

岡山大学環境理工学部 ○小野芳朗、河原長美

山本邦一、橋詰裕二

大阪府立公衆衛生研究所 小田美光

1 はじめに

道路上から排出される雨天時排水中には多環芳香族化合物(Poly Aromatic Hydrocarbons; PAHs)である benzo(a)pyrene や fluoranthene などが検出されることが知られるようになってきた。これらは自動車の排ガス中に含まれ、不完全燃焼により発生するものが粒子体として路上に堆積するものと考えられている。一方、大気汚染の一要因として、これら PAHs のニトロ誘導体(NO_2 -PAHs)が指摘されている。これら物質の由来は確定されていないが、自動車から排出された PAHs、 NO_x が路面上で紫外線により反応して生成されと考えられている。この NO_2 -PAHs は、変異原性、発癌性ともに高い活性を示す物質群であり、大気から呼吸器を経て人体に曝露する経路が懸念されてきた。

本研究では、この NO_2 -PAHs の道路路面排水からの水環境への負荷に着目している。道路(国道、県道、市道)は定期的にその路上の塵埃を清掃されているが、時に雨天時には堆積した塵埃が洗浄され、河川や下水道に流入している。水環境への非点源負荷として着目されているが、ここに NO_2 -PAHs の挙動と生態系に関する遺伝毒性(Ecogenotoxicity)を評価し、将来的にはその道路路面における収支と制御を提起する必要があると考える。本報告中では、とくに路面排水試料の NO_2 -PAHs に関わる遺伝毒性に関して述べる。

2 方法

2.1 採取場所

2.1.1 トンネル内集塵機 道路途上にあるトンネル中には排ガスの集塵機がある。ここから採取した塵埃の溶出成分からニトロアレーン由来の遺伝毒性の検出により、それが自動車排ガス由来であることを確認しようとした。1 μm で濾別した。

2.1.2 道路路面排水 河川橋や高架橋には雨水時の排水のための樋が取り付けられている。岡山市内国道53号線において樋に採水用の簡易装置を取り付け、初期流出排水を採取した。これを1 μm で濾別した。

2.1.3 塵埃 道路清掃車は定期的に路面を洗浄している。これより塵埃を採取し、2000,1000,500,210,74 μm でふるい分けした。この74 μm 以下の乾燥重量は全体の1%であった。

2.2 抽出方法

2.2.1 固形物 濾別後の濾紙は裁断して、あるいは塵埃は、酢酸エチル 30mL をいれ、振とう器で15分間抽出した。その後、超音波洗浄器内にて、5分間超音波破碎後、遠心分離し、上澄み20mLを採取した。もう一度、酢酸エチルを残渣にいれ、同様の操作を行い、上澄み20mLを採取した。合計40mLの抽出液をロータリーエバポレーターで蒸発乾固し、DMSO 3 mL で置換した。これを懸濁物質抽出物とした。

2.2.2 溶解物 溶解性物質に関しては、濃縮に3環以上の多環芳香族化合物を選択的に吸着できるブルーキチン(フナコシ製)を、疎水性物質の吸着に優れている ODS 樹脂の Sep-Pak C_{18} (Waters 製)を連結して、ブルーキチン-Sep-Pak の順に溶液を20mL $\cdot\text{min}^{-1}$ で通水し、ブルーキチンはメタノール/アンモニアで、Sep-pak はメタノールで、5mL $\cdot\text{min}^{-1}$ で脱着し、いずれも蒸発乾固後、3 mL の DMSO に置換した。これを溶解性物質抽出物とした。

2.3 遺伝毒性試験

本研究では、ニトロ化多環芳香族炭化水素に着目している。そのために、多環芳香族化合物を選択的に吸着できるブルーキチンの適用に加え、遺伝毒性試験では、ニトロアレーンに高感度な試験系を用いた。

umu-test は、DNA の損傷の際の誤りがちの修復を行う umuDC 遺伝子の誘発を測定する遺伝毒性試験である。この親株にニトロアレーン高感受性をもつプラスミドを添加した。すなわち、試料中のニトロアレーンは、ニトロ還元酵素によってアミノ化され、さらに N-水酸化体を経て、 α -アセチル転移酵素によって、最終的に生じたニトロウムイオンが DNA を攻撃するとされている。*Salmonella typhimurium* NM3009 は、親株 TA1535/pSK1002 に、ニトロ還元酵素と、 α -アセチル転移酵素を作るプラスミド pNM13 をのせた株である。また、*S. typhimurium* NM1000 は、ニトロ還元酵素を産生しない株である。この両株による同一試料に対する β -galactosidase 活性の差は、試料中に存在するニトロアレーンによる遺伝毒性の活性を表していることになる。この試験系をブルーキチン抽出物に適用することで、多環芳香族化合物で、ニトロ誘導体による遺伝毒性の選択的検出が可能となる。

試験方法は定法にしたがい、 β -galactosidase 活性を測定した。遺伝毒性の値は、各試験間での比較が可能なように、試験ごとに測定しているポジティブコントロールの β -galactosidase 活性値の値で除した相対的な遺伝毒性値を求めることとした。すなわち $\text{Relative genotoxicity} = (\text{試料の } \beta\text{-galactosidase 活性値}) / (\text{ポジティブコントロールの } \beta\text{-galactosidase 活性値}) (\text{units} \cdot \text{units}^{-1})$ で表される。ポジティブコントロールは、NM3009/NM1000 株の系の場合、燃焼ガス中にも検出される 1-nitropyrene の $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ を用いることとした。

3 結果と考察

図-1 にトンネル集塵機塵埃の固形物抽出物の毒性を、図-2 にその溶解性のブルーキチン、Sep-pak 抽出物の毒性を示した。横軸は試験系に与えた乾燥重量物濃度である。に図に示すように、固形物からは極めて高いニトロアレーン由来の毒性が検出できた。溶解性に関してはその 50% 程度の毒性が存在する。これらより、自動車排ガス中には遺伝毒性を有するニトロアレーンが存在すること、そして、それが粒子状物質に付着している可能性のあること、また

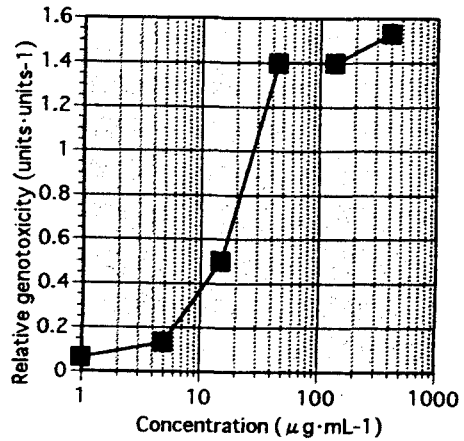


図-1 トンネル集塵機洗浄水の固形物抽出物
ニトロアレーン由来の遺伝毒性

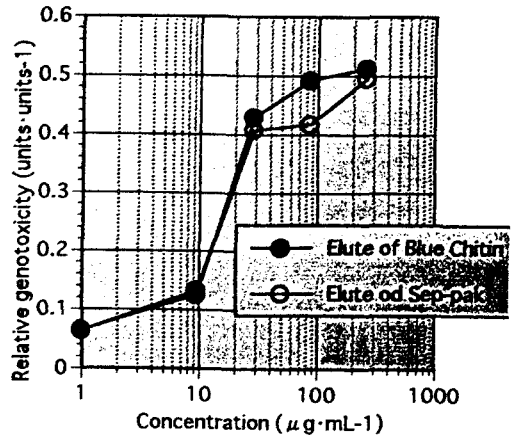


図-2 トンネル集塵機洗浄水の溶解物抽出物
ニトロアレーン由来の遺伝毒性

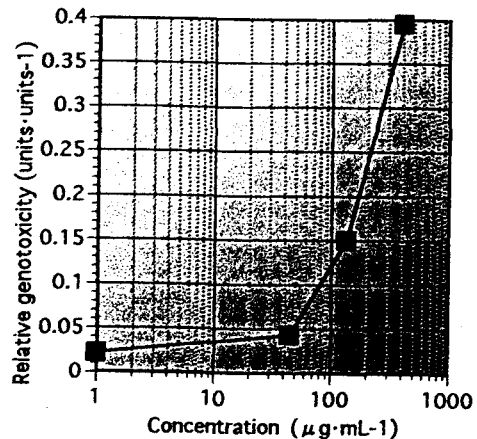


図-3 道路路面排水の固形物抽出物
ニトロアレーン由来の遺伝毒性

水で洗浄した場合、水中にも溶解してくる可能性のあることが示された。ブルーキチン抽出物の結果よりも、この一部には多環芳香族の構造を持つものの存在を示唆できる。PAHs は疎水性であるが、このニトロ誘導体の場合、親水性となるため、より水中に溶出している可能性がある。

図-3 は道路路面排水の固形物抽出物、図-4 はその溶解性成分に関する遺伝毒性結果である。自動車排ガスそのものに比せばその毒性は弱い、dose-response は得られている。ブルーキチンに比べて Sep-pak 抽出物が高く、ここでは多環芳香族が効率よくトラップできなかったようだ。これらより道路上のニトロアレーンは雨天時に樋より流出していることが示された。

図-5 は道路塵埃抽出物である。それぞれの画分ごとに遺伝毒性を測定したが、結局、最も細かい画分 $74 \mu\text{m}$ 以下の粒子に最大の遺伝毒性が認められた。図はそれを示す、極めて高いニトロアレーン由来の遺伝毒性が検出できた。つまり、自動車排ガス中の、あるいは路面で生成したニトロアレーンは路面上の $74 \mu\text{m}$ 以下の粒子に付着し、雨水時に流出してくることが考えられる。

また以上の毒性成分に関し、HPLC 分離・分析を進めている。PAHs である Benzo(a)pyrene, Fluoranthene, Benzo(b)fluoranthene について検出はできた。NO₂-PAHs は還元方によりアミノ化して測定することを検討しつつある。

4 結論

道路路面排水からの多環芳香族ニトロ誘導体に着目し、その遺伝毒性を検出した。

1) 自動車排ガスそのものを収集する集塵機からは高い毒性活性が検出されたので、排ガス粒子中にその存在が示唆された。またそれは水溶性である可能性も指摘できた。

2) 路面排水中にも毒性の痕跡が検出できることから、雨天時に流出することが示唆された。

3) 堆積塵埃からは $74 \mu\text{m}$ 以下の粒子に高い活性をみることができた。このことから、自動車排ガス由来の遺伝毒性をもつニトロアレーンが存在し、道路に堆積し、清掃されない場合で雨天時には流出している可能性を示唆することができた。

参考) 小野芳朗ら (1997) 道路路面排水中の多環芳香族化合物ニトロ誘導体由来の遺伝毒性評価、水環境学会誌、20(11)、印刷中

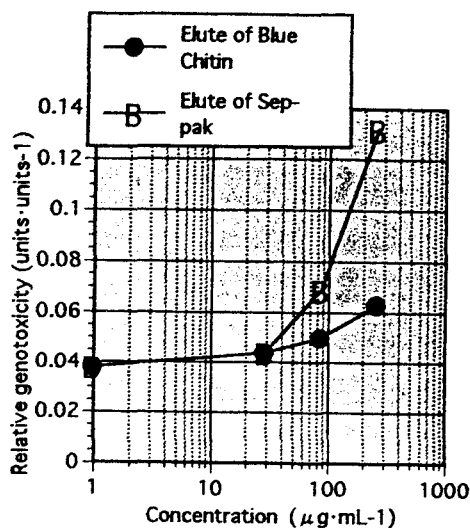


図-4 道路路面排水の固形物抽出物
ニトロアレーン由来の遺伝毒性

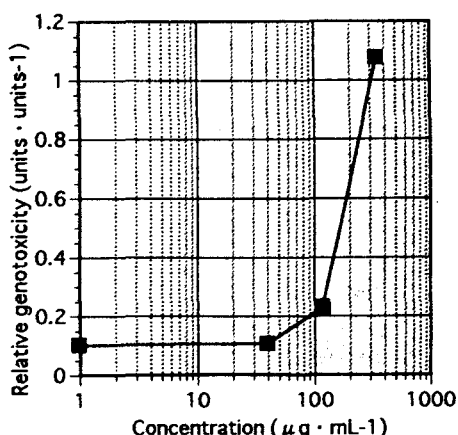


図-5 道路堆積塵埃の抽出物
ニトロアレーン由来の遺伝毒性