河川水の Ames 変異原性試験における ディスク型固相吸着剤の適用

森 康明¹⁾, 節田 節子¹⁾, 高木 敬彦²⁾, 光崎 研一²⁾,
村上 和雄³⁾, 後藤 純雄⁴⁾, 遠藤 治⁴⁾, 小野寺祐夫⁵⁾

¹⁾ 神奈川県衛生研究所生活環境部 (〒241-0815 神奈川県横浜市旭区中尾1-1-1)

²⁾ 麻布大学獣医学部 (〒229-0006 神奈川県相模原市淵野辺1-17-71)

³⁾ 東京家政大学家政学部 (〒173-0003 東京都板橋区加賀1-18-1)

⁴⁾ 国立公衆衛生院地域環境衛生学部 (〒108-0071 東京都港区白金台4-6-1)

⁵⁾ 東京理科大学薬学部 (〒162-0826 東京都新宿区市ヶ谷船河原町12)

[平成12年5月24日受理]

Evaluation of the Solid-phase Extraction Disks for Ames Mutagenicity Test in River Water

Yasuaki MORI¹⁾, Setsuko SETSUDA¹⁾, Yukihiro TAKAGI²⁾, Ken-ichi KOHZAKI²⁾,
Kazuo MURAKAMI³⁾, Sumio GOTO⁴⁾, Osamu ENDOH⁴⁾ and Sukeo ONODERA⁵⁾

¹⁾ Kanagawa Prefectural Public Health Laboratory
(1-1-1 Nakao, Asahi-ku, Yokohama, Kanagawa 241-0815)

²⁾ Azabu University
(1-17-71 Fuchinobe, Sagami-hara, Kanagawa 229-0006)

³⁾ Tokyo Kasei University
(1-18-1 Kaga, Itabashi-ku, Tokyo 173-0003)

⁴⁾ National Institute of Public Health
(4-6-1 Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-0071)

⁵⁾ Science University of Tokyo
(12 Ichigaya-funagawara-machi, Shinjuku-ku, Tokyo 162-0826)

[Received May 24, 2000]

Summary

A comparison of the solid-phase extraction disks and the solid-phase extraction cartridges for Ames mutagenicity test of river water was conducted. Acetone and ethyl acetate were suitable solvents for extracting mutagen from the disk and the cartridge after the passage of river water.

Mutagenicity, towards test strain *S. typhimurium* TA98, of the extracts obtained from disks was almost similar to that of the extracts obtained from cartridges. Thus, the use of solid-phase extraction disk was useful as an extraction procedure for the Ames mutagenicity test of river water. This extraction procedure was applied to seven rivers in Kanagawa Prefecture and their Ames mutagenic activities were evaluated.

Key words: membrane extraction disk, Ames test, river water, solid-phase extraction, micro-suspension procedure

1. はじめに

我々の生活を取り巻く環境水中には、複雑多岐にわたる揮発性ならびに不揮発性の微量有機汚染物質が存在する。特に家庭雑排水、工場排水、農業排水、ゴルフ場排水など数多くの発生源に由来する化学物質による河川、湖沼などの水道原水の汚染が懸念されており、これら化学物質の中には発癌性や変異原性を有するものも存在している。

それ故、水域環境における水質保全や水の安全性評価を行うため、従来の化学的手法に加え、総括的な毒性評価方法としてのバイオアッセイ手法を取り入れる必要性がある。現在、バイオアッセイの中でも微生物を用いた Ames 変異原性試験が、環境水の安全性を評価するための一つの手法として我が国をはじめ諸外国で検討され、多くの報告¹⁻⁵⁾がなされている。

しかしながら、環境水中に存在する変異原性物質は微量であるため、試料を濃縮する必要がある。現在、液-液抽出法^{6,7)}や XAD 樹脂などの高分子樹脂を用いて濃縮する方法⁸⁻¹⁰⁾、CSP-800を用いて濃縮する方法¹¹⁾、ブルーレイオン懸垂法を用いて濃縮する方法^{12,13)}等、その方法は様々であり、統一された最適な濃縮方法は定められていない。

最近、水試料を濃縮するための前処理が容易であることから、河川水中の農薬の分析^{14,15)}、環境水中の多環芳香族炭化水素類の分析¹⁶⁾やダイオキシン類の分析¹⁷⁾などにディスク型固相吸着剤が使用されている。ディスク型固相吸着剤はカートリッジ型固相吸着剤に比べて通水所要時間が短く保持能力が高いことや吸着剤からの水分除去が容易であるなどの利点を有していることから、河川水の Ames 変異原性試験における濃縮手法へのディスク型固相吸着剤の適用性について評価するため、*Salmonella typhimurium* TA98 (以下、TA98株と略す)を用いて我々が先に報告¹⁸⁾したカートリッジ型固相吸着剤による濃縮法と比較したので報告する。なお、変異原性試験は検出感度を高めるため、Kado ら¹⁹⁾が改良したマイクロサスペンション法を用いて行った。

2. 実験

2. 1 試薬

アセトン、ジクロロメタン、酢酸エチル、メタノール、*n*-ヘキサンは和光純薬工業株式会社製残留農薬試験用のものを用いた。硫酸は和光純薬工業株式会社製の精密分析用のものを用いた。無水硫酸ナトリウムは和光

純薬工業株式会社製の残留農薬試験用試薬を500℃で4時間の熱処理したものを用いた。

D (+)-グルコース、硫酸マグネシウム7水和物、クエン酸1水和物、リン酸水素2カリウム、リン酸アンモニウム4水和物、L-ヒスチジンは和光純薬工業株式会社製の特級試薬を、(+)-ピオチンは和光純薬工業株式会社製の一级試薬を用いた。寒天は Difco 社製の BACTO-AGAR を、菌培養液は OXOID 社製のニュートリエントブロス No.2を用いた。ジメチルスルホキシド (DMSO) は株式会社同仁化学研究所製のルミナゾール用試薬を用いた。S9は7週令のSDラットの雄に誘導体としてフェノバルビタールおよび5,6-ベンゾフラボン腹腔内投与した肝臓から調製したもの(キッコーマン株式会社研究本部第7研究グループ)を、コーファクターはオリエンタル酵母工業株式会社の Cofactor-1を用いた。

2. 2 器具

加圧型固相抽出用定流量ポンプ: Sep-Pak コンセントレーター plus (ウォーターズ社)、エムボアディスク用吸引マニホールド一式: KEL-F スクリーン、ガラスファンネル、クラブ (ジーエルサイエンス株式会社)、超音波発生装置: UT-604F (600W/43kHz) (シャープ株式会社)

2. 3 固相吸着剤

カートリッジ型固相としては日本ウォーターズ株式会社製の Sep-Pak Plus C_{18} (以下、 C_{18})、Sep-Pak Plus PS-2 (以下 PS-2)、Sep-Pak Plus AC-1 (以下 AC-1)を用いた。

ディスク型固相としては3M製のエムボアディスク Octadecyl (以下 C_{18})、SDB-XD (以下 XD)、Activated Carbon (以下 AC)を用いた。

2. 4 変異原性試験

2. 4. 1 試料の調製

採取した河川水はガラス繊維ろ紙 (whatman, GF/A, 1.5 μ m) でろ過後、濃硫酸を用いて pH2 以下に調整した。

2. 4. 2 採水地点

帷子川: 学校橋 (1999年3月12日)、多摩川: 府中四谷橋 (1999年5月6日)、鶴見川: 新羽橋 (1999年5月6日)、相模川: あゆみ橋 (1999年7月1日)、境川: 境橋 (1999年7月1日)、引地川: 上村橋 (1999年8月4日)、柏尾川: 神鋼橋 (1999年8月4日)

2. 4. 3 変異原性試験用試料の調製

2. 4. 3. 1 カートリッジにおける調製

C₁₈とPS-2, AC-1をあらかじめアセトン 5 mlと酢酸エチル 5 mlで洗浄したのち, さらに酸性水(ミリQ水に硫酸を加えてpH2以下にしたもの) 5 mlで洗浄した。洗浄したカートリッジをC₁₈, PS-2, AC-1の順に直列に連結したもの3組を, それぞれコンセンレーターに取り付け, C₁₈側から20ml/minの流速で一組のカートリッジに河川水 1 lを通水し, 合計3 lを処理した。通水した濃縮物は, 減圧下で10分間脱水した。次に, それぞれのカートリッジに吸着した有機物を, C₁₈, PS-2, AC-1のカートリッジごとに1つのカートリッジあたりアセトン 5 mlおよび酢酸エチル 5 mlを用いて溶出させた。各カートリッジの溶出液をすべて集め, この90mlの溶出液にヘキサシ10mlと無水硫酸ナトリウム 15gを加え一昼夜室温で放置して脱水した。その後, ロータリーエバポレーターで数mlに濃縮した後, N₂気流で1000倍(3 ml)に濃縮したものを変異原性測定用の試料とした。

2. 4. 3. 2 ディスクにおける調製

エムポアディスク用吸引マニホールドを用いて変異原性試験用試料の調製を行った。河川水には極性の異なる種々の有機物質が存在しているため, ディスクへの保持能力を高めるため化学的性状の異なるディスクを積層することにした。また, 各ディスクに捕捉された物質を個別に抽出することにより極性の異なる変異原性物質の分布状況も把握できる。そのため3組の吸引マニホールドを用意し, 3種類のディスクをそれぞれのKEL-Fスクリーン上にAC, XD, C₁₈の順に積層したのち, ガラスファンネルとクラブをセットし, コンディショニングを行った。まず, アセトン20mlをディスクに1分間なじませてから引ききる。ついで, メタノール20mlを1分間なじませた後吸引し, ディスク上に3 mm程を残して酸性水40mlを再びディスク上に3 mm程を残すまで吸引する。その後, 河川水 1 lを約200ml/minで通水した。一河川につき合計3組, 河川水 3 lを処理した。さらにそのまま約45分間吸引し続けてディスクを乾燥させた後, 積層したAC, XD, C₁₈ディスクをビーカーに移し, アセトン10ml中に15分間浸潤させた後, 再び酢酸エチル10mlで同様に浸潤させることによりディスクに吸着した変異原性物質を溶出した。3組の溶出液(60ml)を一つに集め, 無水硫酸ナトリウムを加えて一昼夜室温で放置し脱水した。その後, ロータリーエバポレーターで濃縮した後, N₂気流で1000倍(3 ml)に濃縮し, これを変異原性測定用の試料とした。

ディスク型固相吸着剤による試料の調製法の概要をChart 1に示す。

Chart 1 Outline of the extraction procedure using solid-phase extraction disks for the Ames mutagenicity test of river water

2. 4. 4 マイクロサスペンション法による変異原性試験

変異原性試験は, TA98株を使用しマイクロサスペンション法²⁰⁾により±S 9 mixの条件下で行った。100mlのニュートリエントブロス No.2溶液に保存菌株の200 μlを加えて, 77rpmで17時間培養した。一定量の菌懸濁液を遠心管に分取し, 4℃, 9000×gで15分間遠心分離を行った。この操作で得られた菌細胞に, 分取した懸濁液の1/10量の0.015M-PBSを加えて再懸濁した。5 μlのDMSOを予め加えた10×100mmの滅菌済み試験管に変異原性測定用試料を段階的に(10~150 μl)加えた。次に, 室温で溶媒を完全に除き, 有機物をDMSOに溶媒転換した後, 50 μlの0.015M-PBS, またはS9 mixと50 μlの菌懸濁液を加えた。その試験管にアルミニウム製の蓋をし, 37℃で90分間ブレインキュベーションした。ブレインキュベーション後, 試験管に90nmolのピオチン-ヒスチジンを含む2 mlのトップアガーを加え, 試験管ミキサーで攪拌した後, 直ちに最少グルコース寒天培地のシャーレ上に注ぎ, 48時間, 37℃でインキュベートした。48時間後の復帰コロニー数を計測し, 量-反応曲線の直線部分の傾きから変異原活性を求めた。

3. 結果および考察

3. 1 固相吸着剤からの溶出溶媒の検討

河川水を実験方法2. 4. 3の項に従い, 極性の異なる

る3種類のカートリッジを5組づつ直列に連結し、また3種類のディスクを5組づつ積層させ各々1ℓ通水した。溶出溶媒は極性の異なる5種類の溶媒としてヘキサン、ジクロロメタン、酢酸エチル、アセトン、及びメタノールを用い、各溶出液の変異原性について測定した。その結果の一部をFig. 1に示す。C₁₈は酢酸エチル、アセトン、メタノールで、PS2は酢酸エチル、アセトン、メタノールおよびジクロロメタンで同程度の高い活性を、C₁₈は酢酸エチルで高い活性を、XDはアセトンで高い活性を示した。なお、AC1とACの溶出液はいずれも活性を示さなかった。AC1とACで活性を示さなかったのは、カートリッジ、ディスクとも直列に連結し濃縮したため、殆どの変異原物質がPS2またはXDまでの吸着剤に捕捉されたためと考えられる。これらの結果から、固相吸着剤からの溶出溶媒として、①河川に存在する変異原性物質は種々異なることが考えられること、②すべての吸着剤で酢酸エチルとアセトンで高い変異原活性が得られたことから、各吸着剤の溶出溶媒としてアセトンと酢酸エチルを併用することが好ましいと判断された。

3. 2 ディスク濃縮物の溶出方法

ディスクに吸着した変異原性物質の溶出方法として超音波法と浸潤法の比較を行った。超音波法はディスクをアセトン10ml、酢酸エチル10mlを用いて各15分間超音波発生装置（出力：43kHz）で溶出を行った。浸潤法はディスクをアセトン10ml、酢酸エチル10ml中に各

15分間浸潤させた。このようにして得られた溶出液の変異原活性をTable 1に示す。変異原活性は超音波法において12,200±1,650net rev./ℓ、相対標準偏差13.5%、浸潤法において14,700±987net rev./ℓ、相対標準偏差6.7%であった。両溶出法による変異原活性の有意差をt検定により求めたところ危険率5%で有意の差を示さなかったが、変異原活性の相対標準偏差は、超音波法による溶出に比べ浸潤法による溶出の方が小さいことから、ディスク型固相の溶出方法は浸潤法が好ましいと考えられた。

3. 3 ディスク型固相への変異原性物質の添加回収

河川水中に幅広く存在すると考えられる3種類の変異原性物質について吸着剤への添加回収を検討した。有機物質の不完全燃焼生成物である多環芳香族炭化水素類で

Table 1 Mutagenic activity of the extracts obtained from disks by each dissolution procedure

No.	TA98 Strain (- S9 mix)	
	Mutagenic activity (net rev./ℓ)	
	Infiltration	Ultra sonic
1	15,200	14,000
2	15,400	10,800
3	13,600	11,700
Mean	14,700	12,200
S.D	987	1,650
R.S.D (%)	6.7	13.5

S.D: standard deviation, R.S.D: relative standard deviation

Fig. 1 Dose response curves in TA98 strain without S9 mix obtained from river water extracts by solid phase adsorbents

◇: Hexane, ▲: dichloromethane, ○: ethyl acetate, ●: acetone, △: methanol

比較的水に対する溶解度が高く、一般の河川に存在するピレン (Py) と、農薬として使用され環境水への指針値が $3\mu\text{g}/\ell$ と定められているフェニトロチオン (MEP), および殺虫剤やシロアリ駆除剤として用いられているクロルピリホス (CP) について回収実験を行った。蒸留水 1ℓ に各標準エタノール溶液 ($100\mu\text{g}/\text{ml}$) 1ml を添加し、実験の項に従い添加回収実験を行った。各固相吸着物を酢酸エチルで溶出したのち N_2 気流で 1ml に濃縮した。ここに得られた酢酸エチル溶液 $1\mu\ell$ を GC/MS 装置に注入し、回収率を求めた。なお、回収率はピーク面積法によりあらかじめ作成した検量線により算出した。その結果を Table 2 に示す。

回収率 $\pm$ 標準偏差 (相対標準偏差) は、それぞれ Py $87.5 \pm 17.0\%$ (19.4%), MEP $94.6 \pm 6.3\%$ (6.7%), CP $86.6 \pm 5.5\%$ (6.4%) であり、それぞれ良好な回収結果が得られた。

3. 4 河川水濃縮物の変異原性

2. 4. 3 で述べた溶出方法でカートリッジおよびディスクを用い、神奈川県内 7 河川の変異原性の測定を行った。それぞれの変異原活性を Fig. 2 と Fig. 3 に示す。

7 河川とも TA98 株によるフレームシフト型の変異原性が認められた。次に、カートリッジとディスクの両吸着剤からの濃縮液の変異原活性を比較した。非代謝活性

Table 2 Recoveries of the representative mutagens

No.	Pyrene	Phenyltrothione	Chlorpyrifos
1	102.7	95.3	80.4
2	69.1	100.5	88.6
3	90.8	88.0	90.8
Mean	87.5	94.6	86.6
S.D	17.0	6.3	5.5
R.S.D(%)	19.4	6.7	6.4

S.D.: standard deviation, R.S.D.: relative standard deviation

Fig. 2 Mutagenic activity of river water extracts in TA98 strain without S9 mix
■: solid-phase extraction disks, □: solid-phase extraction cartridges

Fig. 3 Mutagenic activity of river water extracts in TA98 strain with S9 mix
■: solid-phase extraction disks, □: solid-phase extraction cartridges

時 (Fig. 2) においてカートリッジ型固相濃縮物の変異原活性に対するディスク型固相濃縮物の変異原活性の割合は0.45~2.86の範囲で、平均 1.54 ± 0.91 、相対標準偏差59.2%、また、同様に代謝活性時 (Fig. 3) における変異原活性の割合は0.58~2.06の範囲で、平均 1.08 ± 0.47 、相対標準偏差43.5%であった。

この結果から、ディスク型固相の方が全体的に高い変異原活性を示しているが、両濃縮物による変異原活性は危険率5%で有意の差が認められなかった。ディスク型固相吸着剤は、通水所要時間が短く、吸着剤からの水分除去がしやすいため変異原性物質の濃縮に十分使用できるものと判断された。

3. 5 変異原性の特性

3. 4 で用いた河川水とは別に採取した境川、鶴見川、相模川について「2. 4. 3. 2 ディスクにおける調製」の項に従い河川水を濃縮した各ディスクの個別の変異原性を測定することにより、変異原性物質の分布を検討した。なお、溶出液はアセトンと酢酸エチルの2種類について行った。

ディスクによる濃縮物の変異原活性を、ディスク別に Fig. 4 に示す。アセトン、酢酸エチル溶出液に関わらず、すべての河川で C₁₈ に捕捉された物質による変異原活性が高いことが認められた。C₁₈ は *n*-オクタノール/水分配係数 (log P_{ow}) 3 以上²¹⁾ の有機物を捕捉することから、河川水のフレームシフト型の変異原性は無極性物質による寄与が高いことが示唆された。しかし、無極性物質に如何なる変異原性物質が存在するかは不明であり今後の課題である。

4. まとめ

ディスク型固相による河川水中変異原物質の測定への応用について TA98 株を用いて検討した結果、以下の結

論を得た。

1. ディスク型固相吸着剤に捕捉された変異原性物質は、アセトンまたは酢酸エチルで溶出することにより、高い変異原活性が得られた。
2. ディスク型の吸着剤に捕捉された変異原性物質の溶出方法を検討した結果、溶出液に15分間浸潤する方法が最も精度良く変異原性物質を溶出できることが認められた。
3. 代表的な汚染物質であるビレン、クロルピリホス、フェニトロチオンの回収率は、87%以上であった。
4. ディスク型固相濃縮物の変異原活性は、カートリッジ型固相濃縮物の変異原活性と同程度であった。

以上の結果から河川水の濃縮にはディスク型固相吸着剤を適用することができるものと推察された。しかし、河川水によってはカートリッジ型の固相で高い変異原活性を示すものや、ディスク型の固相で高い変異原活性を示すものがあり、さらに検討する余地があると考えられる。

また、河川水の変異原性物質の特性を検討した結果、河川水のフレームシフト型の変異原性は、オクタデシル系の吸着剤に捕捉される無極性物質による寄与の多いことが示唆された。

要 約

河川水の Ames 変異原性試験におけるディスク型固相吸着剤の適用性について検討した。代表的な河川水中変異原性物質の回収率は87~95%で、その相対標準偏差は6~19%と良好な結果を得た。神奈川県内の7河川の抽出物における変異原活性をカートリッジ型固相吸着剤の変異原活性と比較した結果、ディスク型固相による溶出液の変異原活性はカートリッジ型固相による溶出液のそれと同程度であった。しかし、ディスク型固相吸着剤は、通水所要時間が短く吸着剤からの水分除去もしやすいこ

Fig. 4 Distribution of the mutagenic activity of river water extracts observed by solid-phase extraction disks

■: Acetone extracts, □: ethyl acetate extracts

とから、河川の Ames 変異原性試験に有用であると考えられた。また、河川水のフレームシフト型の変異原性はオクタデシル系の吸着剤に捕捉される無極性物質による寄与の高いことが示唆された。

謝 辞

終わりにあたり、本実験に御協力していただいた麻布大学獣医学部 渡辺啓太ならびに東京家政大学家政学部 長谷川由香、佐藤紀子、御守美穂の諸氏に深謝致します。

文 献

- 1) Filipic, M. and Toman, M.J.: Ecotoxicological studies using modified Ames bioassay. *Water Sci. Technol.*, **34**, 1 (1996)
- 2) Kool, H.J., Hrubec, J., Van Kreijl, C.F. and Piet, G.J.: Evaluation of different treatment processes with respect to mutagenic activity in drinking water. *The Sci. of Total Environ.*, **47**, 229 (1985)
- 3) Vartiainen, T. and Liimatainen, A.: Relation between drinking water mutagenicity and water quality parameters. *Chemosphere*, **17**, 189 (1988)
- 4) Basu, D.K., Saxena, J., Stoss, F.W., Santodonato, J., Neal, M.W. and Kopfler, F.C.: Comparison of drinking water mutagenicity with leaching of polycyclic aromatic hydrocarbons from water distribution pipes. *Chemosphere*, **16**, 2595 (1987)
- 5) 内海英雄, 濱田 昭, 早津彦哉, 橋本徳蔵, 相沢 靖: 河川水中変異原活性の季節・流域変動, 水質汚濁研究, **13**, 227 (1990)
- 6) Ahnoff, M. and Josefsson, B.: Apparatus for in situ solvent extraction of nonpolar organic compounds in sea and river water. *Anal. Chem.*, **48**, 1268 (1976)
- 7) Vartiainen, T. and Liimatainen, A.: High levels of mutagenic activity in chlorinated drinking water in Finland. *Muta. Res.*, **169**, 29 (1986)
- 8) Sakamoto, H., Ohe, T., Hayatsu, T. and Hayatsu, H.: Evaluation of blue-chitin column, blue-rayon hanging, and XAD-resin column techniques for concentrating mutagens from two Japanese rivers. *Mutat. Res.*, **371**, 79 (1996)
- 9) Stachel, B., Baetjer, K., Cetinkaya, M., Duwsein, J., Lahl, U., Lierse, K., Thiemann, W., Gabel, B., Kozićki, R. and Podbielski, A.: On site continuous liquid-liquid extraction of nonpolar organic compounds in water. *Anal. Chem.*, **53**, 1469 (1981)
- 10) Van Rossum, P.G.: Progress in the isolation and characterization of non-volatile mutagens in a drinking-water. *The Sci. of Total Environ.*, **47**, 361 (1985)
- 11) 田中一浩, 守田康彦, 高橋敬雄: 新潟県内の水道水・河川水の変異原性について, 水環境学会誌, **16**, 657 (1993)
- 12) 佐々木祐子, 木瀬晴美, 菊池幹夫: 河川の変異原性とその原因物質の検索について, 環境変異原研究, **18**, 21 (1996)
- 13) Vartiainen, T., Liimatainen, A., Jaakelainen, S. and Kauranen, R.: Comparison of solvent extractions and resin adsorption for isolation of mutagenic compounds from chlorinated drinking water with high humus content. *Water Res.*, **21**, 773 (1987)
- 14) 栗山清治, 柏原督弘: ディスク型固相抽出の農業分析への応用, 環境化学, **5**, 807 (1995)
- 15) 茨木 剛, 小熊千佳子, 川田邦明, 坂井正昭, 貴船育英: 固相カートリッジ及びディスク型固相を用いた農業の分析, 第8回環境化学討論会講演要旨集, pp196-197 (1999)
- 16) Michor, G., Carron, J., Bruce, S. and Cancilla, D.A.: Analysis of 23 polynuclear aromatic hydrocarbons from natural water at the sub-ng/l level using solid-phase extraction and mass-selective detection. *J. Chromatogr.*, **732**, 85 (1996)
- 17) 渡辺 功, 宮野啓一, 小泉義彦, 鶴川昌弘: C₁₈ ディスク型固相を用いた環境水中のダイオキシン類抽出法の検討, 第8回環境化学討論会講演要旨集, pp192-193 (1999)
- 18) 森 康明, 節田節子, 後藤純雄, 小野寺祐夫, 松下秀鶴: 水道水における変異原性の特徴, 環境化学, **5**, 667 (1995)
- 19) Kado, N.Y., Manson, C., Eisenstadt, E. and Heish, D.P.H.: The kinetics of mutagen excretion in the urine of cigarette smokers. *Mut. Res.*, **157**, 227 (1985)
- 20) Mori, Y., Onodera, S., Takitani, S. and Matsushita, H.: A simple and sensitive method for detection of mutagens in water by a combination of solid phase extraction and microsuspension procedure. *J. Environ. Chem.*, **3**, 561 (1993)
- 21) 奥村為男, 今村 清: キャピラリー・GC/MSによる農業の一斉分析について, 水質汚濁研究, **14**, 109 (1991)