

東京都内河川水における農薬汚染と変異原性との関係

芳住 登紀子* 佐々木 裕子 木瀬 晴美** 松井 道子**
若林 明子 (* 現大気保全部 ** 非常勤研究員)

要 旨

河川水における農薬汚染のスクリーニング手法のひとつとして、微生物を用いる変異原性試験（エイムス試験）の有効性について検討した。5河川8地点の河川水を用い、環境基準が定められているチウラム等農薬35種類について、3か年にわたり合計154検体について菌株 *Salmonella typhimurium* TA98 及びYG1024を用い、±S9mixの条件下で試験を行った結果、変異原性と農薬汚染とは相関が認められず、変異原性試験は農薬汚染のスクリーニング試験には有効でないことが分かった。しかし、本試験は、河川水の汚染調査の一手法としては有効である。

前処理用固相カラムによる河川水の濃縮率により、変異原性試験結果には当然相違が生じてしまう。そのため、河川水の変異原の強さすなわち汚染度の比較には、被検物質濃度（河川水の濃縮率）を低濃度から高濃度へ上げていった時、変異原性が発現する濃縮率の数値を用いるのが適切と思われる。

キーワード：河川水、農薬、変異原性試験、エイムス試験

Relation between Pesticide Contamination and Mutation Test in the River Water in Tokyo

Tokiko Yoshizumi*, Yuko Sasaki, Harumi Kise**,
Michiko Matsui** and Meiko Wakabayashi

* Air Quality Protection Division,

** Associate Researcher

Summary

Validity of mutagenicity test using micro organisms on screening pesticide contamination in the river water was examined in this study. One hundred and fifty-four (154) samples of the river water were collected from 8 different sites in 5 rivers in Tokyo for three years.

Thirty five kinds of pesticides were chemically analyzed and the mutation tests were performed using *Salmonella typhimurium* TA98 and YG1024 with and without metabolic activation.

As a result, the mutation test is not valid to evaluate pesticide concentration. On the other hand, the mutation test is shown to be useful in evaluating the contamination condition in the river water, comprehensively. In this method, the concentrated ration to give the positive mutation in solid state column process is considered to be an appropriate index.

Keywords : river water, pesticide, mutagenicity test, Ames test

1 はじめに

農薬汚染による上水源や河川水の汚染を監視するため、1991年、人の健康の保護に関する環境基準に3農薬が追加され、さらに、1993年には農薬12種が「要監視項目」に加えられた。翌1994年には「公共用水域等における農薬の水質評価指針（環境庁）」が定められ、農薬に対する監視体制が強化されてきた。

多種類の農薬濃度の分析には高度な分析技術、高価な分析機器及び多くの労力を必要としていることから、より容易な分析方法の検討が望まれている。

そこで、農薬のバイオアッセイによるスクリーニング手法として、①ミジンコによる遊泳阻害試験、②微生物を用いる変異原性試験（エームス試験）、③藻類増殖阻害試験及び④マイクロトックス法の4種類を選択し、3か年計画で農薬濃度との関連を検討した。

本報告は、この内の②微生物を用いる変異原性試験の検討結果である。この研究の中で、河川水に対する変異原性試験の評価方法についても検討を加えた。

2 調査方法

(1) 調査地点及び調査回数

1995年5月から3か年にわたり、上水源河川を中心に調査を行った。

採水地点は、図1に示す5河川8地点（江戸川：新葛飾橋、多摩川：羽村堰、拝島原水補給点、砧下取水点、調布取水点、秋川：東秋川橋、成木川：両郡橋、中川：潮止橋）

潮止橋）を選定した。なお、1997年度は成木川の両郡橋を除く4河川7地点で行った。

調査時期及び回数は、農薬の散布時期を考慮し、次のように行った。農薬の使用頻度や使用量が多く、降雨等により河川への流入が推定される5月～8月には、1995年度は8回、1996年度及び1997年度は4回行った。さらに、1996年度及び1997年度には秋の農薬散布時期である10月に1回追加し合計5回行った。農薬をほとんど使用しない時期として各年度の2月に1回調査を行った。

(2) 前処理

既報^{1,2)}と同様に行った。すなわち、変異原性試験用に採取した河川水3ℓをろ過（1μm）後、固相カラム（Sep-Pak Plus PS-2, Waters社製）に流速15ml/minで通水した。なお、通水量は固相カラム1個当たり0.5ℓとし破過が生じないようにした。通水後、それぞれの固相カラムを順次ジクロロメタンで溶出し、ジメチルスルフォキシド（DMSO）に転溶し2mlとした後、ろ過滅菌（0.22μm）して変異原性試験用の検体とした。

(3) 試験方法

菌株としては、既報^{1,2)}に従いフレームシフト型の変異原を検出する *Salmonella typhimurium* TA98株、及び、TA98の派生株でありO-アセチル転移酵素活性を高めたYG1024株の2菌株を用いた。

試験方法は、薬物代謝酵素（フェノバルビタール+ベンゾフラボン誘導ラット肝臓 9000G上清+補酵素、S9 mix）添加（以下+S9mix という。）及び無添加（以

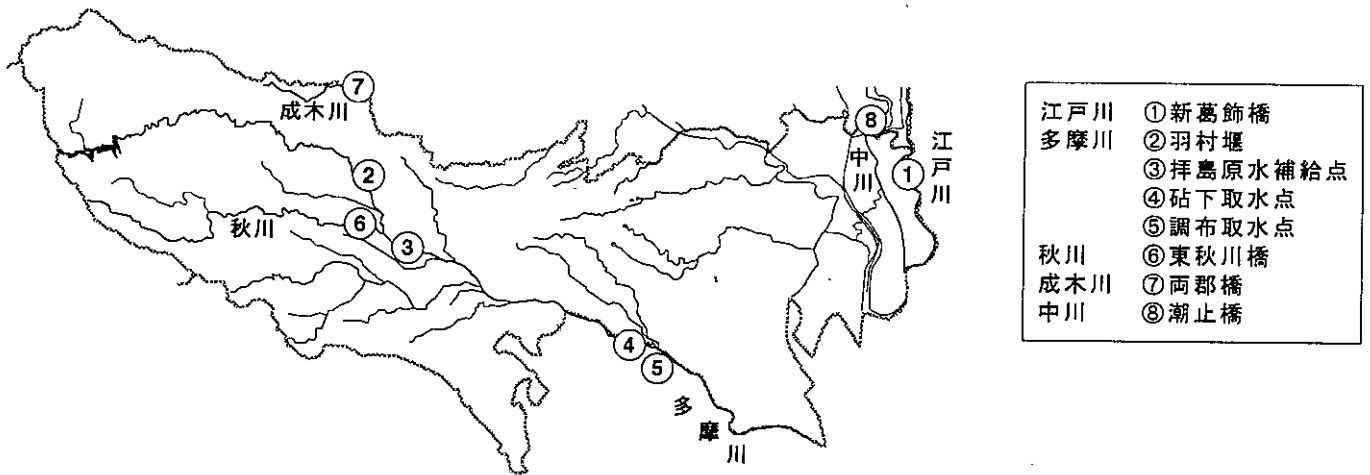


図1 河川水の採取地点

下-S9mix という。)の両条件で37°C、20分間プレインキュベーション法で行った。

変異原性試験の方法については、化学物質の試験方法として、労働安全衛生法第52条の2第1項の規定に基づき、「微生物を用いる変異原性試験の基準(テストガイドライン)」が定められている。これによると、①プレート法またはプレインキュベーション法、②+S9mix及び-S9mix条件下、③5種の菌株(ネズミチフス菌TA98、TA100、TA1535及びTA1537並びに大腸菌WP2uvrA)及び必要に応じて菌株の追加、④被験物質の用量は5段階以上(最高用量はプレート当たり5mg)、⑤各用量ごとにプレート2枚以上、となっている³⁾。

しかし、一般に河川水等濃度の薄い試料に対しては固相抽出操作により大量の水を高倍率で濃縮しなければならず、そのため実際に変異原性試験に使用できる検体量はわずかしかなければならないのが実情である。今回の河川水の調査では、可能な限り少量での試験を試みることにし、固相抽出DMSO溶液は、別途同時に調査した藻類増殖阻害試験に使用する分を除き、変異原性試験には1.0~1.3mlを供することにした。

そこで、本調査の変異原性試験に際しては、検体のDMSO溶液をプレート当たり50、100、200μℓ添加することで3段階の濃度を得ることにし、各濃度当たり1プレートとした。これを最大3回繰り返すことによって試験精度の向上を図った。

なお、3か年分の試験結果をまとめるに当たり、一部の河川水についてはDMSO溶液として冷凍保存しておいた試料で再試験を行った。

3 判定方法

(1) 予備試験 (DMSOの影響)

まず、溶媒DMSO量による菌株に対する影響を調べた。菌株TA98及びYG1024についてS9mixの非存在下で、DMSO量はプレート当たり50、100、200及び300μℓの4段階とし、プレート数は100μℓ用には10枚、その他は5枚使用した。菌株TA98及びYG1024のS9mix存在下では、100μℓ用のみとしプレートを8枚または10枚使用した。この試験を2回行った。結果を表1に示す。

両菌株とも標準的使用量である100μℓの場合に比べ300μℓでは自然復帰コロニー数は減少し、コロニーの

表1 DMSOによる影響
(平均自然復帰コロニー数*/プレート)

菌株、薬物代謝酵素		DMSO量			
		50μℓ	100μℓ	200μℓ	300μℓ
TA98. -S9mix	1回目	44.9	32.7	27.4	23.3
	2回目	43.7	32.1	36.1	26.9
TA98. +S9mix	1回目		33.6		
	2回目		50.8**		
YG1024. -S9mix	1回目	28.3	31.3	31.3	14.1
	2回目	34.2	31.5	40.5	32.6
YG1024. +S9mix	1回目		39.0		
	2回目		45.0		

* : DMSO量 100μℓは10プレート、その他は5プレートの平均値。
** : 8プレートの平均値。

周辺に阻止円が認められ、微生物に対し生育阻害を引き起こしているものもあった。D. Maronらも、同様の結果を得ている⁴⁾。よって、本試験においてDMSO使用量はプレート当たり200μℓを上限とした。

(2) 陽性対照及び陰性対照

河川水の変異原性試験に際しては、陽性対照には、S9mixを添加しない場合はAF-2を、S9mixを添加する場合には2-アミノアントラセンを用いた。また、陰性対照には溶媒であるDMSO100μℓ/プレートを用いた。復帰変異コロニー数はいずれもヒストリカルデータの範囲内であった。

(3) 判定方法

変異原性試験結果の判定は、次の手順に従って統一的に行った。

1菌株についてある濃度の試験1回(プレートごと)の判定を1次判定、同じ濃度の繰り返し試験結果(濃度ごと)の判定を2次判定、2~3種の濃度にわたる判定(菌株ごと)を3次判定とした。2種の菌株について実施された3次判定結果をもって、河川水の総合判定を行った。

ア 1次判定

1検体の1濃度におけるプレート当たりのコロニー数Aと陰性対照試験のコロニー数Bとの関係で次のようにプレートごとに分類した。

$A \leq B$	⇒	「-」	(陰性)
$B < A < 2B$	⇒	「±」	(疑陰性)
$A \geq 2B$	⇒	「+」	(陽性)

イ 2次判定

当該濃度に対して最大3回繰り返し試験を行った。繰

試験回数	1次判定の個数			2次判定
	+	±	-	
1	1	1	1	+ ± -
2	2 1 1	1 2 1	1 1 2	+ + ± - - -
3	3 2 2 1 1 1	1 2 1 3 2 1	1 1 2 1 2 3	+ + + + ± - - - -

り返し試験の回数によって上表のように当該濃度の判定(2次判定)を行った。

ウ 3次判定

1 検体について、2次判定に「+」が2個以上有る場合に「陽性」とした。1個の場合は「さらに検討を要する陽性」とした。

2次判定に「+」が1個もなく「±」が1個以上ある場合は、固相カラムによる「濃縮率によっては陽性を示す可能性がある」検体として取り扱った。

河川水の変異原性の強さは、次のように算出した。

3次判定が「陽性」あるいは「さらに検討を要する陽性」になった場合は、1次判定で「+」になったプレートのみを計算対象とした。DMSO溶液50μℓのプレートでは2×(A-B)を、200μℓのプレートでは(A-B)/2を求め、50μℓ及び200μℓの場合の誘発復帰コロニー数を100μℓ当たりに換算した。これらの平均値をさらに固相カラムによる濃縮率で除することにより、河川水1ℓ当たりの誘発復帰コロニー数を求めた。

3次判定が「濃縮率によっては陽性を示す可能性がある」場合にも、プレートごとの試験のうち「+」になったもののみ計算対象とし、河川水1ℓ当たりの誘発復帰コロニー数を算出した。

エ 総合判定

河川水に対する本調査で使用した2菌株、S9mixの存在下、非存在下の合計4条件下で行った変異原性試験のうち、3次判定がいずれかの条件下で陽性と判定された場合は、その河川水は「陽性」とした。

4 結果及び考察

(1) 河川水の変異原性

3か年にわたって調査した5河川8地点について、TA98株及びYG1024株を用いて、±S9mix条件下で行った変異原性試験結果を表2及び図2に示す。

2種の菌株TA98とYG1024の誘発変異コロニー数を比べると、全体的にYG1024株の方が高い値を示した。YG1024株はTA98株を基にO-アセチル転移酵素活性を高めた菌株⁵⁾であり、変異原に対する感受性が高くなっているため、それが反映された結果である。河川水の変異原性試験には適した菌株であることが確認された。

さらに、YG1024株の結果を薬物代謝酵素の有無のみでみると、酵素無添加(-S9mix)では変異原性を示さなかったものが、酵素添加(+S9mix)により陽性を示すようになり、酵素無添加で陽性を示している場合でも酵素を添加をすることによって一層高い値を示した。このことは、河川水が体内に取り込まれた場合に、代謝されることにより変異原性を獲得するような化学物質が河川水中に存在していることを示唆している。

河川別に見ると、多摩川羽村堰、同拝島原水補給点、秋川東秋川橋及び成木川両郡橋ではほとんど陽性を示さなかったが、多摩川砧下取水点及び調布取水点では季節を問わず陽性を示した。江戸川新葛飾橋及び中川潮止橋は両者の間で時々陽性を示していた。

YG1024株、+S9mix条件下における砧下取水点と調布取水点では良く似た経時変化パターンを示した(図2)。両者は多摩川の上流、下流の関係にありその距離は約6kmと比較的近い。この間には仙川、野川が流入しているものの、6km下流まで同種の変異原物質が存在することが推測された。経時変化パターンが良く似ているという結果は、微生物を用いる変異原性試験が河川水の汚染を調べる試験系のひとつとして有用であることを示唆している。

同時に調査した農薬35種類⁶⁻⁸⁾を表3に示す。3年間にわたり調査した河川水154検体について0.0001mg/ℓ以上検出された農薬数、35種類に対する検出割合及び検出された農薬の濃度範囲を検出割合の高い順に示した。なお、今回の調査で河川水中に検出された農薬は全部で20種類であった。

また、表2には、調査検体ごとに、農薬35種のうち検出された農薬数とその濃度範囲を示してある。農薬は種

類により生物に対する負荷がそれぞれ異なるが、ここでは対象とした農薬数が多いことから、変異原性との関係には、まず検出農薬数及び濃度範囲をもって検討することにした。

表4は、変異原性試験と農薬分析の両方が実施された河川水154検体について、総合判定と検出農薬数との関係を検体数でまとめたものである。

変異原性が「+」と「-」について検出割合を比較す

表2 都内河川の変異原性試験結果 (1995~1997年度) (誘発変異コロニー数/ℓ)

場所	採水日	TA98		YG1024		総合判定	検出農薬数	農薬濃度範囲 (mg/l)	場所	採水日	TA98		YG1024		総合判定	検出農薬数	農薬濃度範囲 (mg/l)		
		-S9mix	+S9mix	-S9mix	+S9mix						-S9mix	+S9mix	-S9mix	+S9mix					
江戸川 新葛飾橋	1995/05/11			*110	*330	+	0		多摩川 調布取水点	1995/05/11	(230)	*230	660	+	1				
	1995/05/25			170		+	3	0.0001 - 0.0002		1995/05/25			*120	530	+	0		0.0001	
	1995/06/08	*230	(290)		*160	+	5	0.0001 - 0.0005		1995/06/08		*230	*210	490	+	0			
	1995/06/22					+	10	0.0001 - 0.0003		1995/06/22			*120	200	1100	+	5	0.0001 - 0.0002	
	1995/07/10					+	3	0.0001 - 0.0003		1995/07/10		*210		500	+	1	0.0002		
	1995/07/20					+	0			1995/07/20				*530	+	0			
	1995/08/03					+	2	0.0001 - 0.0003		1995/08/03	*590	*570	730	1800	+	2	0.0001		
	1995/08/17					+	2	0.0001 - 0.0002		1995/08/17				880	+	2	0.0001 - 0.0002		
	1996/02/07	*390	*130	270	*730	+	--			1996/02/07				420	+	--			
	1996/06/14					+	0			1996/06/14				480	+	2	0.0001		
	1996/06/28					+	0			1996/06/28				420	+	0			
	1996/07/16		*190			+	0			1996/07/16	*190	190		*480	+	3	0.0001 - 0.0002		
	1996/08/13					+	0			1996/08/13					+	0			
	1996/10/25		*330			+	0			1996/10/25			360	*700	+	0			
	1997/02/07				460		+	0			1997/02/07			*350	470	+	0		
	1997/06/19			230	170	+	6	0.0001 - 0.0005		1997/06/19	*250	*140	*260	620	+	2	0.0001 - 0.0003		
	1997/06/26					+	5	0.0001 - 0.0007		1997/06/26				210	+	0			
	1997/07/03					+	2	0.0002 - 0.0004		1997/07/03				250	+	1	0.0002		
	1997/08/12			240	*110	+	2	0.0001 - 0.0002		1997/08/12				260	+	0			
1997/10/06			*100		+	0		1997/10/06	*390			270	+	0					
1998/02/10			530	*450	+	0		1998/02/10			*150	*410	+	0					
多摩川 羽村堰	1995/05/11				(650)		0		秋川 栗秋川橋	1995/05/11						0			
	1995/05/25						0			1995/05/25						0			
	1995/06/08						0			1995/06/08						0			
	1995/06/22	*430				+	0			1995/06/22						0			
	1995/07/10			*180		+	0			1995/07/10						0			
	1995/07/20					+	0			1995/07/20						0			
	1995/08/03					+	0			1995/08/03						0			
	1995/08/17					+	0			1995/08/17						0			
	1996/02/07					--				1996/02/07						--			
	1996/06/14						5	0.0001 - 0.0002		1996/06/14						0			
	1996/06/28						2	0.0001 - 0.0002		1996/06/28						0			
	1996/07/16						2	0.0001 - 0.0003		1996/07/16		*390			+	0			
	1996/08/13						2	0.0001 - 0.0002		1996/08/13					+	0			
	1996/10/25						0			1996/10/25		210	*970	*450	+	0			
	1997/02/07						0			1997/02/07					+	0			
	1997/06/19			*110		+	0			1997/06/19						0			
	1997/06/26					+	0			1997/06/26						0			
	1997/07/03					+	0			1997/07/03						0			
	1997/08/12					+	0			1997/08/12			*120		+	0			
1997/10/06					+	0		1997/10/06						0					
1998/02/10			*110		+	0		1998/02/10						0					
多摩川 拝島原水補給点	1995/05/11						0		成木川 高都橋	1995/05/11				630	+	0			
	1995/05/25						0			1995/05/25						0			
	1995/06/08						0			1995/06/08						1	0.0001		
	1995/06/22						0			1995/06/22						0			
	1995/07/10		(360)				0			1995/07/10		*400			+	0			
	1995/07/20						0			1995/07/20						0			
	1995/08/03						0			1995/08/03			*150		+	2	0.0003 - 0.0013		
	1995/08/17						0			1995/08/17						1	0.0003		
	1996/02/07					--				1996/02/07						--			
	1996/06/14						0			1996/06/14				(970)		0			
	1996/06/28						0			1996/06/28						0			
	1996/07/16						1	0.0001		1996/07/16						1	0.0001		
	1996/08/13						0			1996/08/13		*390				0			
	1996/10/25		*230			+	0			1996/10/25		*230			+	0			
	1997/02/07					+	0			1997/02/07				*630	+	0			
	1997/06/19			260	210	+	0			1997/06/19						0			
	1997/06/26					+	0			1997/06/26						0			
	1997/07/03					+	0			1997/07/03						0			
	1997/08/12					+	0			1997/08/12			*120		+	0			
1997/10/06					+	0		1997/10/06						0					
1998/02/10			*150		+	0		1998/02/10						0					
多摩川 砧下取水点	1995/05/11				690	+	0		中川 潮止橋	1995/05/11				*270	+	6	0.0001 - 0.0006		
	1995/05/25			*190	700	+	0			1995/05/25					+	10	0.0001 - 0.0046		
	1995/06/08				420	+	0			1995/06/08					+	15	0.0001 - 0.0090		
	1995/06/22				1500	+	7	0.0001 - 0.0002		1995/06/22					+	13	0.0002 - 0.0040		
	1995/07/10		(490)		550	+	1	0.0002		1995/06/22				420	+	10	0.0001 - 0.0014		
	1995/07/20				1100	+	0			1995/07/10		*450		(290)	+	11	0.0001 - 0.0018		
	1995/08/03				1600	+	3	0.0001 - 0.0002		1995/07/20				310	+	7	0.0001 - 0.0010		
	1995/08/17				840	+	3	0.0001 - 0.0002		1995/08/03				*460	+	4	0.0001 - 0.0010		
	1996/02/07	*190			500	+	--			1995/08/17				460	+	--			
	1996/06/14				390	+	1	0.0010		1996/02/07				(840)		10	0.0001 - 0.0030		
	1996/06/28				350	+	1	0.0003		1996/06/14						12	0.0001 - 0.0036		
	1996/07/16		*210		740	+	1	0.0001		1996/06/28						11	0.0001 - 0.0025		
	1996/08/13	*250				+	0			1996/07/16						0			
	1996/10/25		390		1000	+	0			1996/08/13						0			
	1997/02/07				470	+	0			1996/10/25		330			+	5	0.0001 - 0.0006		
	1997/06/19				310	+	1	0.0004		1997/02/07				1200	+	11	0.0001 - 0.0016		
	1997/06/26				260	+	0			1997/06/19				*170	+	11	0.0001 - 0.0015		
	1997/07/03				260	+	1	0.0002		1997/06/26				*110	+	10	0.0001 - 0.0018		
	1997/08/12				280	+	0			1997/07/03				180	+	7	0.0001 - 0.0008		
1997/10/06				280	+	0		1997/08/12		*130		330	+	7	0.0001 - 0.0008				
1998/02/10			*120	*270	+	0		1997/10/06				340	+	1	0.0001				
			230	380	+	0		1998/02/10				*450	+	1	0.0001				

* 「さらに検討を要する」
() : 「濃縮率によっては陽性を示す可能性がある」

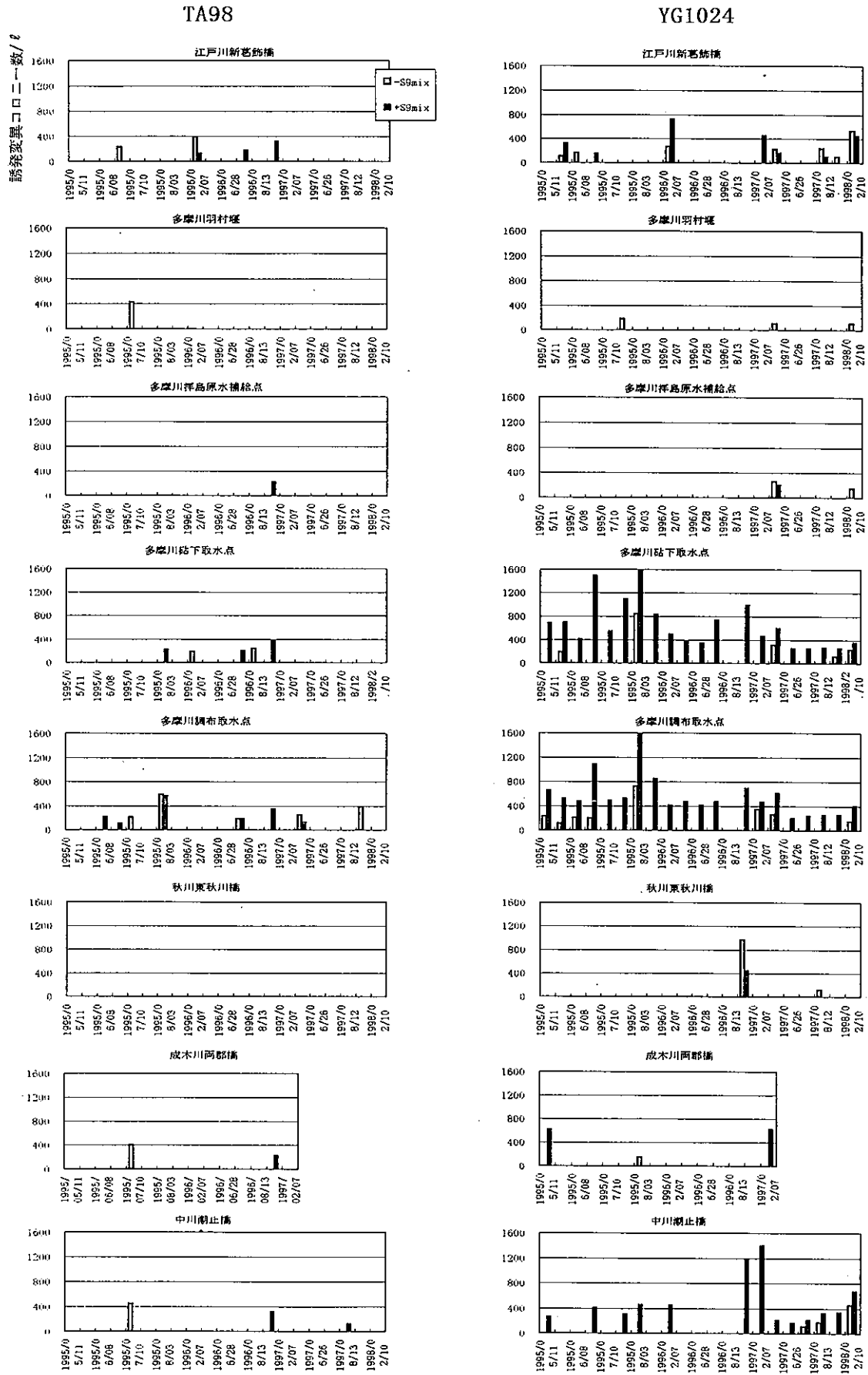


図2 都内河川の突変原性試験結果 (1995~1997年度)

表3 農薬の検出状況 (検出数順、総検体数 154)

農薬名	検出数	検出割合 (%) *	濃度範囲 (mg/ℓ)
1 イプロベンホス	26	16.9	0.0001~0.0040
2 メフェナセツト	24	15.6	0.0001~0.0046
3 フェノブカルブ	21	13.6	0.0001~0.0090
4 ジクロロボス	20	13.0	0.0001~0.0010
5 プロモプチド	20	13.0	0.0001~0.0012
6 イソプロチオラン	19	12.3	0.0001~0.0010
7 チオベンカルブ	16	10.4	0.0001~0.0017
8 ダイアジノン	16	10.4	0.0001~0.0004
9 シメトリン	16	10.4	0.0001~0.0013
10 モリネート	15	9.7	0.0001~0.0027
11 フェニトロチオン	12	7.8	0.0001~0.0002
12 プレチラクロー	12	7.8	0.0001~0.0005
13 フルトラニル	9	5.8	0.0001~0.0005
14 シマジン	8	5.2	0.0001~0.0003
15 ビリダフェンチオン	6	3.9	0.0001~0.0020
16 エスプロカルブ	4	2.6	0.0001~0.0004
17 ププロフェジン	2	1.3	0.0001
18 トリクロホスメチル	1	0.6	0.0001
19 フサライド	1	0.6	0.0001
20 トリシクラゾール	1	0.6	0.0001

検出されなかった農薬 (0.0001mg/ℓ未満)

①イソキサチオン	⑥ジクロロフェンチオン	⑪ペンディメタリン
②クロクロロニル	⑦カルバリル	⑫ブクミホズ
③プロビザミド	⑧プロベナゾール	⑬メプロニル
④クロルニトロフェン	⑨マラチオン	⑭エディフェンホス
⑤E P N	⑩クロクビロホス	⑯イプロジオン

*: 検出割合 = 100 × (検出数 / 総検体数(154))

農薬汚染とは相関がないことが分かる。

既報¹⁻²⁾において、農薬は塩基置換型の変異原性を示すのに対し、河川水はフレームシフト型の変異原性を示していることを報告し、「河川水における農薬と変異原性との相関は認められない」とした。本調査からもこのことが確認された。

(2) 変異原性試験を用いた河川水の評価方法に対する一考察

本調査の変異原性試験で実際に得られた次のデータを例に検討を行った。

被検物質質量	1プレート当たりの復帰変異数 (平均値)	1次判定
0 μ	27.8
50	27.0	「-」
100	47.5	「±」
200	57.5	「+」

表4 変異原性区分及び農薬検出数区分ごとの検体数

単位: 検体

調査地点		変異原性					
		陽性 (+)			陰性 (-)		
河川名	地点名	検出農薬数			検出農薬数		
		0	1~9	10~35	0	1~9	10~35
江戸川	新葛橋	6	4	1	5	4	
多摩川	羽村堰	3			1	2	4
	拝島原水補給点	3			1	6	1
	砧下取水点	1	9				
	調布取水点	1	9		1		
秋川	東秋川橋	3			1	8	
成木川	両郎橋	4	1		6	3	
中川	潮止橋	1	6	6	1	1	5
合計 (154検体) (154検体に対する割合%)		41 (26.6)	29 (18.8)	7 (4.5)	47 (30.5)	21 (13.6)	9 (5.8)

ると、検出農薬数が0の場合はそれぞれ26.6%、30.5%、1~9の場合は18.8%、13.6%、10~35の場合は4.5%、5.8%であり両者はほぼ同じ値を示した。すなわち、変異原性の「+」、「-」と河川水の農薬汚染とは関係が認められないことを示している。

また、表2によると、2月は農薬散布が行われないので農薬は15検体中1検体しか検出されなかったのに対し、変異原性では逆に23検体15検体も陽性であった。農薬が検出されなくても陽性を示していることから河川水の

本調査では、①河川水3ℓ→2ml(1500倍)の濃縮であったが、②3ℓ→1ml(3000倍)の濃縮、③3ℓ→4ml(750倍)の濃縮の場合を想定してみる。変異原性試験に用いる被検物質質量をプレート当たり100μℓとした場合、①は「±」、②はプレートの濃度が①の2倍になっているので①の200μℓに相当し「+」、③は①の半分の濃度であるから①の50μℓに当たる「-」となることが推定される。ひとつの河川水に対して異なった結論に達してしまうことが分かる。

すなわち、どんなに清浄な河川水であっても溶解物質を含んでいるので濃縮率を高めれば「変異原性試験陽性」という結果になってしまう可能性があり、逆にかなり汚染が進んだ河川水でも濃縮率が低ければ「変異原性試験陰性」の結論を得ることにもなる。

これを避けるためには、被検物質の濃度を低濃度側から高濃度側に向かってとった時、変異原性が最初に確認される時の被検物質の濃縮率を尺度とするのが適切と思われる。なぜなら、河川水に対しては、化学物質のように変異原性を示す比活性値(mg当たりの誘発変異コロニ数)を知ることよりも、どの位に濃縮したら変異原性を示し始めるかを知ることには意義があるからである。すなわち、変異原性が発現する濃縮率の数値で各河川の汚染

度が比較できるということである。

このことを例に当てはめてみると、濃縮率が1,500倍では「陽性」であり、750倍では「陽性ではない」ので、変異原性が最初に出現するのは750～1,500倍の濃縮率のところにあることになる。

実際の河川では、最大どの程度までを限度として濃縮するのが適当かを別途検討する必要があるが、環境基準の類型別に最大濃縮率を定め、これを河川水に対する変異原性試験の指針値のように取り扱うことも可能と思われる。なお、今回調査した地点の環境基準の類型は、1997年度でみると、江戸川：新葛飾橋A類型、多摩川：羽村堰A類型、拝島原水補給点A類型、砧下取水点C類型、調布取水点C類型、秋川：東秋川橋AA類型、成木川：両郡橋B類型、中川：潮止橋C類型である。

微生物を用いる変異原性試験のガイドラインでは①プレート当たり化学物質5mgを限度とし、②陰性対照試験の変異コロニー数の2倍以上になっている濃度について比活性値を求め、変異原性の強さを比較している。これを河川水に対応してみると、①濃縮率に上限を設け、②低濃度側から順次濃度を高めた時に最初に陽性を示す濃縮率によって変異原性の強さを比較することに相当する。さらに、変異原性を示し始める時の誘発変異コロニー数も合わせて示すと良いと考える。

河川水は、一般にフォームシフト型変異原性を示すが、河川水には雑多な化学物質が存在していることを考慮すると、フォームシフト型と塩基対置換型の変異原物質を検出する菌株を用いた方が良いと考える。河川水にはどの菌株が適しているかについても別途、さらに検討し数種類に特定しておくのが良いと考える。

さらに具体的にすると、河川の類型等に従って定められた濃縮率の固相抽出DMSO溶液100 μ lについて特定した菌株の変異原性試験を行うことにより、容易に適否のスクリーニングができるようになる。また、25、50及び200 μ lについても同時に試験を実施すれば、最初に陽性を示す濃縮率によって変異原性の強さを比較することができる。

5 おわりに

今回の調査では、河川水における農薬汚染と変異原性試験結果との関連は明確ではなく、変異原性試験は農薬汚染のスクリーニング手法としては適当でないことが分

かった。

しかし、変異原性試験で陽性を示す河川水が数多くあった。このことは、河川水中に変異原性を持つ、あるいは、代謝により変異原になる物質が含有されていることを示している。今後、変異原性の視点からも都内全域の河川の汚染状況を把握すると共に、既に報告¹⁾した物質以外に都内河川中のどのような物質が変異原性を持つかの検討も必要であろう。

謝辞

本研究に際し、*Salmonella typhimurium* TA98及びYG1024をご恵与下さいました国立医薬品食品衛生研究所の能美健彦博士に深く感謝申し上げます。環境保全局水質監視課の各位には、河川水の採取及び農薬等の分析を受け持って頂きました。また、環境科学研究所基盤研究部安藤晴夫主任にはデータ集計にご協力頂きました。ここに、心より感謝致します。

引用文献

- 1) 佐々木裕子ら：河川水の変異原性調査と原因物質の検索について、東京都環境科学研究所年報1996, p.80-87
- 2) 佐々木裕子ら：水環境における農薬の分解挙動、東京都環境科学研究所年報1997, p.128-133
- 3) 労働省化学物質調査課、安衛法における変異原性試験—テストガイドラインとGLP—、中央労働災害防止協会、p.135-137(1991)。
- 4) D. Maron *et al.*, : Compatibility of Organic Solvents with the *Salmonella*/Microsome Test, *Mutation Res.*, **88**, p.343-350(1981)。
- 5) 石館基ら、微生物を用いる変異原性試験データ集、11-18(1991)。
- 6) 東京都環境保全局、平成7年度 公共用水域及び地下水の水質測定結果, p.395-400(1996)。
- 7) 東京都環境保全局、平成8年度 公共用水域及び地下水の水質測定結果, p.404-409(1997)。
- 8) 東京都環境保全局、平成9年度 公共用水域及び地下水の水質測定結果, p.419-427(1998)。