

<論文>

ダイオキシン類簡易分析技術の底泥対策への利用と課題

Applicability of Inexpensive and Rapid Analytical Methods for Dioxins in River Sediment

○ 小森行也¹、田中宏明²、八十島誠³、南山瑞彦⁴、鈴木穰¹、三宅祐一⁵、加藤みか⁵、浦野紘平⁵

1. 独立行政法人土木研究所
2. 京都大学大学院
3. 東和科学株式会社
4. 国土技術政策総合研究所
5. 横浜国立大学大学院

K. Komori¹, H. Tanaka², M. Yasojima³, M. Minamiyama⁴, Y. Suzuki¹, Y. Miyake⁵,
M. Kato⁵ and K. Urano⁵

1. Public Works Research Institute
2. Kyoto University
3. Towa Kagaku Co., Ltd.
4. National Institute for Infrastructure Management
5. Yokohama National University

Abstract

The Law Concerning Special Measures Against Dioxins (Law No. 105 of 1999) requires river and harbor managers to take countermeasures of the sediment polluted by dioxins (DXNs) exceeding the environmental standard (150pg-TEQ/g). To this end large number of samples would be required to be analyzed to determine the polluted area to be improved, but the analytical method designated by the law is time-consuming and expensive. Therefore this study focuses on the applicability of inexpensive and rapid analytical methods for dioxins (DXNs) in river sediments. We set 30 combinations of detection methods including enzyme-linked immunosorbent assay, semi-non-volatile organic halogen method and GC-MS(Q-pole) method focusing on a selected isomer of DXNs, and pretreatment methods including soxhlet extraction method, pressurized fluid extraction method (PFE), high speed solvent extraction method and several clean-up methods. The results examined by the combinations were compared with those designated by the law based on 20 samples that were obtained from possible DXNs contaminated sites in four rivers. Judging from the correlation factors, GC-MS (Q-pole) method focusing on 2,3,7,8-TCDD showed the highest values with any pretreatment methods among the selected detection methods. Particularly, the GC-MS (Q-pole) method following PFE, multi-silica layer gel column chromatography and activated carbon column chromatography was largest in correlation factor.

Key Words: dioxins, sediment, GC/MS, ELISA, SNVOX

1. はじめに

ダイオキシン類は、従来から指摘されている発がん性等の有害性に加えて外因性内分泌かく乱物質（いわゆる環境ホルモン）としても注目されている物質である。平成12年1月15日にダイオキシン類による環境の汚染の防止及びその除去等をするため、ダイオキシン類に関する施策の基本とすべき基準を定めるとともに、必要な規制、汚染土壌に係る措置等を定めることにより、国民の健康の保護を図ることを目的とした「ダイオキシン類対策特別措置法」が施行され、ダイオキシン類汚染に対して適切な対応を取ることが必要となった。河川管理においても河川水・底質の

汚染に対して適切な対応を取る必要がある。これまでの調査^{1), 2), 3), 4)}により河川水・底質のダイオキシン類汚染の状況も明らかになりつつあるが、これらの調査により高濃度の汚染が判明したところにあっては対策の実施が必要である。平成14年7月22日に環境省告示第四十六号により「水底の底質」の環境基準(基準値:150pg-TEQ/g以下)が示された。底質のダイオキシン類の分析は、「ダイオキシン類に係る底質調査測定マニュアル」⁵⁾(以下、公定法)に準拠して行われているが、公定法では高度な前処理技術と高価な分析装置を要し、1検体の分析費用は、含有量試験で20万円、溶出試験で16万円^{6), 7)}と高額である。また試料採取後、分析結果が報告されるまでには一ヶ月程度の期間を要する場合が多い。「ダイオキシン類対策特別措置法に基づく底質環境基準の施行について(通知)」⁸⁾(以下、通知)によると底質において環境基準値を超える汚染が判明した場合は、対策を講じることとされているが、底質環境基準値超過が判明した場合、まず、どこが最も汚染されていて優先的に対策を講じる必要があるかを見極める必要がある。そのためには、汚染範囲を詳細に調査することが重要であるが、公定法では、より正確な結果が得られる反面、分析費用が高額、結果を得るまでに時間が掛かる等課題も多い。そこで、安価に、かつ、迅速にダイオキシン類濃度を知る方法(以下、簡易分析技術)があれば、この方法を用いて対策を講じる範囲を決定することも可能になる。そのため、対策実施のためにも簡易分析技術の開発が望まれている。

ダイオキシン類の簡易分析技術については、これまでも多くの報告があり、ダイオキシン類そのものを測定する方法と、ダイオキシン類と相関があるとされる代替指標を測定する方法に大別される。ダイオキシン類そのものを測定する方法としては、①四重極GC/MSによる方法^{9), 10)}、②四重極イオントラップ型GC/MS/MSによる方法^{11), 12)}、③抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイによる方法¹³⁾、④抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイによる方法¹⁴⁾、⑤リポータージーンアッセイによる方法^{15), 16)}などがある。代替指標を測定する方法としては、⑥クロロベンゼン、クロロフェノールを測定する方法¹⁷⁾、⑦半・難揮発性有機ハロゲン化合物(SNVOX)を測定する方法¹⁸⁾などがある。これらの方法は、土壌や排ガス、焼却灰等に適用した例は多いが、底質を対象とした例は少ない。一方でこれらの方法は、分析精度に課題はあるものの、公定法に比べ前処理の簡易化も行っていることから時間短縮、コスト縮減等が期待できる。また、公定法の前処理は、乾燥に数日から一週間、抽出に16時間と前処理にも時間が掛かることから、前処理(乾燥・抽出・精製)の簡易化についても検討を行うことが重要である。

河川底質のダイオキシン類対策実施を想定すると、調査段階、工事段階、工事終了後においてダイオキシン類の測定が必要となる¹⁹⁾。『調査段階』では汚染範囲の確認調査及び工事の影響範囲調査、『工事段階』では工事境界での底泥の巻き上げ状況把握、上下流への輸送状況の監視、工事区域外の水質、底質への影響及び中間処理・処分施設等の監視を行う。『工事終了後』では汚染現場の改善効果の把握、底質処分場の環境影響を監視する目的でモニタリングを実施する。モニタリングでは多数の試料の迅速な測定、対策中の監視とフィードバックが必要となることから、迅速な分析が可能で、低コストの方法であることが望ましい。

簡易分析技術の適用は、通知において、「汚染範囲確定のための詳細調査範囲を絞り込む場合に用いることは差し支えない」とされている。従って、調査段階における汚染範囲確認調査においては簡易分析技術の適用が可能である。他の工事段階では、簡易分析技術の適用は明確化されていないが、公定法を用いてダイオキシン類濃度をモニターした場合、分析結果が得られるまで工事が進捗しないなど課題も多い。このため、他の工事段階においても簡易分析技術を適用できる可能性が高いと考えられる。しかし、簡易分析技術であっても分析信頼性の確認は重要であり、その方法の特徴を十分把握した上で目的にあった利用が必要である。

2. 本研究の目的

本研究の目的は、複数提案されているダイオキシン類の簡易分析技術が、ダイオキシン類の底質汚染が見られる現場でのダイオキシン類の公定法による測定結果の推定に利用できる可能性があるか、また、利用の際の信頼性の評価方法について、実際の汚染現場の底質試料を用いて検討することにある。ここでの利用シナリオとしては、汚染現場の底質汚染の範囲確定を目的とする場合に絞り込む。対象とした簡易分析技術は、土木研究所が公募した「底質ダイオキシン類の簡易測定技術の開発に関する共同研究」に対し応募のあった、抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイによる方法、抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイによる方法と四重極GC/MSによる方法、半・難揮発性有機ハロゲン化合物(SNVOX)を測定する方法とした。また、測定方法と並んで重要な要素として、乾燥・抽出・精製の前処理のプロセスがある。この方法として、時間の掛かる乾燥を行わずに抽出が可能な高速溶媒抽出法²⁰⁾、加熱流下抽出法²¹⁾について検討を行った。精製については、公定法の多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーを簡略化した5層シリカゲルカラムクロマトグラフィーについて検討した。

3. 本研究の方法

3. 1 測定方法

抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイによる方法、抗 Ah レセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイによる方法では、共同研究を実施している第一ファインケミカル(株)の ELISA キット (DELFLIA TCDD Test Kit : 以下 ELISA(DT2))、積水化学工業(株)・(株)矢内原研究所・大塚製薬(株)・東洋建設(株)グループの ELISA キット (エコアッセイ®ダイオキシン ELISA キット : 以下 ELISA(ECO)) 及び(株)クボタの Ah レセプターバイディングアッセイ (Ah-イムノアッセイ™ : 以下 Ah-IA) を用いた。ELISA(DT2)の測定原理は、抗マウス IgG 抗体結合ウエルに抗ダイオキシンモノクロナール抗体溶液とサンプルを加え反応させ、次にヨーロッパウム(Eu)標識ダイオキシン溶液を加え未反応の抗ダイオキシンモノクロナール抗体と反応させる。最後にエンハンサーを加え形成される Eu キレートが発する蛍光を測定する方法である。ELISA(ECO)の測定原理は、ウサギ抗ダイオキシンポリクロナール抗体を結合したウエルにサンプルとビオチン化ダイオキシンを加え反応させ、次に酵素標識ストレプトアビジンを加えて反応させる。最後に発色試薬として酵素反応基質液を加えて発色させ吸光度を測定方法である。Ah-IA の測定原理は、DRE バインダを固定したウエルに Ah レセプター(AhR)、ARNT、DRE とサンプルを加え反応させると、反応によりダイオキシン類は AhR 複合体を形成しウエル上に固定される。次に複合体に対する抗体、発色酵素を結合させた抗体を加える。最後に酵素に反応し発色する基質を添加し発色させ吸光度を測定する方法である。それぞれの測定方法についてはメーカーの説明書に従って実施した。

四重極 GC/MS による方法は、ダイオキシン類の中から毒性等価係数 (TEF: Toxicity Equivalent Factor) を有するポリ塩化ジベンゾ-パラジオキシン (PCDDs) の 7 異性体とポリ塩化ジベンゾフラン (PCDFs) の 10 異性体を同一カラムを用いて同時分析する。分離カラムは、J&W 社製の DB-17 (内径 0.25mm、長さ 30m、膜厚 0.25 μ m) を用い、パルスドスプリットレス方式で前処理した試料を 1 μ l 導入し、昇温 (70 $^{\circ}$ C(3min) \rightarrow 25 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 180 $^{\circ}$ C \rightarrow 5 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 280 $^{\circ}$ C(4min)) 分析した。ここでは、特定の異性体濃度からダイオキシン類濃度を推定する方法の検討として、測定 17 異性体のうち 2,3,7,8-TCDD の測定値 (以下四重極 GC/MS (2378D)) について検討した。

半・難揮発性有機ハロゲン化合物 (SNVOX) を測定する方法は、燃焼-電量滴定装置により全有機ハロゲンを測定する方法 (以下 SNVOX) と燃焼-イオンクロマトグラフ装置により塩素イオンを測定する方法 (以下 SNVOCl) について検討した。試験方法については文献 18 に従った。

これらの測定方法は、公定法の高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計 (HRGC/HRMS) で測定する方法に比べ、測定値を得るまでの時間を大幅に短縮できる。公定法ではデータの確認作業を含め通常結果を得るまでに一ヶ月程度を要しているが、これらの測定法は 1 週間程度で結果を得ることができる。

3. 2 前処理方法

ソックスレー抽出を用いた公定法のほか、乾燥・抽出を簡易化した高速溶媒抽出法²⁰⁾、加熱流下抽出法²¹⁾ について検討した。高速溶媒抽出法は、湿泥をアセトン(120 $^{\circ}$ C、10.3MPa、20分)で抽出した後、トルエン(160 $^{\circ}$ C、10.3MPa、20分)で抽出し、各抽出液を合わせて次の精製操作を行った。加熱流下抽出方法は、湿泥をエタノール脱水法を用いて水分を除去した後、抽出カラムに充填し常圧下においてカラム上部から加熱したトルエンを一定速度の押し出し流れで通液し抽出する方法である。抽出時間は、高速溶媒抽出で約 40 分、加熱流下抽出で約 2 時間であり、ソックスレー抽出の 16 時間に比べ大幅に短縮できる。

精製については公定法が多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー (多層シリカ)、活性炭カラムクロマトグラフィー (活性炭)、アルミナカラムクロマトグラフィー (アルミナ) に加え 5 層シリカゲルカラムクロマトグラフィー (5 層シリカ) について検討した。5 層シリカは、公定法が多層シリカのうち 22%硫酸シリカゲルと水酸化カリウムシリカゲルとその間のシリカゲルを除いたものである。精製カラム作成時間を短縮でき有害薬品の使用量・廃棄量を削減できる。

3. 3 前処理法と測定方法の組み合わせ

本研究で実施した前処理と測定法の組み合わせを図-1 に示した。ELISA(DT2)、ELISA(ECO)、Ah-IA、四重極 GC/MS (2378D) と SNVOX、SNVOCl では前処理の組み合わせは異なるものの、いずれも 5 つの前処理である。本検討では大量の底質を一括抽出した後、分割し種々の精製を行いそれぞれ異なる測定方法により測定した。この間の前処理から測定にいたる操作ブランク補正は行っていない。また、活性炭、アルミナ精製のダイオキシン画分を測定に供した。

3. 4 測定試料

検討試料は、表-1 に示すように 5 地域の汚染された底質 20 検体である。同じ汚染現場で A 河川では 5 地点、B 河川では 9 地点、C 河川では 1 地点、D 河川では 4 地点、E 河川では 1 地点で、エクマンバージ型採泥器を用いて表層 10~20cm を採取したものである。A 河川の A-①から A-④の底質は、total TEQ に占める PCDDs の割合は 50.3~59.1%、PCDFs が 35.8~43.2%、Co-PCBs が 4.5~6.5% であり異性体構成も同様であったが、A-⑤は、PCDDs が 23.9%、PCDFs が 35.0%、Co-PCBs が 41.1% と A-①から A-④の底質に比べ Co-PCBs の割合が高い異性体構成であ

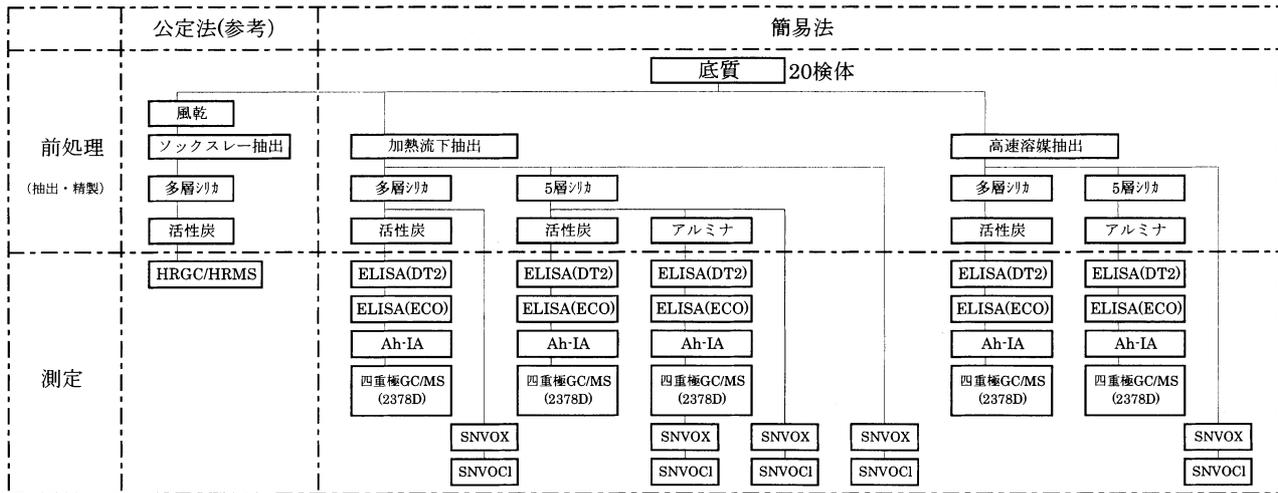


図-1 簡易測定法による底質ダイオキシン類測定手法の検討フロー

った。B 河川の B-①から B-⑧の底質は、PCDDs が 31.0～41.2%、PCDFs が 30.5～51.6%、Co-PCBs が 13.4～28.3%であり A 河川の底質と比べると PCDDs が低く PCDFs、Co-PCBs の割合が高い異性体構成であった。B-⑨の底質は、PCDDs が 78.1%、PCDFs が 11.6%、Co-PCBs が 10.3%であり他の底質とは異なり PCDDs の占める割合が高い異性体構成であった。C 河川、D 河川、E 河川の底質は、D-②の底質が PCDDs が 13.2%、PCDFs が 76.2%、Co-PCBs が 10.6%であり PCDFs の占める割合が高い底質であったが、他は PCDDs が 29.1～36.0%、PCDFs が 42.4～47.6%、Co-PCBs が 22.3～26.9%であり B 河川の B-①から B-⑧と似通った異性体構成であった。

表-1 検討試料一覧

河川名	試料No.	強熱減量 (%)	含水率 (%)	DXNs (pg-TEQ/g)
A河川	A-①	17.1	72.4	65
	A-②	14.3	70.3	76
	A-③	12.0	64.0	64
	A-④	12.1	62.0	77
	A-⑤	9.6	50.3	280
B河川	B-①	13.0	39.7	160
	B-②	14.0	41.8	140
	B-③	13.7	44.5	190
	B-④	6.8	30.5	210
	B-⑤	16.1	44.3	330
	B-⑥	12.2	39.5	160
	B-⑦	15.0	47.9	310
	B-⑧	12.9	45.7	280
	B-⑨	8.4	38.9	640
C河川	C-①	25.9	72.1	130
D河川	D-①	7.3	48.3	75
	D-②	19.2	71.9	400
	D-③	13.8	71.5	150
	D-④	7.4	55.6	74
E河川	E-①	12.5	69.7	88

4. 結果

測定結果は、ELISA(DT2)、ELISA (ECO)、Ah-IA は、標準物質である 2,3,7,8-TCDD 換算の DEQ 値 (Dioxin Equivalent) として、四重極 GC/MS 法は、測定対象とした異性体量として、また SNVOX および SNVOCl は、ハロゲン総量あるいは塩素換算量として表示される。簡易分析技術の測定結果は、そのままダイオキシン類量として表示されるわけではなく、公定法に基づく TEQ 値が別途測定され、その結果と簡易分析技術での前述した測定値との相関関係を把握し、回帰式を求め、それに基づき濃度未知の試料を簡易分析技術の測定値からダイオキシン類の TEQ を推定することになる。一般に、簡易分析技術と公定法との相関をとる場合、X 軸を簡易法の測定値 (x)、Y 軸を公定法の TEQ (y) とし、回帰線を線形、べき乗等とする。ここでは、回帰線をべき乗とした場合の結果で以下議論する。つまり $y = ax^b$ とし、a、b は定数である。また相関係数は、両対数を取って線形化した場合の値である。

ELISA(DT2)、ELISA(ECO)、Ah-IA、四重極 GC/MS(2378D)、SNVOX、SNVOCl の 6 つの測定方法と高速溶媒抽出法、加熱流下抽出法の 2 つの抽出方法、さらに精製方法の簡易化について 30 の組み合わせを対象に検討した結果を以下に示す。

4. 1 公定法と簡易分析法の相関性

簡易分析技術による測定値と公定法によるダイオキシン類測定値 (pg-TEQ/g) の相関を表-2 に示した。本検討で用いた 20 試料は、前述したとおり採取河川が違うことからダイオキシン類の異性体構成もそれぞれ異なっている。

高濃度汚染の範囲を簡易に推定する場合への適用を考えた場合、ある程度狭い範囲ではその汚染原因も同一と考えられ、底質の異性体構成も類似の可能性がある。比較的狭い範囲での推定に適用することを想定し、本検討試料 20 検体の中から、B 河川で採取した底質 9 試料の異性体構成を比較し、異性体構成がほぼ同じ 8 試料 (B-①から⑧) について公定法と簡易分析技術の関係を求めた。

検討した 30 の組み合わせの結果は表-2 に示すとおりであるが、20 試料の結果について、測定方法から整理する

表-2 公定法と簡易分析技術の関係

検出方法	抽出方法	精製方法		y=ax ^b (n=20)			y=ax ^b (n=8)		
				a	b	r	a	b	r
ELISA(DT2)	加熱流下抽出	多層シリカ	活性炭	15.5	0.46	0.535	343	-0.09	0.223
		5層シリカ	活性炭	5.30	0.56	0.594	12.4	0.44	0.699
			アルミナ	15.4	0.39	0.365	11.8	0.43	0.751
	高速溶媒抽出	多層シリカ	活性炭	12.8	0.47	0.592	87.4	0.16	0.374
5層シリカ		アルミナ	11.6	0.46	0.565	6.02	0.60	0.733	
ELISA(ECO)	加熱流下抽出	多層シリカ	活性炭	19.6	0.32	0.368	449	-0.12	0.264
		5層シリカ	活性炭	1.26	0.66	0.614	16.4	0.34	0.661
			アルミナ	2.51	0.61	0.711	19.6	0.33	0.717
	高速溶媒抽出	多層シリカ	活性炭	6.74	0.41	0.672	60.4	0.15	0.452
5層シリカ		アルミナ	0.65	0.75	0.382	4.41	0.53	0.704	
Ah-IA	加熱流下抽出	多層シリカ	活性炭	5.61	0.56	0.610	940	-0.23	0.280
		5層シリカ	活性炭	447	-0.14	0.225	2.02	0.68	0.549
			アルミナ	35.7	0.21	0.298	1.16	0.70	0.828
	高速溶媒抽出	多層シリカ	活性炭	11.6	0.38	0.608	37.3	0.24	0.661
5層シリカ		アルミナ	202	-0.03	0.036	14.1	0.33	0.641	
四重極GC/MS(2378D)	加熱流下抽出	多層シリカ	活性炭	100	0.30	0.710	198	0.03	0.068
		5層シリカ	活性炭	105	0.27	0.773	89.1	0.33	0.808
			アルミナ	119	0.25	0.612	169	0.10	0.271
	高速溶媒抽出	多層シリカ	活性炭	79.7	0.37	0.891	82.5	0.36	0.888
5層シリカ		アルミナ	93.0	0.29	0.789	129	0.17	0.743	
SNVOX	加熱流下抽出	多層シリカ		249	0.43	0.614	205	-0.04	0.072
		5層シリカ	アルミナ	239	0.63	0.650	253	0.35	0.633
				140	0.57	0.433	203	0.26	0.301
	高速溶媒抽出	精製なし		32.5	0.50	0.589	28.9	0.57	0.720
精製なし			22.3	0.58	0.632	86.9	0.26	0.573	
SNVOCl	加熱流下抽出	多層シリカ		254	0.44	0.624	205	-0.04	0.073
		5層シリカ	アルミナ	239	0.63	0.645	253	0.35	0.630
				165	0.72	0.604	225	0.39	0.664
	高速溶媒抽出	精製なし		32.9	0.51	0.600	29.5	0.57	0.755
精製なし			24.2	0.56	0.627	88.4	0.26	0.595	

と、ELISA(DT2)は、加熱流下抽出+5層シリカ+アルミナの組み合わせを除きどの前処理との組み合わせにおいても相関係数(r)が0.5~0.6であった。ELISA(ECO)は、加熱流下抽出+多層シリカ+活性炭、高速溶媒抽出+5層シリカ+アルミナの組み合わせ以外でrが0.6~0.7であった。Ah-IAは、加熱流下抽出+多層シリカ+活性炭、高速溶媒抽出+多層シリカ+活性炭の組み合わせでrが0.6であった。四重極GC/MS(2378D)は、加熱流下抽出+5層シリカ+アルミナの組み合わせを除いて、どの前処理との組み合わせにおいてもrが0.7を超えていた。なかでも高速溶媒抽出+多層シリカ+活性炭の組み合わせはrが0.891であった。SNVOXは、加熱流下抽出+5層シリカを除きどの前処理との組み合わせにおいてもrは0.6程度であった。SNVOClは、どの組み合わせにおいてもrは0.6程度であった。rが0.7を超えた組み合わせについて回帰式の傾きを比較すると四重極GC/MS(2378D)で測定したケースで傾きが小さく(0.27~0.37)、TEQ濃度差が小さい試料間の区別判定の観点からも優れている結果となった。

8試料の場合では、ELISA(DT2)、ELISA(ECO)は、加熱流下抽出+5層シリカ+アルミナ、高速溶媒抽出+5層シリカ+アルミナの組み合わせでrが0.7を超えた。Ah-IAは、加熱流下+5層シリカ+アルミナの組み合わせでrが0.8を超えた。四重極GC/MS(2378D)は、加熱流下抽出+多層シリカ+活性炭、加熱流下抽出+5層シリカ+アルミナの組み合わせを除いて、どの前処理との組み合わせにおいてもrが0.7を超えた。なかでも、高速溶媒抽出+多層シリカ+活性炭の組み合わせはrが0.888であった。この8試料の2,3,7,8-TCDDの実測値は、12~64pg/gであり四重極GC/MSで測定可能な濃度であったこと、TEFを持つ異性体構成が類似していたことが他の組み合わせと比較して強い相関を示した要因として考えられる。

これらの結果から、同一河川の比較的狭い範囲で汚染原因が同じと考えられる底質へ適用する場合には、公定法と簡易分析技術の関係は比較的強い相関が得られる場合があると考えられる。

5. 考察

5.1 簡易分析技術の現場への適用

簡易分析法の現場へ適用する場合として、次の2つのケースが考えられる。

①高濃度汚染分布の推定

公定法と簡易分析技術の関係(回帰式)から底質濃度を推定し、高濃度汚染現場を推定する場合であり、公定法と簡易分析技術の相関の強さによって、推定の誤差が大きく影響する。誤差を含むことを前提として汚染濃度分布を推

定し、範囲確定のために公定法によって最終的に測定し、汚染範囲を確定することが必要である。

②基準値 (150pg-TEQ/g) の超過の判定

簡易分析技術によって高濃度汚染範囲や基準値超過の有無の判定に適用する場合であり、false negative となるある信頼区間の上限値を用いて TEQ を推定することが考えられる。信頼区間の上限値としては、一般に 90%、95%、99%などが考えられるが、判断の重要性によって信頼度を決定する必要がある。

この場合、回帰線の最確値からはかなりのマージンをもって基準値を大きく下回っていると判定できるが、当然マージンが大きいほど false positive となる量は大きくなるため、処分費用がかさむ。

5. 2 公定法と簡易分析技術の回帰式選択の妥当性

4. 1では、公定法と簡易分析技術の相関を回帰線がべき乗となる場合で議論したが、直線回帰とべき乗回帰によりその関係式を求め、両者の違いを議論するため、ELISA(DT2)の関係性を例として図-2に示した。

公定法と簡易分析技術の相関を相関係数で比較すると大きく異なることはなく、両者に大きな違いはみられない。ここには示していないが、このほかの場合においても同様な傾向にあった。したがって、公定法と簡易分析技術の関係式を用い高濃度汚染の範囲を推定する場合には、いずれの回帰式を用いても大きな差はないと考えられる。しかし、底質環境基準値 (150pg-TEQ/g) を超過しているか否かの判定に使用する場合では、簡易分析技術のデータの信頼性を考慮し $\alpha\%$ (例えば 95%) 信頼区間の上限値を用いて TEQ を推定する方法が考えられる。この場合、図-2からも明らかのように直線回帰では 95%信頼区間の上限曲線の y 切片は基準値を超えており、簡易分析値が仮に 0 pg/g であった場合でも許容されない結果となる。一方、べき乗回帰を用いた場合、底質環境基準値を簡易分析技術の値から 95%信頼区間の上限値を用いて推定可能である。

以上のことから公定法と簡易分析法との関係式から TEQ を推定する場合にあつてはべき乗回帰を用いる方が実用的であると考えられる。

5. 3 false negative を防ぐための信頼区間と相関性の関係

簡易分析技術によってある基準値を超過しているか否かの判定等に適用する場合、測定値の信頼性を考慮する必要がある。例えば、図-3のように ELISA(DT2)を例にすると、環境基準値 150pg-TEQ/g に相当する ELISA(DT2)の測定値は、回帰線上の値である、254pg/g の可能性が最も高い。しかし、この値を超える可能性もあることから、 $\alpha\%$ の信頼度をもつ回帰線の信頼区間の上限値を推定して用いる必要がある。 α としては、90%、95%、99%などが通常取られる。 $\alpha=90\%$ が取られたとすれば、 $y=150\text{pg/g}$ に相当する 90%の信頼区間上限値の ELISA(DT2)による推定値は 71pg/g となるが、その値に対して最も可能性が高い公定法による値は 62pg/g に相当する。従って、環境基準値 150pg/g を 90%信頼区間上限値で推定するとその 2.4 倍程度の安全サイドの判定をすることになる。回帰式から推定する値の信頼区間を大きくすると、その推定幅も当然大きくなるため、信頼区間をいくつにとるかにについては目的に応じて判断する必要がある。

簡易分析技術を環境基準値 150pg-TEQ/g 超過の判定に使用する場合の安全側のマージンの大きさと回帰線の相関性の強さとは、当然関係があると考えられる。仮に $\alpha=95\%$ を信頼区間の上限値と回帰線から推定された最確値の比と回帰式の決定係数との関係を図-4に示すが、両者に負の相関が認められる。本検討で用いた 20 試料で相関をとる場合、相関係数 0.7 を超えるケースでは 95%信頼区間の上限値/最確値は約 3 である。この結果から、簡易分析技術を基準値 (150pg-TEQ/g) 超過の判定に使用する場合、最確値からの乖離を 3 倍以下に抑える意味においても回帰

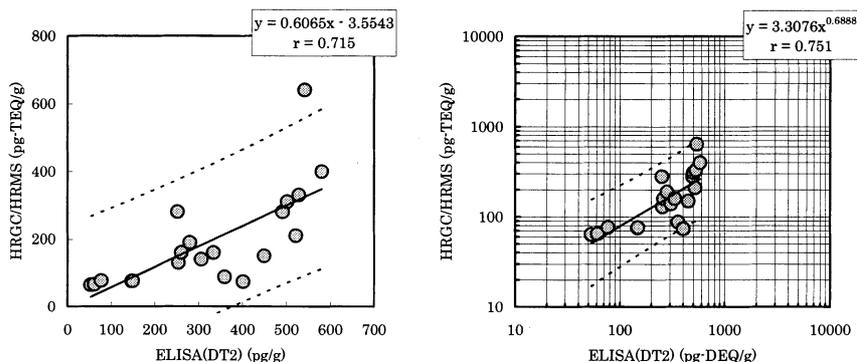


図-2 公定法測定値 (pg-TEQ/g) と ELISA(DT2) の関係 (点線は95%信頼区間)

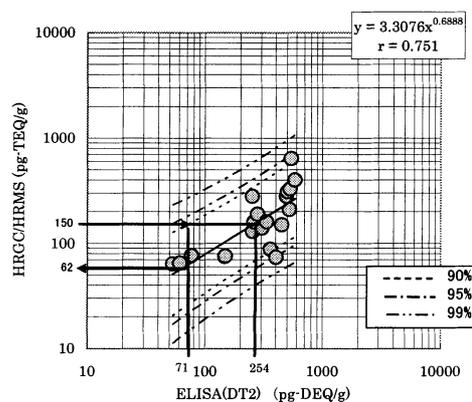


図-3 回帰式の90%,95%,99%信頼区間

式の相関係数は 0.7 以上であることが望ましい。ただし、図では検討を前述の同一汚染現場 8 個の場合にした場合で、両者の関係が異なることが分かるように、公定法と簡易分析技術の関係を求める際の試料の特性、試料数等により相違があることに留意する必要がある。

5. 4 公定法と簡易分析技術との相関関係を求める際の低濃度試料の重要性

これまで本検討に用いた 20 試料のダイオキシン類濃度は、64~640pg-TEQ/g であった。これらのデータを用いての関係式から数~数十 pg-TEQ/g の値を外挿することには無理がある。低濃度試料の推定のため、過去に測定した低濃度の全国河川底質データも合わせて公定法と簡易分析技術の関係を求めたところ、図-5 に示すように 20 試料のケースに比べ相関が改善した。ELISA(DT2)は、高速溶媒抽出+多層シリカ+活性炭の前処理の組み合わせのデータであり、相関係数が 0.592 から 0.866 に改善した。SNVOC1 は、加熱流下抽出+5 層シリカの前処理の組み合わせのデータであり、相関係数が 0.604 から 0.940 に改善した。

これらのことから、公定法と簡易分析技術の関係を求めるに当たっては、推定する濃度域をカバーする広い濃度範囲の試料について関係を求める必要があるが、平面的に広い範囲の試料を採取すると汚染原因が異なることが考えられるため、汚染原因が同じと考えられる比較的狭い範囲、たとえば鉛直方向での採取を含めた狭い平面範囲で低濃度域から高濃度域まで底質を採取する工夫が必要である。

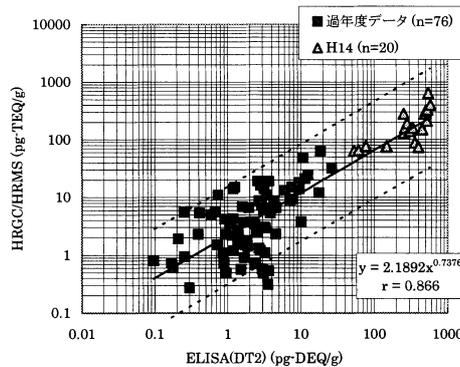


図-5 公定法と簡易分析技術の関係 (過年度測定の高濃度試料を含む)
(点線は95%信頼区間)

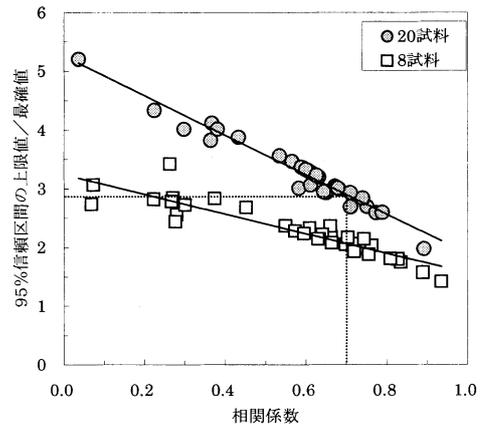
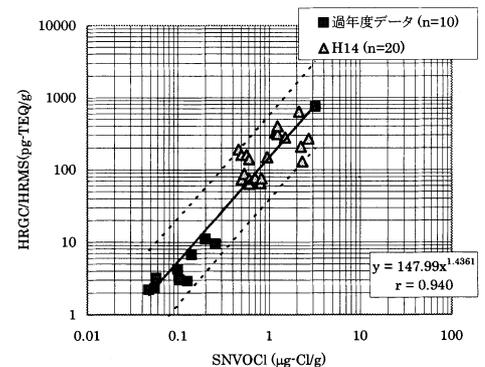


図-4 決定係数と95%信頼区間の上限値/最確値の関係



6. 結論と今後の課題

本研究で得られた結論は以下のとおりである。

- ① ELISA(DT2)、ELISA(ECO)、Ah-IA、四重極 GC/MS(2378D)、SNVOX、SNVOC1 の 6 つの検出方法と高速溶媒抽出法、加熱流下抽出法の 2 つの抽出方法、さらに精製方法の簡易化について 30 の組み合わせを対象に、汚染レベルが比較的高い 5 カ所の 20 地点の底質を用いて、簡易分析技術と公定法での底質ダイオキシン類 TEQ 濃度との関係を比較した。
- ② 簡易分析技術と公定法との相関性は、四重極 GC/MS(2378D)がどの前処理との組み合わせでも比較的高い相関関係にあり、なかでも高速溶媒抽出+多層シリカ+活性炭の組み合わせの相関性が最も良好であった。2,3,7,8-TCDD が四重極 GC/MS で測定可能な濃度であったこと、TEF を持つ異性体構成が類似していたことが要因として考えられる。
- ③ 公定法と簡易分析技術の相関で使用する回帰式は、直線回帰とべき乗回帰でも決定係数は大きく異なることはないが、基準値 (150pg-TEQ/g) を超過しているか否かの判定に使用する場合にあっては、直線回帰では信頼区間を考慮した判定が不可能な場合があることから、べき乗回帰を用いる方が実用的である。また、公定法と簡易分析技術の関係は広い濃度範囲の試料を用いて求めることで、相関性が向上するため、比較的狭い汚染範囲の中で低濃度域から高濃度域まで底質を採取する工夫が必要である。

本検討では限られた試料を用い、限られた分析技術について検討を行ったものであり、このデータのみから一般的な結論を導くことはできないため、今後は以下の点についてさらに検討を行う必要がある。

- ① 公定法と簡易分析技術の関係をより明確に評価するため、数 pg-TEQ/g から数百 pg-TEQ/g のより広範囲な試料やより多くの同一汚染現場の試料を用いてさらに検討する必要がある。複数箇所の汚染現場での検討を行うことで、どのような汚染原因にどのような簡易分析技術が適しているのかを今後検討を行う必要がある。
- ② 本検討では6つの測定方法について同一試料を用いた検討・評価を実施したが、リポータージーンアッセイ等他の簡易分析技術についても検討を行う必要がある。
- ③ 簡易分析技術は、簡易な前処理との組み合わせで使用することにより、よりその利点が活かせることから各簡易分析技術に適した簡易な前処理法の検討が必要である。
- ④ これら簡易分析技術を用いて、底質ダイオキシン類の対策が行われる実際の現場において、ここで検討した方法により、調査・モニタリング等を試行し、現場適用にあたっての問題点や実用化に向けての検討を実施する必要がある。

7. 参考文献

- 1) 国土交通省, 平成 11 年度水環境における内分泌かく乱物質及びダイオキシン類に関する実態調査結果について (2000)
- 2) 国土交通省, 平成 12 年全国一級河川におけるダイオキシン類に関する実態調査等の結果について (2001)
- 3) 国土交通省, 平成 13 年全国一級河川におけるダイオキシン類に関する実態調査等の結果及び今後の対応について (2002)
- 4) 国土交通省, 平成 14 年全国一級河川におけるダイオキシン類に関する実態調査の結果について (2004)
- 5) 環境庁, ダイオキシン類に係る底質調査測定マニュアル (2000)
- 6) (財) 建設物価調査会, 建設物価 2004 年 4 月号 (2004)
- 7) (財) 経済調査会, 積算資料 2004 年 4 月号 (2004)
- 8) 環境省環境管理局水環境部長, ダイオキシン類対策特別措置法に基づく底質環境基準の施行について (通知) (2002)
- 9) 永柳衍, 4 重極 GC/MS によるダイオキシン類の簡易測定技術, 資源環境対策, 37, 921-925 (2001)
- 10) 上東浩, ダイオキシン類測定分析の迅速化・簡易化, 資源環境対策, 37, 942-947 (2001)
- 11) 大川真, GC/MS/MS によるダイオキシン類の簡易分析, 資源環境対策, 37, 932-935 (2001)
- 12) 中村朋之, 加藤謙一, 鈴木滋, 山岸陽子, 大容量注入装置を用いたイオントラップ型 GC/MS/MS によるダイオキシン類分析法の検討, 第9回環境化学討論会, 248-249 (2000)
- 13) 坂田一登, 松本宏和, 岡本巧誠, 谷岡洋平, 藤本昇, 高速溶媒抽出法と免疫測定法を組み合わせた迅速ダイオキシン分析技術, 資源環境対策, 37, 979-983 (2001)
- 14) 小林康男, 中西俊夫, Ah イムノアッセイ™による環境サンプルのダイオキシン類測定の実例, 造水技術, 27 (4), 3-8 (2002)
- 15) 橋場常雄, リポータージーンアッセイ法によるダイオキシン類の分析について, 造水技術, 27 (4), 14-19 (2002)
- 16) 村田弘司, ジーン・バイオアッセイによるダイオキシン類の測定, 資源環境対策, 37, 970-974 (2001)
- 17) 前田恒昭, クロロベンゼン・クロロフェノール測定による焼却炉煙道でのダイオキシンの連続測定, 資源環境対策, 37, 936-941 (2001)
- 18) 加藤みか, ダイオキシン類の測定を正確かつ大幅に効率化できる方法, 第2回効率的な環境管理のための最新の簡易測定技術, エコケミストリー研究会 (2001)
- 19) 小森行也, 八十島誠, 田中宏明, 南山瑞彦, 鈴木穰, 伊藤弘之, 河川底質のダイオキシン類対策に必要な簡易測定技術, 学会誌「EICA」, 7, 255-258 (2002)
- 20) 南山瑞彦, 落修一, 鈴木穰, 底質中のダイオキシン類の抽出手法, 土木技術資料, 44 (7), 40-45 (2002)
- 21) 加藤みか, 浦野紘平, 清水優子, 小口正弘, 伊藤日本男, 栗原浩, 固体試料からのダイオキシン類等高沸点有機物の「高速流下抽出装置」, 第12回環境化学討論会講演要旨集, 616-617 (2003)

(受付 2004 . 5 . 20)

(受理 2004 . 6 . 23)