

A-2 オゾン層保護対策技術の開発と評価に関する研究
(4) ハロン代替物質の環境影響(毒性)評価に関する研究

研究代表者 国立環境研究所化学環境部計測管理研究室 安原昭夫

環境庁国立環境研究所

化学環境部 計測管理研究室 安原昭夫
化学毒性研究室 彼谷邦光・白石不二雄

平成5-7年度合計予算額 53,582千円
(平成7年度予算額 14,568千円)

[要旨] 研究の対象としたハロン代替物質は米国で開発・使用され始めている 2H-Heptafluoropropane と Trifluoroiodomethane及び工業技術院名古屋工業技術研究所が独自に開発した Perfluorotrialkylamine系化合物で、いずれも揮発性が極めて高く、また水にほとんど溶けないという特徴を持っている。このような化合物の毒性検査は従来の方法では不可能であったため、今回新たに密閉系での回転培養による迅速・簡便な毒性試験法を開発し、上記のハロン代替物質の細胞毒性および遺伝毒性を調べた結果、いずれの化合物でも顕著な毒性は認められなかった。また、2種類のハロン代替物質の熱分解生成物(ガス状混合物)を毒性試験にかけたところ、Perfluorotriethylamineの熱分解生成物に弱い細胞毒性が観察されたが、遺伝毒性はいずれの場合も検出されなかった。ただし、熱分解において生成するフッ化水素あるいは二酸化窒素は猛毒物質であるため、毒性実験の前に除去を行った。

上記のハロン代替物質について熱分解挙動を調べた結果、有機化学的に予想される結果とほぼ一致した結論が得られた。フッ素という電子親和力の強い原子を多く分子内に持っているために、アミン化合物の窒素原子の非共有電子対が安定化され、通常のアミン類が有する反応性がフッ素系アミン類ではほとんど見られなくなっている。そのため、フッ素系アミン類はあたかも窒素原子を含まないフッ素系炭化水素と同じような挙動を示した。フッ素以外の含有ハロゲン原子を含んだ化合物の熱安定性(熱分解開始温度)を比べてみると、ヨウ素含有物質、臭素含有物質が低い温度から分解を始め、また二重結合を含むフッ素系アミンはかなり分解しやすかった。熱分解で生成する有機成分についてはガスクロマトグラムでみる限り、種類も少なく、生成量も少量であった。有機生成物のうちで同定できたもの、あるいは構造を推定できたものは半数以下であった。フッ素原子の大半は熱分解で無機化しており、有機フッ素系物質の生成はわずかであった。

[キーワード] ハロン代替物質、遺伝毒性、細胞毒性、培養細胞、熱分解、熱分解生成物

1. 序

モントリオール条約により特定ハロンの使用がエッセンシャルユースを除いて禁止されているが、一方、現代社会においては火災の消火あるいは火災予防のためには化学系消火剤の使用が不

可欠となっており、ハロン代替物質の開発が世界的にも急務となっている。消火能力やオゾン層保護の観点から開発されたハロン代替物質が、毒性の観点からも安全であることを確認することは大切である。さらに、ハロン代替物質が火災現場で使用された時に発生するであろう熱分解生成物についても、物質の生成状況や毒性の面から十分に基礎調査をしておく必要がある。

2. 研究目的

本研究の目的は (1)ハロン代替物質の毒性ならびに熱分解生成物の毒性、(2)ハロン代替物質の熱分解挙動を調べることである。

特定ハロンは消火剤としてだけでなく、火災予防の観点から航空機や美術館、コンピュータールームの室内空気に数%混合して使用されてきた経緯があり、ハロン代替物質も同様の状況で人体に長期間暴露される可能性が高いことから、慢性影響としての発癌性の有無を明らかにすることが重要である。しかしながら、多くのハロン代替化合物すべてについて実験動物を用いた発癌性試験を行うことは困難であり、化合物の癌原性を予測するためには培養細胞による遺伝毒性試験で一次スクリーニングをかけることが有効な手段である。現在使用あるいは開発されつつあるハロン代替物質は極めて水に溶けにくい物質で、かつ常温でも揮発性が異常に高い液体あるいは気体であり、さらに毒性がかなり弱いために、既存の毒性検査法では毒性評価が極めて困難である。そこで白石らが開発した気体物質の遺伝毒性を培養細胞で検査する試験法¹⁾を基本にして、さらにより迅速に、かつ安定したデータが得られる新しい検査法の開発を行うこととした。さらに、同じ検査法でハロン代替物質の熱分解生成物の混合ガスについても遺伝毒性を調べる。

火災現場を想定した熱分解実験を行うために、精度のよい熱分解装置を試作して、いろいろな温度での熱分解実験を実施する。熱分解実験で生成する生成物をガスクロマトグラフ質量分析計(以下GC/MSと略する)で分析し、熱分解で起こっている反応過程を明らかにする。現在までに多くの熱分解実験が報告されているが、フッ素化合物に関するもの²⁻⁴⁾はほとんどなく、フッ素化合物を製造している会社からの技術資料⁵⁻⁹⁾が文献の大半を占める状況である。学術論文として発表されている資料では今回実験の対象としているような揮発性フッ素化合物のデータは記載されていない。このような状況のもとで基本的な低沸点フッ素化合物の熱分解実験データを得ることはハロン代替物質に適用できるだけでなく、フロン等の研究にも応用できる内容であり、学問的にも価値あるデータを提供することになる。

3. 研究方法

3.1 実験に使用したハロン代替物質及び関連化合物

実験に使用したハロン代替物質としては、米国で市販されている 2H-Heptafluoropropane (商品名 FM200) と Trifluoroiodomethane (商品名 TRIODIDE) 及び工業技術院名古屋工業技術研究所の阿部 隆 博士らによって合成された新規ハロン代替物質(含窒素フッ素化合物)を使用した。比較物質として特定ハロンの Halon 1301 (Trifluorobromomethane) も実験に使用した。それらの物質を表1に一覧として示した。毒性実験では遺伝毒性陽性対照化合物として、消火剤としても使われている Bromochloromethane を使用した。

表 1 実験に使用したハロン代替物質及び関連化合物

化合物名	略号	示性式	沸点(°C)	毒性	熱分解毒性	熱分解
2H-Heptafluoropropane	HFP	CF ₃ CFHCF ₃	-15.2	○	○	○
Trifluoroiodomethane	Halon 13001	CF ₃ I	-22.5	○		○
Trifluorobromomethane	Halon 1301	CF ₃ Br	-57.8	○		○
Difluorobromochloromethane	Halon 1211	CF ₂ BrCl	-3.9	○		
Bromochloromethane	BCM	CH ₂ BrCl	68	○		
Perfluorotriethylamine	PFTEA	(C ₂ F ₅) ₃ N	70.3	○	○	○
N,N-Bis(trifluoromethyl)- 2H-tetrafluoroethylamine	DFDMEA	(CF ₃) ₂ NCF ₂ CF ₂ H	32.0	○		○
N,N-Bis(trifluoromethyl)-2- bromotetrafluoroethylamine	PFDMBEA	(CF ₃) ₂ NCF ₂ CF ₂ Br	59.5~ 60.5	○		○
Perfluorodimethylvinylamine	PFDMVA	(CF ₃) ₂ NCF ₂ =CF ₂	13.7	○		○
Perfluoro-N-ethylpyrrolidine	PFEP	CF ₃ NC ₄ F ₈	61.5~ 62.0			○

○：実験に使用したもの

3. 2 ハロン関連化合物及び熱分解生成物の毒性評価法

(1) 細胞毒性及び遺伝毒性の検索法

① 培養細胞

ガス暴露による細胞毒性と遺伝毒性を検索するための培養細胞としてチャイニーズ・ハムスター由来のCHL細胞株を使用した。CHL細胞は我が国で染色体異常試験に常用される細胞株で増殖速度が速く、培養が比較的容易で、遺伝毒性の指標とした姉妹染色分体交換 (Sister chromatid exchange ; SCE) 頻度の検出に適した細胞である。

② 培養

CO₂インキュベーターを用いる通常の開放系培養では牛胎仔血清を10%添加し、重曹でpHを調整したイーグルMEM培養液を使用しているが、ガス暴露に際しては密閉系培養を行う必要性から10%牛胎仔血清添加のイーグルMEM培養液をHEPES緩衝液と水酸化ナトリウム水溶液でpH7.2に調整し、培養(暴露)中 pHの変動を極力抑える培養液(ガス暴露用培養液)を用いた。なお、SCE分析を行う際は試薬としてプロモデオキシウリジンを添加した。

③ 細胞毒性

細胞毒性が認められる濃度範囲で遺伝毒性が検出されることが多くの化合物で確認されていることから、細胞増殖抑制率を指標とした細胞毒性を調べた。ガス暴露された培養細胞はコルセミドを添加後、テフロンキャップに代えてゴム栓で密栓して再度、2~3時間静置培養した。細胞をトリプシンにより単離し、コールターカウンターで細胞数をカウントして、暴露中の細胞増殖率を測定した。対照群の細胞増殖率と暴露群のそれとを比較することによりガス暴露による細胞増殖抑制率を求め、細胞毒性の指標とした。

④ 遺伝毒性

細胞数を測定した残りの細胞については低張液処理、メタノール／酢酸による固定処理を施した後、定法に従ってスライドガラス上に染色体標本を作成した。染色体標本はSCE分析用にFPG法¹⁰⁾により特殊染色し、光学顕微鏡下で各サンプルについて25個の細胞の平均SCE頻度を求め、さらに各群4サンプルについて細胞当たりの平均値をSCE頻度として求めた。対照群のSCE頻度に対するガス暴露群のSCE頻度の比を求めSCE誘発比とし、SCE誘発能を調べた。なお、暴露群の濃度に依存してSCE誘発比が増加傾向を示し、さらに対照群の2倍の誘発比を示す化合物を遺伝毒性陽性とした。

(2) ガス暴露試料

① ハロン代替物質及び関連化合物

表1に示した9種類の化合物とプロパンを毒性試験に供した。ここでプロパンは陰性対照として使用した。高い蒸気圧の得られないハロン代替化合物3種類については実験可能な最高ガス濃度を4%あるいは5%としてガス暴露実験を行った。PFDMVAと陽性対照化合物のBCMは細胞毒性が強いためそれぞれ最高暴露濃度を5%、あるいは2%として3段階の濃度でガス暴露実験を行った。他の化合物については最高濃度を8%に設定して3段階の濃度について細胞毒性及び遺伝毒性を調べた。

② 熱分解生成物

ハロン関連化合物の中からすでに商品化されているHFPと新規ハロン代替化合物であるPFTEAの2種類について熱分解装置を用いて熱分解生成物（混合ガス状態）を作成した。

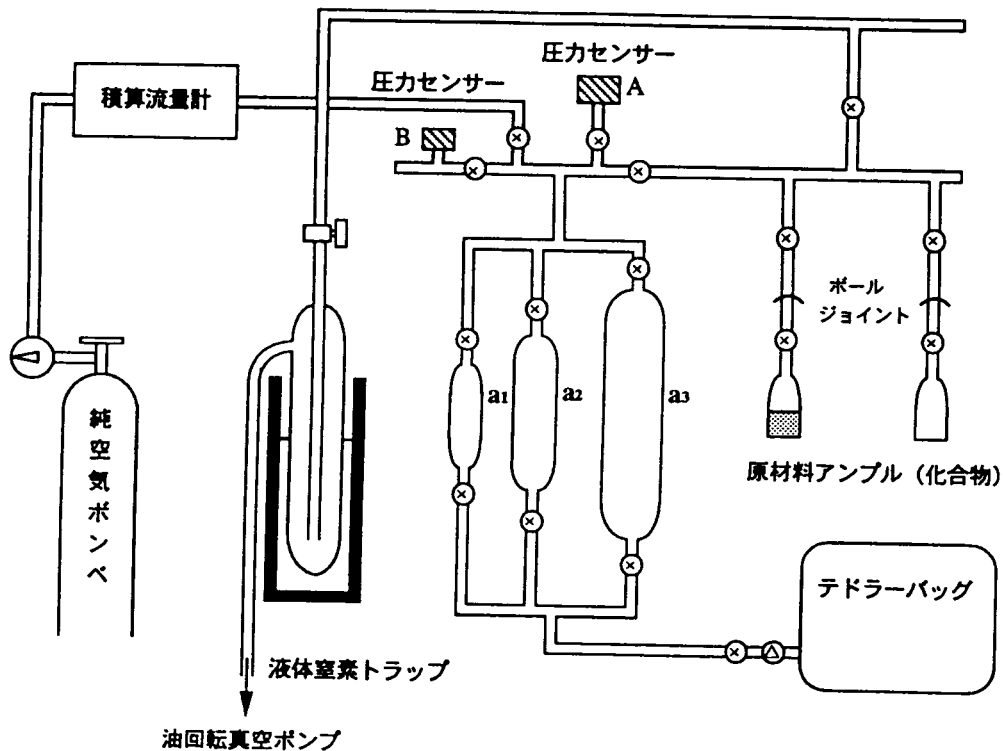
(3) 暴露用ガスの調製法

① ハロン関連化合物

ガス暴露する化合物のうち、高い蒸気圧を有する化合物については図1に示すガラス製ガスハンドリングラインを応用したガス調製装置に蒸気圧が760Torrまで測定できる圧力計を新たに装着して、既知容積のガラスシリンダー内の蒸気圧で化合物を一定量分取して、一定容積の純空気を積算流量計で送り込み、希釈することによりパーセント（容積比）レベルの比較的高濃度の暴露用ガスをテドラーバッグに作成して、暴露実験に供した。一方、ガラスシリンダー内で高い蒸気圧を示さない化合物については、あらかじめテドラーバッグに一定容量の純空気のみを充填して、その後、シリンジで化合物を液体のまま計量してテドラーバッグ内に注入、ガス化させて暴露用ガスを調製した。

② 熱分解生成物

熱分解生成物は上記の化合物のガス調製法によりテドラーバッグに調製したガスを熱分解装置に通して調製した。具体的には、HFPでは5%濃度のガスを700°Cで、PFTEAでは5%及び4%濃度のガスを710°Cで通気し、排ガスをインピンジャー内の水酸化カリウム水溶液にバブリングすることによりフッ化水素などの反応性ガスを除去した後、新たなテドラーバッグに再充填して暴露用ガスとした。なお、PFTEAは熱分解により多量の窒素酸化物を生成するため、窒素酸化物を吸収する溶液に排ガスを通気させて除去を行った後、さらに細胞毒性を弱めるために純空気でも2倍及び3倍に希釈して暴露に供した。暴露の前に、熱分解生成物の存在をガスクロマトグラフで確認した。



a1~a3 ; 容積既知のガラスシリンダー（作成濃度に応じて使い分ける）。圧力センサーA ; $10^{-3} \sim 10$ Torr まで測定可能（低濃度ガス用）。圧力センサーB ; $1 \sim 760$ Torr まで測定可能（高濃度ガス用）。（ガラスシリンダー内のガス状物質の蒸気圧を測定する）。⊗ ; グリースレスコック。積算流量計 ; マスフローメーターを使用した積算流量計（テドラーバッグに送り込む希釈用純空気の量を測定する）。たとえば、テドラーバッグに Y ppm の S Q の試料ガスを作成する場合、a1（容積 V_1 l）のシリンダーを使用した時のシリンダー内の蒸気圧（X Torr）は、 $X \text{ (Torr)} = \frac{S}{V_1} \times 760 \text{ (Torr)} \times Y \text{ (ppm)} \times 10^{-6}$ の式で求められる。

図1 ガスハンドリングラインを応用した標準ガス調製装置

（4）培養細胞へのガス暴露法

暴露用ガスを培養細胞に比較的長時間（24時間以上）暴露する方法として、培養細胞が付着増殖したガラス製の培養角ビンに、テドラーバッグに調製した暴露用ガスを導入・密閉し、培養角ビン回転装置で回転させ37°Cで細胞を培養しながらガス暴露を同時に行う方法を採用した。ガス暴露に使用した培養角ビンは図2に示すように内容積127mlの特注のガラス製培養角ビンである。細胞はあらかじめ培養角ビンの一面に約24時間前培養して、培養液をガス暴露用培養液10mlと交換した。そして、暴露ガスの導入・排出用の3mmφの長短2本のテフロン管とガスの密閉を行うテフロンコックを取り付けたテフロンキャップをクランプで装着後、37°Cのフラン器内のガス導入装置に4本を一群としてセットした。模式図を図3に示す。暴露ガスの導入は培養角ビンに取り付けられた排出部のテフロン管（短）の方からダイヤフラムポンプで毎分200mlの流量で

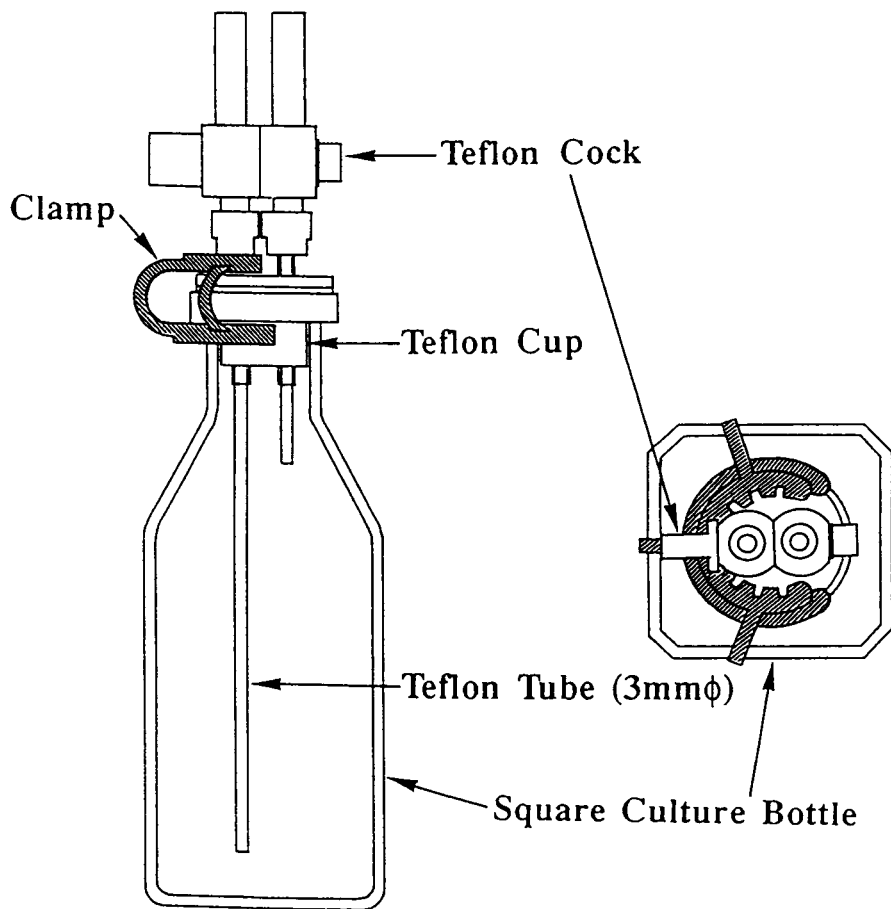
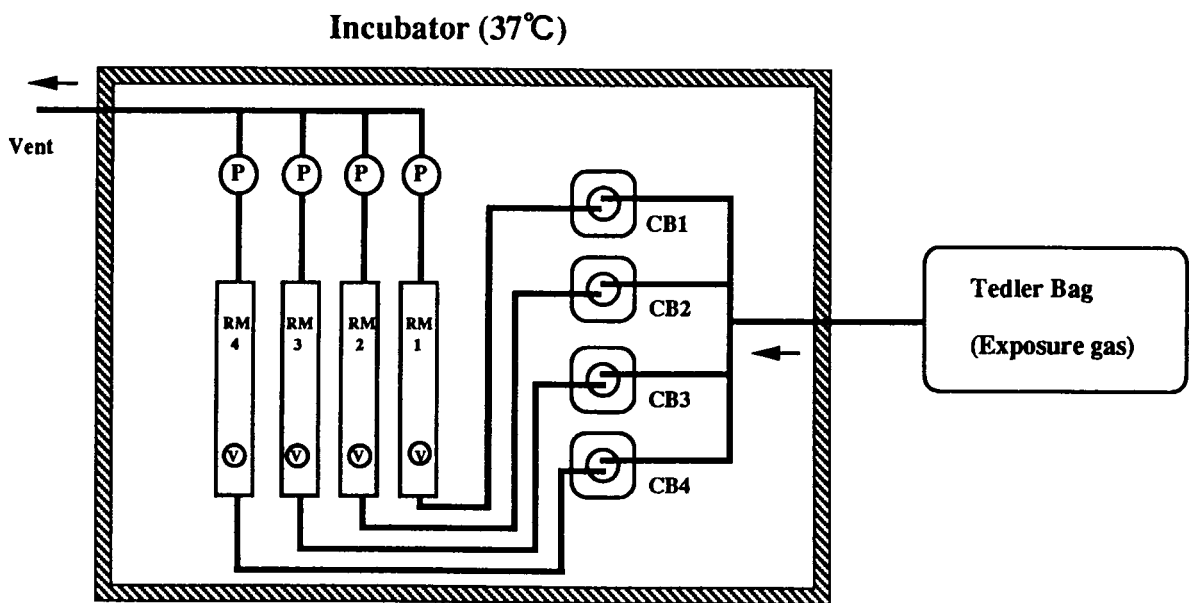


図2 ガス導入用テフロンキャップを取り付けた培養角ビン



CB1 - CB4 ; Culture Bottle, RM1 - RM4 ; Gas Flow Rotameter, P ; Diaphragm-type Pump

図3 培養角ビンへのガス導入装置の模式図

6分間吸引することにより行った。培養角ビンへの暴露ガスの充填が終わると図4に示した恒温器（37℃）内に置かれた同軸型回転培養機にセットして、1回転/分で回転を加えながら培養とともにガス暴露を行った。このシステムにより、4本の培養角ビンを一群とした場合、合計5群20本の同時ガス暴露が可能である。

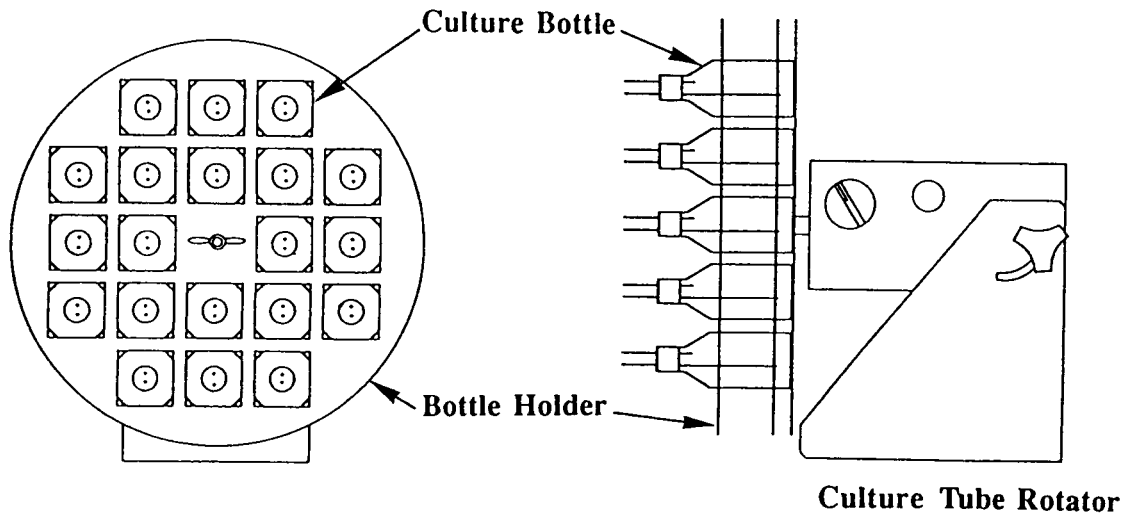


図4 ガス交換した培養角ビンを設定した回転培養機の模式図

3.3 熱分解実験

熱分解の実験装置を図5に示した。5%体積濃度のハロン代替物質を含む空気を調製して、ダイヤフラムポンプにより一定温度に加熱した石英管に毎分50mlで通気した。石英管の温度は300℃から900℃まで段階的に上げて行った。実験に供したフッ素系ハロン代替物質は表1で熱分解の欄に丸印の付いた化合物である。分解排ガスはフッ化水素（猛毒物質）を含んでいるので、水酸化カリウムの1M-水溶液（100ml）に通気した後、分析を行った。また、水酸化カリウム水溶液は実験終了後、ジクロロメタンで液々抽出を行い、有機化合物の有無を調べた。有機成分の分析はGC/MSで成分を同定し、ガスクロマトグラフ（以下GCと略す）で定量を行った。ガス試

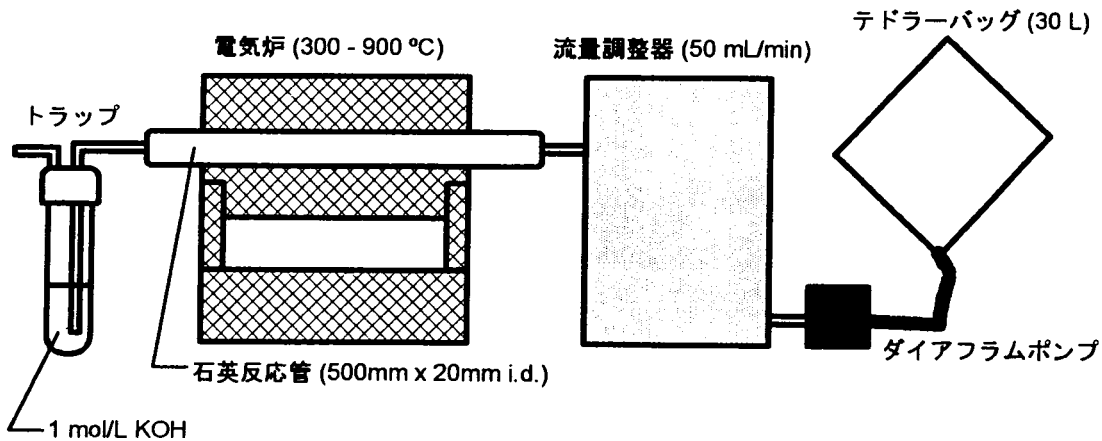


図5 熱分解実験装置の模式図

料の一定量をガスタイトシリンジで直接注入する方法を使用した。分析条件を表2に示した。無機成分についてはイオンクロマトグラフでフッ素イオンを定量した。遺伝毒性を調べる実験では、ハロン代替物質の熱分解生成物（混合ガス）を1M-水酸化カリウム水溶液および窒素酸化物除去用の溶液（スルファニル酸、氷酢酸、N-(1-ナフチル)エチレンジアミン二塩酸塩の混合水溶液）を入れたインピンジャーを通して、テドラーバッグに捕集した。窒素酸化物除去用の溶液は Perfluorotriethylamine を熱分解した時のみ使用した。

表2 GC及びGC/MS分析条件

	GC 分析条件	GC / MS 分析条件
GC装置名	Hewlett-Packard 5890II	Hewlett-Packard 5890II plus
カラム種類	Supelco VOCOL	Chrompack PORAPlot Q
(長さ, 内径, 膜厚)	105m, 0.53mm, 3 μ m	25m, 0.32mm, 10 μ m
キャリアガス(He)流量	6 ml/min	2 ml/min
カラムヘッド圧力	100 kPa	50 kPa
カラム温度	30°C	150°C
注入方式	スプリット (1:50)	スプリット (1:50)
注入部温度	250°C	200°C
注入量	100 μ lガス	50 μ lガス
インターフェース温度		250°C
検出器	FID	MS (Hewlett-Packard 5972MSD)
検出部温度	250°C	280°C
イオン化法		EI (70 eV)
スキャン範囲		m/z 15~550

4. 実験結果と考察

4. 1 ハロン関連化合物及び熱分解生成物の毒性評価

(1) ガス暴露システムの暴露条件の検討

ガス暴露システムにおいて、密閉系での回転培養で培養角ビン内のCHL細胞の増殖率が開封系での静置培養に比べてどの程度落ちるかを調べたところ、密閉系培養において約10%の増殖抑制が見られたが、回転培養による影響はほとんど認められなかった。さらに、テドラーバッグ内に作成したガス試料がガス導入装置により毎分200mlの流量で6分間導入された場合、培養角ビン内のガス交換がどの程度行われたか、さらに回転培養機での24時間の培養（暴露）中にガス濃度がどの程度減衰するかを Halon 1301の5%ガスをモデルにしてガスクロマトグラフで測定して検討した。ガス調製直後のテドラーバッグ内の濃度に対して、暴露開始直前の培養角ビン内のガス濃度は、①ガスだけの場合、②純水を10ml入れた場合、あるいは③培養液を10mlまたは20ml入れた場合のいずれでも初期値の90%付近の濃度を示し、比較的良好なガス交換が行われていることが判明した。24時間培養中のガス減衰率は室温で放置したテドラーバッグ内の試料減衰率

(15%)に比較して、26~21%と高い値を示した。テドラーバッグの24時間での大きな減衰はバッグ内壁への吸着などが原因と考えられたが、これ以上の究明はしなかった。今回、ガス暴露に供したハロン関連化合物のほとんどが水に難溶性であることから、培養角ビン内に充填した数%レベル濃度のガス試料でもこの暴露システムにおいてはごくわずかに溶解した化合物がその毒性の発現に寄与するものと推測され、化合物の水への溶解率が毒性発現の要因の一つとなることが示唆された。

(2) ハロン関連化合物の細胞毒性と遺伝毒性

実験に供したハロン関連化合物の細胞毒性の指標である細胞増殖抑制率と遺伝毒性の指標であるSCE誘発比の結果を表3に示す。特定ハロンのHalon 1301とHalon 1211は2~8%の3段階の濃度で両者とも弱い細胞増殖抑制作用を示し、SCE誘発においてはHalon 1301は量-反応関係が見られ、5%と8%でその誘発比が2を越す有意な遺伝毒性を示した。商品化されている2H-HFPとHalon 13001については、2H-HEPが8%濃度ではやや強い細胞増殖抑制作用を示し、SCE誘発比が1.66とやや高めではあったが、5%以下ではほとんど影響は認められなかった。一方、Halon 13001は2~8%濃度で量-反応関係を示す比較的強い細胞増殖抑制が見られ、SCE誘発ではいずれの濃度でもやや高い誘発比が得られたが、遺伝毒性陽性と判定するには至らなかった。ハロン代替化合物の4種類のアミン系化合物はPFDMVAを除いていずれも低い蒸気圧であり4%あるいは5%以上のガス暴露実験が不可能であったために8%の毒性影響を検討することはできなかった。実験可能な最高ガス濃度で得られた結果は3化合物とも細胞毒性は弱く、5%のDFDMEAでSCE誘発比が1.51とやや高めの値が得られた。PFDMVAはその細胞毒性が強いためガス暴露濃度を1~5%の範囲に下げて検討したところ、強い細胞毒性が見られ、SCE誘発比が5%で1.85と陽性に近い値であった。4種類のハロン代替化合物の遺伝毒性は実験可能な最高濃度ではいずれも陰性と判定された。遺伝毒性の陽性対照に用いたBCMは比較的低いガス濃度範囲(0.5~2.0%)で量-反応関係のある細胞毒性が見られ、SCE誘発比は0.5%でも2.52であり強い遺伝毒性が認められた。BCMが比較的低い濃度で細胞毒性を示し、強い遺伝毒性が検出されたのは他の化合物に比較して水への溶解性が高いことによるものと推察された。一方、陰性対照として用いたPropaneは2~8%の濃度でごく弱い細胞毒性を示し、SCE誘発比もわずかに上がる傾向が見られる程度であった。

この研究で使用した高揮発性でかつ難溶性化合物のガス暴露システムによる遺伝毒性の検出は、水への溶解率が低いことが大きな要因となって数%レベルのガス暴露濃度での毒性評価となった。一般にin vitro実験による影響濃度レベルとin vivo実験、すなわち人体への影響濃度レベルを単純に比較評価することはできないが、ハロン及び代替ハロンは通常、5%以下で使用されることからin vitro実験としては十分な濃度レベルの実験と思われる。また、陽性対照のBCMにおいて細胞毒性を示す濃度領域で高いSCE誘発能を検出できたこと、反対に強い細胞毒性を示す濃度領域でありながら有意なSCE誘発比が認められない化合物の存在が確認できたことから高揮発性でかつ難溶性の化合物の迅速で簡便な遺伝毒性一次スクリーニング法として本システムは有効であると判断される。

表3 ハロン関連化合物の細胞増殖抑制作用とSCE誘発能

化合物 (略号)	ガス濃度 (容積%)	細胞増殖抑制率 (%)	SCE誘発比 (暴露/対照群)
Halon 1301	2.0	10	1.69
	5.0	22	2.09
	8.0	27	2.33
Halon 1211	2.0	14	1.32
	5.0	21	1.42
	8.0	24	1.48
2H-HEP	2.0	4	1.02
	5.0	8	1.07
	8.0	36	1.66
Halon 13001	2.0	9	1.42
	5.0	26	1.49
	8.0	52	1.69
PFTEA	2.0	-8	0.95
	5.0*	-13	1.06
DFDMEA	2.0	4	1.05
	5.0*	15	1.51
PFDMBEA	2.0	2	1.17
	4.0*	7	1.34
PFDMVA	1.0	22	1.38
	2.0	56	1.63
	5.0	87	1.85
BCM	0.5	16	2.52
	1.0	37	3.71
	2.0	55	5.54
PROPANE	2.0	13	1.27
	5.0	15	1.29
	8.0	16	1.42

* 実験可能最高ガス濃度

(3) 熱分解生成物の遺伝毒性

商品化ハロン代替物質のHFPとハロン代替化合物のPFTEAの熱分解生成物の細胞増殖抑制率とSCE頻度を表4に示す。結果は5%のHFP熱分解生成物はほとんど細胞毒性を示さず、またSCE頻度も有意に誘発されないことから水酸化ナトリウム溶液で洗浄処理した後の熱分解生成物には遺伝毒性が認められないことが示唆された。一方、PFTEAは熱分解後、純空気希釈した後の換算濃度の2.5%では強い細胞毒性を示したにもかかわらず、SCE頻度の有意な誘発は認められず、また1.3%でもSCE頻度の誘発は認められなかった。PFTEAは熱分解で多量の窒素酸化物(5%レベルで100ppm程度)を発生する。この濃度レベルの窒素酸化物は培養細胞に対して強い細胞毒性を示すので、窒素酸化物を除去する前処理を経たガス試料でも、細胞毒性に大きく関与する生成物が残存するためか、混合ガスレベルでは細胞毒性が検出された。一方、同じ濃度領域で遺伝毒性を検出することはできなかった。

表4 熱分解生成物の細胞増殖抑制率とSCE頻度

試料	細胞増殖抑制率 (%)	SCE頻度/細胞
純空気	—	7.56±0.72
5% 2H-HEP熱分解生成物	7	8.20±0.86
純空気	—	7.89±0.82
1.3% PFTEA熱分解生成物	20	8.20±0.59
2.5% PFTEA熱分解生成物	71	8.50±0.50

4.2 ハロン代替物質の熱分解

(1) Perfluorotriethylamine (PFTEA) の熱分解

PFTEAの熱分解の様子を図6に示した。500°Cから分解が始まり、700°Cでほとんど、900°Cで完全に分解した。分解生成物(有機物)としては1種類が観察され、そのマススペクトルの解析から、この物質をPerfluoro-N-ethylpyrrolidineと推測した。今回、熱分解に使用する標品の中にこの物質が入っていたので、マススペクトルとGC保持時間を測定した結果、分解生成物のものと一致した。また、検知管による簡易分析の結果では、PFTEAの熱分解で高濃度(40ppm以上)の窒素酸化物が生成していた。

(2) N,N-Bis(trifluoromethyl)-2H-tetrafluoroethylamine (DFDMEA) の熱分解

DFDMEAの熱分解の様子を図6に示した。500°C付近から分解が始まり、700°Cで分解がほぼ終了した。この物質の標品は数%の不純物を含んでいた。ガスクロマトグラムより、600°C以上でDFDMEAのピークより早い保持時間のところに生成物1のピークが出現し、620°C以上では生成物

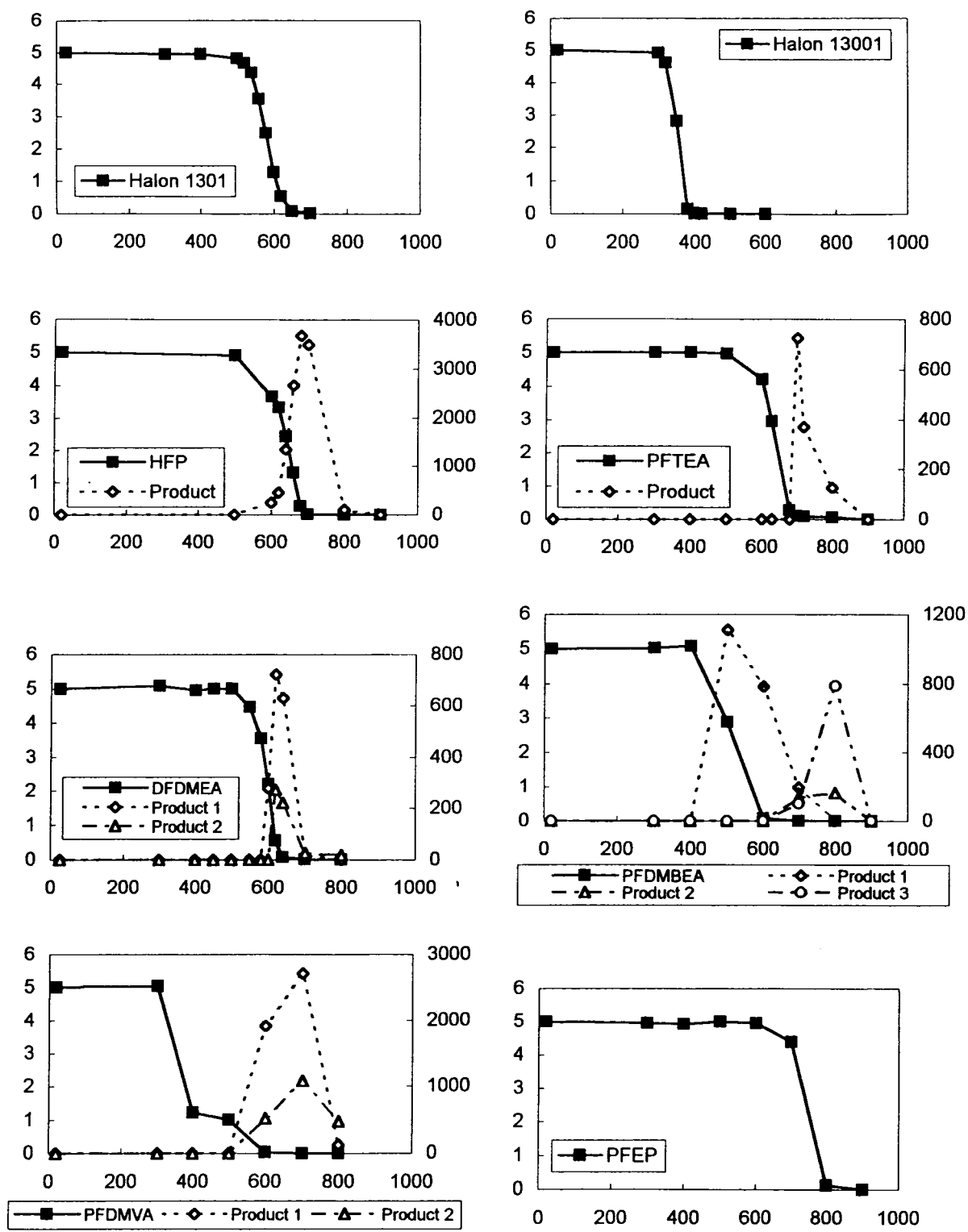


図6 特定ハロン及び各種ハロン代替物質の熱分解曲線

横軸は熱分解温度 (°C)、左縦軸は原体の濃度 (%V/V)、右縦軸は生成物濃度 (ppm V/V)

1より早い保持時間のところに生成物2のピークが出現した。700℃では生成物1および生成物2のピークもほとんど消滅し、800℃で完全に消失した。600℃での排出ガスのGC/MS測定では、二酸化炭素と水のピークの他に、生成物1によると思われるピークが観察された。そのマススペクトルを解析した結果、この生成物は Perfluorotrimethylamine と考えられ、標品との比較でも、保持時間とマススペクトルが一致した。また、800℃以上では二酸化炭素のピークに重なって、Perfluoroethane と推測されるピークが出現した。

(3) N,N-Bis(trifluoromethyl)-2-bromotetrafluoroethylamine (PFDMBEA) の熱分解

PFDMBEA は他の化合物と違って、400℃から分解が始まり、600℃でほとんど分解し、700℃では完全に分解した。ガスクロマトグラム上では3本の生成物のピークが観察された。熱分解の様子を図6に示した。臭素原子が含まれているために、分解の初期温度が低くなっており、生成物も出来やすくなっていた。生成物のマススペクトル解析から、生成物1は Perfluoro-N-azetidine と推測されたが、標品がないために確定はできなかった。生成物3のマススペクトルは、元の PFDMBEAのスペクトルと類似しているが、GC保持時間が異なっていることと、m/z 163のピークが元の PFDMBEAのスペクトルにはないこと、PFDMBEAのスペクトルでベースピークとなっているm/z 69のピークが生成物3のスペクトルにはないことから、別の物質であることははっきりしているが、構造を推測するには至らなかった。生成物2はピークが小さく、きれいなマススペクトルが得られなかった。

(4) Perfluorodimethylvinylamine (PFDMVA) の熱分解

PFDMVA の熱分解の様子を図6に示した。この物質は分子内に二重結合を有するために熱的に不安定であり、300℃から熱分解が始まり、600℃でほとんど分解が終わっている。生成物は2種類あり、それぞれのマススペクトルを測定して解析を試みたが、構造を推測することは出来なかった。

(5) 2H-Heptafluoropropane (HFP) の熱分解

この物質は FM200 という商品名で、米国で代替ハロンとして販売・使用されている。熱分解の様子を図6に示した。約 500℃から分解が始まり、700℃でほぼ分解が終わり、800℃で分解が完了した。主な生成物は1種類で、マススペクトルの解析から Perfluoroisobutane と推測された。この生成物は、熱分解で生成したトリフルオロメチルラジカルとヘプタフルオロプロピルラジカル (HFPから水素がはずれたもの) が反応して生じたと考えられる。この仮定は HFPの化学的消火能がトリフルオロメチルラジカルによるものとされていること¹¹⁾とよく合致している。複数のGCキャピラリーカラムを使用して測定をした結果、上記の Perfluoroisobutane の他に、微量の Perfluoroethane と Perfluoropropane が検出された。

(6) Trifluoroiodomethane (Halon 13001) の熱分解

Halon 13001は TRIODIDEという商品名で販売されているハロン代替物質であるが、メーカー側の資料¹²⁾には熱分解での挙動が記述されていない。我々の実験で得られた熱分解での挙動を図6に示した。300℃で分解が始まり、石英管がヨードの蒸気で薄紫色になった。400℃でほぼ分解

し、600℃で完全に分解した。生成物として大量のヨードが析出した他は、ガスクロマトグラム上で何のピークも観測できなかった。

(7) Trifluorobromomethane (Halon 1301) の熱分解

ハロン代替物質の熱分解挙動を考察する際の比較物質として、特定ハロンの Halon 1301の熱分解を行った。いろいろな温度における Halon 1301 の熱分解の様子を図6に示した。この物質は約 500℃から分解を始め、600℃でほぼ分解が終わり、700℃で完全に分解した。ガスクロマトグラム上では Halon 1301 のピークしか観察されず、分解物は完全に無機化したものと考えられる。この点については今川らの報告⁴⁾とは異なっており、その違いが実験条件の違いによるものかどうかは不明である。測定ではフッ素原子と臭素原子の約60%が無機イオンとして検出された。

(8) Perfluoro-N-ethylpyrrolidine の熱分解

この物質はハロン代替物質の研究の過程で合成された参考物質で、熱分解実験用の標品としてのみ使用された。この物質は PFTEAの熱分解で生成した物質でもある。この物質の熱分解の様子を図6に示した。600℃から分解が始まり、800℃でほぼ完全に、900℃で完全に分解した。GCでは分解生成物を検出することが出来なかった。

(9) 熱分解についての全体的な考察

特定ハロン1種類、ハロン代替物質としては市販品2種類、試験的合成標品(フッ素系アミン類)5種類についての熱分解挙動を調べた結果、有機化学的に予想される結果とほぼ一致した結論が得られた。フッ素という電子親和力の強い原子を多く分子内に持っているために、アミン化合物の窒素原子の非共有電子対が安定化され、通常のアミン類が有する反応性がフッ素系アミン類ではほとんど見られなくなっている。そのため、フッ素系アミン類はあたかも窒素原子を含まないフッ素系炭化水素(例えば HFP)と同じような挙動を示した。フッ素以外の含有ハロゲン原子を含んだ化合物の熱安定性(熱分解開始温度)を比べてみると、Halon 13001(ヨウ素含有)、PFDMBEA(臭素含有)、Halon 1301(臭素含有)の順に熱分解しやすかった。二重結合を含むフッ素系アミンは非常に分解しやすかった。熱分解で生成する有機成分についてはガスクロマトグラムでみる限り、種類も少なく、生成量も少量であった。有機生成物のうちで同定できたもの、あるいは構造を推定できたものは半数以下であった。標準マススペクトルがライブラリーに存在しないことやフッ素系化合物のマススペクトル¹³⁾では分子イオンが現れにくいことが多くあることなどから、フラグメンテーションパターンから構造を推測することには限界があった。フッ素原子についての物質収支からみると、フッ素原子の大半は無機化していると考えられ、有機物に取り込まれるフッ素原子はわずかであった。臭素原子を含む化合物(2種類)でも生成物のほとんどに臭素原子を含まれておらず、ヨウ素原子を含む化合物(1種類)ではヨウ素のほとんどが元素状ヨウ素として回収されている。無機化したフッ素原子は元素状のフッ素、フッ化水素、フッ化カルボニルなどになると考えられるが、ガスモニター用試験紙で検出されたのはフッ化水素であった。イオンクロマトグラフィーの結果では、捕集されたフッ素イオン量は含有フッ素量の数割程度であり、残りは石英管あるいはパイレックス管の壁面で無水珪酸と反応して取り込まれたものと判断した。

5. まとめ

5.1 ハロン関連化合物及び熱分解生成物の毒性

(1) ハロン関連化合物のような揮発性あるいはガス体で水への溶解性の低い化合物の培養細胞による毒性一次スクリーニングを今回開発した暴露システムで迅速、簡便に行えるようになった。

(2) 全廃規制対象となっている特定ハロンのうち、Halon 1301は強いとは言えないがSCE誘発能が認められ、遺伝毒性の存在が示唆された。

(3) 米国で商品化されているハロン代替品のHFP(商品名; FM200)は5%以下では細胞毒性も遺伝毒性も示さず、8%レベルで弱い細胞毒性とわずかなSCE誘発の傾向を示すにとどまった。また、Halon 13001(商品名; TRIODIDE)では有意な遺伝毒性は認められなかった。

(4) 名古屋工業技術研究所が合成したハロン代替化合物(フッ素系アミン類)のうち、PFTEA、DFDMEA、PFDMBEAの3種類はいずれも5%以下の実験濃度では細胞毒性を示さず、遺伝毒性も陰性であった。一方、PFDMVAは5%濃度で比較的強い細胞毒性と弱い遺伝毒性を示した。

(5) ハロン関連化合物の熱分解生成物のうち、HFPの5%熱分解ガスでは細胞毒性も遺伝毒性も検出されなかった。一方、2.5%PFTEAの熱分解ガスでは強い細胞毒性がみられたが、遺伝毒性は認められなかった。

5.2 ハロン代替物質の熱分解

(1) 特定ハロン1種及びハロン代替物質7種(うち2種は米国での市販品、残り5種は名古屋工業技術研究所が開発したもの)をいろいろな温度で熱分解を行った結果、分解のしやすさは、Halon 13001≒PFDMVA>PDFDMBEA>halon 1302≒PFTEA≒DFDMEA≒HFP>PFNEPであった。Halon 13001とPFNEPの熱分解開始温度の差は約300℃もあった。ハロゲン原子の観点からみると、分解しやすさはヨウ素>臭素となっている。フッ素化脂肪族アミン類はHFP(商品名; FM200)と同程度の熱的安定性を持っており、フッ素化脂環式アミン(PFNEP)がさらに安定であったことは構造化学的に妥当な結果といえる。

(2) 熱分解生成物のうち無機成分としては二酸化炭素、一酸化炭素の他、フッ化水素が顕著なものであり、実験装置の石英管や捕集管(パイレックス製)を激しく腐食させた。また、Halon 13001では熱分解によりヨウ素の遊離が顕著に認められた。フッ素化アミン類では熱分解により、多量の窒素酸化物の生成が観測された。

(3) 5種類のハロン代替物質で有機性の熱分解生成物がガスクロマトグラム上で検出された。いずれの場合も含まれているフッ素原子のわずかの割合が生成物に移行した結果となった。生成物の中で同定されたもの、あるいは構造が推測できたものは半分にも満たなかった。生成物の構造は元の物質の骨格構造をある程度保持したものが多く、塩素系有機物の熱分解で見られるような複雑な構造の有機物が熱分解で新たに生成するというような傾向は認められなかった。

6. 参考文献

- 1) F. Shiraishi, S. Hashimoto, H. Bandow, *Mutat. Res.*, 173, 135-139 (1986)
- 2) 山鹿修蔵、細貝利美子、守川時生, 消防研究所報告 第38号, 1-7 (1974)
- 3) S. H. Huttenhain, W. Bohmer, M. Spiekermann, U. Fritsche, M. Gernert, *Chemosphere*,

- 23, 1453-1463 (1991)
- 4) 今川隆、竹内正雄、宮崎章、第4回環境化学討論会講演要旨、環境化学、5、384-385 (1995)
 - 5) FM-200, The New Solution For Fire Protection, Great Lakes Chemical Corporationの技術資料、pp.9 (1993)
 - 6) "ハロン1301消火剤使用時の熱分解ガスと安全性について"、日本ドライケミカル株式会社技術資料、pp.14 (1975)
 - 7) "オノダハロン1301消火剤と火災時に発生する有害ガスの危険性について"、小野田セメント株式会社技術資料、pp.21 (1972)
 - 8) "ダイフロン消火剤"、ダイキン工業株式会社技術資料、pp.16 (年月日不詳)
 - 9) "ハロン-1301消火による分解ガス"、ダイキン工業株式会社技術資料、pp.7 (年月日不詳)
 - 10) K. Goto, S. Maeda, Y.Kano, T. Sugiyama, Chromosoma, 66, 351-359 (1978)
 - 11) 深谷治彦、林永二、早川由夫、阿部隆、猪股忠昭、高橋和夫、第4回環境化学討論会講演要旨、環境化学、5、380-381 (1995)
 - 12) Pacific Scientific Triiodide News, pp.10 (1994)
 - 13) F. L. Mohler, V. H. Dibeler, R. M. Reese, J. Res. Natl. Bur. Stands., 49, 343-347 (1952)

7. 研究発表の状況

(口頭発表)

- 1) 白石不二雄、藤巻秀和、"ガス化難溶性化合物の遺伝毒性検出のための培養細胞への簡便なガス暴露法の開発"、大気汚染学会、1994年11月、盛岡市。
- 2) 白石不二雄、山本貴士、安原昭夫、阿部隆、彼谷邦光、"ハロン代替品候補の培養細胞による遺伝毒性スクリーニング法について"、日本環境変異原学会、1995年11月、大阪市。
- 3) 山本貴士、本間ひろ子、安原昭夫、阿部隆、"低沸点フッ素化合物の熱分解反応"、第4回環境化学討論会、1995年6月、つくば市。

(誌上発表)

- 1) 白石不二雄、山本貴士、安原昭夫、阿部隆、彼谷邦光、"ハロン代替物質など揮発性、難溶性化合物の、培養細胞を用いた遺伝毒性スクリーニング法の検討"、環境化学、印刷中 (1996)