

短報

廃棄物ライフサイクルにおける有害化学物質のリスクアセスメント手法の開発に関する研究

- 有害物質のエームス変異原性試験による毒性評価 -

吉野秀吉
(環境工学部)

共同研究 [平成12年度]

1. はじめに

本研究は、製品から廃棄、処理、処分に至るまでの有害物質の挙動・生成を把握し、ライフサイクルアセスメントに適用することを目標としている。研究は大きく2グループに分かれ、我々が担当したグループでは、「有害物質の毒性評価手法の開発」というサブテーマにしたがって研究が進められた。研究目標は、リスクアセスメントを適用するために種々の微生物や魚類、哺乳動物を使って、焼却灰や廃棄物埋立処分場からの浸出水の有害性を評価することである。当センターは、特殊な性質を持つ微生物を用い、その遺伝子変異から発がんなどのスクリーニングができるエームス変異原性試験(エームス試験)を担当した。

本研究では、焼却灰について、変異原性物質の排出状況などをまとめた。また、焼却灰の特性として、判明していなかった変異原性物質同士の相加作用、相乗作用や紫外線照射による安定性等を調べた。浸出水については、今までの知見から検出されないことを踏まえて安全性の評価方法を提案した。

2. 実験方法

2.1 焼却灰の前処理

焼却灰の変異原性物質の抽出は、すでに報告した方法¹⁾を参考にした。溶媒はジメチルスルホキシド(DMSO)の代わりに酢酸エチルを用いた。酢酸エチルは、濃縮が容易であるという利点がある。操作は、焼却灰5gと酢酸エチル30mlをガラス製50ml遠沈管に取り、10分間の振とう抽出を2回行った。2回の抽出液を合わせて濃縮し、窒素ガスパーズにより溶媒を完全に蒸発された後、DMSOに再溶解してエームス試験に用いた。

2.2 浸出水の濃縮

濃縮は、種々の化学物質を捕捉・脱離できる濃縮樹脂PS2を用いた。脱離はアセトンを用い、濃縮して500倍以上の濃縮倍率を得た。エームス試験に

は、アセトンを窒素ガスパーズにより除去してからDMSOで再溶解して用いた。

2.3 エームス試験

試験²⁾には、代表的なサルモネラ菌株であるTA98およびTA100を用いた。また、化学物質が直接、菌に作用して変異原性を示す直接変異原性と、生体内の代謝により活性化してから菌に作用する間接変異原性について実施した。間接変異原性試験には、ラットの腹腔内にフェノバルビタールを投与して、薬物の代謝酵素系を誘導した肝-ホモジネート(S9)に補助因子として無機塩類の混合溶液を添加した代謝活性化剤(S9Mix)を加えて行った。

操作は、試験管にDMSO溶液試料とS9Mixを混合した場合(間接変異原性, +S9)と混合しない場合(直接変異原性, -S9)について用意し、トプアガー(食塩を含んだ流動寒天)を加えた後、攪拌・混合して、作成しておいた栄養培地に重層した。凝固後、寒天部分を上にして48時間、37℃で培養し、コロニー数を数えた。コロニー数が多いほど変異原性強度は高い。

3. 結果および考察

3.1 焼却残さ等の変異原性

焼却残さの変異原性は、多くの施設において、電気集じん器に捕集された飛灰に検出される頻度が高く、非常に高い活性を示した施設もあった。しかし、ストーカ型の焼却炉から排出される焼却灰では、極めて活性が低いか、ほとんど検出されなかった。なお、排ガスの変異原性は高く、主に多環芳香族炭化水素類(PAHs)等であることが知られている³⁾。飛灰の変異原性は、排ガスの変異原性より検出頻度が低く、活性も低い。これらのことから、飛灰の変異原性は、排ガス中の変異原性物質が飛灰に付着していると考えられた。変異原性物質が不完全燃焼により生成され、飛灰の変異原性が高くなることが明らかとなった。飛灰の変異原性は、400℃、30分の加熱処理により除去できることも確認した。また、変異原性物質が主に多環芳香族炭化水素類(PAHs)であることも明らかにした。

3.2 変異原性物質の太陽光による影響

飛灰が変異原性物質を付着した状態で大気中へ放出されることを想定して、太陽光による影響を調べた。飛灰から検出された変異原性物質4種類および変異原性を示した飛灰2試料の太陽光照射による変異原性の変化を調べた。

実験に用いた物質は、ベンゾaピレン、トリフェニレン、ペリレン、フルオランテンの4種類である。これらの変異原性の太陽光照射による経時変化を

調べたところ、ベンゾaピレンではTA98およびTA100の+S9の場合に照射開始から200分までの間に活性が上昇し、その後徐々に低下して元の活性強度になる傾向が認められた。他のトリフェニレン、ペリレン、フルオランテンでは、太陽光照射による変異原性の変化は認められなかった。これらのことから、太陽光による変異原性物質の変化はほとんど見られないことが一部のPAHsのエームス試験から明らかとなった。

飛灰の場合は、1300時間の照射実験でも変異原性強度に変化は認められなかった。

以上の結果から、PAHsなど都市ごみ焼却によって生成される変異原性物質は比較的太陽光に対して安定であり、これらの物質が焼却灰に含まれた場合には、さらに安定して存在することが推定された。

3.3 変異原性物質の相加作用、相乗作用

生物試験が複数の化学物質を同時に検索していることは、エームス試験も例外ではない。そこで、変異原性物質であるPAHsなどの相互作用による変異原性の変化を調べた。

PAHsの相互作用に用いた物質は、都市ごみの焼却によって生成されることが明らかになっている物質のうちベンゼン環の数や立体構造が異なる7種類であり、これらを2つのグループに分けてエームス試験を行った。変異原性は、いずれのグループも混合したことによって特に高くなったり、低くなることなく、混合した単体の変異原性強度を加算した値に近かった。次に焼却灰に多く含まれる重金属のうち有害なCdとPAHsとの相互作用を調べたところ、ほぼそれぞれの変異原性強度を加算した値になった。

以上の結果から、焼却灰に含まれると予想されるPAHsなどの変異原性物質は、特定の物質が変異原性を著しく高くするような相乗作用をもつものとは考えられにくく、個々の物質が加算されて活性を示す相加作用であると考えられた。

これらのことから、変異原性物質の排出を少なくするためには、燃焼管理により廃棄物の完全燃焼を心がけること、これはダイオキシン対策により対応できていると考えられた。また有害物質を含有している飛灰も加熱処理により除去できることから、適正処理によって環境への負荷は、下げられると考えられた。

3.4 浸出水の変異原性

20施設の浸出水を対象にエームス試験を行ったところ、いずれの浸出水からも変異原性は認められなかった。

アメリカ合衆国環境保護庁（USEPA）は、飲料水の健康に関する勧告値（HA値：Health advisory），

すなわち生涯にかけて暴露された場合でも化学物質が人へ影響しない無影響濃度（HA値）を定めている。HA値を求めるにあたって、動物実験による最大無作用量（NOAEL, mg/kg/day）または最少作用量（LOAEL, mg/kg/day）を使用している。その他のパラメータとして、人の体重、不確実係数またはEPAのHAで定めている危険定数、1日の飲料水量があり、これらの値からHA値は求められる。本研究では、NOAELまたはLOAELの代わりにマウスの経口投与試験から得られた催腫瘍性の毒性値を組み込んでHA値を求めた。このとき、不確実係数の代わりに危険定数を用いるなど厳しい条件のパラメータを組み入れている。

一方、浸出水が人に摂取されることを想定した場合、最終処分場からの浸出水は、処理された後、河川に流入し、浄水場で取水されると考えられた。したがって、浸出水中に含まれる変異原性物質は、人に摂取されるまでに水量の変化などからかなり希釈されると推定された。この浸出水を含む飲料水の安全性がエームス試験で判定できれば、エームス試験は浸出水の安全性の指標を定める一つの試験法として利用できることになる。

標準物質から得られたHA値と浸出水を濃縮してエームス試験で変異原性を検出できる濃度を比較すると、最小のHA値を約500倍に濃縮したときにエームス試験で検出が可能な濃度範囲に入ることが分かった。

以上の結果から、浸出水を500倍に濃縮した試料の変異原性が認められなければ、浸出水の催腫瘍性、さらに発がん性の可能性は、非常に低く、安全と考えられた。

なお、この評価は、エームス試験で把握できる物質に限っていることやHA値の求め方についても、さらに検討が必要などところがあるため、浸出水の安全性評価は、催腫瘍性に関する安全性をエームス試験から推定する場合の一例として示せるのではないかと考えた。今後、エームス試験では検出できない他の生物試験を組み合わせた評価方法の確立が必要になってくると考えており、現在、検討を進めている。

参考文献

- 1)吉野秀吉, 浦野紘平: 廃棄物学会論文誌, 4, 64-71(1993)
- 2)労働化学物質調査課編, 安衛法における変異原性試験, 中央労働災害防止協会, pp 21-63(1991)
- 3)Yoshino, H. and Urano, K.: Sci. Total Environ., 162, 23-30 (1995)