p. 185-190 (1996).
- 8) Watanabe, M. *et al.* : Sensitive method for the detection of mutagenic nitroarenes and aromatic amines : new derivatives of *Salmonella typhimurium* tester strains possessing elevated O-acetyltransferase levels, *Mutation Res.*, **234**, p. 337-348 (1990).
- 9) 東京都 : 平成7年度東京都環境白書資料集(1996).
- 10) 東京都環境科学研究所 : 化学物質による環境汚染, p. 167-187 (1994).
- 11) Fracasso, M. E. *et al.* : Mutagenic activity in wastewater concentrations from dye plants, *Mutation Res.*, **298**, p. 91-95 (1992).
- 12) Kinae, N. *et al.* : Studies on the toxicity of pulp and paper mill effluents - I. Mutagenicity of the sediment samples derived from kraft paper mills, *Water Res.* **15**, p. 17-24 (1981).
- 13) Rehana, Z. *et al.* : Mutagenic activity of the ganges water with special reference to the pesticide pollution in the river between Kachla to Kannauj (U.P.), India, *Mutation Res.*, **343**, p. 137-144, (1995).
- 14) 勢川利治ら : Trp-P-2の活性汚泥処理における挙動に関する研究, *衛生化学*, **39**, p. 132-138 (1993).
- 15) 小野芳朗ら : ヒトし尿の生物処理水中に存在する Trp-P-2の同定と評価, *環境変異原研究*, **17**, p. 179-186 (1995).