

## **VII. 建設技術研究開発経費による研究**

# 1. 建設分野におけるダイオキシン類 汚染土壌対策・廃棄物発生抑制技術の開発

汚泥研究室 室 長 森田 弘昭  
 水質研究室 室 長 田中 宏明  
 汚泥研究室 主任研究員 落 修一  
 主任研究員 南山 瑞彦  
 水質研究室 主任研究員 小森 行也  
 研究員 岡安 祐司

## 1. 底質に関する簡易なサンプリング手法・分析手法開発

### 1. 1 はじめに

近年、極微量でも高い毒性を持つとされているダイオキシン類による汚染が全国的に大きな問題となっている。底質中のダイオキシン類の濃度は位置により大きく変化する可能性があるため、万一その汚染が発見された場合に効率的な対策を行うには、簡易かつ低コストで迅速に概略のダイオキシン類の分布状況を推定し、施工管理や対策評価をより適切に行う必要がある。一方、底質中のダイオキシン類測定に係る公定法は、試料採取から分析結果の解析までに長時間を必要としている。かかる状況をふまえ、本課題では、施工管理等の建設事業に対応したより簡易で迅速に比較的正確な結果が得られる底質中のダイオキシン類分析手法を検討、開発することを目的としている。

底質試料は高含水率で、有機質が多く含まれる場合も多いため、底質を対象とした公定法においては、乾燥工程、抽出工程、クリーンアップ工程に長時間を要する。特に、乾燥及び抽出工程を迅速に行うことで分析の迅速化をはかると考えられる。そのため、12年度は、乾燥及び抽出手法の比較検討に着手した。

### 1. 2 方法

河川の底質試料を採取し、同一試料を用いて抽出手法の違いが分析結果に及ぼす影響を検討した。試料の採取及び分析は環境庁のマニュアル<sup>1)</sup>に従って行った。一般的な分析フローの概略を図-1に示す。分析対象物質はポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン(PCDDs)およびポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs)と、コプラナーポリ塩化ビフェニル(Co-PCBs)である。

抽出手法の比較検討にあたり、12年度はソックスレー抽出法<sup>1)</sup>と湿泥-ヘキササン抽出法<sup>1)</sup>の比較検討を

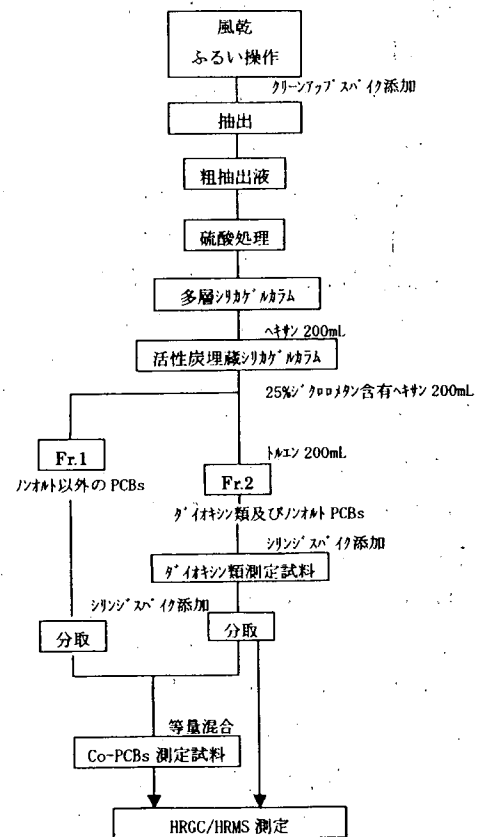


図-1 一般的な分析フローの概略

表-1 各抽出法の主な操作と所要時間

	乾燥	抽出
ソックスレー抽出法	風乾 (数日～数週間)	トルエンでソックスレー抽出 (16時間以上)
湿泥-ヘキササン抽出法		水酸化カリウムエタノール溶液を入れ室温放置(1夜) + ヘキササンで振とう抽出 (10分3回)

行った。両抽出法の主な操作を比較し表-1に示す。ソックスレー抽出法は一般的に用いられている方法であり、湿泥-ヘキサン抽出法はソックスレー抽出法より所要時間が短く、省力化が図れる可能性のある方法である。また、12年度はPressurised Fluid Extraction (PFE)<sup>2)</sup>の検討にも着手した。

### 1.3 結果

湿泥-ヘキサン抽出法で得られた結果をソックスレー抽出法での結果と比較し、図-2に示す。個々の異性体の分析結果では7割以上の数の異性体がソックスレー抽出法の80%以上の値を示した。

ソックスレー抽出法(測定回数5回)と湿泥-ヘキサン抽出法(測定回数3回)の分析結果の変動係数を表-2に示す。ソックスレー抽出法では、(PCDDs+PCDFs)総量の変動係数は5%、Co-PCBs総量の変動係数は3%、毒性等量の総量の変動係

数は1%であった。湿泥-ヘキサン抽出法では、(PCDDs+PCDFs)総量の変動係数は10%、Co-PCBs総量の変動係数は9%、毒性等量の総量の変動係数は15%であった。湿泥-ヘキサン抽出法はソックスレー抽出法に比べ変動係数が大きかった。

ソックスレー抽出法と湿泥-ヘキサン抽出法での内標準物質の回収率を表-3に示す。ソックスレー抽出法によるPCDDs、PCDFsの各内標準物質毎の平均回収率は58~98%、平均変動係数は9~20%、Co-PCBsの各内標準物質毎の平均回収率は24~101%、平均変動係数は5~28%であった。湿泥-ヘキサン抽出法によるPCDDs、PCDFsの各内標準物質の平均回収率は27~58%、平均変動係数は3~8%、Co-PCBsの各内標準物質毎の平均回収率は69~89%、平均変動係数は1~11%であった。湿泥-ヘキサン抽出法はソックスレー抽出法に比べて回収率が低かった。特にPCDDs、PCDFsについては、7塩化物、8塩化物の回収率が50%以

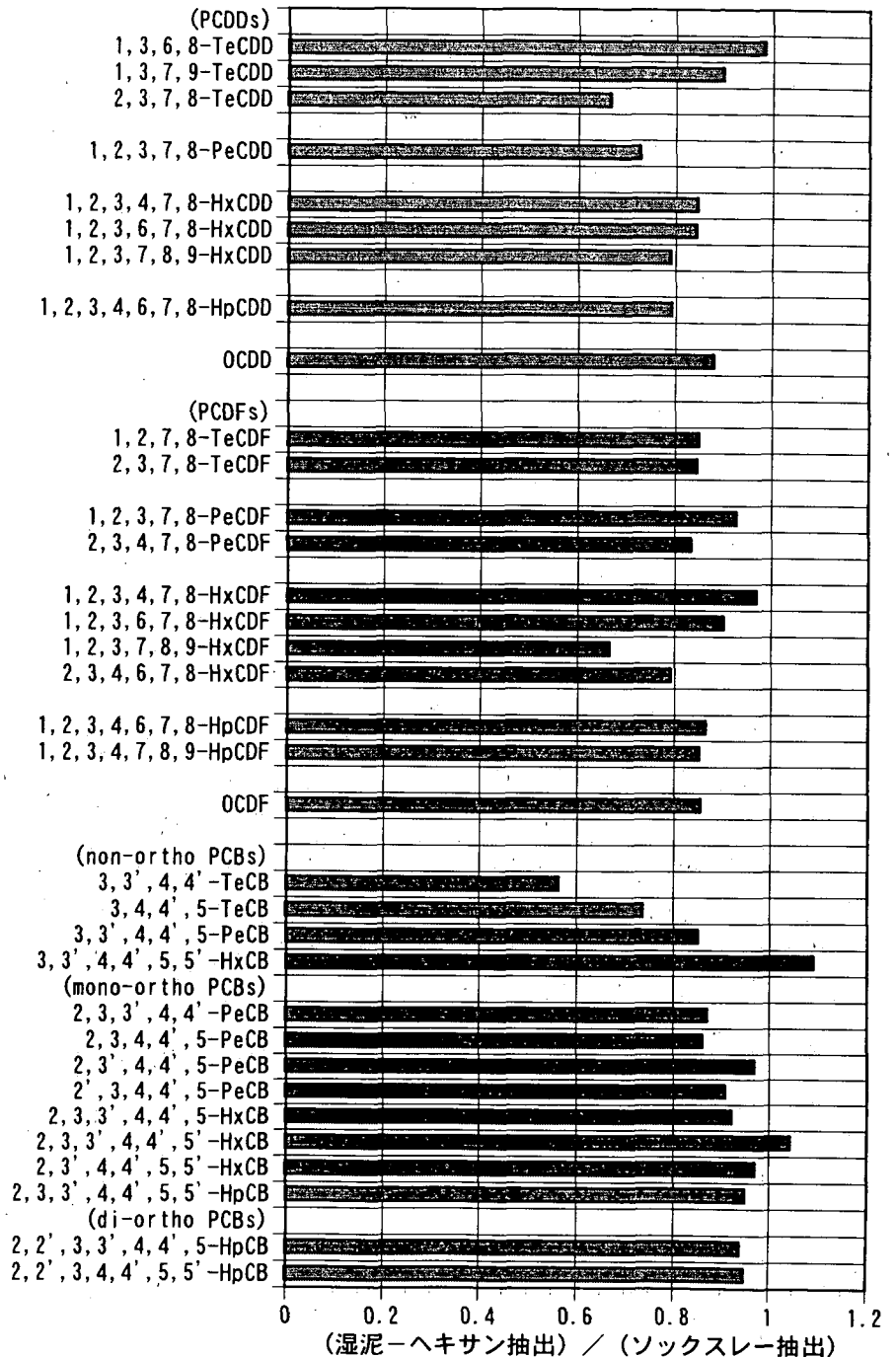


図-2 抽出法の違いが各異性体の分析値に及ぼす影響

下であった。

湿泥-ヘキサン抽出法は風乾試料の作成が不要であるため底質からの迅速なダイオキシン類抽出法として期待でき、多くの物質でソックスレー抽出法と比べて80%以上の値を示したが、内標準物質の回収率では50%以下となる物質も存在した。そのため、湿泥-ヘキサン抽出法による実試料の分析にあたっては、実試料中に回収率の低い異性体が多く含まれていないか等、手法の適用可能性についての検討をあらかじめ行う必要があると考えられる。

表一 2 各抽出法での分析値の変動係数の比較

実測値		ソックスレー抽出	湿泥-ヘキサン抽出
		抽出	抽出
	1,3,6,8-TeCDD	3%	11%
	1,3,7,9-TeCDD	3%	11%
	2,3,7,8-TeCDD	6%	11%
	TeCDDs	3%	12%
	1,2,3,7,8-PeCDD	5%	16%
	PeCDDs	10%	8%
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	4%	15%
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	5%	12%
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	3%	13%
	HxCDDs	2%	14%
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	6%	9%
	HpCDDs	13%	9%
	OCDD	7%	10%
	Total PCDDs	6%	8%
	1,2,7,8-TeCDF	2%	14%
	2,3,7,8-TeCDF	4%	13%
	TeCDFs	1%	12%
	1,2,3,7,8-PeCDF	3%	32%
	2,3,4,7,8-PeCDF	5%	17%
	PeCDFs	3%	11%
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	3%	26%
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	4%	14%
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	2%	18%
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	6%	13%
	HxCDFs	5%	14%
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	3%	8%
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	2%	14%
	HpCDFs	3%	8%
	OCDF	3%	12%
	Total PCDFs	2%	11%
	Total (PCDDs+PCDFs)	5%	10%
	3,3',4,4'-TeCB	4%	9%
	3,4,4',5'-TeCB	10%	7%
	3,3',4,4',5'-PeCB	1%	11%
	3,3',4,4',5,5'-HxCB	4%	9%
	Non-ortho PCBs	4%	8%
	2,3,3',4,4'-PeCB	4%	9%
	2,3,4,4',5'-PeCB	8%	8%
	2,3',4,4',5'-PeCB	3%	10%
	2',3,4,4',5'-PeCB	6%	11%
	2,3,3',4,4',5-HxCB	3%	10%
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	4%	7%
	2,3',4,4',5,5'-HxCB	4%	10%
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	1%	9%
	Mono-ortho PCBs	5%	11%
	2,2',3,3',4,4',5-HpCB	2%	7%
	2,2',3,4,4',5,5'-HpCB	4%	4%
	di-ortho PCBs	2%	3%
	Total Co-PCBs	3%	9%
毒性等量	PCDDs/PCDFs	2%	15%
	Co-PCBs	1%	11%
	Total	1%	15%

表一 3 内標準物質の回収率とその変動係数

	ソックスレー抽出		湿泥-ヘキサン抽出	
	平均値[%]	変動係数	平均値[%]	変動係数
2,3,7,8-TeCDD	63	9%	51	3%
1,2,3,7,8-PeCDD	98	18%	53	6%
1,2,3,4,7,8-HxCDD	66	14%	52	4%
1,2,3,6,7,8-HxCDD	63	13%	49	3%
1,2,3,7,8,9-HxCDD	63	12%	43	5%
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	71	10%	43	6%
OCDD	74	13%	34	5%
2,3,7,8-TeCDF	60	10%	58	3%
1,2,3,7,8-PeCDF	60	10%	49	4%
2,3,4,7,8-PeCDF	58	11%	52	5%
1,2,3,4,7,8-HxCDF	60	12%	41	4%
1,2,3,6,7,8-HxCDF	62	13%	46	3%
1,2,3,7,8,9-HxCDF	67	12%	34	6%
2,3,4,6,7,8-HxCDF	70	20%	55	3%
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	73	14%	43	5%
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	66	10%	32	8%
OCDF	63	12%	27	3%
平均値	67	12%	45	4%
3,3',4,4'-TeCB	88	5%	75	2%
3,4,4',5'-TeCB	87	8%	75	4%
3,3',4,4',5'-PeCB	79	8%	76	1%
3,3',4,4',5,5'-HxCB	89	14%	77	1%
2,3,3',4,4'-PeCB	92	12%	87	9%
2,3,4,4',5'-PeCB	87	9%	83	10%
2,3',4,4',5'-PeCB	101	9%	89	11%
2',3,4,4',5'-PeCB	88	10%	82	10%
2,3,3',4,4',5-HxCB	88	13%	80	11%
2,3,3',4,4',5'-HxCB	85	13%	79	7%
2,3',4,4',5,5'-HxCB	87	12%	77	9%
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	85	14%	76	7%
2,2',3,3',4,4',5-HpCB	52	16%	80	6%
2,2',3,4,4',5,5'-HpCB	24	28%	69	3%
平均値	81	12%	79	7%

## 2. 水質に関する簡易なサンプリング手法・分析手法開発

### 2.1 はじめに

一般に、ダイオキシン類は、水環境中では、移動・生物濃縮などの結果、偏在している。そのため、水環境中における実態・挙動を正確に把握するためには、面的に広く測定分析を行う必要がある。その一方で、現状の測定技術では、高価な機器、高度な操作技術などを必要とするため、測定可能数量に制約があり、上記の社会的ニーズへの対応が難しい状況である。本研究では、上記のような状況を鑑み、従来法と比較してより簡易に、上記の物質を測定できる技術を開発し、環境中におけるダイオキシン類の実態・挙動把握を可能とさせるため環境中の水試料（河川水、湖沼水）のダイオキシン類の簡易分析法を開発し、精度管理手法を含む簡易分析技術の確立を目的としている。

12年度は、水試料中のダイオキシン類を従来法と比較して簡易で迅速に、試料の前処理から測定まで行う分析技術の開発について民間との共同研究に着手した。また、現在、専門家が実施しているダイオキシン類の分析についての精度管理手法をパターン化、システム化し、比較的簡単に判定できる精度管理手法の検討を行った。

### 2.2 簡易分析手法の開発<sup>3)</sup>

水試料に含まれるダイオキシン類を現場あるいは実験室で迅速に測定できる方法の開発を目標とし、水に分散するダイオキシン類を簡単な前処理を実施したうえで、抗原抗体法などを利用して分析する方法を民間との共同研究で開発する。できれば公定法との絶対的な相関性を持つことが望ましいが、基準値の超過が起っていないかをより迅速に判断できる方法を検討する。

土木研究所は、ダイオキシン類の簡易測定法の開発を目的とし「環境中の非意図的生成物質の簡易測定技術の開発」について積水化学工業(株)・(株)矢内原研究所・大塚製薬(株)・東洋建設(株)と共同研究を実施している。本研究では、従来法と比較してより簡易に環境試料中のダイオキシン類などを測定できる技術として、ELISA法の適用を検討している(図-3)。

本研究に用いたポリクローナルの抗体は化学合成した4-[(2,3,7-trichlorodibenzo-*p*-dioxin-1-yl)carbamoyl]butanoic acid と

4-[(2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-1-yl)carbomoyl]butanoic acidをKLH (keyhole limpet hemocyanin) 及びpTG (ブタのサイログロブリン) とそれぞれ反応させた複合物を免疫原として19匹の家兎に注射免疫して新たに作成した。

標識体は、化学合成した

4-[(2,3,7-trichlorodibenzo-*p*-dioxin-1-yl)

carbamoyl]butanoic acid とArg-Arg-Biotinを反応させ(図-4)水溶性を高めた。

測定系ELISAでアッセイ系を確立した。このアッセイ系における再現性は室内誤差および室間誤差はそれぞれ、8.4%と11.3%であった。また、検出下限値は100pg/mlであった。本測定系での

#### 1. イムノアッセイ技術の開発

- ・抗体作製法の開発
- ・抗体の開発
- ・被検体の測定及び測定法の標準化
- ・測定対象物の設定
- ・測定範囲の設定
- ・被検物質の前処理法の設定

#### 2. 測定結果の変換、解析法に関する技術の設定

#### 3. 被検試料の前処理法の開発

- ・吸着剤(除去剤)物性の設定
- ・吸着物質の溶出法の設定
- ・カラム方式またはバッチ方式の選定
- ・吸着剤・溶出剤の再生技術の開発

#### 4. 被検物質の抽出技術の開発

- ・底泥中の水分分離技術の開発
- ・底泥土粒子中の被検物質抽出技術の開発

#### 5. 現地対応のための技術の開発

- ・被検物質の前処理および除去技術の自動化
- ・イムノアッセイ法の自動化
- ・前処理・除去およびイムノアッセイ法を組み合わせた自動化

図-3 簡易分析法の開発内容

2,3,7-trichlorodibenzo-*p*-dioxinと2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxinとの交差反応性は同等であり、毒性の少ない2,3,7-trichlorodibenzo-*p*-dioxinを標準物質として用いることができた。さらに、2,3,7-trichlorodibenzo-*p*-dioxinの回収実験は良好な結果を得た。

本アッセイ系の開発により、環境試料に対しては、抽出、濃縮、クリーンアップの手法と組み合わせることにより、多量のダイオキシン類を含む検体を簡便にかつ迅速に測定できる可能性があり、実用化されれば有用性はきわめて高いと思われる。

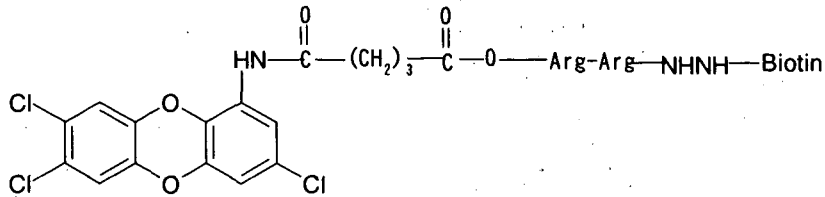


図-4 標識体の化学構造

### 2.3 分析精度管理手法の検討

河川水中のダイオキシン類の分析において、データの信頼性を確保する手法の確立を目的とし、既存マニュアルの精度管理方法を整理するとともに、簡易な精度管理手法の提案を行う(図-5)。現在、専門家が実施している精度管理手法をパターン化、システム化し、比較的簡単にできる手法を提案する。12年度は、既存分析法の精度管理の手法・考え方を整理した。概要を以下に示す。

① 分析条件等については、GC/MSの識別、GC分離カラムの情報、GCオープン温度の情報、測定質量数、選択イオン検出サンプリング周期、分析条件と結果の連鎖の確認ができていますか

② クロマトグラム上で定量ピークが確認できるか、また、クロマトグラムと定量値の関係、クロマトグラムピーク形状が確認できるか

③ ロックマスの変動、落ち込み、ノイズがないか

④ クリーンアップスパイクは内標準物質(I S)をいつ添加しているか、使用I Sの種類、回収率、同族体間の回収率、同族体内の回収率はどうか確認できるか

⑤ 操作ブランクは検出下限値に比較して何%か、また、操作ブランクのクロマトグラムはあるか

⑥ トラベルブランクは検出下限値に比較して何%か、また、トラベルブランクのクロマトグラムはあるか

⑦ インジェクションリストはハードコピーか

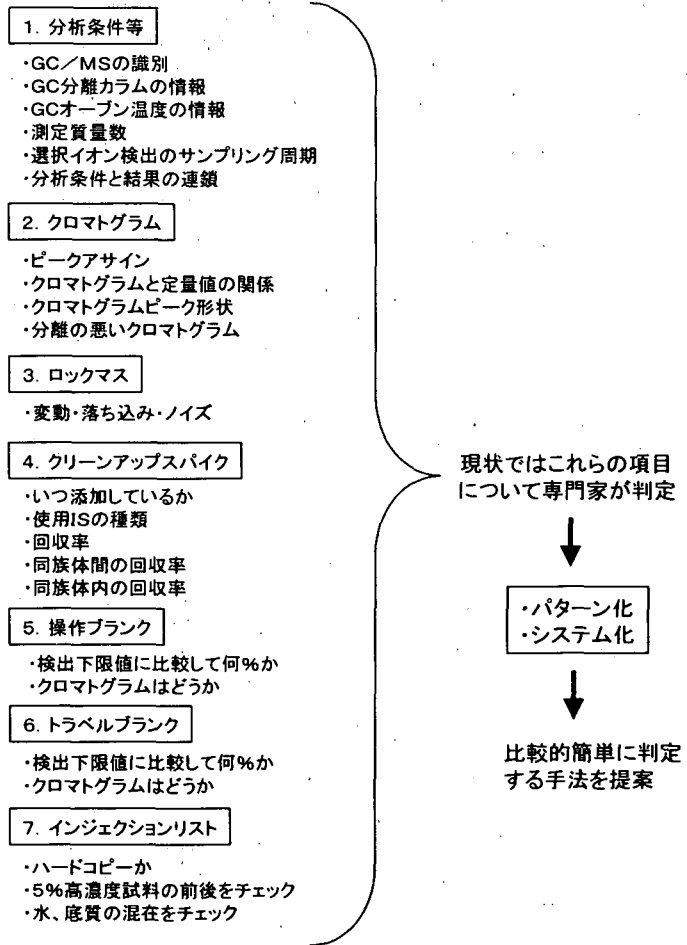


図-5 分析精度管理方法の検討

### 3. まとめ

#### 3. 1 底質に関する簡易なサンプリング手法・分析手法開発

極微量でも高い毒性を持つとされているダイオキシン類による汚染が全国的に大きな問題となっており、建設事業に対応した、迅速に結果が得られる底質中ダイオキシン類の分析手法の検討、開発に着手した。特に底質試料を対象としたダイオキシン類分析の迅速化にあたっては乾燥工程を含めた抽出工程の迅速化および安定した結果を得る分析手法の検討が必要である。12年度の検討により以下の点が明らかとなった。

ソックスレー抽出法と湿泥-ヘキサン抽出法を比較したところ、湿泥-ヘキサン抽出法は底質からの迅速なダイオキシン類抽出法として期待でき、多くの物質でソックスレー抽出法と比べて80%以上の分析値を示したが、内標準物質の回収率では50%以下となる物質も存在した。そのため、湿泥-ヘキサン抽出法による実試料の分析にあたっては、手法の適用可能性についてあらかじめ検討する必要があると考えられる。今後、乾燥及び抽出手法の種類を増やして検討を進め、これらを含めた底質分析全体の迅速化に関する検討を行う必要がある。

#### 3. 2 水質に関する簡易なサンプリング手法・分析手法開発

水試料に含まれるダイオキシン類を現場あるいは実験室で迅速に測定できる方法の開発を目標とし、水に分散するダイオキシン類を簡単な前処理を実施したうえで、抗原抗体法などを利用して分析する方法(ELISA法)を民間との共同研究で開発している。12年度は、化学合成した

4-[(2,3,7-trichlorodibenzo-*p*-dioxin-1-yl)carbamoyl]butanoic acid と

4-[(2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-1-yl)carbamoyl] butanoic acid をKLH及びpTG(ブタサイログロブリン)とそれぞれ反応させた複合物を免疫原として19匹の家兎に注射免疫して新たな抗体を作成し、ELISAでの測定系を確立した。再現性は室内誤差および室間誤差はそれぞれ、8.4%と11.3%であり、検出下限値は100pg/mlであった。今後は、できれば公定法との絶対的な相関性の確認と前処理を含めた利用方法を検討する。

また、河川水中のダイオキシン類の分析において、データの信頼性を確保する手法の確立を目的とし、既存マニュアルの精度管理方法・考え方を整理した。

#### 【参考文献】

- 1) 環境庁水質保全局水質管理課：ダイオキシン類に係る底質調査測定マニュアル(2000)
- 2) U.S.EPA：Test Methods for Evaluating Solid Waste Physical/Chemical Methods, Method 3545A, U.S.EPA(2000)
- 3) 小平 司 他：非意図的生成物質(ダイオキシン類)の簡易測定法の開発，第38回環境工学研究フォーラム講演集，pp.136-138(2001)