

廃棄物埋立地における微生物代謝と環境汚染物質の生成に関する研究

田中綾子

福岡大学大学院工学研究科, 814-0180 福岡市城南区七隈 8-19-1

Biodegradation of solid waste and production of micropollutants in landfill

Ayako Tanaka

Department of Recycling and Eco-Technology, Graduate School of Engineering,

Fukuoka University, Nanakuma, Jonan-ku, Fukuoka, 814-0180, Japan

Abstract

Recently, the influence of chemicals such as carcinogens and endocrine disruptors on the ecosystem has become a serious issues. In Japan, where the incineration ratio has reached to 75% for combustibles, there is rising public anxiety about the influence of leachate on human health since incineration residues contain harmful substances such as dioxins. Attention has, therefore, come to be paid to a bioassay including a genotoxicity (mutagenicity) test. Authors focused on a mutagenicity related with carcinogenicity as a safety assessment index of landfill and have been investigating the mutagens in waste and leachate since 1986. It is necessary to find the appropriate test condition for leachate because leachate contains some obstacle to mutagenicity test. The optimum pH, useful extraction method and the useful test strain for mutagenicity were obtained. It was found that the mutagens are easily produced by biological nitrification and chemical denitrification in landfill sites holding incineration residues, and are probably nitroarenes and aromatic amines.

Key word: Landfill, harmful substance, mutagenicity, Ames assay, biodegradation process

1. 緒言

廃棄物の排出抑制が行われ、廃棄物処理処分及び資源化技術が高度に発達したとしても廃棄物が完全になくなることはなく、前段の中間処理によって除去できなかったものは最終的に廃棄物埋立地に搬入される。このため、将来においても廃棄物埋立地は必要不可欠な処理処分技術である。しかし、住民の反対により廃棄物埋立地の建設は困難な状況にある。この主原因は廃棄物埋立地が有害物質の集積場であり、また有害物質を放出する場であると考えられているためであるが、それを払拭するための科学的データがない事も一つの要因である。

そこで本研究では、未規制の有害有機化学物質を検出する手法として変異原性に注目し、変異原

性が廃棄物埋立地の安全性をモニタリングする指標として有用であるかについて検討する共に、有害物質を制御する手法を見いだすことを目的として、廃棄物埋立地における微生物代謝による変異原物質の生成機構について検討した。

2. 変異原性試験方法の確立に関する検討

変異原性試験は単一の化学物質検査のために開発されたものであり、複合物質、特に何が含まれているかわからない環境水に適用する場合、試験の適用性について検討する必要がある。特に浸出水中には種々の物質が含まれているため、濃縮段階で完全に有害物質を抽出できていない可能性もある。また、これまでに調査したいくつかの浸出水試料において試料の高濃度側で試験菌株への急性致死作用や阻害が見られ、変異原性を活性の低い低濃度側で判定せざるを得ず、誤って陰性と判定したり、活性を過小に見積ったりする可能性が示唆された。また、抽出操作後の変異原性試験についても使用菌株および測定条件等種々あり、すべてを試験するにはかなりの時間と労力が必要である。変異原性試験を浸出水の安全性評価指標として用いる場合、簡便であることが望ましい。そこで、ここでは浸出水性状に適し、定期調査が簡便に行える試験方法を確立することを目的として、①変異原性試験の前処理の段階である変異原物質の濃縮方法（溶媒抽出法、ブルーレイオン法、CSP樹脂吸着法）、②阻害の補正と阻害物質の除去方法、③使用菌株の選定、④プレインキュベーションの必要性、および⑤代謝活性化の必要性等について検討を行った。

2. 1 実験試料および方法

(1) 実験試料および変異原物質の濃縮方法

濃縮方法の検討実験においては、一般廃棄物の埋立地（5カ所）及び埋立模型槽（3カ所）から採取した浸出水を pH を 2, 7 及び 10 の 3 段階に調整した後、溶媒抽出法、ブルーレイオン吸着法及び CSP 樹脂吸着法の 3 種の濃縮操作に供した。

(2) 変異原性試験

変異原性試験は、エームス試験プレート法及びその改変法であるプレインキュベーション法によって行った。抽出物試料にジメチルスルホキシド（DMSO, 和光純薬工業, 分光分析用）を加えて溶液とし、20, 50, 100, 250, 500 $\mu\text{g}/\text{plate}$ となるように調製した。この試料 100 μL に 0.1N リン酸緩衝液 (pH7.4) 又は S9mix を 500 μL 及び試験菌株の培養液 100 μL を加えて混和した後、45°C に保温した 0.05mM ヒスチジナービオチン含有ソフトアガーを加えて混合し、グルコース含有 Vogel-Bonner 寒天平板培地に重層した。これを 37°C で 48 時間培養し、生育してきたヒスチジン非要求性の復帰コロニー (revertant) を計数した。プレインキュベーション法の場合、試料と培養液を混合後に、37°C で 20 分間のプレインキュベーションを行った。

試験菌株の選択実験には厚生省「医薬品毒性試験法ガイドライン」で必須菌株として規定されている *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 及び TA1537 を用いた。その他の試験には変異原物質の第一スクリーニング菌株として用いられている *Salmonella typhimurium* TA98 及び TA100 を用いた。

間接変異原物質の代謝活性化のためにラット肝ホモジネート 9000×g 上清画分 (S9, オリエンタル酵母) 及び補酵素類の混合物 (S9mix)を用いた試験も同様に行った。

(3) 阻害物質の除去実験

阻害物質及び変異原物質の存在画分を知るために、高速液クロマトグラフィー (HPLC) により分画を行い、阻害物質の極性領域について調査した。その結果を踏まえて、阻害物質画分と変異原物質画分を分離する溶媒の検討を行った。

2. 2 実験結果および考察

(1) 変異原物質の濃縮方法の検討

最適な濃縮方法を検討するために、濃縮条件別の変異原性の陽性率を求めた (Table 1)。その結果、ブルーレイオン吸着法では浸出水の変異原物質を全く濃縮することができないが、変異原性の有無は溶媒抽出法と CSP 樹脂吸着法との間に大きな差は認められなかった。溶媒抽出法と CSP 樹脂吸着法を比較するために、両者の活性の差 (溶媒-CSP) と TOC 濃度の関係を見た。その結果、TOC 濃度が 100mg/L 以下と約 600mg/L の浸出水については両者の活性値に大きな違いが認められ、TOC 濃度が低い試料では CSP 樹脂吸着法が溶媒抽出法に比べて変異原性が高く、逆に TOC 濃度が高い試料では低かった。これは、CSP 樹脂吸着法が溶媒抽出法に比べ広範な種類の有機物を吸着するため、TOC 濃度が高い時期では変異原物質以外の物質 (非変異原物質と呼ぶ) が多量に濃縮され、変異原性が発現しにくくなるためと考えられた。しかし、TOC 濃度が低い場合は、非変異原物質および変異原物質ともに含有量が少なくなるため、濃縮率が高い CSP 樹脂吸着法の活性が高くなるものと予想される。以上のことから、変異原性の有無を検出する場合、溶媒抽出法および CSP 樹脂吸着法どちらも使用できると考えられた。ただし、高有機物濃度を示す浸出水については、CSP 樹脂吸着法では変異原物質を検出し難いことから、吸着後の溶出段階で溶出溶媒を用いて前処理する等の方法を併用する必要があることが明らかになった。また、濃縮時の pH は溶媒抽出法および CSP 樹脂吸着法どちらにおいても pH 2 で最もよく変異原物質が抽出された。

Table 1 Mutagenicity by extraction condition

Extraction condition	Number of positive	Positive rate (%)	
Solvent extraction	pH 2	6	75.0
	pH 7	3	37.5
	pH 10	0	0
Blue rayon adsorption	pH 7	0	0
	pH 10	0	0
CSP resin adsorption	pH 2	5	62.5
	pH 7	4	50.0
	pH 10	1	12.5

(2) 変異原性試験方法の検討

厚生省「医薬品毒性試験法ガイドライン」で必須菌株として規定されている *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 および TA1537 を用いて浸出水試料 4 種について変異原性を比較した。その結果, Figure 1 に示すように 4 試料いずれも TA98, TA100 および TA1537 に感受性を示し, 中でも TA98 および TA100 株に対する感受性が高かった。更に, 変異原性が認められた浸出水試料 13 試料について TA98 と TA100 の活性の違いを見ると, 13 試料のうち TA98 株で活性を示したのが 12 試料で陽性率は 96%であるのに対して, TA100 株では 9 試料, 陽性率 69%と TA98 株での陽性率が高かった (Table 2)。この事は, フレームシフト型の変異を起こす変異原物質が浸出水中に多いことを示している。しかし, TA100 株のみ検出される試料が 1 試料あった。これらのことから, 浸出水試料の変異原性をモニタリングする場合の試験菌株については, *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 の 2 種で十分であることが明らかになった。

間接変異原物質の有無を調査した結果, 試験した浸出水試料 13 のうち S9mix 添加によって陽性を示した試料数は TA98 株で 11 試料, TA100 株で 9 試料と間接変異原物質も S9mix の添加を必要としない直接変異原物質と同数検出された (Table 2)。また, S9mix 添加の場合のみ検出される試料が 1 検体あった。このことから, 試験操作は若干煩雑になるが, 有害性を安全側で評価するためには代謝活性化による間接変異原物質のモニタリング(+S9)も必要であることがわかった。

さらに, 検出感度が高いことから汎用されているエームス法の改変法であるプレインキュベーション法では試料濃度の高濃度側で試験菌株の急性致死作用がみられるが, プレート法ではみられないことから, 浸出水試料の変異原性試験にはプレート法の方が適していることがわかった。

(3) 阻害物質に関する検討

変異原性試験の阻害効果の除去方法として標準添加法による補正及び阻害物質の溶媒による除去方法の 2 つについて検討した。標準添加法による補正はほとんど効果がないことがわかった。

一方, 阻害物質の溶媒による除去については, HPLC による分画後の変異原性試験により阻害物質が低極性画分に存在し, 変異原物質はその画分と異なる画分に存在することがわかった。そこで, 阻害物質の抽出溶媒として非極性溶媒である Hexane に極性溶媒である 2PrOH を用いて, 5%-2PrOH/Hexane 及び 10%-2PrOH/Hexane の混合溶媒 2 種作成し, 極性溶媒の含量を減らす方向へ順次分画を行い, これらの溶媒による阻害物質の除去の可能性について検討した。その結果, 阻害物質は 10%-2PrOH/Hexane 可溶画分に存在することがわかった (Figure 2)。また, 変異原性が認められた 11 試料について 10%-2PrOH/Hexane 溶媒を用いて 2 分画し, それぞれの画分について変異原性を調査した結果, 可溶画分では 4 試料に弱い変異原活性が認められたが, 不溶画分では全ての試料が分画前よりも 2~5 倍高い変異原活性を示し, 10%-2PrOH/Hexane 溶媒で阻害物質と変異原物質とを分離できることが明らかになった (Figure 3)。

一連の試験方法に関する検討結果から, 浸出水中の変異原物質をモニタリングするための試験フローとして Figure 4 に示す試験フローを提案した。

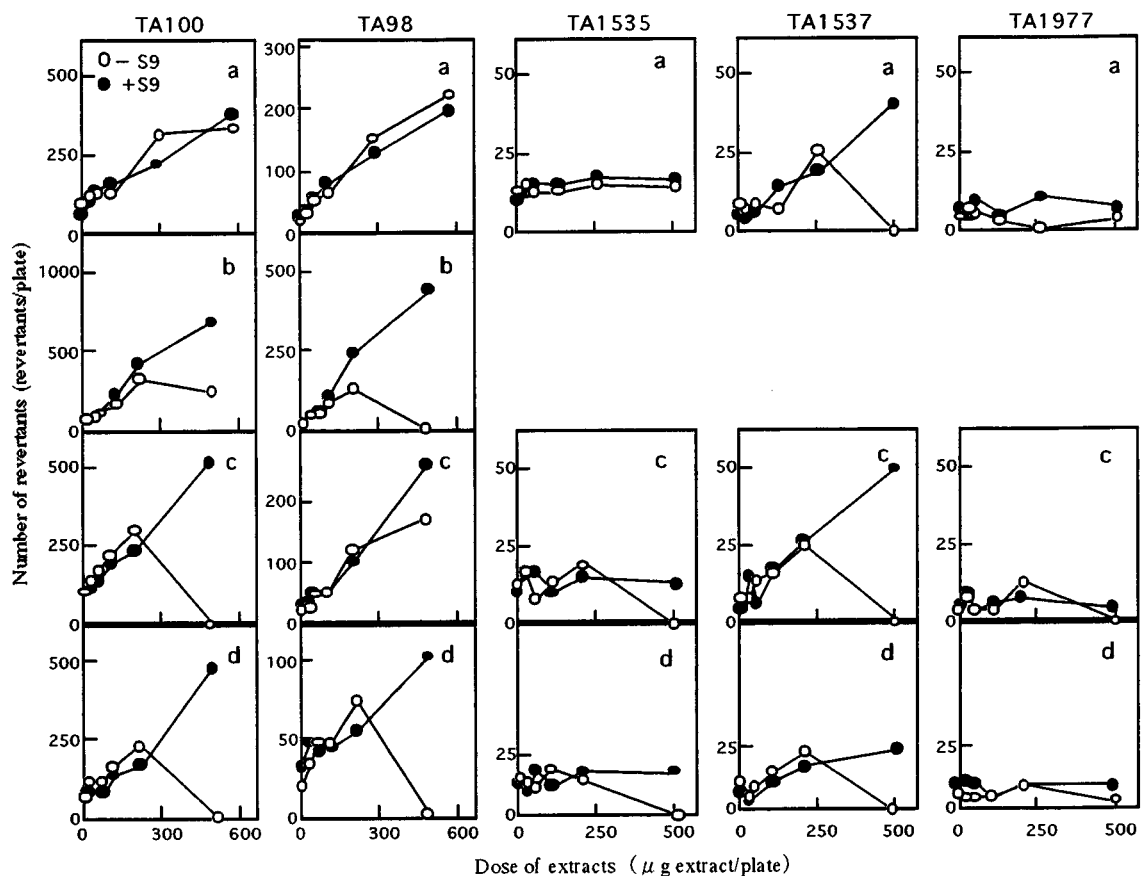


Figure 1 Dose-response curve of 5 test strains

Table 2 Comparison between sensitivity of leachate samples to *Salmonella typhimurium* TA98 and TA 100 strain

Sample	TA98		TA100	
	-.S9*	+.S9**	-.S9*	+.S9**
Plant A	13400	571	9730	7440
Plant B	2340	2475	3470	6890
Plant C	2610	2566	5900	7510
Plant D	1200	ND	ND	ND
Plant E	1110	689	ND	ND
Plant F	4160	4620	4370	4560
Plant G	248	661	ND	ND
Site A	4010	3400	5810	4730
Site B	1230	1810	3630	3210
Site C	936	563	2990	3450
Site D	2700	2840	ND	ND
Site E	ND	2400	2100	2900
Site F	650	290	1350	1700
Number of positive	12	12	9	9
Positive rate (%)	92	92	69	69

unit : net revertant/L, ND : not detected

*.S9 : without S9mix, **.S9 : with S9mix

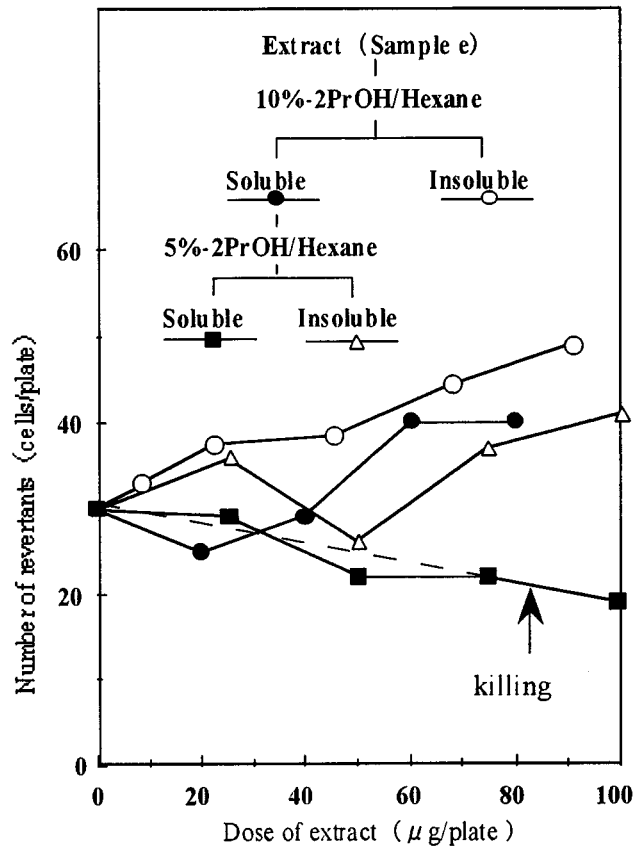


Figure 2 Dose-response curve of each fraction from extraction with 5%-2PrOH/Hexane and 10%-2PrOH/Hexane solvent

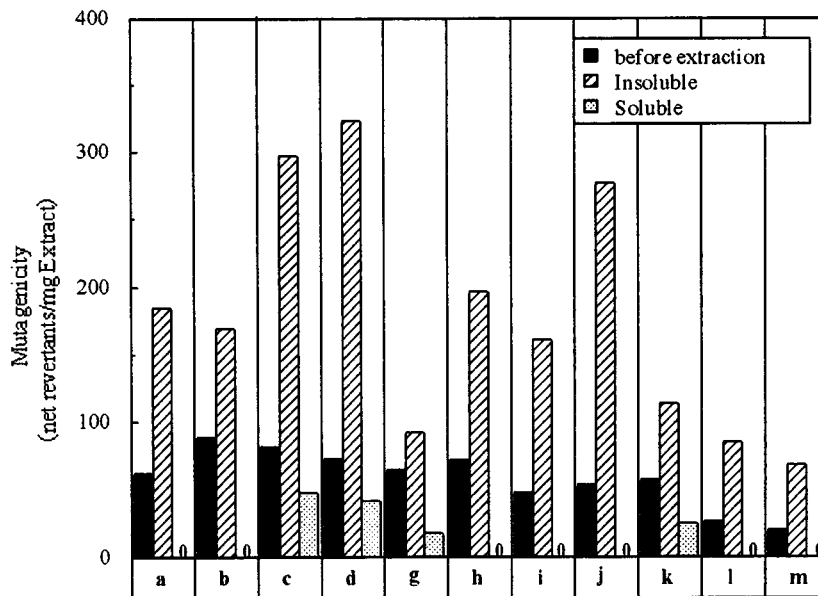


Figure 3 Mutagenicity of before and after extraction with 10%-2PrOH/Hexane

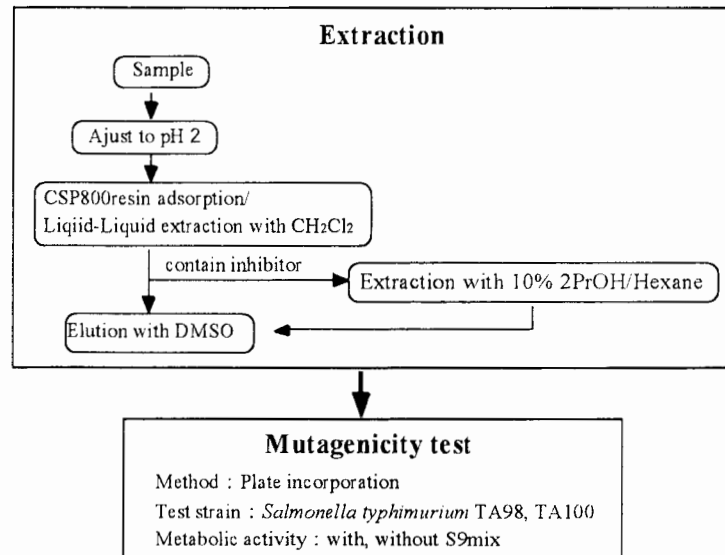


Figure 4 Mutagenicity test method for leachate proposed by this paper

3. 変異原物質の生成機構に関する検討

有害化学物質による埋立地のリスクを軽減するためには、埋立地での有害化学物質の生成・消失メカニズムを明らかにする必要がある。そこで、埋立模型槽を用いて廃棄物の種類および埋立条件と変異原性の関係を調査し、変異原物質の生成要因について検討した。この結果を基に、変異原物質の生成実験を行い、生成機構の検証を行った。

3. 1 廃棄物埋立地における変異原性の生成要因の抽出

3. 1. 1 実験装置および方法

(1) 実験装置

実験装置は、直径 1600 mm、高さ 4200 mmの鉄製円筒で準好気性構造および循環式準好気性構造を有する埋立模型槽 4 基を用いた (Figure 5)。各槽に焼却残渣、破碎不燃残渣、都市ごみコンポストを重量比 3:1:1 で混合したものを各々6.77 t 充填した。中間覆土層は集排水部より 500~800mmの位置に廃棄物層と廃棄物層でサンドウィッチさせる形で充填した。底部集排水設備として碎石を 500 cmの高さに敷設し、集水管から埋立層内部へ酸素が自然に供給されるように、管口は常時開口する構造にした。また、循環式準好気性槽には碎石を充填した縦型ガス抜き管(φ100mm、長さ500mm)を互い違いに連結させ、その上部より浸出水を 30mL/min で循環させた。実験装置は屋外に設置したため、降雨および温度は自然条件下である。

(2) 浸出水の水質調査項目および分析方法

各槽からの浸出水を一定期間毎に採取し、pH, ORP, BOD, COD, TOC, TN, NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, NO₃⁻-N, Cl⁻濃度を工場排水試験法に準じて測定した。更に、ガス採取管より採取したガスについて亜酸化窒素ガス (N₂O)濃度をガスクロマトグラフ (ECD 検出器) を用いて計測した。

(3) 有機化学物質の濃縮

浸出水試料 (2~8L) をガラス繊維濾紙 (アドバンテック東洋 GA100) を用いて濾過し浮遊物を除去した後, 6N 硫酸を加えて pH2 に調整した。この溶液を用いて溶媒抽出法にて有機化学物質の濃縮を行った。

(4) 変異原性試験

供試菌株に *Salmonella typhimurium* TA98 および TA100 株を用い, プレート法にて変異原性試験を行った。また, S9mix 無添加 (-S9) および S9mix 添加 (+S9) の両条件下で試験を行った。試験方法は 2. 1 節 (2) 項の変異原性試験方法に準じた。

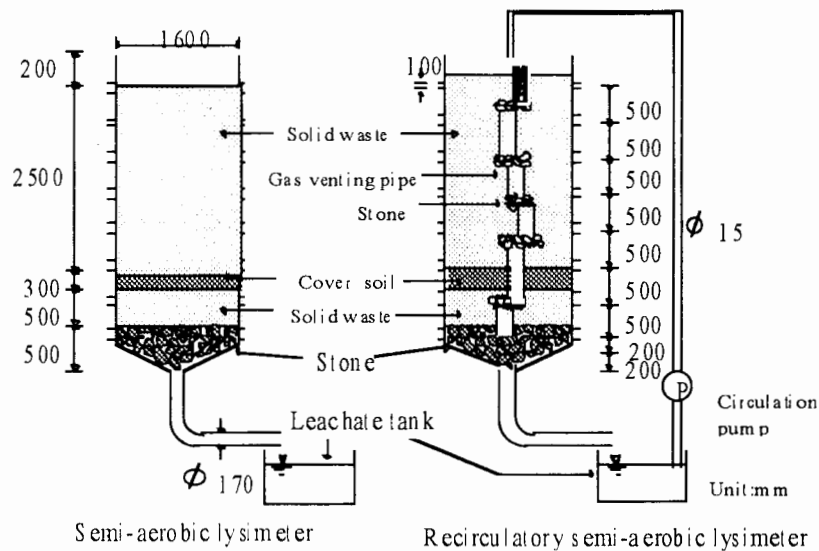


Figure 5 Experimentally lysimeter

3. 1. 2 実験結果および考察

埋立構造の違いで変異原性を比較すると, ガス抜き堅渠を有する循環式槽が準好気性槽に比べて変異原性が3ヵ月早く出現し, その活性も高かった (Table 3)。また, 充填前および充填後3年と5年目の廃棄物を蒸留水で振盪し, 得られた溶出液について変異原性を調査した。その結果, Figure 6 に示すように, 充填前の廃棄物では変異原性はほとんど認められなかったが, 充填後3年目の廃棄物では1000~9000net revertants/kg dry wasteと変異原性の上昇が見られた。充填後5年目における変異原性は上層で1000net

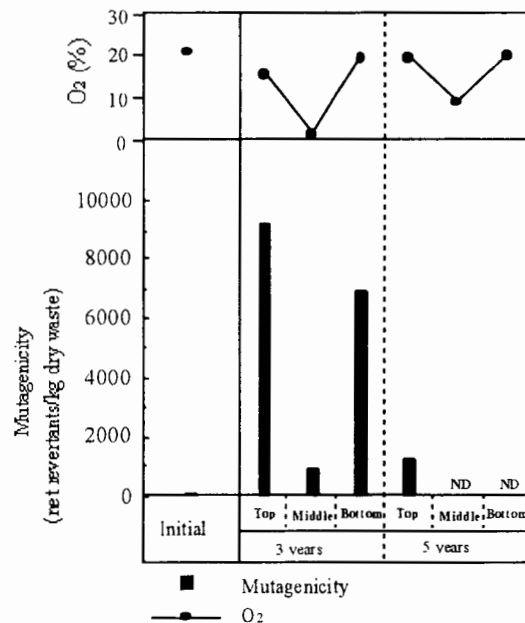


Figure 6 Relation between the magnitude of mutagenicity (TA98 with S9) and the concentration of O₂

revertants/ kg dry waste, 中層および底層では不検出と、3年目に比べて変異原性は低下した。埋立深さの違いを見ると、上層および下層が中層に比べて高い活性を示した。上層と下層に共通した要因としては、どちらも空気の侵入が見られる部位で、微生物の好気性分解が生じ易い部位である。これらのことから、廃棄物埋立層における変異原物質の発現は好気性代謝と関係があると考えられた。

そこで、好気性分解のどの分解過程で変異原物質が生成されるかを明らかにするために、浸出水質と変異原活性の関係について調査した。その結果、窒素化合物の変化と関係が認められ、浸出水のNH₄⁺濃度が急激に低下し、NO₂⁻およびNO₃⁻が検出され始めると変異原性が出現した (Figure 7)。特に、NO₂⁻が高濃度で検出される時に変異原性が認められ、NO₂⁻が高い槽ほど変異原性が高かった。これらの事から、変異原性の発現は硝化過程において起きている可能性が高いと推察された。

Table 3 Change in Mutagenicity of leachate from two landfill type of lysimeter with time

Lysimeter		Mutagenicity of leachate (net revertants/L)				
		2 month	6 month	10 month	15 month	18 month
Semi-aerobic	D1	ND	ND	ND	ND	1210
	D2	ND	ND	ND	ND	1110
Recirculatory semi-aerobic	D3	ND	ND	ND	2610	840
	D4	ND	ND	ND	2340	ND

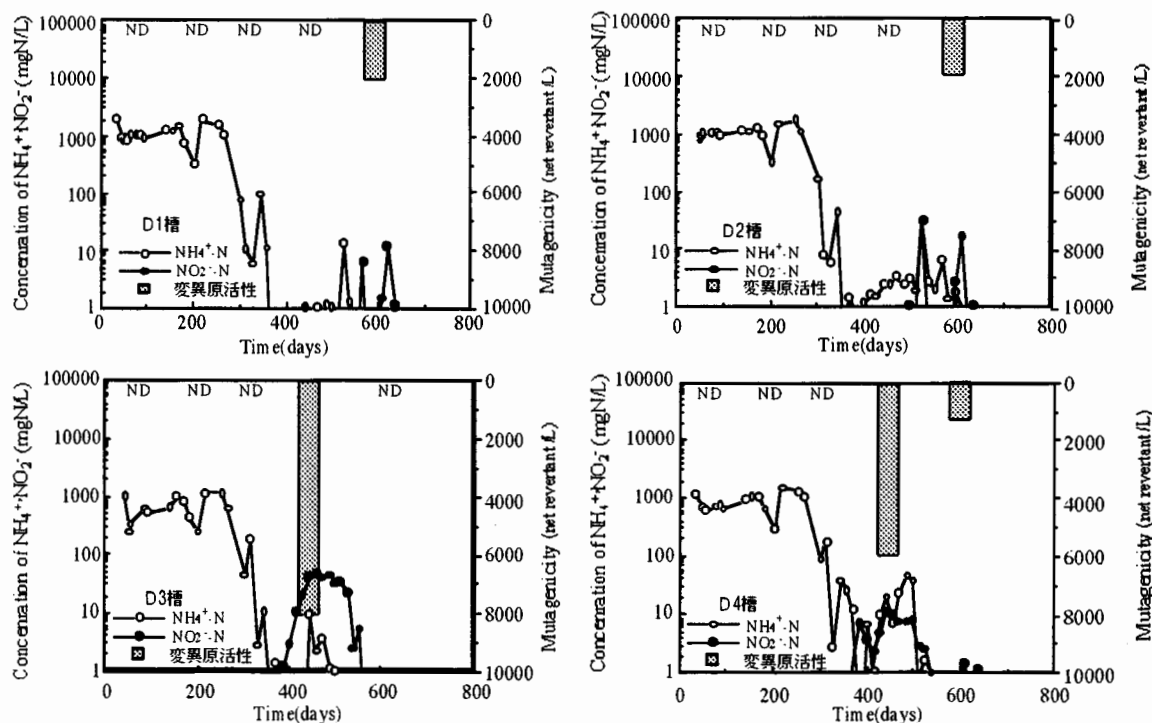


Figure 7 Relation between the magnitude of mutagenicity (TA98, -S9) and the concentration of NH₄⁺, NO₂⁻ in leachate from lysimeter

3. 2 硝化および脱窒過程における変異原物質の生成

3. 2. 1 実験装置および方法

硝化実験では、焼却残渣を充填した小型模型槽（φ30cm，高さ100cm）を作製し，その上部より降雨として300mgN/L塩化アンモニウム溶液を散布する（塩化アンモニウム散布槽：Lysimeter A）方法を用いた（Table 4）。脱窒実験では，硝化実験同様の小型模型槽を用い，300mgN/L硝酸カリウム溶液を槽上部より散布した（硝酸カリウム散布槽：Lysimeter B）。また，これらの対照として蒸留水を散布するブランク槽（Lysimeter C）を設けた。散布液は福岡市の年降水量を基に，3日に1回930 mLを模型槽上部より散布した。

浸出水の水質分析、有機物質の濃縮および変異原性試験は3. 1. 1 (2)～(4)の方法に準じて行った。

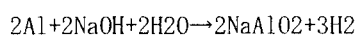
Table 4 Experimental condition

Lysimeter	Lysimeter A	Lysimeter B	Lysimeter C
Landfill type	Semiaerobic landfill type		
Waste type	Incineration residues		
Weight of waste (kg)	116.6		
Volume of waste (m ³)	0.0708		
Sprinkled water	300 mg N/ NH ₄ Cl solution	300 mg N/ KNO ₃ solution	distilled water

3. 2. 2 実験結果および考察

まず，硝化および脱窒実験における硝化および脱窒の進行状況について浸出水の各種形態窒素濃度，硝化菌および脱窒菌数の経時変化を検討した。塩化アンモニウム散布槽では実験期間を通して浸出水中の無機性窒素のほとんどがNH₄⁺-Nであったが，150日目以降NO₂⁻-Nが2～5mg/L検出され始め，NO₃⁻-Nも200日目以降より増加傾向を示した。また，硝化菌が200日目以降検出され始めた。さらに，塩化アンモニウム散布槽のpHは，200日目以降に低下傾向を示し，ブランク槽および硝酸カリウム散布槽より1前後低い値で推移した。これらの結果から，塩化アンモニウム散布槽では150日目以降より生物的硝化反応が進行してたと考えらる。

一方，硝酸カリウム散布槽では実験開始直後より継続してNH₄⁺-NおよびNO₂⁻-Nが各々20～100mg/Lおよび5～25mg/L検出され，実験直後よりNO₃⁻の還元反応が起きていることがわかった。しかし，硝酸カリウム散布槽では，本実験期間中において浸出水中には脱窒菌が全く検出されなかった。本田ら5)は，EP灰およびこれを含む焼却残渣を水に浸漬するとこれら残渣中に含まれている金属アルミニウムと水酸化物（アルカリ物質）が以下に示す反応により水素を発生することを報告していることから，ここで生じた硝酸イオンの還元は，焼却残渣中に多量に含有される金属類による化学的反応であると予想される。



次に変異原性についてみると，塩化アンモニウム散布槽では，充填後150日目以降継続して300～600net revertants/Lの変異原性が検出された（Figure 8(a)）。硝酸カリウム散布槽では50日

目以降より 600net revertants/L 以上の変異原性が検出され、特に充填後 50~100 日目において 12,000net revertants/L の強い変異原性を示した (Figure 8(b))。この事は、塩化アンモニウム散布槽および硝酸カリウム散布槽どちらにおいても変異原性の検出時期が NO₂-および N₂O が検出され始める時期とはほぼ一致している事を示している。

以上のことから、生物的硝化過程および硝酸塩の化学的還元過程の両過程、特に、NO₂-および N₂O が生成される段階で変異原物質が生成されると考えた。

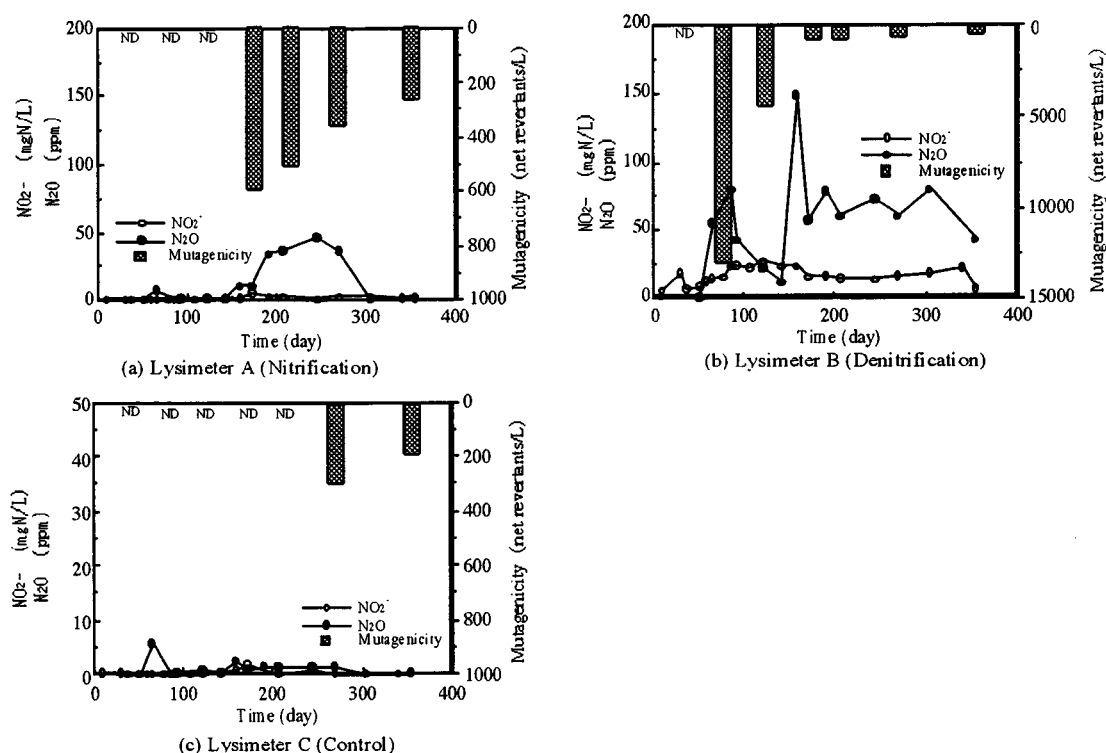


Figure 8 Relation between the magnitude of mutagenicity and the concentration of nitrite ion in leachate, nitrous oxide in gas from lysimeter

4. 結論

本研究を通して、エームス法による変異原性試験は現在廃棄物埋立地の安全性評価指標として適用されている浸出水の化学分析による有害物質の検出法が補完する方法であることを示し、埋立地浸出水へのこの変異原性試験の適用方法を確立した。また、廃棄物埋立地における変異原物質の発現は微生物の代謝過程、特に硝化・脱窒過程で生じる可能性が高いことを示した。同時に、焼却残渣主体の廃棄物埋立地においては硝酸塩の化学的還元によっても変異原性が発現すること明らかにした。この硝酸塩の化学的還元反応は焼却残渣中に含まれる金属塩の触媒反応によるものと推察した。さらに、多環芳香族炭化水素のニトロ誘導体および芳香族アミンに対して感受性を示す *Salmonella typhimurium* YG 株および NR 株等を用いた変異原性試験を行い、硝化・脱窒過程で生成された変異原物質の中に多環芳香族炭化水素のニトロ誘導体および芳香族アミンが含まれている可能性が高いことを示した。

謝辞

本研究をまとめるに際し、終始ご指導、ご鞭撻を賜りました福岡大学薬学部占野廣司教授、見明史雄教授、山野茂助教授、福岡大学工学部松藤康司教授に謹んで感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 染谷孝, 鯉川寿美子, 立藤綾子, 松藤康司, 花嶋正孝; 変異原性試験による廃棄物埋立処分場浸出水中の微量汚染物質サーベイランス, 水環境学会誌, Vol.15, No. 4, pp.244-253 (1992)
- 2) 染谷孝, 立藤綾子, 松藤康司, 鯉川(武藤)寿美子, 花嶋正孝: 廃棄物埋立場の浸出水処理過程における変異原性の消長, 水環境学会誌, 第15巻, 第5号, pp.321-326 (1992)
- 3) 松藤康司, 花嶋正孝, 立藤綾子, 染谷孝: 埋立地浸出水の変異原性—浸出水中の有害物質に対する予知指標として—, 都市清掃, 第45巻, 第186号, pp.28-35 (1992)
- 4) 鯉川(武藤)寿美子, 染谷孝, 立藤綾子, 松藤康司, 花嶋正孝: 廃棄物埋立処分場浸出水に含まれる変異原物質の特性, 廃棄物学会論文誌, 第3巻, 第3号, pp.51-60 (1992)
- 5) 本田由浩, 高月絃: 集じん灰バンカーにおける爆発事故原因の究明, 第8回全国都市清掃研究発表会講演論文集, pp.137-140 (1987)
- 6) A. Kamiya and Y. Ose; Study of the Behaviour of Mutagens in Wastewater and Emission Gas from a Municipal Incinerator Evaluated by means of the Ames Assay, The Science of the Total Environment, Vol.65, pp.109-120 (1987)
- 7) 小瀬洋喜, 神谷明男: 廃棄物処理における衛生化学的問題, 衛生化学, 35巻, 3号, pp.77-193 (1989)
- 8) A. Kamiya and Y. Ose; Isolation of Dinitropyrene in Emission Gas from a Municipal Incinerator and its Formation by a Photochemical Reaction, The Science of the Total Environment, Vol.65, pp.109-120 (1987)
- 9) M. Watanabe, M. Ishidate Jr. and T. Nohmi; A Sensitive for the Detection of Mutagenic Nitroarenes: Construction of nitroreductase-overproducing Derivatives of Salmonella typhimurium strains TA98 and TA100, Mutation Research, Vol.216, pp.211-220 (1989)
- 10) M. Watanabe, M. Ishidate Jr. and T. Nohmi; Sensitive Method for the Detection of Mutagenic Nitroarenes and Aromatic amines: New Derivatives of Salmonella typhimurium Tester Strains possessing elevated O-acetyltransferase Levels, Mutation Research, Vol.234, pp.337-348 (1990)
- 11) 小野芳朗, 山田正人, 宗宮功, 小田美光; 焼却廃棄物中の窒素化合物による遺伝毒性, 廃棄物学会論文誌, 9巻, 4号, pp.115-122 (1998)
- 12) 谷口正和, 立藤綾子, 松藤康司, 花嶋正孝: 廃棄物埋立地における N2O の発生メカニズムに関する研究, 土木学会第52回年次学術講演会概要集, pp.88-89 (1998)