

# 室内環境中粒子状汚染物質のバイオモニタリングおよび リスク低減化技術に関する研究

9ASKM003 及川 雅史  
指導教員 関根 嘉香

## 1. 緒言

ハウスダストは室内空气中に浮遊するダストのうち、床、棚等に沈降したものであり、鉛<sup>1)</sup>などの重金属類やダイオキシン類<sup>2)</sup>などの有機汚染物質が含まれることが明らかになっている。これらの研究は、有害物質の単一評価であり、未知、未確認物質や化学物質同士のシナジー効果の検討がなされていない。また、ハウスダスト自体が及ぼす毒性に関する検討がされていない。バイオアッセイ法は生物応答を利用した、未知あるいは未確認の有害物質を含む環境試料の有害性評価法である。本研究は室内環境汚染物質のバイオモニタリング技術の開発を目的とし、ハウスダストの抽出物が海洋性細菌 *Vibrio fischeri* の生物発光性に及ぼす影響について検討した。

## 2. 方法

### 2.1 ハウスダスト試料の回収

2008年～2009年にかけて一般家庭に依頼し、掃除機内にたまったごみを紙パックごと提供してもらった( $n=7$ , Table 1)。掃除機ごみはステンレス製ふるいに移し、振とう機(井内製, SR-1)を用いて、300-1000  $\mu\text{m}$ 、53-300  $\mu\text{m}$ 、<53  $\mu\text{m}$  の粒径に分け、試料とした。なお、髪の毛など粒子と認められない物質は取り除いた。

Table 1 House dust samples provided for this study.

Sample Name	Collecting duration	Location	Housing type	Smoking
H#1	12 months	Urban	Apartment	N
H#2	3 months	Suburb	Detached	N
H#3	3 months	Suburb	Detached	N
H#4	3 months	Suburb	Dental clinic	N
H#5	12 months	Urban	Apartment	N
H#6	3 months	Suburb	Condominium	H
H#7	12 months	Urban	Apartment	H

N: non-smoking, H: habitually smoking

### 2.2 生物発光強度の測定<sup>3)</sup>

ハウスダストのバイオアッセイには土壌毒性検査システムである Rapid Onsite Toxicity Audit System (日立化成工業株式会社)をハウスダストのバイオアッセイに適用した。各試料を抽出溶媒 10 mL(滅菌蒸留水、塩酸、メタノール)で抽出し、孔径 0.45  $\mu\text{m}$  のろ紙でろ過した。また、塩酸の抽出溶液はイオン交換水で 10 倍に希釈した。一方、凍結乾燥保存した細菌を 50 分間再活性化溶

液に浸して再活性化を行った。24-ウェルプレート内で細菌溶液にろ液を加え、ルミノメーターで生物発光強度を測定した(Fig.1)。塩酸抽出物に関しては、ろ液を細菌溶液に作用させる前に、buffer 溶液を添加することで pH の調整を行った。細菌溶液にろ液を作用させる前の発光強度を 100 とし、相対発光強度  $BLI(\%)$  を求め、式①にて相対発光阻害度  $INH(\%)$  を求めた。本研究では  $INH$  の値が大きいほど、毒性が強いとみなすことができる。

$$INH(\%) = 100 - BLI(\%) \dots \textcircled{1}$$

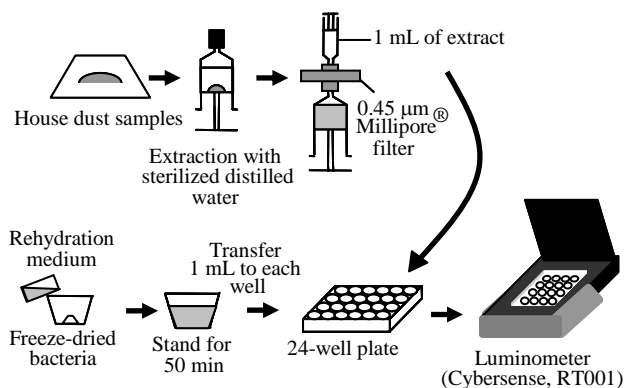


Fig.1 Flow chart of the bioluminescence intensity measurement for the sterilized distilled water extracts of house dust.

### 2.3 毒性要因の検討

試料の水抽出物中の陰イオン成分をイオンクロマトグラフ法により定量した。濃度をピーク面積法により求め、ハウスダスト 1 g あたりに含まれるイオン成分含有量(mg/g)を算出した。

試料の塩酸抽出物中の金属成分を ICP-OES 法で定性分析を行った。測定には誘導結合プラズマ発光分光分析装置(エスアイアイ・ナノテクノロジー製, SPS5100)を用いた。

## 3. 結果と考察

### 3.1 水抽出物のバイオアッセイ

Fig.2 にハウスダストの水抽出液を細菌溶液に作用させたときの  $INH$  を粒径ごとに示した。H#1～4 の試料では、粒径が小さいほど強い毒性を示したが、H#6～7 の試料については傾向が異なり、粒径によらず強い毒性を示した。H#5 の試料は粒径が小さいほど強い毒性を示したが、H#1～4 ほど顕著な傾向ではなかった。

細菌溶液に作用させた、ハウスダストの

水抽出物はコロイド粒子による懸濁溶液だった。そこでコロイド粒子を除去することで毒性に変化があるか確認したところ、除去前後で毒性に差はなく、毒性要因は水溶性成分であることが明らかになった。

水抽出物中の陰イオンを測定した結果、硝酸、硫酸イオン濃度が増加すると *INH* が高くなる傾向が見られた。Fig.3 には硝酸、硫酸イオン濃度の和と *INH* をプロットした。H#1~4 の試料では硝酸、硫酸イオン濃度が増加するに伴い、*INH* が高くなる傾向が見られた。これは硝酸、硫酸塩が主要な毒性要因であるためと考えられる。一方、硝酸、硫酸イオン濃度にかかわらず高い毒性を示す試料があった。これらの傾向を示す試料は *INH* に粒経依存性がない、もしくは弱い傾向を示した H#5~7 の試料であった。これらの試料は硝酸、硫酸イオン以外の毒性要因が考えられる。また、H#6~7 は喫煙習慣がある家庭の試料であった。よって、煙草煙中の成分がハウスダストの毒性に影響を及ぼしたと考えられる。H#5 の家庭は、煙草煙中の成分、硝酸、硫酸塩などの毒性要因がなく、異なる毒性要因が存在すると考えられる。

### 3.2 塩酸抽出物のバイオアッセイ

塩酸抽出物をバクテリア溶液に作用させた結果、全ての粒経で発光強度の減少を示した(Fig.4)。酸抽出物では水抽出物とは異なる結果が示され、金属成分の影響であると考えられる。塩酸抽出物中の金属成分を分析したところ、多様な金属成分が検出された。よって、金属成分がハウスダストの毒性に影響を及ぼしたと考えられる。

### 3.3 有機溶媒抽出物のバイオアッセイ

メタノール抽出物をバクテリア溶液に作用させた結果、毒性を確認することができなかった。本法は抽出溶媒にメタノールを使用しているため、抽出できない成分があり、抽出溶媒自体がバクテリアに毒性を及ぼすため、作用量が少なく感度を向上できない問題がある。よって、ハウスダストのバイオアッセイを行うことができない。

## 4. 結論

ハウスダストの水抽出物、塩酸抽出物は *Vibrio fischeri* の生物発光を阻害することが明らかになった。また、水抽出物中の硝酸、硫酸塩が毒性要因であることが明らかになった。今後は化学分析とバイオアッセイを組み合わせ、室内環境質の評価法を考案していく。

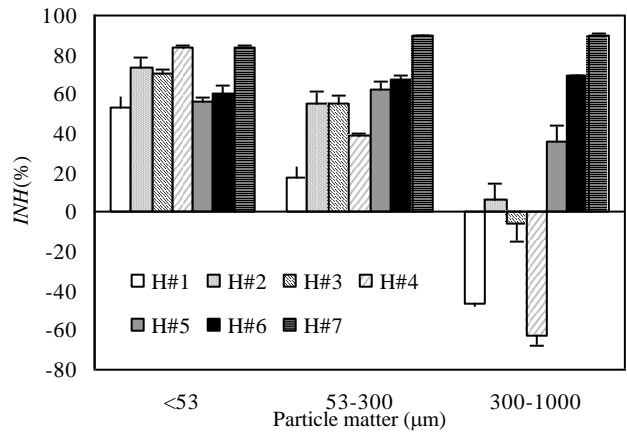


Fig.2 Comparison of *INH* of fractionated house dust samples extracted with sterilized distilled water .

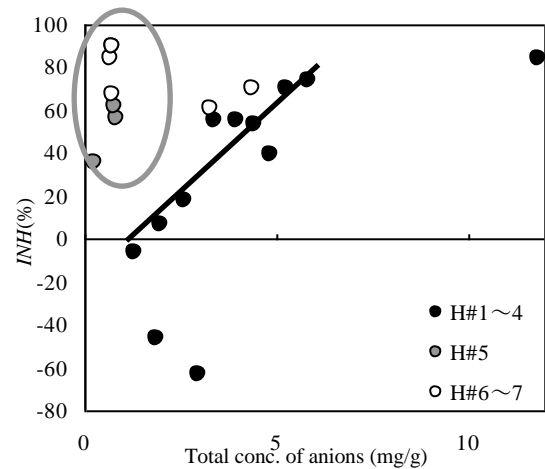


Fig.3 Relationship between concentrations of anions and *INH* of fractionated house dust samples extracted with sterilized distilled water.(anions :  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ )

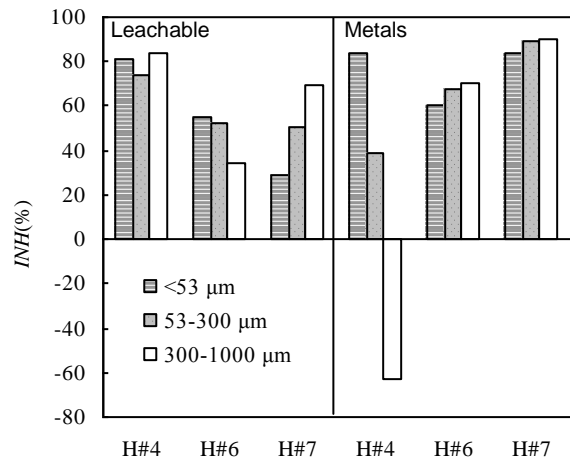


Fig.4 Comparison of *INH* of fractionated house dust samples. (Leachable: extracted with sterilized distilled water Metals: extracted with hydrochloric acid)

【謝辞】本研究を進めるにあたり、日立化成工業株式会社より ROTAS™ キットをご提供いただきとともに、前川表氏および栗原一義氏より貴重なご助言を賜りました。心より感謝の意を表します。

【参考】 1) Nyein Nyein AUNG et al, *Environ. Health Prev. Med.*, 9, 257-261(2004) 2) Go Suzuki et al, *19<sup>th</sup> Symposium on Environmental Chemistry Programs and Abstracts*, 19, 364-365(2010) 3) Masafumi OIKAWA et al., *Proceedings of the annual meeting on the society of indoor environment*, 2009, 92-93(2009)