

図 5-4 浸出水 B におけるホウ素の経日変化(mg/L)

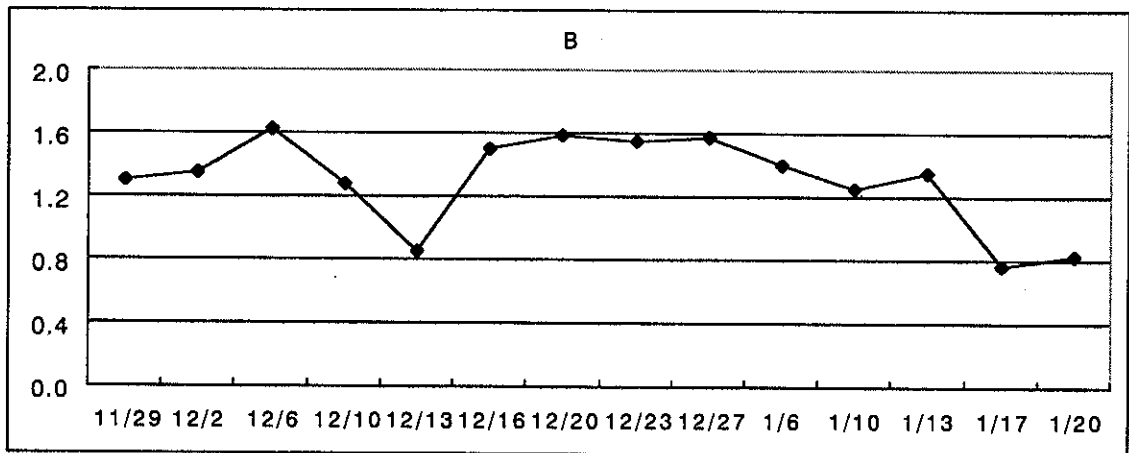


図 5-5 浸出水 C におけるホウ素の経日変化(mg/L)

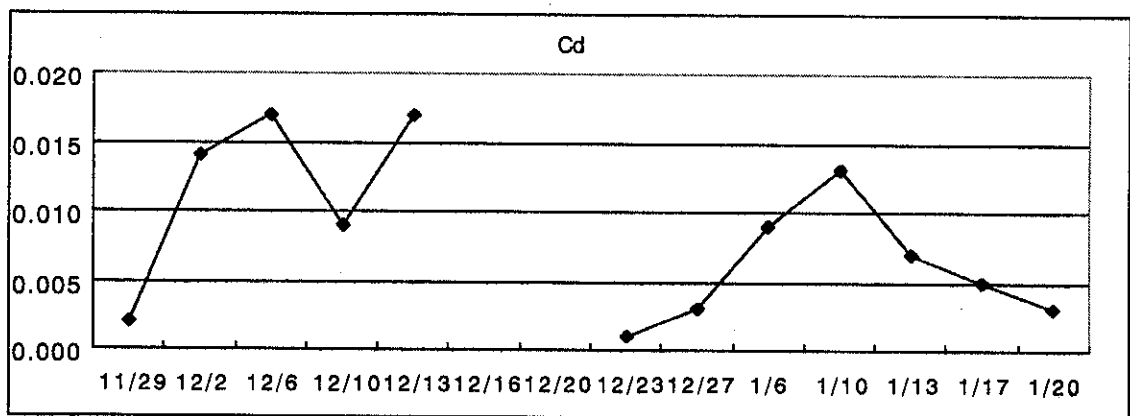


図 6-1 浸出水 B におけるカドミウムの経日変化(mg/L)

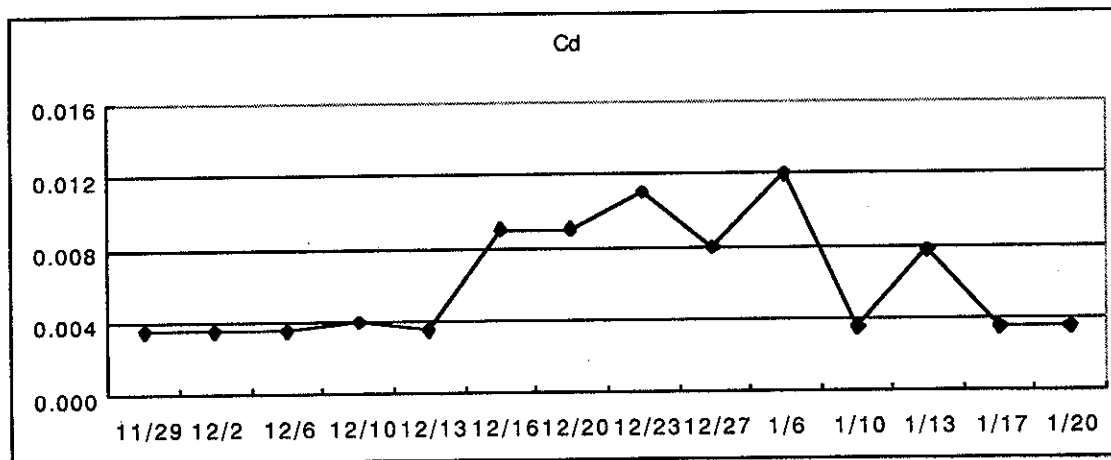


図6-2 浸出水Cにおけるカドミウムの経日変化(mg/L)

また図示してはいないが、焼却灰ホッパー排水は11月26日以外の採水日にホウ素の環境基準値を超過しており、その超過量の範囲は0.3-2.3mg/Lであった。河川水は0.1mg/L以下、岩盤水は0.2mg/L以下、B川中流は最大値が約0.9mg/Lで環境基準に近いが、ホウ素の環境基準は超過していなかった。

カドミウムの環境基準値は0.01mg/L以下である。図6-1より、浸出水Bで12月2日、13日、1月10日にカドミウムの環境基準を超過しており、その超過量の範囲は0.003-0.007mg/Lであった。また0.009mg/Lの日が2日、0.007mg/Lの日が1日ある。図6-2で、浸出水Cで12月23日、1月6日にカドミウムの環境基準を超過しており、その超過量の範囲は0.001-0.002mg/Lであった。また0.007-0.009mg/Lの日が4日ある。岩盤水で12月2日、6日、10日、13日にカドミウムの環境基準を超過しており、その超過量は0.003-0.006mg/Lであった。浸出水Aに0.009mg/L、0.007mg/Lの日が1日ずつあり、カドミウムの環境基準に近いが、他の地点では0.005mg/L以下で超過していなかった。カドミウムの排水基準値0.1mg/Lを超過している地点はなかった。

表7には、各試料の期間中の各元素の平均値を示した。表7からはホウ素の環境基準値1mg/Lを貯水槽流入端、放流水、浸出水Aで平均して1mg/L以上、浸出水C、焼却灰ホッパー排水で平均して1mg/L未満の範囲で超過していると読み

取れる。他の地点ではホウ素の環境基準値は超過しておらず、他の元素に関してはどの地点においても環境基準値及び排水基準値を超過していない。しかし平均値のデータからは浸出水Bのホウ素の環境基準値の超過、浸出水C、焼却灰ホッパー排水でホウ素の環境基準値を超過しない日があるということ、カドミウムの環境基準値0.01mg/Lを浸出水B、浸出水C、岩盤水で超過する日があるということ、六価クロムの環境基準値0.05mg/Lを浸出水Aが超過することを示唆するのは不可能であった。

村田<sup>1)</sup>、安原<sup>2)</sup>、<sup>3)</sup>、浦瀬ら<sup>4)</sup>のデータと表7の平均値を比較したところ、貯水槽流入端、浸出水Aでアルミニウムが1オーダー低く、それ以外の元素についてはオーダーが同じであった。放流水はクロム、ニッケルが1-2オーダー低く、

表8 仮設排水処理施設の処理能力と除去率

元素	処理能力 (g/日)	除去率 (%)
B	4.17	1.93
Na	4960	6.77
Al	—	—
K	2913	5.39
Ca	234	3.17
Cr	0.109	2.70
Mn	—	—
Fe	9.44	31.0
Ni	0.717	58.3
Cu	0.045	10.3
Zn	—	—
Sr	—	—
Cd	—	—

銅は 1 オーダー低く、亜鉛、カドミウムはオーダーが同じであった。浸出水 B はホウ素が 1-2 オーダー低いが、それ以外の元素はオーダーが同じであった。浸出水 C はすべての元素でオーダーが同じであった。焼却灰ホッパー排水はカドミウムが検出できなかったが、文献では検出されていた。亜鉛、銅、クロム、マンガンはオーダーが同じであった。本研究での分析値がほぼ文献値に近いので、本研究における浸出水中の重金属分析への ICP 発光分析法の適用性が確認された。

表 8 には、期間中に設置されていた浸出水処理場の処理能力、除去率は次式で計算した。

処理能力(g/日)=

$$\{ (\text{貯水槽流入端の各元素の平均値}(\text{g/m}^3)) - (\text{放流水の各元素の平均値}(\text{g/m}^3)) \} \times 96.0(\text{m}^3/\text{日}) (\text{日平均処理量})$$

除去率(%)=

$$\{ (\text{貯水槽流入端の各元素の平均値}(\text{g/m}^3)) / (\text{放流水の各元素の平均値}(\text{g/m}^3)) \} \times 100$$

ホウ素については除去率が約 2% で除去効果がほとんどないことがわかる。水溶性のナトリウム、カリウム、カルシウムの除去率は各々 6.77%、5.39%、3.17% と除去効果が低い。鉄、ニッケルの除去率は各々 31.0%、58.3% で除去効果が期待できる。クロム、銅については貯水槽流入端における含有濃度が極めて低いため、実際の除去効果の評価をする指標として表 8 のデータは適していない。他の元素についてはゼロ値あるいはマイナス値になった。

#### D まとめ

以下に本研究で得られた成果を示す。

- 1) 文献値との比較から本研究で用いた ICP 発光分析法の浸出水中重金属分析の結果が、ほぼ適用できることが確認された。
- 2) ホウ素の環境基準値 1mg/L を貯水槽流入端、放流水、浸出水 A、浸出水 B、浸出水 C、焼却灰ホッパー排水の 7 地点で超過していた。
- 3) カドミウムの環境基準値 0.01mg/L を浸出水 B、浸出水 C、岩盤水の 3 地点で超過していた。
- 4) カドミウムの排水基準値 0.1mg/L、六価クロムの排水基準値 0.5mg/L を超過する地点はなかった。
- 5) 浸出水のナトリウム、カリウム、カルシウム濃度の割合が非常に高いことから、浸出水が塩濃度の高い水溶液であることが示された。

#### E 展望

本報告中にある重金属類の分析により、とくに毒性の高い元素は検出されなかった。むしろ、浸出水は塩分が高いがために周辺水環境に影響を及ぼすとみてよい。こうした浸出水原水や、処理場放流水に関して、*in vivo* でのバイオアッセイを適用し、データを蓄積しつつある。

#### 参考文献

- 1) 村田徳治著、『産業廃棄物 有害物質ハンドブック』、東洋経済新報社 (1976) p83-99
- 2) 安原昭夫、「有害廃棄物による環境汚染」、水環境学会誌第 17 巻 5 号 (1994) p299-303
- 3) 安原昭夫、「廃棄物処分場の浸出水に含まれる化学成分」p77-80 4) 浦瀬ら、「廃棄物処分場浸出水中に含まれる有害物質の調査」、第 7 回廃棄物学会研究発表会講演論文集 1996 p778-780

廃棄物焼却灰および埋立処分場の浸出水に含まれる変異原性物質の検出と特性

研究分担者 吉野秀吉 神奈川県環境科学センター環境工学部 専門研究員

研究要旨

焼却灰抽出液のカラムクロマトグラフィー（CC）や極性が異なる抽出溶媒の連続抽出による変異原性物質の検出、Ames試験によるPAHsの相互作用、また変異原性物質の太陽光による影響、焼却灰等の埋立処分場浸出水の吸着樹脂を用いた変異原性物質の検出について検討した。

焼却灰の抽出液のCCや有機溶媒による連続抽出を用いた精製によって変異原性の検出感度が高くなることはなかった。PAHsの相互作用では、相乗作用は認められず、ほとんどが各単体の変異原性強度を加算した相加作用であった。PAHsや飛灰の変異原性は、太陽光による影響はほとんど認められず、とくに焼却灰では太陽光に対して安定であった。浸出水中の変異原性物質を8種類の吸着樹脂で濃縮し、Ames試験を行ったところ、ブルーキチンやPorapak Rdxの特異な物質を捕集できる樹脂で不明確な変異原性が認められたにすぎず、浸出水の最適な濃縮樹脂を特定することはできなかった。

A 研究目的

都市ごみは、毎日大量に排出され、そのほとんどが焼却処理されている。焼却灰は、ほとんどが埋め立て処分されているため、浸出水には、焼却灰に含まれていた有害化学物質が含まれることが考えられる。本研究では、これらの物質をAmes試験を用いて調べ、変異原性から有害性評価を行う。

都市ごみの焼却によって排出する焼却灰には、変異原性を持つものもあるが、さらに検出感度を向上させることや変異原性物質間の相互作用、変異原性物質の太陽光による影響などが課題として残されていた。

今年度は、Ames変異原性試験での検出感度を上げるために精製や抽出方法について検討する。また、焼却に伴って生成する多環芳香族炭化水素類（PAHs）やそれらの塩素化物の変異原性に及ぼす相互作用を調べる。さらに、PAHsや焼却灰が太陽光に曝された場合に変異原性がどのように変化するかを調べる。一方、焼却灰などの

埋立処分場から排出される浸出水については、有機溶媒や一部の変異原性物質用濃縮樹脂による今までの方法では変異原性が検出されなかった。本研究では、捕集特性が異なる8種類の吸着樹脂カラムを用いた変異原性物質の捕集について検討する。

B 研究方法

1 Ames試験の概要と操作

1-1 試験の概要

エームス試験は、サルモネラ菌を用いた変異原性試験である。この菌は、ヒスチジンと呼ばれるアミノ酸を作るための遺伝子が欠損している特殊な性質を持つ。したがって、酵素などの蛋白質が合成できず、自然界では、菌は生存し、増殖することができない。しかし、化学物質がサルモネラ菌の体内に進入して遺伝子に作用した場合、遺伝子に突然変異を起こさせ、ヒスチジンの合成ができるもとの正常な遺伝子に戻る

ことがある。これを利用して、化学物質の変異原性を調べることができる。遺伝子に突然変異を起こさせる化学物質を変異原性物質と呼ぶ。変異原性強度は、サルモネラ菌が増殖して形成する復帰コロニー数で判定できる。

Ames試験に用いる菌には遺伝子に与える変異の仕方により分類され、TA92, TA94, TA98, TA100, TA1535, TA1538などの種類がある。このうちTA98, TA1538は、ヒスチジン合成遺伝子に対する塩基対置換型と呼ばれる遺伝子変異の活性をもち、TA100, TA1538は同様にフレームシフト型と呼ばれる遺伝子変異の活性をもち、TA92, TA94は、架橋型の遺伝子変異をもつ。また、ニトロ化合物に感受性の高いYG株には、TA98株から作成されたYG1021, YG1024とTA100から作成されたYG1026, YG1029がある。これらの菌株のうち、本研究では、TA98, TA100の2種類を用いる。

化学物質には直接、菌に作用して変異原性を示す直接変異原性物質と、生体内の代謝により活性化して菌に作用する間接変異原性物質とがある。

間接変異原性物質の試験は、代謝活性化剤S9mix（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臓のホモジネート(S9)を補助因子（コファクター）に添加したものを加えて行い（+S9と表示）、直接変異原物質の試験には、S9mixの代わりに10mMのリン酸緩衝液を用いる（-S9と表示）。

エームス試験には、プレート法とプレインキュベーション法とがある。プレート法は化学物質（試料を含む）と菌を混合した後、すぐに培養する方法であり、プレインキュベーション法は、検出感度を上げるために化学物質と菌を混合して、37℃、20分間反応した後培養する方法である。本研究では、直接変異原性（-S9）、間接変異原性（+S9）試験の両方を行い、また簡易で、供雑物による毒性阻害（killing）の少ないプレート法を用いた。

## 1-2 試験操作

試験に使われる試薬類は、最少グルコース寒天培地（グルコース、無機成分から構成）とS9mix、リン酸緩衝液、陽性対照物質、陰性対照物質、微量のヒスチジンを含むトッアガー（1/2濃度の寒天溶液）である。陽性対照物質は、TA98およびTA100、TA92およびTA94、YG1021およびYG1024およびYG1026の-S9の場合には、それぞれ4-ニトロキノリン-1-オキシド（4NQO）、マイトマイシンC（MMC）、1,6-dinitropyrene、+S9の場合には2-アミノアントラセン（2AA）、2AA、Trp-P-2、陰性対照物質は、試料の溶剤として用いているジメチルスルホキシド（DMSO）である。試験を始める前に菌を培養するための最少グルコース寒天培地を作成しておく必要がある。

操作は、試験管に一定量の試料または陽性対照物質または陰性対照物質を入れ、それぞれにリン酸緩衝液またはS9mixを加え、トッアガーを加えた後、攪拌混合して、作成しておいた最少グルコース寒天培地に一様に広げる。凝固したら、寒天部分を上にして48時間、37℃で培養する。培養後、復帰コロニー数を数える。

試料の変異原性は、このコロニー数を算定し、陰性対照物質の復帰コロニー数（revertant）を差し引いた後、試料量あたりの正味復帰コロニー数（net revertant）として表す。試料のコロニー数の陰性対照のコロニー数に対する比率をMR（Mutagenic ratio：変異原性比）値といい、この値が1.5以下の場合、測定の間隔内で変異原性はないとみなし、1.5-2.0は不明確な変異原性、2.0以上において変異原性があるとみなす。

## 2 実験方法

### 2-1 焼却灰抽出液のカラムクロマトグラフィー（CC）と焼却灰の有機溶媒による連続抽出

焼却灰は、都市ごみ焼却場からの飛灰、産業廃棄物の残灰、飛灰を用いた。変異原性物質の抽出には、抽出能力が最も高いジメチルスルホキシド（DMSO）が濃縮し難いため、ほぼ等しい抽出能力を持つ酢酸エチルを用いた。50ml遠沈管に飛灰5gと30mlの酢酸エチルを加え、10分間の振とう抽出後、遠心分離した上清を20ml取

り、新しい酢酸エチル20mlを加えて同様の抽出操作を繰り返して、合計40mlの抽出液を得た。この抽出液をエバポレータで5mlに濃縮して、その一部をCC分画に用いた。

CCは、内径15mm、長さ300mmのガラスカラムにあらかじめヘキサンでなじませたシリカゲルを20ml充填し、試料を添加した。移動相は、極性の低いヘキサンからヘキサン：酢酸エチル=8:2、ヘキサン：酢酸エチル=6:4、酢酸エチル、メタノールの順に液相の極性を高くしていった。各抽出画分は、濃縮乾固し、DMSOに溶媒転換してAmes試験に用いた。

焼却灰に含まれる変異原性物質が酢酸エチルなど極性が低い溶媒で抽出できることから、連続抽出による精製では、最も極性が高い水からメタノール、酢酸エチル、ヘキサンの順に振とう抽出した。50ml遠沈管に5gの焼却灰と抽出溶媒30mlを入れ、上記の変異原性物質の抽出と同じ操作を溶媒を変えて行った。ただし、遠心分離後の上清はデカンテーションにより全量採取した。

## 2-2 Ames試験における多環芳香族炭化水素類 (PAHs) の相互作用

変異原性物質の相互作用を調べるための対照物質は、都市ごみ焼却によって生成されることがすでに明らかとなっている多環芳香族炭化水素類 (PAHs) とそれらの塩素化物とした。

対照の変異原性物質には、Benzo(e)pyrene(BeP), Fluoranthene, Triphenylene, 2,3-benzofluorene, 2,3-benzanthracene, Benzo(b)fluoranthene(BbF), Monochloro-BeP, Monochloro-BbF, Monochloro-perylene, Dichloro-BeP, Dichloro-BbF, Dichloro-peryleneを用いた。

単体の変異原性は、個々のDose-responseカーブから単位質量あたり (例10 $\mu$ g) の正味復帰コロニー数で求めた。単体を混合したmixtureの場合も同様にDose-responseカーブからそれぞれの単体の混合質量あたりの正味復帰コロニー数を求め、合計した同じ質量あたり (例10 $\mu$ g+10 $\mu$ g+...) の正味復帰コロニー数で比較した。

相互作用の判定は、個々の変異原性強度を加算した値になり、相乗作用の場合には、混合によって個々の変異原性を加算した値より著しく高くなるものとした。

## 2-3 変異原性物質の太陽光照射

太陽光照射実験には、都市ごみ焼却によって生成されることがすでに明らかとなっており、立体構造が異なるBaP, Pyrene, Fluoranthene, Triphenylene, 2,3-benzanthraceneを用いた。これらの試薬は、ジクロロメタンで1000ppm溶液とし、26mm $\times$ 76mmの顕微鏡用スライドグラスに0.3ml滴下して、できるだけ広範囲に広げてジクロロメタンを揮発させ、試薬のみをスライドグラスに付着させた。同じ試料は、照射時間0, 10, 30, 60, 180, 210, 360, 540, 690, 900, 1230分の時間の数だけ作成した。

焼却灰は、Ames変異原性が認められた都市ごみ焼却飛灰を用いた。試料の飛灰は、2gを秤量して直径85mmの細菌培養用ガラスシャーレに入れ、均一の厚さになるように広げた。

太陽光照射は、スライドグラス試料、飛灰の入ったガラスシャーレを晴天の日の朝9時から15時まで直射日光を当てることによって行った。

Ames試験を行う場合には、スライドグラスの試料は3mlのDMSOをパスツールピペットで10回以上流して溶解した。この操作によりPAHの濃度は、100ppmになる。飛灰の抽出は、試料50mlを遠沈管に入れ、12mlのDMSOを加えて10分間の振とう抽出を行った後、3000rpm、10分間の遠心分離した上清を用いた。振とう抽出は、1回だけにして変異原性を比較した。

## 2-4 浸出水の吸着樹脂濃縮

試料は、都市ごみの焼却灰および廃プラスチック類を埋立てしている最終処分場から排出された無処理の浸出水である。濃縮に用いた吸着樹脂は、Waters社で販売されている極性の低い物質の捕集に適するC18、比較的極性の小さい物質の捕集に適するPS2、極性の比較的大きい物質の捕集に適するAC2、順相と逆送の中間の

物質の捕集に適するNH<sub>2</sub>、変異原性物質の捕集用に開発されたCSP800、PAHs捕集用のブルーキチン、ニトロ化合物捕集用のPrapak Rdx、オルガノ社から販売され、比較的極性の低い物質の捕集に適するXAD2の8種類を用いた。

試料2Lをシリンジポンプで各吸着樹脂に通液し、捕集した後C18、PS2、AC2、XAD2は、最初アセトン引き続いてメタノール各10mlを用いて連続脱離し、NH<sub>2</sub>はジクロロメタン10ml引き続いてアセトン10mlの順に脱離し、ブルーキチンは5%アンモニア加メタノール10ml、Prapak Rdxはテトラヒドロロン10mlで脱離した。CSP800樹脂の場合には、試料をpH2の酸性にした場合としない場合について捕集し、脱離はPAHsを脱離しやすいようにトルエンを20%加えたアセトン溶液10ml、引き続いてメタノール10mlの順に連続脱離した。

それぞれの脱離液は、濃縮乾固した後、1mlのDMSOに再溶解してAmes試験に用いた。

## 2-5 Ames変異原性試験

Ames試験は、TA98およびTA100の2種類のSalmonella菌株を用い、代謝活性化剤を加えない場合(-S9)と加えた場合(+S9)の両方についてプレート法で行った。

結果はそれぞれの復帰コロニー数から陰性対照の復帰コロニー数を引いた正味の復帰コロニー数(net rev.)で示した。焼却灰のように抽出操作が入った場合には、Ames試験液量から抽出液量中の復帰コロニー数に換算、さらに使用した焼却灰質量中の復帰コロニー数に換算して変異原性強度を示した。浸出水についても同様に抽出溶媒の変異原性を濃縮に使用した浸出水量の変異原性強度に換算して示した。変異原性が陽性の判定は、試料の復帰コロニー数が陰性対照の復帰コロニー数の2倍以上ある場合とし、1.5~2.0倍を不明確な陽性、1.5倍以下は陰性とした。

## C 研究結果および考察

### 1 結果および考察

#### 1-1 焼却灰抽出液のCCや溶媒を用いた連続抽出による変異原性の検出

CC用試料は、焼却灰に酢酸エチルを加えて振とう抽出した濃縮液である。抽出原液の1mlをCCに注入して分画し、各画分を濃縮乾固した後、1mlのDMSOに再溶解した試料についてAmes試験を行った。

その結果、表1に示したように、ヘキサン、ヘキサン、酢酸エチル混合液、酢酸エチル画分に変異原性が認められた。試料産廃Aでは、抽出原液に変異原性が認められない場合にもヘキサン、酢酸エチル混合液画分に不明確および明確な変異原性が認められた。抽出原液に変異原性が認められた試料一廃Iや産廃Bでは、分画によって変異原性が低くなった。試料産廃Bでは、抽出原液よりヘキサン画分で変異原性が高くなった。

これらのことから、焼却灰をAmes試験する場合、CCなどの比較的簡易な精製を行うことにより妨害物質が除去でき、変異原性が検出されやすくなる場合と分画によって変異原性を低くしてしまう場合があることがわかった。

都市ごみの焼却により生成されることが明らかになっているPAHsの中には、極性が低い変異原性物質が多く含まれる。焼却灰の中にもこのような極性が低い変異原性物質が多く含まれることを想定して、最初に極性の高い溶媒で妨害物質を除くことを試みた。飛灰を用いて水、メタノール、酢酸エチル、ヘキサンの順に連続抽出したところ、表2に示したように、水、メタノール抽出液には変異原性が認められず、酢酸エチル、ヘキサン抽出液に変異原性が認められた。試料産廃Aや一廃Aでは、抽出原液に変異原性が認められないにもかかわらず、酢酸エチル、ヘキサン画分に不明確な変異原性が認められた。また、元々変異原性を持つ試料一廃Aでは、分画によって変異原性が低くなった。また、試料一廃Bのように元々全く変異原性が認められない試料では、分画によっても変異原性は認められなかった。

表1 焼却灰抽出液のカラムクロマトグラフィー (CC) による変異原性物質の検出

	TA98(net rev./g)		TA100(net rev./g)	
	S9-	S9+	S9-	S9+
産廃A (残灰)				
抽出原液	N.D.	400	N.D.	N.D.
CC1 ヘキサン 100%	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CC2 ヘキサン:酢酸エチル=8:2	N.D.	(220)	N.D.	(470)
CC3 ヘキサン:酢酸エチル=6:4	145	N.D.	N.D.	N.D.
CC4 酢酸エチル 100%	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CC5 メタノール 100%	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
一廃I (飛灰)				
抽出原液	475	755	935	2750
CC1 ヘキサン 100%	N.D.	360	N.D.	N.D.
CC2 ヘキサン:酢酸エチル=8:2	230	245	(465)	1355
CC3 ヘキサン:酢酸エチル=6:4	N.D.	N.D.	N.D.	730
CC4 酢酸エチル 100%	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CC5 メタノール 100%	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
産廃B (飛灰)				
抽出原液	(60)	N.D.	793	(345)
CC1 ヘキサン 100%	N.D.	N.D.	N.D.	1030
CC2 ヘキサン:酢酸エチル=8:2	-	-	-	-
CC3 ヘキサン:酢酸エチル=6:4	(50)	N.D.	(235)	(385)
CC4 酢酸エチル 100%	N.D.	N.D.	N.D.	(323)
CC5 メタノール 100%	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

( ):1.5<MR、- :分画していない

表2 焼却灰の連続抽出による変異原性物質の検出

試料	脱離液	TA98(net rev./g)		TA100(net rev./g)	
		S9-	S9+	S9-	S9+
産廃A (残灰)					
	抽出原液	N.D.	400	N.D.	N.D.
	1 水	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2 メタノール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	3 酢酸エチル	N.D.	(230)	N.D.	(470)
	4 ヘキサン	N.D.	N.D.	N.D.	(450)
一廃A (飛灰)					
	抽出原液	N.D.	2000	N.D.	6000
	1 水	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2 メタノール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	3 酢酸エチル	N.D.	470	(210)	870
	4 ヘキサン	N.D.	N.D.	N.D.	(320)
一廃B (飛灰)					
	抽出原液	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1 水	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2 メタノール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	3 酢酸エチル	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	4 ヘキサン	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

脱離液の1,2,3,4 : この順番に抽出



以上の結果から、焼却灰には、極性が異なる化学物質が多く含まれているため、分画によってAmes試験の妨害となる極性が高い物質を除去できるが、変異原性の検出感度は十分に高くなっていない。一方では、分画によって元々の変異原性を低くしてしまうこともあるため、Ames試験では、CCや有機溶媒による連続抽出を利用した精製は効果が低いと考えられた。

### 1-2 PAHsの相互作用による変異原性の相加作用、相乗作用

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Ames試験を行った。変異原性は、表3に示したように、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、混合した単体単独の変異原性強度を加算した値に近かった。

同様に変異原性を持つPAHsの塩素化物の影響を調べた。PAHsのモノクロロ体、ジクロロ体相互およびそれぞれの塩素化物にPAHを加えた場合についてAmes試験を行ったところ、全体的にmixtureの変異原性は各単体の変異原性を加え合わせたコロニー数より低くなる傾向を示したが、単体の変異原性を加算した変異原性強度に近かった。BbFのモノクロロ体、ジクロロ体およびBbFを加えたmixtureでは、TA98およびTA100の+S9で低くなる場合とモノクロロ体、ジクロロ体のmixtureでは、TA100の-S9において単体では変異原性を示さないにもかかわらずmixtureで変異原性が認められた。この傾向は、BePやperyleneでは見られないことから、塩素化物の影響で相乗作用があったか否かについては不明である。

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、PAHsの単体の変異原性より低くなる傾向を示したが、それぞれの変異原性強度に近かった。

以上の結果から、焼却灰に含まれると予想さ

表3 Ames試験における変異原性物質の相互作用

	TA98(net rev./10 $\mu$ g)		TA100(net rev./10 $\mu$ g)	
	-S9	+S9	-S9	+S9
1 Fluoranthene	N.D.	N.D.	N.D.	(110)
2 2,3-Benzofluorene	(18)	N.D.	N.D.	(131)
3 Benzo(b)fluoranthene (BbF)	N.D.	N.D.	N.D.	343
4 2,3-Benzanthracene	68	(45)	350	369
5 Triphenylene	N.D.	N.D.	N.D.	159
6 Benzo(e)pyrene (BeP)	N.D.	N.D.	N.D.	(87)
7 Chrysene	N.D.	N.D.	N.D.	199
1+2+3 mixture	(16)	(28)	N.D.	301
4+5+6+7 mixture	55	N.D.	232	676
8 Monochloro BeP	N.D.	52	N.D.	211
9 Dichloro BeP	N.D.	42	N.D.	419
10 Monochloro BbF	N.D.	240	N.D.	2990
11 Dichloro BbF	170	380	N.D.	3470
12 Monochloro perylene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
13 Dichloro perylene	N.D.	(27)	N.D.	191
8+9 mixture	N.D.	102	N.D.	514
3+10+11 mixture	N.D.	141	N.D.	2421
10+11 mixture	N.D.	660	120	2026
12+13 mixture	N.D.	(32)	N.D.	186
14 Cd	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1+14 mixture	N.D.	N.D.	N.D.	(75)
4+14 mixture	64	N.D.	143	(116)
6+14 mixture	N.D.	N.D.	N.D.	211

mixtureの正味復帰コロニー数は、各単体含有量が10  $\mu$ gとして示している。

れるPAHsなどの変異原性物質には、特定の物質がmixtureの変異原性を著しく高くするような相乗作用をもつものがあるとは考えられにくく、焼却灰の変異原性は、含まれる個々の物質の変異原性が加算されていると考えられた。

### 1-3 変異原性物質の太陽光による影響

試料は、都市ごみの焼却によって生成されることが明らかとなっており、変異原性を持つ4種類のPAHsおよび変異原性を持つ飛灰である。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、図1,2に示したようにBaPではTA98およびTA100の+S9の場合に照射開始から200分までの間に上昇し、徐々に低下しながら一定値になる傾向が認められた。しかし、BaP以外のPAHs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。また、FluorantheneのTA98+S9やTA98およびTA100の-S9の場合のように元々変異原性が認められない物質は、照射によって変異原性物質を持つというようなことはなかった。

飛灰の場合、1300時間の照射実験でも変異原性強度は、Ames試験のばらつき20%の範囲内にあり、変化は認められなかった。

BaPの濃度変化をGC-FIDのピークで図3に示した。ピーク面積が照射時間の後半では小さくなる傾向が認められた。BaPの濃度が直接、変異

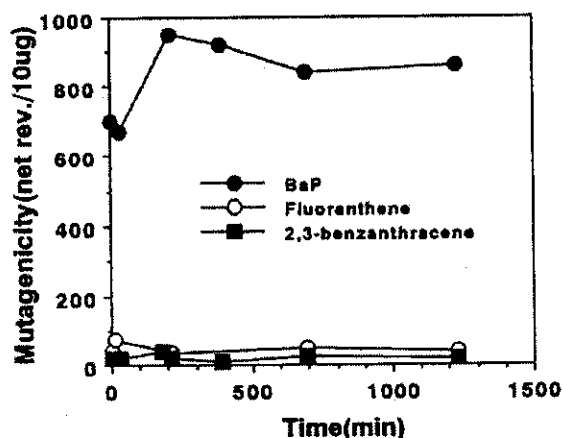


図1 多環芳香族炭化水素類の太陽光による変異原性 (TA98+S9) の変化

原性強度に反映しているとは断定できないが、太陽光によってBaPが分解されていることが推定できた。

Triphenyleneと2,3-benzanthraceneについて、スライドガラスに塗布した試料を殺菌用の紫外線ボックスに120分間放置したが、変異原性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る場合には、さらに安定に存在することが推定された。

### 1-4 浸出水の変異原性の濃縮樹脂による違い

8種類の吸着樹脂を用いて2000倍に濃縮した試料について、Ames試験を行ったところ、表4に示したように、一般的な吸着樹脂では変異原性は認められず、PAHsなどの特異な物質のみを捕集するブルーキチンやニトロ化合物を主に捕集すると言われていたPorapak Rdxに不明確な変異原性が認められた。

変異原性物質の捕集用に開発されたCSP800は、河川水や水道水を硫酸でpHを2にした後の濃縮用に適用しているが、これを浸出水に応用して今まで多くの試料についてAmes試験を行ってきた。しかし、ほとんどの試料で変異原性が認め

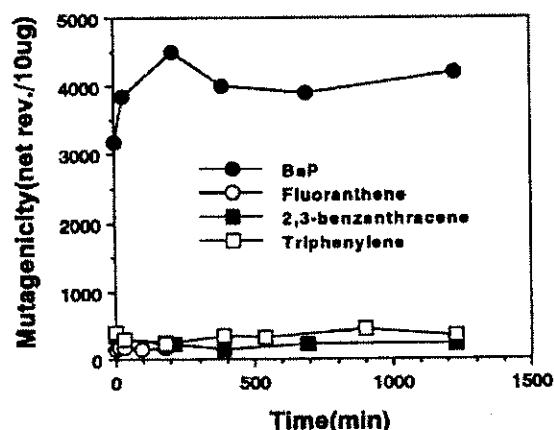


図1 多環芳香族炭化水素類の太陽光による変異原性 (TA100+S9) の変化

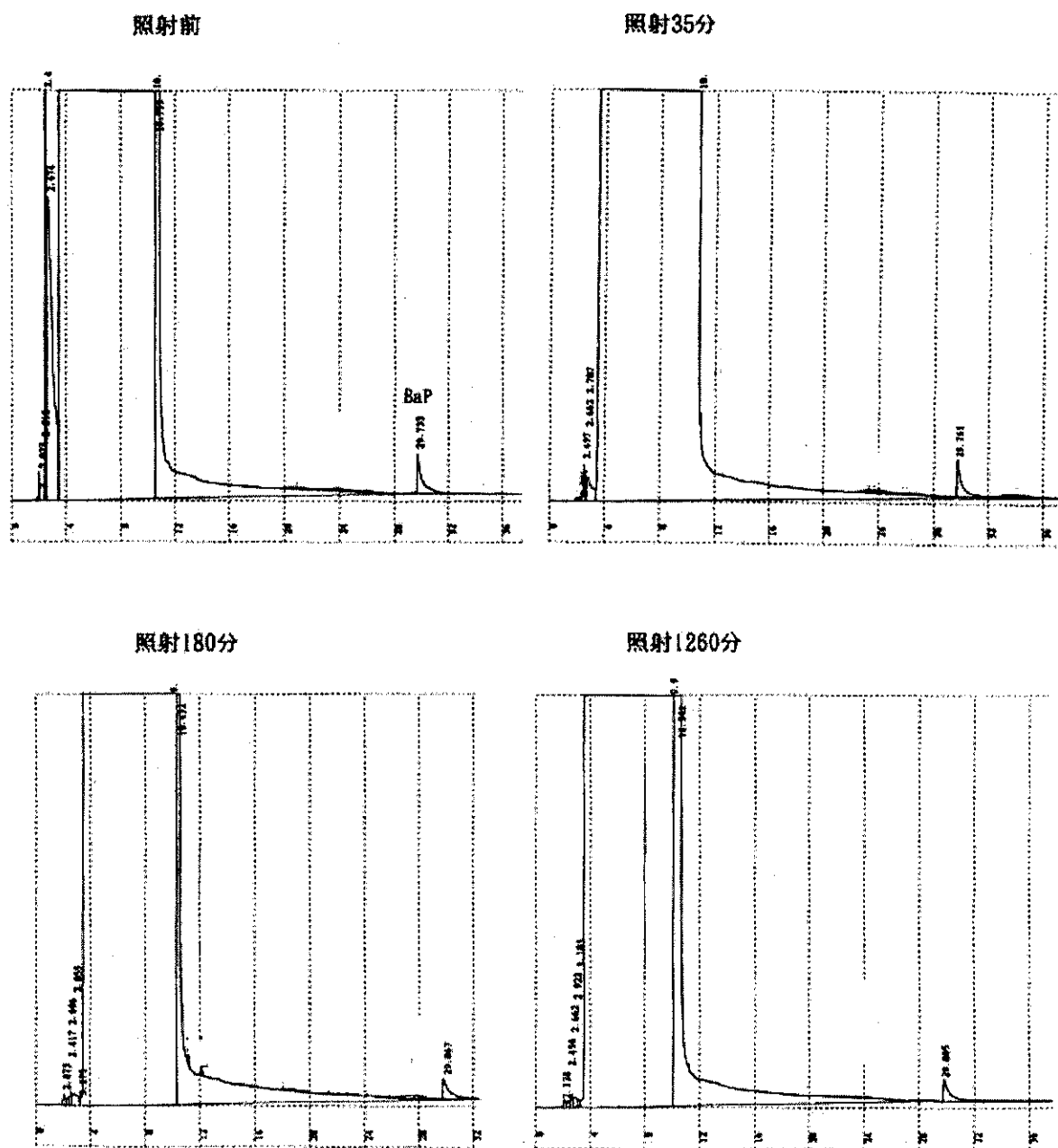


図3 太陽光照射実験におけるBenzo(a)pyreneのガスクロマトグラム

分析条件

検出器：GC-FID、カラム：DB1（無極性）キャピラリーカラム（0.3mm、30m）キャリアーガス：窒素、試料注入温度：280℃、カラム温度：60℃、1分→10℃/分→280℃5分、1分間スプリットレス

表4 都市ごみ焼却灰等埋立処分場からの浸出水の吸着樹脂による濃縮試料の変異原性

吸着樹脂	脱離液	TA98(net rev./L)		TA100(net rev./L)	
		S9-	S9+	S9-	S9+
C18	1 アセトン	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2 メタノール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PS2	1 アセトン	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2 メタノール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
AC2	1 アセトン	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2 メタノール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CSP800酸処理	1 アセトン:トルエン=5:1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2 メタノール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
無処理	1 アセトン:トルエン=5:1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2 メタノール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NH <sub>2</sub> (順相と逆相 分配の中間)	1 ジクロロメタン	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2 アセトン	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
XAD2	1 アセトン	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2 メタノール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ブルーキチン	メタノール、アンモニア	N.D.	(80)	N.D.	N.D.
Porapak Rdx (ニトロ化合物捕集用)	テトラヒドロフラン	N.D.	N.D.	N.D.	(400)

( ):1.5<MR、脱離液の1,2は、脱離の順番、Ames試験は2000倍濃縮液を使用

られなかった。本研究では、多種類の化学物質の濃縮に適応できるPS2とAC2樹脂をはじめとして他の特定の物質を捕集する吸着樹脂を用いて試みたが、変異原性を検出することはできなかった。産業廃棄物や可燃物を埋め立てた処分場からの浸出水についても同様の検討をする必要があるが、今回の実験結果から、浸出水には、Ames試験で検出できる変異原性物質濃度が極めて低いと考えられた。

#### D まとめ

焼却灰抽出液のCCや極性が異なる抽出溶媒の連続抽出による変異原性物質の検出、PAHsのmixtureを用いたAmes試験による相互作用、また変異原性物質の太陽光による影響、焼却灰等の埋立処分場浸出水の吸着樹脂を用いた変異原性物質の検出について検討したところ、以下のことが明らかとなった。

##### ①焼却灰の抽出液のCCや有機溶媒による連続抽

出によって変異原性物質の検出感度は高くなることは少ないため、抽出原液のAmes試験によって変異原性はほぼ判定できると考えられた。

②PAHsの相互作用では、相乗作用は認められず、焼却灰の変異原性などの場合、含まれる各単体の変異原性強度を加算した相加作用であることが推定された。

③PAHsや飛灰の変異原性は、太陽光による影響はほとんど認められず、とくに焼却灰では太陽光に対して安定であることが推定された。

④浸出水中の変異原性物質を8種類の吸着樹脂で濃縮し、Ames試験を行ったところ、ブルーキチンやPorapak Rdxなどの特異な物質を捕集できる樹脂では不明確な変異原性が認められたが、浸出水の最適な濃縮樹脂を特定することはできなかった。

#### F 研究発表

##### 1. 論文発表

(なし)

2. 学会発表  
(なし)

G 知的所有権の取得状況  
(なし)

都市ゴミ焼却灰の数世代ラットの生殖機能等に関して評価する方法の実験的研究

分担研究者 市川 勇 国立公衆衛生院労働衛生学部室長

研究要旨

都市ゴミ焼却灰は、焼却されて濃縮した重金属等無機化合物をはじめ、焼却処理段階で生成されるダイオキシン類等の有機化合物を含有している。これら複数の有害化学物質の生体に対する複合的リスクアセスメント手法として主として生殖機能影響検索法を用いた。即ち、数世代にわたる実験動物（ラット）に焼却灰の1%混合飼料を摂取させ後、交配させ受胎率、新生児数、雌雄比率、血液中の性ホルモン濃度、各種臓器重量の変動を観察した。今回の結果では、1世代目のラット血液中の男性ホルモン以外の性ホルモン濃度の減少傾向が観察された。無機化合物に深く係わるポルフィリンの代謝関連酵素活性に対する焼却灰摂取の影響は見られなかった。また、焼却灰摂取群に1世代目と同様、2世代目の受胎率低下、新生児雌比率の増加及び睪丸湿重量の減少（睪丸組織の萎縮）が観察された。

A. 研究目的

一般都市ゴミを焼却すると、その灰の中には濃縮された重金属等無機化合物および焼却途中で生成するハロゲン化有機化合物等の有害化学物質が多数含まれることが知られている。これら複数の有害化学物質の生体に対する複合的リスクアセスメント手法を確率する必要がある。本研究では、昨年度までに長期間焼却灰を粉末飼料と混合して摂取させたラットの体重変化、臓器重量変化およびIgE抗体産生能の変化を観察測定したが、顕著な変化は検出出来なかった。<sup>1)</sup> また、生殖機能影響検索法を用い、実験動物（ラット）に対して焼却灰の混合飼料を1ヶ月間程摂取させた後、交配させ受胎率、受胎必要日数、新生児数、雌雄比率など生殖機能に対する影響を観察した結果を基に、廃棄物処理システムにおける有害物の複合影響評価法としての検討を行い、焼却灰混合飼料を摂取すると受胎率は低下し、受胎必要日数は長くなり、ま

た母親一匹当たりの新生児数は多くなり、更に新生児の雌の割合が高くなることを観察した。<sup>2)</sup> そこで、本年はこの1世代目の数種類の性ホルモン濃度の変化および金属元素と深い関わりのあるヘム蛋白のポルフィリン代謝酵素活性の変化を測定し、また1世代目ラットと同様に1%焼却灰混合飼料を離乳後の新生児（2世代目）に対して摂取し続けた後、2世代目でも交配し受胎率、新生児数、雌雄比率、臓器重量等について観察した。

B. 研究方法

1) 焼却灰混合飼料の調製と動物交配実験：

都市ゴミは関東地域の焼却施設でバグフィルタに改善する前の飛灰を採取し、粉碎、ステンレス製ふるいで直径約150 $\mu$ m以下に調製して試料とした。飛灰粒子を1%濃度として粉末試料（日本クレア製CE-2）と混合し、水を加えて練り、乾燥後摂取させた。

動物は雌雄Jcl-Wistar系ラットの約9週齢を1世代目として購入し、数日間予備飼育した後、対照群(n=10)には通常固形試料(CE-2)を、また飛灰(FA, Fly Ash, n=11)群には1%FA混合飼料を摂取させた。約一ヶ月後、対照群どうしまたはFA群どうしの雌雄を交配させ、20日の妊娠期間を経て出産した新生児を各母親に約4週間授乳により養育させた後、雌雄分離して3ヶ月間飼育した2世代目についても1世代目と同様に交配実験を行った。

受胎の確認は、プラグ(膣栓)の有無、体重変化および出産により行った。プラグ形成確認後、雌雄を個別ケージに移し、約20日間それぞれの飼料を摂取させ体重変化を観察した。新生児の数、雌雄判別、奇形の確認などは出産後2、3日経過後に行い、総数と母親一匹当たりの数を算出した。

## 2) 血漿中のホルモン濃度測定:

臨床検査会社「SRL」にラット血漿中のテストステロン、E2 (IVF-エストラジオール)、プロゲステロンの性ホルモン及びT4 (チロキシン)の甲状腺ホルモンの分析を委託した。

## 3) ポルフィリン代謝関連実験<sup>2)</sup>:

エーテル麻酔したラットの腹部大動脈よりヘパリン処理した注射器で採取した血液を、冷却遠心分離した血漿および血球(末梢血液)を、また、摘出した肝臓をポルフィリン代謝関連酵素活性測定時まで凍結保存した。

### 2-1) 血液中ヘモグロビン濃度の測定

血液を蛍光分光光度計(日本分光社, PP-550A)を使用し、541nmで測定した。

2-2) 血液中ALAD( $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase、 $\delta$ -アミノレブリン酸脱水酵素)活性の測定

末梢血液0.05mlに蒸留水0.3mlと0.3M-ALA(アミノレブリン酸)、0.5M-リン酸(ナトリウム)緩衝液を含むpH 5.6溶液0.05mlおよび1nM-硫酸亜鉛(ZnSO<sub>4</sub>)を含む0.1mM-ジチオスリトール(DDT)0.05mlを加えて総量を0.5mlとし、37°Cで60分間振蕩保持した。反応終了後、0.1M-塩化第2水銀を含む1M-トリク

ロ酢酸(TCA)0.5mlを加え、5~10分間室温に放置し、2000~3000 x gで遠心分離した上清液を別のチューブに移した。この液0.8mlにRegular Ehrlich試薬0.8mlを加えてから10分後に蛍光分光光度計を使用し、553nmで測定した。

2-3) 肝臓ALAS( $\delta$ -aminolevulinic acid synthase、 $\delta$ -アミノレブリン酸合成酵素)活性の測定

10mM-炭酸水素ナトリウム溶液および50mM-トリス塩酸緩衝液pH8.0から構成された0.25M-シオキチン溶液を肝臓重量当たり10倍加え、ホモジナイザー(攪拌器(Kinem-Atica社, RT1200)で氷水で冷却しながらホモジナイズして細胞膜を破壊して均一化した後、1500x gで10分間遠心分離した。沈殿と上澄に分け、上澄液をさらに17000x gで10分間遠心分離してミトコンドリアを分離した。ミトコンドリア画分に0.25M-シオキチン溶液0.05mlを加えて2ml/肝臓gとなるようにホモジナイズして酵素液を調製した。

肝臓ミトコンドリア画分から得た酵素液0.35mlに1M-グリシン溶液0.05ml、10mM-スクシニルCoA溶液0.05ml、0.5M-リン酸緩衝液(pH7.5)の5mM-ピリドキサルリン酸溶液0.05mlを加え、37°Cで30分間振蕩しながら保持した。反応を0°Cに冷却した0.7M-TCA溶液2mlを加えて停止させ、5~10分間放置後、2000~3000 x gで5~10分間遠心分離した上澄液をDOWEX50H<sup>+</sup>型およびDOWEXICH3COO<sup>-</sup>型イオン交換樹脂を用いた方法によりALAピロールを溶出した。この精製したALAピロールについてEhrlich試薬により発色定量した。

## 3) 臓器湿重量測定

採血・脱血後、肝臓・腎臓・副腎・脾臓・胃・睾丸・副睾丸・精巣・前立腺を摘出し、上皿精秤天秤で湿重量を測定した。ラット個体の体重差を補正するために、各臓器湿重量を分子とし個体毎の体重を分母とした比で表して比較検討した。

## C. 研究結果及び考察

### 1) 1世代目ラット血漿中のホルモン濃度:

表1に交配前、妊娠期間及び養育期間の総計約3ヶ月間都市ゴミ焼却灰を摂取した群を灰飼群として表したが、ホルモン濃度に変動が示さ

れたのは雄におけるプロゲステロン濃度の増加傾向、雌におけるプロゲステロンとエストラジオールの濃度低下傾向であった。特に、雌でも妊娠した群はその低下程度が、妊娠しなかった群より大きく示された。低下度合いが有意でな

かったのは、値にバラツキ（標準偏差）が大きかったためである。なお、男性ホルモンのテストステロンと甲状腺ホルモンの濃度には雌雄共に灰摂取の影響は現れなかった。

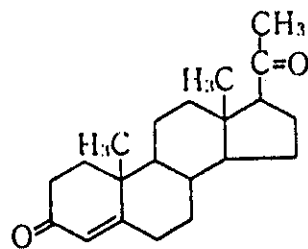
表1 一世代目ラット血漿中ホルモン類に対する都市ゴミ焼却灰混合飼料の影響

性別	テストステロン (ng/ml)	E2(エストラジオール) (pg/ml)	プロゲステロン (ng/ml)	T4(チロキシン) (ng/ml)
雄対照群 (n = 4)	1.3 ± 0.7	7.7 ± 1.0	1.8 ± 0.6	4.6 ± 0.2
雄灰飼群 (n = 5)	1.1 ± 0.4	6.9 ± 1.2	2.9 ± 1.4	4.5 ± 0.5
雌対照群 (n = 5)	0.1 ±	25.4 ± 13.7	29.1 ± 9.2	3.7 ± 0.6
雌(妊娠) 灰飼群 (n = 5)	0.1 ± 0.1	17.5 ± 9.6	22.9 ± 9.5	3.7 ± 0.2
雌(非妊娠) 灰飼群 (n = 3)	0.1 ±	23.4 ± 5.8	25.6 ± 3.6	3.4 ± 0.3

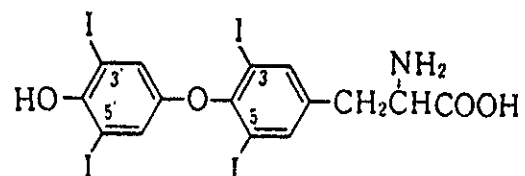
血漿中のホルモン濃度で変動が大きかったエストラジオールは、典型的な発情・女性ホルモン（エストロゲン）であり、雌の卵胞成熟期から排卵直前までに盛んに卵巣から分泌される。また、プロゲステロンはコレステロールから男

性ホルモン（アンドロゲン）やエストロゲンに生合成されていく過程における中間体である（図1）。

なお、エストラジオールはテストステロンからも生合成される（図2）。



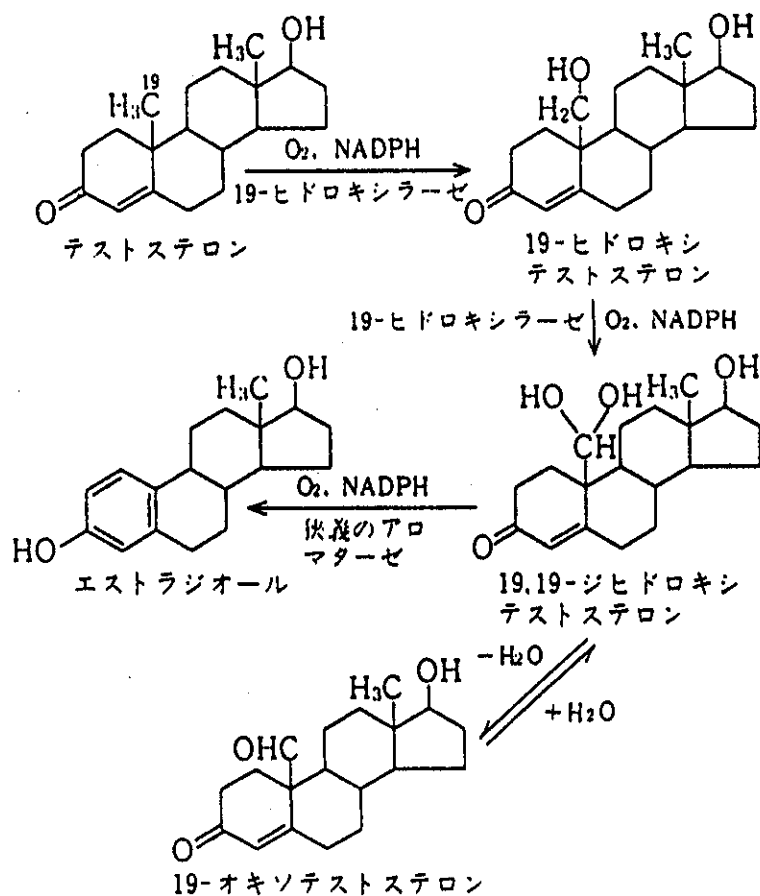
プロゲステロン



チロキシン

図1 プロゲステロンおよびチロキシンの化学構造





テストステロンからエストラジオールへの合成過程（芳香化酵素系：広義のアロマトラーゼ）

図 2 性ホルモンの代謝とその化学構造

この様に性ホルモンはお互いに関連しあって生殖機能を潤滑に進行させているが、今回の研究結果では男性ホルモンより女性ホルモンに濃度変動が大きくみられたことに、受胎必要期間の長期化や受胎率の低下<sup>2)</sup>との関連性として注目したい。

外部からの化学物質により生殖機能が影響を受けることから、これらの化学物質を環境ホルモン（内分泌攪乱化学物質）と呼び、細菌生物の生存への影響が危惧されている。従って、今回得られた結果から、有意差ではないが、性ホルモン濃度に変動傾向がみられたことから、都市ゴミ焼却灰中に含まれるダイオキシン類等の有機塩素系化学物質による生殖機能に及ぼす影響が懸念される。

有機化合物に関しては、数年前の焼却飛灰中に数 $\mu$ モル単位の量を検出したが、その含有物

については分析を行っていない。昨年度使用した飛灰に関しては、ダイオキシン類及びジベンゾフラン類を測定した結果、総PCDDs及び総PCDFsの濃度（ng/g）はそれぞれ600と940であり、2, 3, 7, 8-TCDDの毒性に換算した毒性等量（ng-TEQ/g）はそれぞれ17と22であった。今回使用した試料もバグフィルタに取り替える前の飛灰であるので、同程度の2, 3, 7, 8-TCDDが含まれると考えると、雌雄ラット共に交配前と妊娠期間中との合計55日間で摂取した量は雌17ng、雄25ngであり、体重kg・1日当たりの摂取量（耐容一日摂取量, TD1）は、種差と個体差の安全係数100を考慮して算出すると約30pg/kg/dとなり、ヒトに関する値（WHO、環境庁、厚生省：1~4, 5, 10pg/kg/d）より高いが、

ヒトのTDIに近い値なので、55日間程度でラットの生殖機能に影響を与えるとは考え難い。従って、1世代目での受胎率の低下及び母親一匹当たりの新生児数の増加等の変動は、他の有機化合物や無機化合物等の総合（複合）影響による可能性も考えられる。

2) 1世代目ラット血液中及び肝臓中のポルフィリン代謝関連酵素活性：

表2に示す様に、ポルフィリン合成系の酵素、ALAD（ $\delta$ -アミノレブリン酸脱水酵素）及びALAS（ $\delta$ -アミノレブリン酸合成酵素）の活性に関しては、都市ゴミ焼却灰混合飼料摂取した雄において、肝臓中のALAS活性に上昇傾向がみられたのみであった。

表2 二世目ラット血液中および肝臓中のポルフィリン代謝系に対する都市ゴミ焼却灰混合飼料の影響

臓器 ポルフィリン類 番号	血 液		肝 臓 *
	ALAD活性 (nmolesPBG/gHb/h)	ヘモグロビン(Hb)量 (g/dl)	ALAS活性 (nmoles/gLiver)
雄対照群 (n=10)	409.7 ± 83.0	17.3 ± 2.6	2.08 ± 0.39
雄灰飼群 (n=11)	406.5 ± 71.7	18.4 ± 3.8	3.18 ± 1.22
雌対照群 (n=8)	378.1 ± 123.4	17.9 ± 4.2	2.66 ± 0.62
雌灰飼群 (n=8)	398.7 ± 106.2	18.1 ± 4.1	2.56 ± 0.79

\* : n = 5

ALAD:  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase, ALAS:  $\delta$ -aminolevulinic acid syntase, PBG: porphobilinogen, Hb: hemoglobin

多くの金属元素がポルフィリン代謝系酵素に対する阻害作用の模式図<sup>9)</sup> (図3)を示す。

都市ゴミ焼却灰中には焼却により濃縮された重金属をはじめとする金属元素化合物が多く含まれている。市川らは、数種類の飛灰中の金属元素の分析を行い、珪素、カルシウム、アルミニウム、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、鉄の含量が高く、鉛、亜鉛、マンガン、銅が続き、クロミウムやカドミウムは検出されるが少

ないことを示した。この飛灰微粒子をラットに吸入暴露すると、肺にはアルミニウムは投与期間が長くなると蓄積量が増加するが、可溶性の亜鉛や鉛の蓄積量は少なかった。<sup>10)</sup> また、金属元素の可溶性は、希塩酸溶液で飛灰を抽出した液には、亜鉛、ナトリウム、カリウムが多くみられ、カドミウム、カルシウム、鉛、銅と続き、アルミニウム、鉄、クロミウムは少ないことから示された。<sup>9)</sup> この抽出液を苛性ソーダ溶液

で中和後、水道水で希釈してラットに6ヶ月間摂取させると、肝臓・腎臓・脾臓・胃・小腸等でカドミウムの顕著な蓄積が、また肝臓・腎臓等にクロミウム、胃にマンガンの蓄積がみられた。<sup>9)</sup> 更に18ヶ月間摂取すると、カドミウムの先に述べた臓器での顕著な蓄積に加え、腎臓や小腸での鉛と、胃でのマンガンの顕著な蓄積

が観察されたが、他方逆に、肝臓からナトリウム、亜鉛、マグネシウム、カルシウム、マンガン、銅の減少、腎臓では更にカリウムも減少していた。<sup>7)</sup> これらの無機化合物元素は、摂取により種々の生体影響を与えていると思われるが、今回得られた結果ではラットのポルフィリン代謝系には明らかな影響を示さなかった。

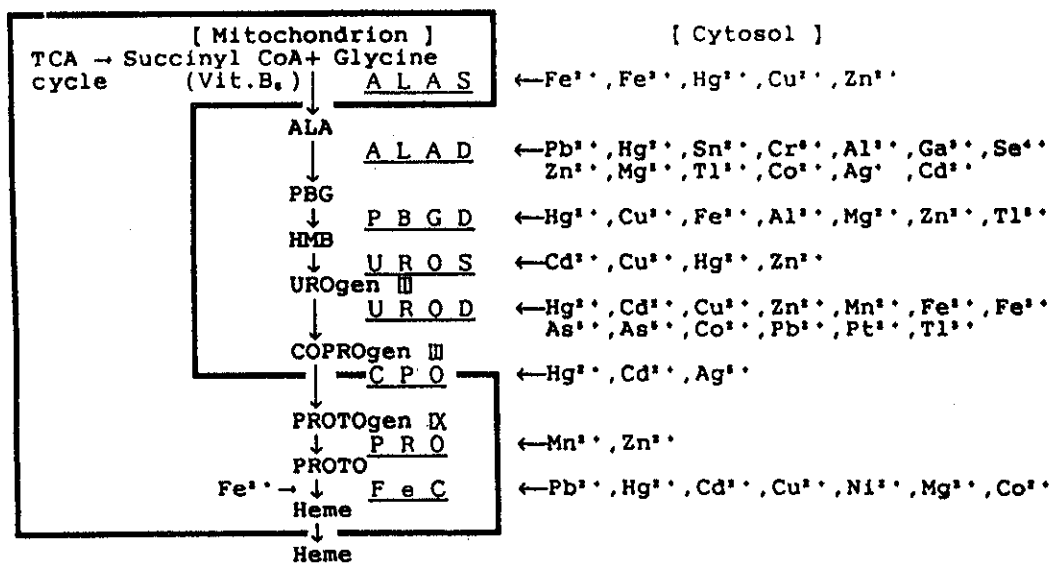


図3 ポルフィリン代謝の関連酵素に対する細胞質中の金属元素の阻害作用<sup>3)</sup>

3) 2世代目ラットの受胎率:

都市ゴミ焼却灰混合飼料を離乳時期から約2ヶ月間直接摂取した2世代目ラットどうし及び通常固形飼料を同一期間摂取したラットどうし、更に両群のお互いどうしを交配させると、受胎率は表3に示す様に、通常食どうしでは2日目に既に8割を示したが、雄が通常食で雌が灰混合食の組み合わせでは3日目に6割、5日目に10割と受胎が遅れていた。また、逆に雄が灰混合食で雌が通常食の組み合わせでも4日目以降に約8割と通常食どうしの場合より遅れ、更に灰混合食どうしでは4日目で7割、6日目でも8割と日数がかかった。

これら受胎率の変動は、1世代目の通常食どうしで1日目で6割、4日目で10割、また灰混合食どうしで4日目に6割、5日目でも7割と1%都市ゴミ焼却灰混合飼料の摂取により受胎率は低く、かつ日数がかかったこ

とと同様の影響を示していた。

4) 2世代目ラットの新生児数及び雌雄比率:

先の項で述べた組み合わせで出産した新生児数を総数、雄数及び雌数で順次示すと、通常食どうしで108, 54, 54匹、雄通常食と雌灰混合食では108, 48, 60匹、雄灰混合食と雌通常食で89, 41, 48匹、灰混合食どうしで82, 33, 49匹であった。この結果では、通常食の母親一匹当たりの新生児数(12.0匹)が1世代目のそれ(12.3匹)と殆ど変わらないことを示した。また、総数では雄が通常食では雌の飼料違いにかかわらず同じ(108匹)であるが、雄が灰混合食だと80匹代に減少していた。更に雌が灰混合食であると、雄新生児の数が減少を示した。これらの関係を母親1匹当たりで表4の様に示すと、雌が灰混合食である場合、雄の飼料の如何にかかわらず雄新生児の数が減少傾向であった。

表3 2世代目ラットの受胎率(%)及び必要日数

雄	通常食		1%焼却灰混合食	
雌	通常食 (n=10)	焼却灰混合食 (n = 10)	通常食 (n=9)	焼却灰混合食 (n = 10)
1日目	20	0	33	10
2日目	80	0	33	20
3日目	80	60	56	30
4日目	90	60	78	70
5日目	90	100	78	70
6日目	90	100	78	80

表4 2世代目ラット母親1匹当たりの雌雄別新生児数

雄	通常食		1%焼却灰混合食	
雌 (母親)	通常食 (n=9)	焼却灰混合食 (n = 10)	通常食 (n=7)	焼却灰混合食 (n = 8)
新生児 雄	6.0 ± 2.4	4.8 ± 1.7	5.9 ± 2.5	4.8 ± 1.4
新生児 雌	6.0 ± 2.4	6.0 ± 2.1	6.8 ± 2.3	6.1 ± 1.9