

環境汚染物質の変異原性に関する研究

—自動車排出ガスに関するトンネル調査—

佐々木 裕子 遠藤 立一 石黒 辰吉

泉川 碩雄 福岡 三郎 飯田 靖雄
(大気部) (大気部) (大気部)

舟島 正直 茅島 正資 鈴木 正次
(大気部) (大気部) (大気部)

梅原 秀夫 渡辺 武春 小野塚 春吉
(大気部) (大気部) (大気部)

伊瀬 洋昭 朝来野 国彦
(大気部) (大気部)

1. はじめに

ディーゼル車排出ガス中の変異原物質の実態について、筆者らは、シャーシダイナモメーター(台上試験)を用いて各種走行条件下で検討した結果を報告¹⁾してきた。しかし、台上試験では検討台数に限りがある。そこで、車種や使用状況等が異なる多くのディーゼル車の変異原物質の平均的な排出実態を明らかにするため、通行車両の95%以上をディーゼル車が占める自動車専用トンネルにおいて調査を実施した。本報では、変異原物質の排出実態、他の汚染物質との関連ならびに台上試験の結果との比較について報告する。

なお、トンネル調査の詳細な実施方法並びに各種汚染物質の排出実態については、既に「自動車排出汚染物質の排出実態に関するトンネル調査—第一、第二報」^{2,3)}において報告した。

2. 検討方法

(1) 検体

東京港第二航路海底トンネルにて、1982年5月24～28日と1983年5月31日～6月3日、9月27日、12月1～2日に調査を実施した。

トンネル内の上り線の入口側(C₁)、出口側(C₂)の2地点において、カスケード型もしくは遠心分級型10μカット装置付ハイボリュームエアサンプラー(Hi-vol)を用いて、石英濾紙(Pallflex 2500)上に粉じんを捕集した。捕集した粉じんをベンゼン-エタノール混合液(4:1, v/v)で30分間超音波抽出を行った

後、溶媒をロータリーエバポレーターを用いて減圧下で留去した。得られたタールは、ジメチルスルフォキシド(DMSO)に溶解し、濾過滅菌(ミリポア, 0.5 μm)して検体とした。

なお、タールの一部は、寺西ら⁴⁾の方法に従って5画分(芳香族炭化水素、脂肪族炭化水素、含酸素化合物、酸性、塩基性)に分画した後、DMSOに溶解し、濾過滅菌して検体とした。

(2) 菌株・試験方法

変異原性試験は、AmesらのTA100株(塩基交換型変異株)、TA98株(フレームシフト型変異株)並びにRosenkranzらのニトロレダクターゼの欠損株TA98NR5)及び1.8ジニトロピレンを活性化する酵素の欠損株TA98/1.8DNP₆株⁶⁾の4株を用い、プレインキュベーション法で行った。代謝活性化には、PCB(KC-500)誘導のラット肝の9000G上清(S9)及びNADPH産生系によるS9mixによって行った。試験は2～3回繰り返す、平均値から単位空気量当り、単位粉じん量当りの誘発変異コロニー数(rev)を算出した。また、1台の車両が1km走行する際に平均的に排出する変異原物質(混合排出係数)を下記のとおりに2測定点の結果を比較する方法で算出した。

$$Q = \frac{W}{L \times N} \times (R_2 - R_1)$$

Q: 混合排出係数 (rev/km・台)
N: 交通量 (台/時)

W : 風量 ($m^3/時$)
 L : C_1, C_2 の距離 0.764 (km)
 R_1 : トンネル入口側測定点の変異原活性 (rev/m^3)
 R_2 : トンネル出口側測定点の変異原活性 (rev/m^3)
 ただし, R_1 が欠測の場合には, R_1 は大気環境調査⁷⁾の結果のうち, トンネルのある江東区の測定点の変異原活性を用い, またLは C_2 からトンネル入口までの距離0.894 kmを用いた。

3. 結果と考察

表1に示すように, トンネル内大気の変異原性は, TA 100株とTA 98株で, ほぼ同程度の活性を示した。代謝活性化の有無では, 両菌株共にS9 mix存在下の変異原活性の方が, わずかに高い傾向が認められた。この結果をトンネルのある江東区での大気環境調査結果⁷⁾と比較すると, 空気 m^3 当りではトンネル大気の方が数倍~数十倍高いものの, 粉じん mg 当りでは, むしろ環境大気の方が高い変異原活性を示した。ベンゾ(a)ピレン(B(a)P)の場合も, トンネル内大気の方が, 空気 m^3 当りの濃度は高いが, 粉じん mg 当りでは低いという結果が得られた。また, 粉じん中のタールの割合は, 雨のためまき上げ粉じんが少ない日を除くと, C_1 で4.0~9.9%, C_2 で5.3~11.9%と, 台上試験, 環境大気の粉じんと比較して, 低い傾向が認められた。次に, ディーゼル車の台上試験(定速走行, 80 km/h)との比較では, トンネル内粉じんの mg 当りの変異原活性は, S9 mix存在下で1/10以下, S9 mix非存在下で1/20以下と著しく低かった。

以上の結果から, トンネル内粉じんの変異原活性には, まき上げ粉じんが大きく影響していることが示唆された。ディーゼル車排出ガスの変異原活性を正確に把握するためには, このまき上げ粉じんの実態把握が不可欠である。そこで, トンネルの路上堆積物を容器内に浮遊させ, 10 μ 以下の粉じんをHi-vol1サンプラーで捕集し, 前述の通り処理, 試験を行った。その結果, タールの割合は, 2.8%と著しく低く, 変異原活性もTA 100+S9で3.7 rev/mg , TA 98+S9で3.9 rev/mg という低い活性を示すことが認められた。まき上げ粉じんの構成成分は, 土壌やアスファルト, タイヤの磨耗粉じん等と推測される。このうち, タイヤ成分のカーボンブラックは変異原性試験の結果, TA 100-S9で1.3 rev/mg , TA 100+S9で2.3 rev/mg , TA 98-S9で2.7 rev/mg , TA 98+S9で1.0 rev/mg という活性を示した。また, 土壌は, 西村ら⁸⁾の報告によれば都内の最高値(道路近傍)で1.0 rev/mg であり, アスファルトも, 田村ら⁹⁾はTA 98+S9のみでわずかに変異原性を示すと報告している。いずれも, 本トンネルの10 μ 以下の路上堆積粉じんの変異原活性に近い活性であり, 構成成分である可能性が高いと考えられる。

トンネル調査と台上試験との変異原活性を比較した場合のもう一つの特徴は, 各菌株におけるS9 mix存在下と非存在下の活性の関係である。表1に見られるとおり, トンネル調査では, 両菌株共にS9 mixの有無により, あまり活性の違いは認められない。一方, 台上試験ではS9 mix存在下に比べ非存在下の変異原活性は2倍近く

表1. 表1 トンネル内粉じんの変異原活性・B(a)P

	トンネル C ₂ 地点					参 考				
	n	トンネル内粉じん		トンネル内大気		環境大気 ⁷⁾ 測定点 江東区役所 (57.12, 58.2.8)		ディーゼル車 ^{*1} 台上試験結果 ¹⁾ 定速走行 80 km/h		
		平均値	変動変数 %	平均値	変動係数 %	大気中粉じん当り 変動範囲	空気 m^3 当り 変動範囲	排 出 ガス中粉じん	排 出 ガス	
変異原活性	TA 100-S9	6	29 rev/mg	33.7	48.4 rev/m^3	56.0	36 - 165 rev/m^3	2.5 - 14.4 rev/m^3	579 rev/mg	59,700 rev/m^3
	" +S9	6	33 rev/mg	24.3	49.2 rev/m^3	45.5	40 - 92 rev/m^3	2.8 - 12.6 rev/m^3	299 rev/mg	30,800 rev/m^3
	TA 98-S9	6	25 rev/mg	36.8	43.9 rev/m^3	50.3	78 - 144 rev/m^3	4.7 - 8.1 rev/m^3	514 rev/mg	53,000 rev/m^3
	" +S9	6	31 rev/mg	27.5	46.2 rev/m^3	44.2	35 - 197 rev/m^3	2.5 - 17.2 rev/m^3	349 rev/mg	36,000 rev/m^3
粉じん (Hi-vol)	29			1210 $\mu g/m^3$	42.8		49 - 87 $\mu g/m^3$			103.1 mg/m^3
B (a)P	30	4 ng/mg	—	4.7 ng/m^3	39.1	5.5 - 10.6 ng/m^3	0.7 - 2.1 ng/m^3	—	—	—

注) *1. 54年排出ガス規制適合車(1951 cc, 渦室式)

高く、他の走行条件でもほとんどS9mix非存在下の活性が高かった。この原因は、トンネルでは台上試験と比較してはるかに希釈率が高く、採取時に沪紙上でニトロアレン類などが生成(アーティファクト)されにくいとめと考えられる。Tokiwaら¹⁰⁾は、ピレンにNO₂ 1 ppm, HNO₃ 20 ppmを24時間曝露すると、2.85%ニトロ化することを報告している。しかし、本トンネルの汚染物質の平均濃度(1982)は、C₂でNO₂ 0.12 ppm, HNO₃ 3.2 ppt, SO₂ 83 ppbであり、採取時間も1~3時間であった。トンネル内大気(C₂)の変異原活性はTA 98-S9での活性に比べ、TA 98NRで50~90%, TA 98/1.8 DNP₆で30~60%に活性が下がることから、ニトロアレン類の存在は示唆されるが、沪紙上での生成は非常に少ないと推測される。

表2 粉じん・変異原物質・B(a)Pの混合排出係数

	混合排出係数	(参考) ^{#3} ディーゼル車 台上試験 定速走行 80 km/h	
粉じん (Hi-vol) ^{#1}	1936 mg/km ³	178 mg/km	
*2 変異原 活性	TA100-S9	41,700 - 110,000 rev/km	103,000 rev/km
	# + S9	47,800 - 106,500 rev/km	53,000 rev/km
	TA 98-S9	23,700 - 97,000 rev/km	91,000 rev/km
	# + S9	44,500 - 80,100 rev/km	62,000 rev/km
B(a)P ^{*2}	0.29 - 7.94 μg/km		

注) *1. 57年度トンネル調査結果
*2. 58年度 #
*3. 54年排出ガス規制適合車 1951 cc.

表2に変異原物質並びにB(a)P, 粉じんの混合排出係数と、台上試験の結果を示した。台上試験でのディーゼル車の変異原活性は、いずれも今回のトンネル調査から算出された混合排出係数の変動巾内にあり、両者に著しい相違は認められなかった。ただし、表1の結果からも述べたように、トンネル調査では、直接変異原物質と代謝活性化を要する変異原物質の混合排出係数は、ほぼ同程度であった。トンネルを用いた変異原物質の混合排出係数については、Piersonら¹¹⁾およびGorseら¹²⁾の報告があるが、PiersonらもS9での変異原活性はほぼ同程度と報告している。また、両調査結果に比べ、本トンネル調査で得た平均混合排出係数は、両菌株士S9で40~60%低かった。この原因は、トンネル内の走行状態、抽出法などとともに、本トンネルの車両平均

7.5 tに対して、Pierson, Gorseらの用いたAllegheny Mountainトンネル車両平均が30 tであることが、最大の原因と推測される。

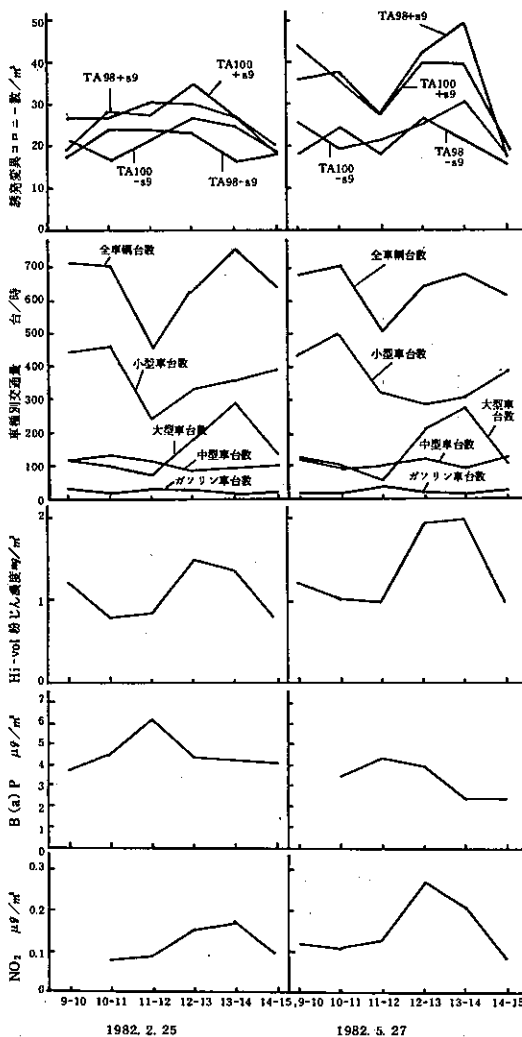


図1 トンネルC₂地点での変異原活性・車種別交通量・粉じん濃度・B(a)P濃度およびNO₂濃度の時間変化

図1に、C₂地点での変異原活性、車種別交通量、Hi-vol粉じん濃度、B(a)P濃度、NO₂濃度の時間変化を示した。変異原活性とこれら汚染物質、交通量との関連を混合排出係数を用いて検討すると、NO₂ (TA100, TA98+S9: P<0.05), 粉じん (TA100-S9, TA98+S9: P<0.01, TA100+S9: <0.05),

大型車台数 (TA100-S9: P<0.05) との間に、有意の相関が認められた。しかしながら、大気中の代表的変異原物質の一つである B(a)P の濃度は、変異原活性と良好な相関関係は認められなかった。

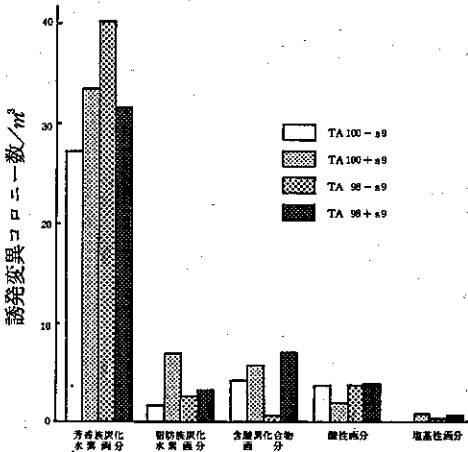


図2 トンネル内大気 (C₂) の5画分の変異原活性

図2にトンネルC₂地点での大気中粉じん抽出物を5画分に分画して得た各々の変異原活性 (rev/m³) を示した。5画分全てに変異原活性が検出されたが、特に芳香族炭化水素画分に、全変異原活性の67% (TA100+S9) ~ 83% (TA98-S9) が検出された。中性画分中の他の2画分 (脂肪族炭化水素, 含酸素化合物) は、両菌株士S9で変異原性は検出されたが、いずれも全活性に占める割合は2~15%と低かった。酸性画分は、全活性の4% (TA100+S9) ~ 11% (TA100-S9) で、台上試験の結果¹⁾ (80 km/h, 6.2~20.7%) よりいく分か少なかった。塩基性画分の変異原活性は、TA100+S9, TA98+S9で全活性の1~2%であり、台上試験の結果¹⁾ (80 km/h, TA98+S9, 2.6%) と同様、全活性に占める割合は著しく低く、ディーゼル車排出ガス中に塩基性の変異原物質が少ないことが示唆された。

以上、トンネルを利用したディーゼル車排出ガスの変異原物質の排出実態調査結果は、台上試験の結果ともかなり整合性もあり、直接変異原物質に関してはより実態に近いと考えられる結果が得られた。車種、走行条件別に検討できる台上試験と組み合わせ、相補うことにより、

トンネル調査法は自動車排出ガス中変異原物質の実態把握に有用な方法であることが明らかとなった。

4. まとめ

- ① トンネル内大気の変異原活性 (rev/m³) は、フレームシフト, 塩基交換両タイプのはほぼ同程度であった。代謝活性化の有無では、両菌株共に代謝活性化した場合の変異原活性の方が、わずかに高かった。また、都内の環境大気に比較して、数倍~数十倍変異原活性が高かった。
- ② トンネル内粉じんの変異原活性 (rev/mg) は、ディーゼル車粉じんに、活性の低いまき上げ粉じんが混在しているため、台上試験で得られた粉じんのみならず、一般環境大気粉じんの変異原活性より低かった。
- ③ トンネル調査で得られた変異原物質の混合排出係数 (rev/km・台) は、台上試験の結果にかなり近い結果が得られた。なお、トンネル調査の方が相対的には直接変異原活性が低い、アーティファクトの少ない同法の結果の方が、より実態に近いと考えられる。
- ④ 変異原物質の混合排出係数は、NO₂, 粉じんの混合排出係数, 大型車台数と有意の相関が得られたが、B(a)Pとの間には、良好な相関関係は得られなかった。
- ⑤ トンネル内粉じん中のタールを、芳香族炭化水素, 脂肪族炭化水素, 含酸素化合物, 酸性, 塩基性の5画分に分画した結果、全画分に変異原活性が検出された。なかでも芳香族炭化水素画分に、TA100, TA98+S9での変異原活性の主体が存在した。

参考文献

- 1) 佐々木裕子ほか: 環境汚染物質の変異原性に関する研究 —ディーゼル車排出ガスの検討—, 東京都公害研究所年報, 290, (1983)。
- 2) 伊瀬洋昭ほか: 自動車排出汚染物質の排出実態に関するトンネル調査 —第一報—, 東京都公害研究所年報, 3, (1983)。
- 3) 福岡三郎ほか: 自動車排出汚染物質の排出実態に関するトンネル調査 —第二報—, 東京都公害研究所年報, 49, (1984)。
- 4) Teranishi, k. et al: Mutagenicity in *Salmonella typhimurium* mutant of the ben-

- zene-soluble organic matter derived from air-borne particulate matter and its five fractions, *Mutation Res.*, **56**, 273, (1978)。
- 5) Rosenkranz, H.S., *et al* : A cautionary note the use of Nitroreductase-deficient strains of *Salmonella typhimurium* for the detection of nitroarenes as mutagens in complex mixtures including diesel exhausts, *Mutation Res.*, **91**, 103, (1981)。
- 6) McCoy, E.C. *et al* : Evidence for the existence of a family of bacterial nitroreductases capable of activating nitrated polycyclics to mutagens, *Environ. Mutagen.*, **3**, 421, (1981)。
- 7) 佐々木裕子ほか：環境汚染物質の変異原性に関する研究——東京都における浮遊粉じん調査, 東京都公害研究所年報, **249**, (1984)。
- 8) 西村哲治ほか：東京都の土砂中の変異原性とB(a)P含量, 大気汚染学会誌, **19**, 228, (1984)。
- 9) 田村良三ほか：道路粉じんによる大気汚染物質の実態把握のための基礎的検討(第4報)アスファルト, 自動車排ガス中粉じん及びタイヤレドの突然変異原性, 第24回大気汚染学会講演要旨集, **499**, (1983)。
- 10) Tokiwa, H., *et al* : Mutagenicity of nitro derivatives induced by exposure of aromatic compounds to nitrogen dioxide, *Mutation Res.*, **85**, 195, (1981)。
- 11) Pierson, W.R., *et al* : Mutagenicity and chemical characteristics of carbonaceous particulate matter from vehicles on the road, *Environ. Sci. Technol.*, **17**, 31 (1983)。
- 12) Gorse, R.A., Jr. *et al* : 1-nitropyrene concentration and bacterial mutagenicity in on-road vehicle particulate emissions, *ibid.*, **17**, 198, (1983)。