

環境汚染物質の変異原性に関する研究

— 土壌の変異原物質検索法に関する研究, 第二報 —

大 山 謙 一 川 原 浩

1 はじめに

手軽に採取できる表層土壌を検体として、環境大気中に浮遊している粉じんの変異原性を測定する方法について調査・研究を行っている。

今回は、まずコントロールとしての土壌の変異原性を調査するために、都会で容易に土壌を採取できる場所として沿道緑地帯や公園の花壇等を想定し、いわゆる園芸用土壌である黒土・培養土・赤玉土・鹿沼土・腐葉土の変異原性を調べた。次に、土壌中における変異原物質の変動と抽出度を把握する一手段として、環境大気中に存在する変異原物質であるベンゾ (a) ピレン (BaP) 又は 2-ニトロフルオレン (2-NF) を土壌に混合して、その変異原性の変化について検討した。

2 材料と方法

(1) 土 壌

培養土A (窒素, リン酸, カリ等の化学肥料を含む) ・培養土B (ピートモス, パーライト, パーミキュライト, くん炭, 有機石灰等を含む) ・赤玉土・黒土・鹿沼土・腐葉土の6種類の土壌を用いた。

(2) 混合変異原物質

BaP (3.75 µg/plate)

2-NF (3.75 µg/plate)

(3) 土壌の前処理

土壌をろ紙上に広げ、小石等のきょう雑物を取り除き、室温に設定した温風循環式乾燥器中で3~4日間乾燥した。得られた乾燥土壌をメノウ製ボールミルで粉碎し、30メッシュのサラン製ふるいに通して粉末状にした。

(4) 抽 出

ハイボリュームエアサンプラーで採取した浮遊粉じんからタールを抽出する方法に準じて行った。

粉末土壌を三角コルベンに入れ、エチルアルコール

(残農用) とベンゼン (残農用) (3 : 1, vol) を加えて30分間超音波抽出した。得られた溶液をろ紙 (5C) でろ過したのち、ロータリーエバポレーターを用いて32~34°Cで減圧乾固させた。乾固物を秤量した後、適量のジメチルスルホキシド (DMSO) (吸収スペクトル用) を加えて溶解した。

(5) 変異原物質混合方法

抽出時に抽出用ベンゼンにBaPまたは2-NFを溶解して、粉末土壌と混和した。

(6) 変異原性試験

ア 菌 株

Amesの*Salmonella typhimurium* TA100 (塩基交換型変異株), TA98 (フレームシフト型変異株) を用いた。

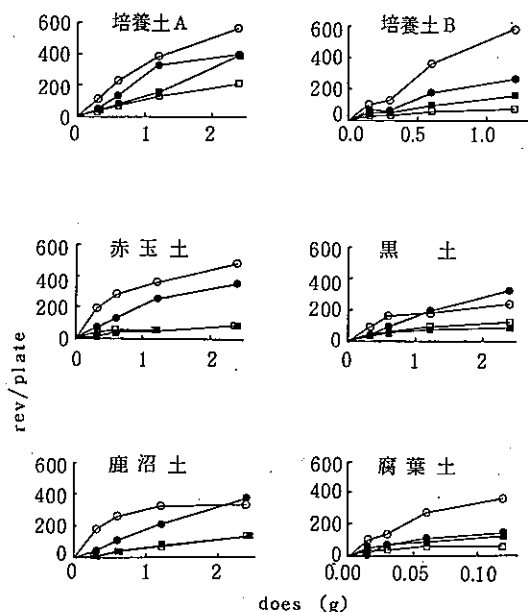
イ 試験方法

Ames変法であるpreincubation^(注)法を用いた。間接変異原性を観察するための代謝活性化には、ウィスター系ラットの肝 (PCB誘導) の9,000g上滑 (S9) とNA DPH-産生系によるS9Mixによって行った。使用シャーレは各検体2枚とし、平均値から誘発変異コロニー数 (rev) を算出した。

2 結 果

図1に示すように、各土壌とも若干の変異原性を持っていることがわかった。培養土A, 培養土B, 赤玉土, 腐葉土において、塩基置換型の直接変異原性 (TA100-S9) が認められたが、それに対して、フレームシフト型 (TA98) の変異原性は、直接 (-S9), 間接 (+S9) ともに低い傾向にあった。土壌単位当りの変異原活性は、腐葉土が最も高い値を示した。これは、タール含量が他の土壌よりも多かったことによるものと思われる。

次に、混合変異原物質の土壌中における変動を表1に



○ TA100-S9 ● TA100+S9
 □ TA98-S9 ■ TA98+S9

図1 土壌の変異原性

表1 混合変異原物質の土壌中における変動 (rev/plate)

	土壌単体 A	混合変異原物質		回収された変異原活性	
		Bap B	2-NF C	B-A	C-A
培養土A	TA100 -S9	126	572	339	446
	+S9	198	1152		
TA98	-S9	14	540	684	526
	+S9	149	779		
培養土B	TA100 -S9	147	395	764	248
	+S9	146	1030		
TA98	-S9	29	399	698	370
	+S9	63	625		
赤玉土	TA100 -S9	125	652	241	527
	+S9	110	327		
TA98	-S9	19	518	795	499
	+S9	44	15		
黒土	TA100 -S9	146	667	319	521
	+S9	190	1038		
TA98	-S9	39	633	768	594
	+S9	58	679		
鹿沼土	TA100 -S9	125	670	244	545
	+S9	153	934		
TA98	-S9	0	641	819	641
	+S9	55	560		
腐葉土	TA100 -S9	100	503	776	403
	+S9	65	1011		
TA98	-S9	0	324	747	324
	+S9	42	770		

示した。変異原物質 (BaPまたは2-NF) を混合したそれぞれの土壌の変異原活性は土壌単体での活性値よりも高い値を示した。また、BaPあるいは2-NFを混合した土壌の変異原活性値から土壌単体の変異原活性値を差し引いて、BaPや2-NFの土壌から回収された変異原活性値を求めた。これから回収率 (回収率= (回収変異原活性値)/(土壌に混合しない場合のBaPや2-NFの変異原活性値) × 100) を求め、図2, 3に表わした。なお、土壌に混合しない場合のBaPと2-NFの変異原

表2 混合変異原物質の変異原性 (rev/plate)

	Bap	2-NF
TA100 -S9	415	695
+S9		1050
TA98 -S9	758	658
+S9		640

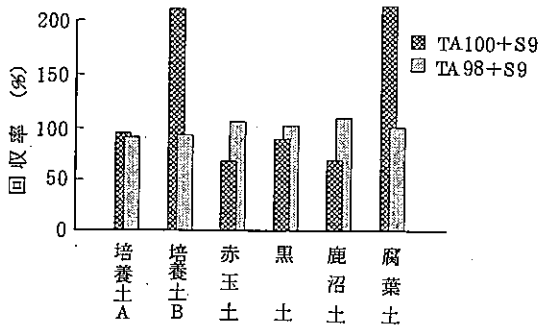


図2 BaPの変異原性の回収率

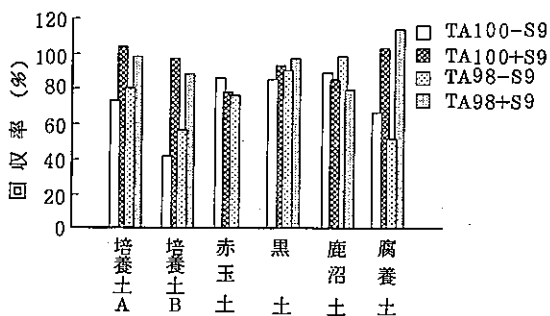


図3 2-NFの変異原性の回収率

活性値は表2の通りである。

BaPの回収率をみると、TA98+S9ではほぼ100%であるが、培養土Bと腐葉土では200%となった。TA100+S9では赤玉土、鹿沼土で若干低い値を示した。

2-NFの回収率は、培養土Bと腐葉土のTA100-S9、TA98-S9で低かった。

培養土Bと腐葉土において回収率の変動が大きいのは、これは、含有物質による混合変異原物質の変性や吸着等が考えられる。また、赤玉土、鹿沼土では物理的構造に

よる吸着等が考えられる。

このように変異原物質が土壌に混合されると、その変異原性は変動する場合があることがわかった。

注) preincubation法

検体、菌、S-9 Mixまたは100mMナトリウム・リン酸緩衝液 (pH 7.4) の混合液を37°C、20分間振とうした後、寒天培地で37°C、48時間培養する方法。