

国立環境研究所特別研究報告

Report of Special Research from the National Institute for Environmental Studies, Japan

SR - 48 - 2003

環境ホルモンの分解処理要素技術に
関する研究
(内分泌攪乱化学物質総合対策研究)

Study on technology of reduction and remediation of
endocrine disrupters in the environment

平成 11 ~ 14 年度

FY 1999 ~ 2002

NIES



独立行政法人 国立環境研究所

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

<http://www.nies.go.jp/index-j.html>

環境ホルモンの分解処理要素技術に
関する研究
(内分泌攪乱化学物質総合対策研究)

Study on technology of reduction and remediation of
endocrine disrupters in the environment

平成 11 ～ 14 年度

FY 1999 ～ 2002

内分泌攪乱化学物質総合対策研究「環境ホルモンの分解処理要素技術に関する研究」
(期間 平成 11 ~ 14 年度)

特別研究責任者：森田昌敏

特別研究幹事：安原昭夫

報告書編集担当：安原昭夫

序

本報告書は平成 11 年度から 14 年度の 4 年間にわたって実施した環境ホルモンに関するプロジェクト研究のうちの、「環境ホルモンの分解処理要素技術に関する研究」の成果を取りまとめたものである。

環境中の内分泌かく乱化学物質、いわゆる環境ホルモンによって、人や野生生物の生殖系に異常が発生しているのではないかとの懸念が提起されて以来、国の内外において精力的な研究が進められてきた。環境ホルモンの中でも、ダイオキシン類は内分泌かく乱に関連するのみならず、子宮内膜症、精子数の減少や糖尿病等との関連が示唆され、大きな関心が払われている。

ダイオキシン対策は環境行政の最重要課題の一つであり、発生抑制はごみ焼却炉の改良などにより、着実な成果を上げつつある。しかしながら、農業中の不純物由来のものも含めて過去から現在までの長期間にわたるダイオキシン排出は、ダイオキシン類による土壤汚染を引き起こす結果となった。この土壤汚染を修復する無害化対策技術の開発は、環境中の生物や人の健康を守るためには避けて通れない部分である。

国立環境研究所で従来行われてきたダイオキシン類に関する研究は、分析法開発やモニタリング、動態解明を中心とするものであったが、環境改善を目指した対策技術に関する研究の一環として、本研究が実施された。

本研究ではダイオキシン類や PCB の分解処理に関する要素技術を中心に、基礎的な研究を実施した結果、排水や土壤中等に含まれるダイオキシン類などを高効率で除去あるいは分解できる要素技術の開発に成功したと考えられる。また、ダイオキシン類以外の環境ホルモンとしてビスフェノール A を取り上げ、植物による土壤汚染の浄化機構の解明に大きな貢献をした。本研究の成果についてさまざまな評価と批判をいただき、ダイオキシン類や PCB などの難分解性有害化学物質やその他の環境ホルモンなどの対策技術開発に向けて今後の研究に役立てていきたいと考えている。

なお、本研究は民間会社をはじめ多くの研究者との協力のもとに実施したものである。ここに深く感謝申し上げるとともに、独立行政法人として出発した本研究所の研究活動に、今後ともより一層のご支援をお願いする次第である。

平成 15 年 9 月

独立行政法人 国立環境研究所
理事長 合 志 陽 一

目 次

1 研究の目的と経緯	1
1.1 研究の目的	1
1.2 研究の構成	1
2 研究の成果	3
2.1 活性炭吸着法による水中ダイオキシン類の処理技術に関する研究	3
2.1.1 処理実験の概要.....	3
2.1.2 結果.....	4
2.1.3 活性炭処理後の水中のダイオキシン類・コプラナー PCB の異性体組成	6
2.1.4 活性炭処理による水中からの除去特性.....	6
2.1.5 吸着等温線.....	9
2.1.6 まとめ.....	9
2.2 超音波照射による水中ダイオキシン類の分解	10
2.3 熱水抽出による土壌中ダイオキシン類等の処理技術開発に関する研究	12
2.3.1 抽出・除去率を左右する実験パラメータの検証.....	12
2.3.2 底質への応用.....	18
2.3.3 分解経路.....	20
2.3.4 まとめ.....	28
2.4 底質中 PCB の回収技術とカリウム - ナトリウム合金による PCB の 脱塩素化技術開発に関する研究	28
2.4.1 PCB 汚染底質からの PCB の抽出除去	28
2.4.2 カリウム - ナトリウム合金の調製と実験の概要.....	30
2.4.3 2,2',4,4',5,5'-ヘキサクロロビフェニルの脱塩素化	31
2.4.4 カネクロール 600 の脱塩素化.....	35
2.5 植物の生育による土壌中の PCB ・ダイオキシン類およびビスフェノール A の 浄化技術開発に関する研究.....	37
2.5.1 ベラドンナ毛状根による PCB の分解実験	38
2.5.2 ベラドンナ栽培による土壌中の PCB およびダイオキシン類の浄化	39
2.5.3 植物による BPA の分解実験	40
2.6 研究のまとめ	51

[資料]

研究の組織と研究課題の構成	55
1 研究の組織	55
2 研究課題と担当者	55
研究成果発表一覧	56
1 誌上発表	56
2 口頭発表	57

1 研究の目的と経緯

1.1 研究の目的

環境中の内分泌かく乱物質によって、ヒトおよび野生生物の生殖系に関する異常が危惧されている。中でもダイオキシン類は内分泌かく乱と関連して、子宮内膜症、精子数の減少、糖尿病等との関連が示唆され、内分泌かく乱物質中でも重要な物質の1つである。

ダイオキシン対策は現在、環境行政の最重要課題の1つである。ダイオキシン類の発生抑制はゴミ焼却炉の改良等により実施されつつあるが、長期間の環境排出の結果起こった、ダイオキシン類による土壤汚染等に関して、有効な無害化対策の実施は極めて困難な課題である。水圏/土壤圏にまたがるダイオキシン類汚染除去対策は、環境中の生物やヒトの健康を守るために必要なものである。ダイオキシン類は難分解性の物質であり、環境中での寿命が長いとされているため、その分解を促進し、環境中濃度の低減をはかる技術の研究が急がれている。

一方、PCBは化学的に安定でかつ電気絶縁性に優れているため、過去にはコンデンサーや変圧器の絶縁油、熱媒体、機械油、感圧紙などに多用されてきた。しかしながら、PCBの環境残留性、生物濃縮性や毒性が認められたために製造禁止となった。すでに使用されたPCBによる環境汚染は地球規模にまで拡大しており、その影響は長期にわたっている。また、最近の報告では、PCBの内分泌かく乱物質としての毒性が指摘され、極微量の汚染についても環境への悪影響が懸念されている。

本研究では、以下の5つの観点から研究に取り組む。環境水処理技術としては吸着処理法が基本であり、ダイオキシン類を含有する排水を活性炭吸着で浄化するための基礎的研究を行う。また、超音波照射による水中ダイオキシン類の分解可能性を調べる。ダイオキシン類やPCBが強い条件下で分解を受けることに着目し、土壤中のダイオキシン類を抽出分解するための新しい化学的処理法の可能性を追求する。さらに土壤などから有機塩素系化学物質を抽出分離し、脱塩素化分解する新技術の開発も検討の対象とする。土壤については、汚染土壤をそのままの状態処理する植物利用技術についての可能性を研究することは価値がある。本研究では、環境ホルモンの分解処理技術として、新技術開発の萌芽を生み出

すことを目的とする。

1.2 研究の構成

ダイオキシン類ならびに類似物質であるポリ塩化ビフェニル(PCB)は難分解性の芳香族有機塩素化合物であり、環境中に広く分布し、生物体内に蓄積濃縮する傾向があるため、環境中での濃度レベルを低下させることが発生源対策と併せて必要となっている。ダイオキシン類などの分解処理要素技術開発研究はその物理化学的性状に応じて、次のサブテーマに分けて行われた。

(1) 活性炭吸着法による水中ダイオキシン類の処理技術開発に関する研究

排水中に含有されるダイオキシン類が適切な処理を受けないで、環境中に排出されると、水域汚染を経由して水棲生物中に濃縮され、食物連鎖を通じて、最終的にヒトに重大な影響を及ぼす可能性がある。これらの危険性を防止するためには、排水中のダイオキシン類を高効率かつ低コストで除去することが不可欠である。本研究では水処理で広く利用されている活性炭による吸着除去がダイオキシン類に対してどれほど有効性をもつか、という点を中心に基礎的研究を行う。

(2) 超音波照射による水中ダイオキシン類の分解技術開発に関する研究

水中のダイオキシン類は低濃度であることが多く、活性炭で除去する方法では水中のダイオキシン類は活性炭に吸着されるが、分解されるわけではない。環境への影響を最小限にするためには、ダイオキシン類を完全分解することが望ましい。完全分解する方法のひとつとして、超音波照射による分解の基礎的研究を行う。

(3) 熱水抽出による土壤中ダイオキシン類等の処理技術開発に関する研究

土壤中のダイオキシン類は、水系への溶出や農作物等への移行の可能性を考慮した場合、早急な対策が求められている。処理される土壤の量が膨大であること、処理された土壤が再び安全な土地として利用されることを考えると、安価で地球にやさしい処理技術が求められる。本研究では、高温高圧下での水蒸気態あるいは亜臨界状

態の水で土壌中のダイオキシン類を抽出すると同時に分解を行う方法の基礎的検討を行う。

(4) 底質中 PCB の回収技術とカリウム - ナトリウム合金による PCB の脱塩素化技術開発に関する研究
PCB 汚染底質中の PCB を低コストで効率よく回収する方法として、イソプロパノールによるソックスレー抽出法を検討する。また、回収された PCB を温和な条件で安全に脱塩素化して無害化する技術のひとつとして、室温で液体であるカリウム - ナトリウム合金を使用する方法の基礎的研究を行う。

(5) 植物の生育による土壌中の PCB ・ダイオキシン類やビスフェノール A の浄化技術開発に関する研究
低濃度で広域に汚染された土壌から汚染物を除去するには、コストの点からファイトレメディエーションが望ましい技術のひとつである。植物がどの程度、有害化学物質を吸収し、代謝によって分解・無害化できるのか、という点を中心にして、土壌中のダイオキシン類およびビスフェノール A を植物の根から吸収濃縮・分解させる方法の実現可能性、有効性などを研究する。

2 研究の成果

2.1 活性炭吸着法による水中ダイオキシン類の処理技術に関する研究

ダイオキシン類で高濃度汚染した水についての応急処理等の対策技術は確立されていない。そこで応急対策技術の手法を確立し、評価・実用化するために、実験室内で異なる濃度のダイオキシン類汚染水を4種類調製し、汚染水からダイオキシン類を除くために、活性炭の粒径、量等の処理方式を4段階に変化させ、除去効率の検討を行った。

本モデル実験では、高濃度汚染水に対する応急処理技術の基礎的検討として、最も実用性の高い粉末活性炭-凝集除去によるダイオキシン類の除去特性を把握することを目的として、以下の実験を行った。

(1) 純水にダイオキシン類及びコプラナー PCB 標準溶液を各化合物として 1000 pg/l となるよう添加した原水に 0.2, 1, 10, 100 mg/l の割合でそれぞれ活性炭を投入し、凝集除去して除去特性を分析する。

(2) 凝集処理が困難なケースのモデルとして、純水に界面活性剤を添加した系において、同様の実験を行う。

2.1.1 処理実験の概要

処理実験の概要を表1に示した。2,3,7,8-置換ダイオ

キシン類全 17 異性体、およびコプラナー PCB 全 12 異性体を、OCDD および OCDF を除く各異性体が 1000 pg/l の濃度になるよう純水に添加した。なお、OCDD および OCDF は 2000 pg/l の添加濃度とした。試料は純水に添加したものおよび 0.05 % ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム水溶液に添加したもの2種類を調製し、それぞれについて同じ実験を行った。以後、前者を純水実験、後者を洗剤添加実験と呼ぶ。

この試料に対し、粉末活性炭 (Calgon Corp., WPX) をそれぞれ 0 (無添加), 0.2, 1, 10, 100 mg/l となるように4段階の添加を行い、さらに凝集剤としてポリ塩化アルミニウム (PAC) 100 mg/l および炭酸ナトリウム 20 mg/l を添加した。30分間高速かくはんを実施し、活性炭への吸着および凝集剤の混和を行った。この後に、緩速かくはんを24時間実施し、フロック形成を行った。30分間静置後、固液分離を行い、孔径 1 μm のろ紙で溶解成分及び固形分を分離し、各成分のダイオキシン類分析を行った。

(1) 溶解性成分の抽出

溶解性成分は、C₁₈ ディスクを用いて濃縮した。抽出終了後の C₁₈ ディスクは風乾し、高速溶媒抽出装置によりアセトンで3回、さらにトルエンで3回の抽出を行っ

表1 処理実験の計画

試料	標準物質添加濃度		条件	処理1	処理1添加量 活性炭mg/l	処理2	固液分離	試料	分析	¹³ C-内部標準物質添加濃度	
	Dxn濃度* pg/l	PCB濃度 pg/l								Dxn濃度 pg/l	PCB濃度 pg/l
標準液	1000	1000	純水	なし	0	PAC 100ppm	凝集沈殿	上澄み	1	100	1000
標準液	1000	1000	純水	活性炭	0.2	PAC 100ppm	凝集沈殿	上澄み	1	100	1000
標準液	1000	1000	純水	活性炭	1	PAC 100ppm	凝集沈殿	上澄み	1	100	1000
標準液	1000	1000	純水	活性炭	10	PAC 100ppm	凝集沈殿	上澄み	1	100	1000
標準液	1000	1000	純水	活性炭	100	PAC 100ppm	凝集沈殿	上澄み	1	100	1000
標準液	1000	1000	洗剤 0.05%	なし	0	PAC 100ppm	凝集沈殿	上澄み	1	100	1000
標準液	1000	1000	洗剤 0.05%	活性炭	0.2	PAC 100ppm	凝集沈殿	上澄み	1	100	1000
標準液	1000	1000	洗剤 0.05%	活性炭	1	PAC 100ppm	凝集沈殿	上澄み	1	100	1000
標準液	1000	1000	洗剤 0.05%	活性炭	10	PAC 100ppm	凝集沈殿	上澄み	1	100	1000
標準液	1000	1000	洗剤 0.05%	活性炭	100	PAC 100ppm	凝集沈殿	上澄み	1	100	1000
	0	0	洗剤 0.05%	なし	0	PAC 100ppm	凝集沈殿	上澄み	1	100	1000
								沈殿物	ナシ		

*¹²C-OCDD/DFは2000pgを添加

た。抽出液を合わせ、分析用粗抽出液とした。

(2) 固形物の抽出

固形物は、活性炭が混合した固形物であり、ダイオキシン類が一般に強く活性炭に吸着することから抽出は困難であることが予想された。本モデル実験では、予備的検討の上、高速溶媒抽出装置により、アセトンで3回、さらにトルエンで3回の抽出を行った。ただし、溶解性成分とは異なり、より高温・高圧かつ長時間の抽出によって、活性炭からの抽出に対応することとした。抽出液を合わせて、分析用粗抽出液とした。

(3) 分析手順

分析は、多層シリカゲルおよび活性炭分散シリカゲルによる前処理を行った。最終濃縮液中のダイオキシン類はBPX-5カラムにより、コプラナーPCBはHT-8カラムを用いた高分解能GC/MSにより分析した。質量分解能は10,000以上、分析条件等はJIS公定法に準拠した。

分析結果は、溶解成分・固形物とも、水試料の単位体積あたり濃度として、pg/l等の単位で表示した。

本実験は、10 l程度の試料量によって行われたために、各異性体の検出限界は0.1 pg/l程度であった。

2.1.2 結果

純水実験の分析結果を表2に、洗剤添加実験の分析結果を表3に示した。

表2, 3より、初期添加量1000 pg/l(前述のようにOCDD/Fのみ2000 pg/l)に対し、活性炭を混和しないPACのみの凝集処理(表2, 3の0 mg/lの列)においては、固形物中濃度は1000 pg/lに対してほとんど無視できるレベルであり、活性炭を添加しない場合、凝集のみによってはほとんど固形物へのダイオキシン類・コプラナーPCBの吸着が起らないことは明らかである。この傾向は、純水及び洗剤添加いずれの系でもほとんど差はなかった。水中濃度はほぼ添加量に相当しており、このことから、実験の管理が十分な精度で行われ、実験中の損失等は無視できる程度であったと考えられる。

活性炭を混和した系(表2, 3の0.2 ~ 100 mg/lの列)では水中のダイオキシン類・コプラナーPCBともほとんど除去され、活性炭混和凝集処理によって、水中からの除去が可能となることが明らかになった。なお、活性炭を混和した系においても、濃度段階ごとに固形物濃度と水中濃度の和はほぼ添加量に等しく、実試料において活性炭からのダイオキシン類の回収が十分に行われたことが分かる。

活性炭0.2 mg/lの添加によって、大部分のダイオキシン類・PCB類とも除去され、さらに1 mg/l以上の添加によって痕跡量を残して活性炭への吸着が行われることが表2, 3から明らかである。すなわち、粉末活性炭処理によって、水中のダイオキシン類は非常に効果的に除去されることが示された。

表2の1 純水実験の結果(1)

活性炭添加量 濃度 pg/l	0mg/l		0.2mg/l		1mg/l		10mg/l		100mg/l	
	固形物濃度 活 0mg	水中濃度 水	固形物濃度 活 0.2mg	水中濃度 水	固形物濃度 活 1mg	水中濃度 水	固形物濃度 活 10mg	水中濃度 水	固形物濃度 活 100mg	水中濃度 水
2378-TCDD	1.3	885.3	915.0	2.8	1035.7	1.4	950.2	0.9	887.8	0.9
12378-PCDD	1.2	1064.3	811.8	2.7	821.0	1.4	868.0	0.5	962.2	0.8
123478-HxCDD	1.6	993.4	845.4	3.7	1094.5	1.4	1309.3	1.0	1186.6	0.0
123678-HxCDD	1.8	973.9	868.6	4.4	1047.9	2.4	956.7	1.0	960.7	0.0
123789-HxCDD	2.0	861.2	737.8	5.4	720.8	3.2	738.2	1.2	748.0	0.0
1234678-HpCDD	2.6	863.8	874.6	6.3	1292.9	4.2	932.0	3.3	1146.1	2.0
12346789-OCDD	6.2	1555.9	1582.7	17.7	2355.5	21.3	1529.3	13.4	1759.3	13.1
2378-TCDF	1.3	1017.8	1048.3	2.8	1099.9	1.2	1083.4	1.0	1186.2	0.7
12378-PCDF	1.4	969.4	907.3	3.3	1083.1	1.6	977.9	0.8	1129.2	0.8
23478-PCDF	1.4	903.5	892.4	2.6	983.9	1.2	987.8	0.6	945.9	0.5
123478-HxCDF	1.5	1074.5	955.7	3.3	937.0	2.2	886.7	0.9	1090.9	0.6
123678-HxCDF	1.5	928.1	915.1	3.2	905.1	1.8	1055.8	1.6	1064.4	0.7
123789-HxCDF	2.2	1164.4	922.6	6.6	1489.3	3.7	954.5	1.9	932.6	1.1
234678-HxCDF	1.9	1046.7	1206.0	4.4	1021.1	3.0	1128.2	1.1	1041.7	0.6
1234678-HpCDF	2.2	1002.2	1097.4	6.0	971.7	5.3	1146.4	2.6	912.4	2.5
1234789-HpCDF	2.8	1144.5	819.9	7.7	1251.8	4.8	1004.7	3.8	946.9	2.3
12346789-OCDF	6.3	1997.8	2319.9	16.9	1960.3	26.0	1860.9	6.7	1854.3	10.5
Total 2378-PCDDs	16.7	7197.7	6636.0	43.1	8368.2	35.3	7283.7	21.3	7650.6	16.9
Total 2378-PCDFs	22.6	11248.8	11084.7	56.8	11703.2	50.9	11086.3	20.9	11104.6	20.4
Total 2378-DFs	39.3	18446.5	17720.6	99.8	20071.4	86.2	18370.1	42.2	18755.2	37.3
TEQ-DF	4.7	3286.2	2996.7	10.6	3270.0	5.5	3203.5	2.8	3230.9	2.5

(すべてpg/l)

表 2 の 2 純水実験の結果 (2)

活性炭添加量 濃度 pg/l	0mg/l		0.2mg/l		1mg/l		10mg/l		100mg/l	
	固形物濃度 水中濃度		固形物濃度 水中濃度		固形物濃度 水中濃度		固形物濃度 水中濃度		固形物濃度 水中濃度	
	活 0mg	水	活 0.2mg	水	活 1mg	水	活 10mg	水	活 100mg	水
3,4,4',5(81)	0.0	940.7	847.1	15.4	908.5	0.0	912.1	0.0	872.3	1.1
3,3',4,4'(77)	0.7	1012.3	839.5	15.4	920.9	0.0	915.9	0.0	910.6	1.3
2',3,4,4',5(123)	20.3	933.9	818.3	11.6	911.1	16.8	902.6	18.2	889.9	16.7
2,3',4,4',5(118)	18.6	924.9	835.5	27.5	912.2	16.0	925.8	16.7	934.2	15.6
2,3,4,4',5(114)	0.8	872.4	784.6	9.4	799.8	1.3	852.7	0.8	849.4	1.3
2,3,3',4,4'(105)	5.1	965.0	867.2	16.3	922.5	4.1	923.4	4.8	931.1	4.7
3,3',4,4',5(126)	0.0	985.1	818.8	15.6	862.0	0.0	909.5	0.0	939.3	1.4
2,3',4,4',5,5'(167)	1.3	975.6	887.8	12.3	941.6	0.0	947.9	0.0	890.6	2.3
2,3,3',4,4',5(156)	2.6	991.0	929.5	15.9	887.2	4.1	897.8	3.4	919.9	3.4
2,3,3',4,4',5(157)	2.6	952.3	900.0	11.8	868.7	4.2	895.8	3.3	903.4	1.2
3,3',4,4',5,5'(169)	0.0	1045.7	897.2	11.6	910.5	0.0	912.0	0.0	908.6	0.0
2,3,3',4,4',5,5'(189)	0.0	982.3	847.3	12.7	961.2	0.0	921.0	0.0	923.4	0.0
sum-CoPCBs	51.9	11581.0	10272.8	175.6	10806.2	46.4	10916.5	47.2	10872.7	49.0
TEQ-CoPCBs	0.007	110.960	92.670	1.710	97.143	0.008	101.956	0.008	104.903	0.151

(すべてpg/l)

表 3 の 1 洗剤添加実験の結果 (1)

活性炭添加量 濃度 pg/l	0mg/l		0.2mg/l		1mg/l		10mg/l		100mg/l	
	固形物濃度 水中濃度		固形物濃度 水中濃度		固形物濃度 水中濃度		固形物濃度 水中濃度		固形物濃度 水中濃度	
	活 0mg	水	活 0.2mg	水	活 1mg	水	活 10mg	水	活 100mg	水
2378-TCDD	1.4	935.3	553.3	9.8	896.2	1.4	934.4	1.2	986.9	0.8
12378-PCDD	1.8	863.0	483.7	9.2	1021.0	2.0	1022.5	1.2	894.7	1.0
123478-HxCDD	2.6	1057.7	535.0	10.2	994.8	2.2	1070.2	1.4	834.4	0.8
123678-HxCDD	2.5	1204.2	606.4	11.3	882.1	2.3	844.8	1.0	887.0	0.8
123789-HxCDD	3.3	655.7	602.9	14.5	925.3	2.5	821.9	1.9	772.7	0.0
1234678-HpCDD	4.1	896.7	482.9	14.7	1205.0	5.6	812.5	3.9	827.9	0.0
12346789-OCDD	8.6	1747.9	1092.3	36.8	1839.7	17.3	2234.2	16.9	1729.1	11.3
2378-TCDF	1.7	1060.1	574.3	8.4	1106.9	1.7	1065.6	1.0	1059.3	0.8
12378-PCDF	1.8	897.5	696.3	9.0	875.3	2.3	987.1	1.3	996.9	0.9
23478-PCDF	2.4	972.5	529.1	8.0	965.4	1.7	1003.6	1.2	1007.1	0.6
123478-HxCDF	2.6	846.2	533.5	9.3	1109.1	2.4	1010.5	1.6	775.3	0.7
123678-HxCDF	2.7	952.4	590.4	10.1	1106.0	2.4	964.6	1.3	880.0	1.2
123789-HxCDF	3.2	1050.3	669.4	15.8	1127.3	4.3	975.7	2.1	898.2	1.3
234678-HxCDF	3.4	1160.9	550.0	9.5	1085.6	2.7	860.3	0.7	1008.8	1.0
1234678-HpCDF	3.6	1009.9	535.9	11.2	1106.2	4.0	1139.4	4.1	986.6	2.3
1234789-HpCDF	4.5	999.7	509.1	17.4	1019.0	5.8	1006.0	2.8	711.0	1.6
12346789-OCDF	10.8	1906.8	1150.6	39.8	1642.7	12.5	1905.6	20.0	1666.2	10.2
Toal 2378-PCDDs	24.4	7360.4	4356.5	106.5	7764.2	33.3	7740.7	27.4	6932.8	14.7
Toal 2378-PCDFs	36.7	10856.3	6338.4	138.4	11143.5	39.7	10918.3	35.9	9989.4	20.8
Toal 2378-DFs	61.1	18216.8	10694.9	244.9	18907.7	73.1	18659.0	63.3	16922.2	35.5
TEQ-DF	6.9	3157.6	1818.0	32.8	3311.1	6.6	3299.4	4.2	3172.1	2.9

(すべてpg/l)

表 3 の 2 洗剤添加実験の結果 (2)

活性炭添加量 濃度 pg/l	0mg/l		0.2mg/l		1mg/l		10mg/l		100mg/l	
	固形物濃度 水中濃度		固形物濃度 水中濃度		固形物濃度 水中濃度		固形物濃度 水中濃度		固形物濃度 水中濃度	
	活 0mg	水	活 0.2mg	水	活 1mg	水	活 10mg	水	活 100mg	水
3,4,4',5(81)	0.6	924.8	803.7	27.5	903.0	0.0	907.9	0.0	895.8	0.0
3,3',4,4'(77)	0.0	942.3	835.7	30.5	941.5	0.9	909.9	1.2	900.9	0.0
2',3,4,4',5(123)	17.0	881.5	794.7	30.7	916.9	18.2	890.1	18.8	895.9	17.5
2,3',4,4',5(118)	15.7	904.4	829.1	47.1	906.5	16.7	912.4	18.2	944.4	16.3
2,3,4,4',5(114)	0.0	824.1	757.9	28.0	808.5	1.1	853.7	0.5	808.4	0.6
2,3,3',4,4'(105)	4.7	942.8	830.8	36.6	942.3	4.1	914.9	4.6	950.1	5.1
3,3',4,4',5(126)	0.0	917.4	844.5	29.8	775.8	0.0	994.1	0.0	1011.6	0.0
2,3',4,4',5,5'(167)	1.0	928.9	913.9	33.9	893.6	2.6	906.2	1.7	879.5	0.0
2,3,3',4,4',5(156)	3.8	919.1	860.8	33.2	894.9	3.0	906.4	1.5	887.3	3.0
2,3,3',4,4',5(157)	3.8	920.5	795.7	29.5	871.6	2.1	881.0	1.3	847.3	3.0
3,3',4,4',5,5'(169)	0.0	919.6	829.9	28.5	978.2	0.0	903.9	0.0	911.9	0.0
2,3,3',4,4',5,5'(189)	0.0	935.7	827.8	30.4	910.3	0.0	894.7	0.0	925.0	0.0
sum-CoPCBs	46.6	10961.1	9924.6	385.6	10743.3	48.6	10875.1	47.9	10858.0	45.4
TEQ-CoPCBs	0.0	102.8	94.5	3.3	89.2	0.0	110.3	0.0	112.1	0.0

(すべてpg/l)

2.1.3 活性炭処理後の水中のダイオキシン類・コプラナー PCB の異性体組成

図1, 2に純水実験における活性炭処理後の固形物濃度・水中濃度のダイオキシン類・コプラナー PCB の異性体組成を示す。図では、添加濃度を1とする比率で表示した。

図3, 4には、同様に、洗剤添加実験における活性炭処理後の異性体組成を表示した。

図より、特に高塩素化ダイオキシン類が相対的に水中に多く残留する傾向が観察された。活性炭による単純な物理化学的な処理によって、疎水性の強い高塩素化物が水中に残留しやすい傾向を示した現象は活性炭の細孔径等との関連があるものと思われるが、詳細な論理的解析

は今後の課題である。

また、コプラナー PCB のうちでは、特に #123, #118 が残留する傾向が見られた。定量下限に近いレベルでの分析であるため、ブランク由来の結果であるかどうか、さらに今後の検討を踏まえた上で判断する必要があるが、現時点では興味を引く特徴である。

2.1.4 活性炭処理による水中からの除去特性

図5, 6に純水実験における活性炭処理による水中からのダイオキシン類・コプラナー PCB の除去特性を、図7, 8に洗剤添加実験における除去特性を添加量に対する両対数でプロットした結果を示す。

図5, 7より、ダイオキシン類については、純水実

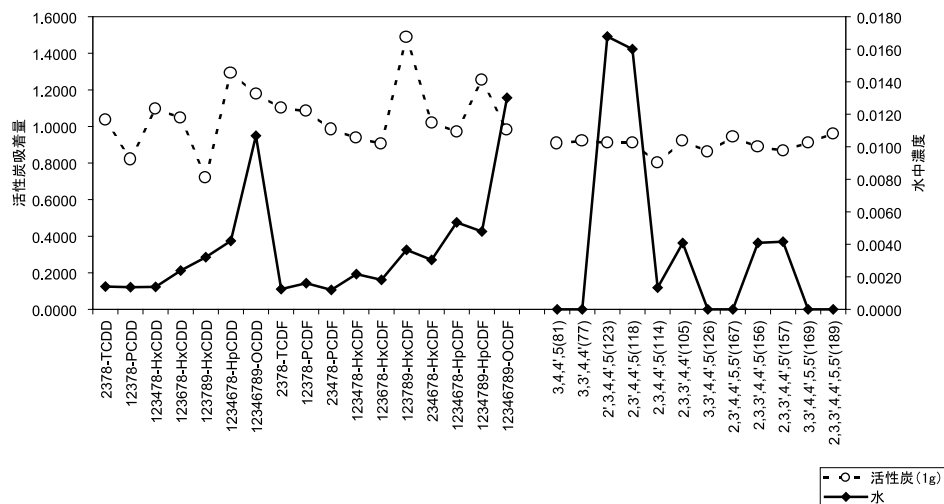


図1 活性炭 1 mg/l 添加時の異性体組成 (投入を1とした比率)

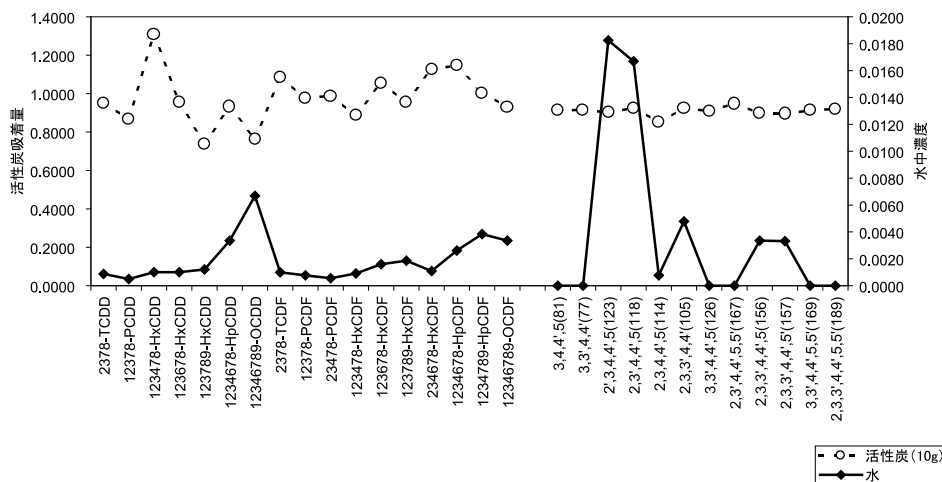


図2 活性炭 10mg/l 添加時の異性体組成 (投入を1とした比率)

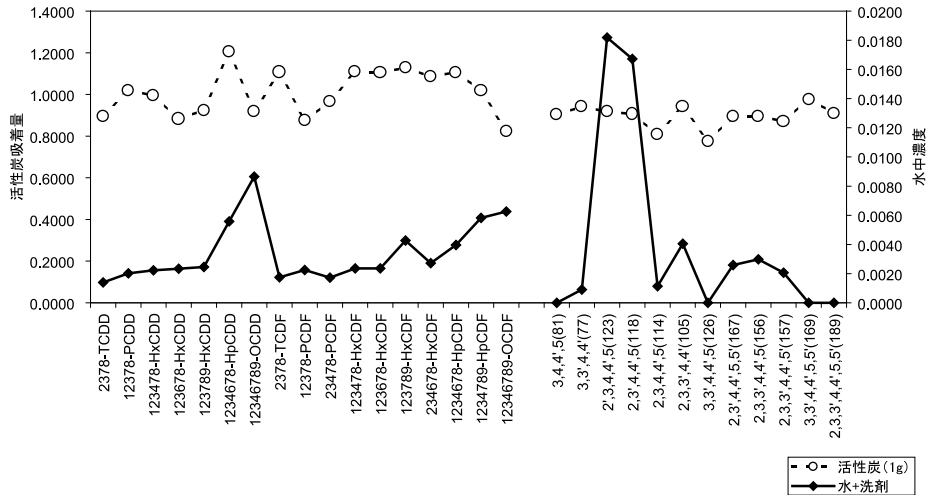


図3 活性炭 1mg/l 添加時の異性体組成 (投入を1とした比率)

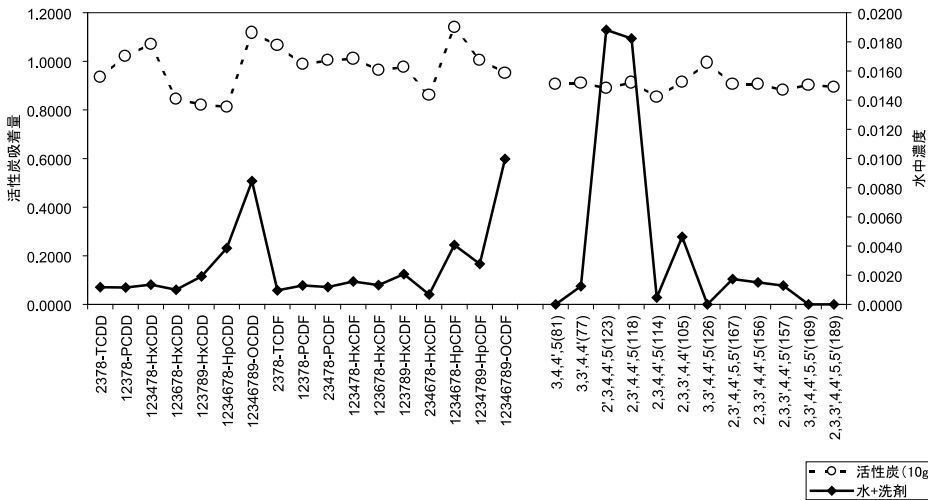


図4 活性炭 10mg/l 添加時の異性体組成 (投入を1とした比率)

験・洗剤添加実験とも、両対数上でほぼ直線的な除去特性が得られた。回帰係数より、実数ベースでの活性炭添加量と水中濃度の関係を求めることができる。

Ac を活性炭添加量 (mg/l), C を活性炭処理後の水中濃度 (pg/l) として

純水実験 :

PCDDs:

$$C = 1.5257Ac^{-0.1582}$$

PCDFs:

$$C = 1.6319Ac^{-0.1899}$$

PCDD/Fs:

$$C = 1.8841Ac^{-0.1757}$$

PCDD/Fs-TEQ:

$$C = 0.7866Ac^{-0.2345}$$

洗剤添加実験 :

PCDDs:

$$C = 1.7026Ac^{-0.2844}$$

PCDFs:

$$C = 1.8066Ac^{-0.2666}$$

PCDD/Fs:

$$C = 2.0589Ac^{-0.2743}$$

PCDD/Fs-TEQ:

$$C = 1.0597Ac^{-0.3569}$$

これより、例えば、処理水濃度 10 pg/l を達成するために必要な活性炭投入量を試算することができる。

純水の場合 :

$$10 = 0.7866Ac^{-0.2345}$$

$$Ac = 0.12(\text{mg/l})$$

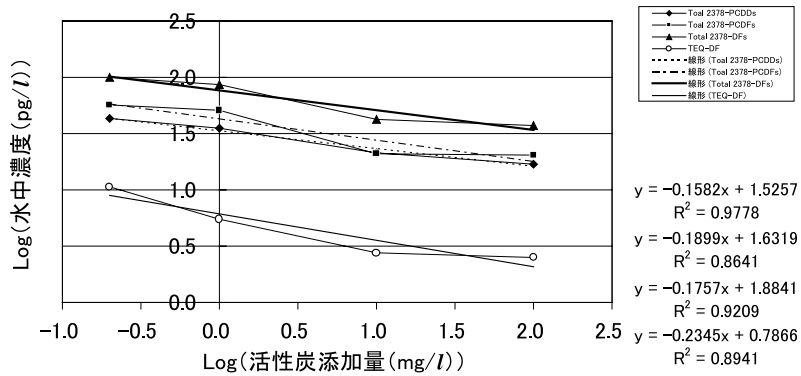


図5 PCDD/Fs の除去特性 (純水)

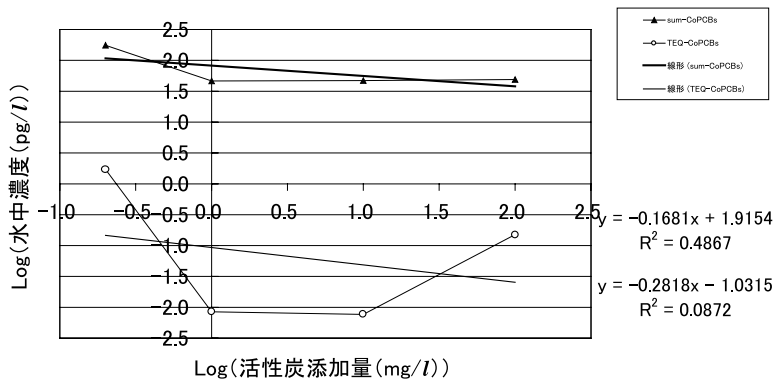


図6 Co-PCBs の除去特性 (純水)

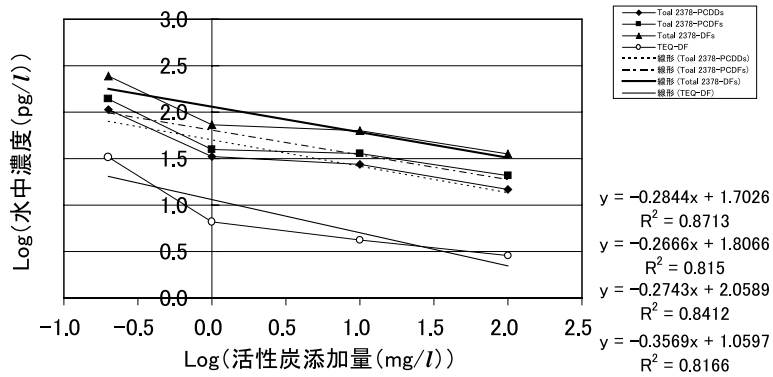


図7 PCDD/Fs の除去特性 (洗剤添加実験)

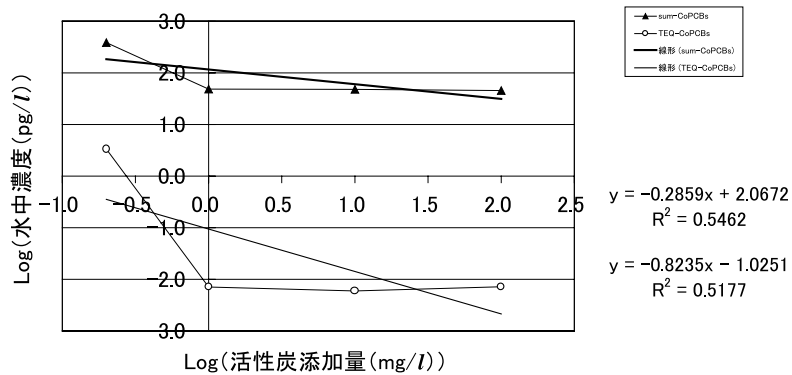


図8 Co-PCBs の除去特性 (洗剤添加実験)

洗剤添加 (0.05 % SDS) の場合 :

$$10 = 1.0597Ac^{-0.3569}$$

$$Ac = 1.5(mg/l)$$

吸着を阻害する試薬の存在により、活性炭添加量が10倍程度に増加することが推測された。

なお、コプラナー PCB については、おそらくは分析誤差が大きいため、良好な直線的な関係を得ることができなかった。今後コプラナー PCB の吸着特性についての検討を行う必要がある。

2.1.5 吸着等温線

Freundlich の等温吸着線は、次式によって表される。

$$q = aC^{1/n}$$

等温吸着線を求めるため、吸着量と平衡濃度（最終の水中濃度で代用）を両対数でプロットしたものを図9、10（純水）、図11、12（洗剤添加実験）に示す。吸着線は PCDDs, PCDFs, Total DFs および TEQ-DF, ま

た、Total Co-PCBs および TEQ-PCBs について作成した。

ダイオキシン類については、ほぼ直線的な吸着線が得られた。

これまでの結果と同様、 $1/n$ の値には、純水と洗剤添加で明らかな違いがあり、吸着特性への界面活性剤からの影響が明らかである。

一方、コプラナー PCBs については、良好な直線性を得ることができず、これが化合物の特性によるのか、分析誤差等によるものであるのかは不明である。

2.1.6 まとめ

粉末活性炭添加 - 凝集除去による水中からのダイオキシン類除去の基礎的な検討を実施した。基本的な除去特性、および界面活性剤存在時の除去特性への影響について重要な知見を得た。なお、上記研究報告は環境省委託業務「平成13年度ダイオキシン類水域汚染応急対策技術調査」で行われた研究成果をまとめたものである。

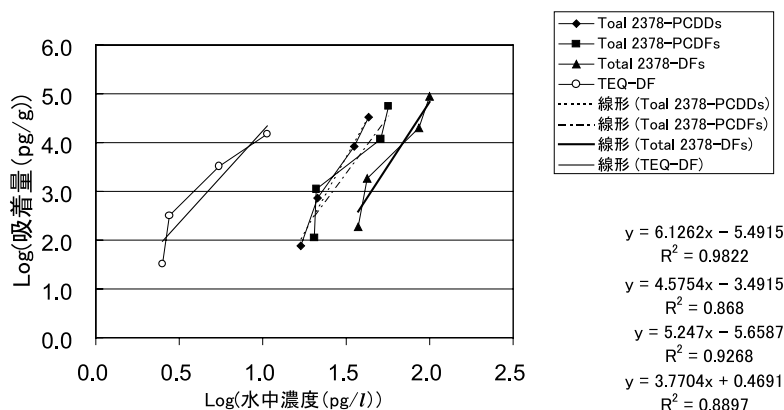


図9 PCDD/Fs の吸着線（純水）

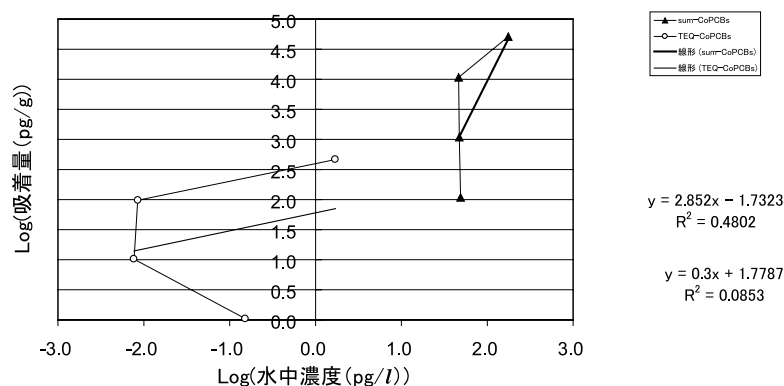


図10 Co-PCBs の吸着線（純水）

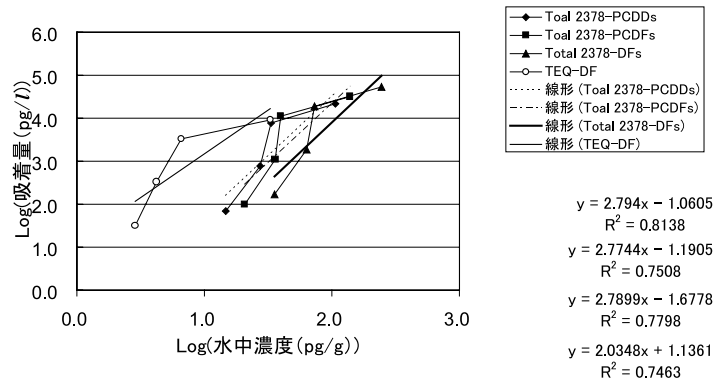


図 11 PCDD/Fs の吸着線 (洗剤添加実験)

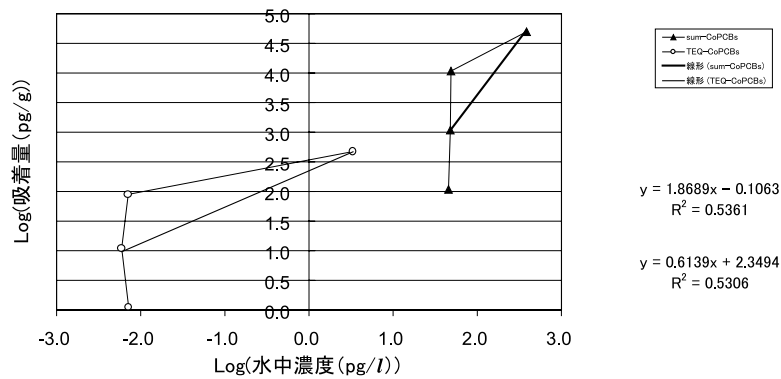


図 12 Co-PCBs の吸着線 (洗剤添加実験)

表 4 超音波照射実験の材料と照射時間

実験番号	材料の内容	照射時間
1	2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ- <i>p</i> -ジオキシン水溶液 (500 ml)	480分
2	同上	1020分
3	同上	1440分
4	同上	2040分
5	同上	2880分
6	焼却飛灰 (10 g) と純水 (400 ml) の懸濁液	3705分
7	同上	4012分
8	同上	3825分
9	同上	4430分
10	同上	3820分
11	同上	3810分

2.2 超音波照射による水中ダイオキシン類の分解

周波数の高い超音波は水中の有機物を酸化分解することが知られており、ダイオキシン類の分解への利用の可能性を調べた。使用した超音波の周波数は200kHzで、実験条件を表4に示した。超音波照射の効果をはっきりと確認するために、2,3,7,8-TeCDD水溶液(900 ng/l濃度)を実験に使用した。また、焼却飛灰は0.71 mm角の篩を通したものをよくかくはん混合して用いた。超音波を照射する前のものをそれぞれのコントロール試料とした。コントロール試料中のダイオキシン類の含有量を

表5に示した。試料をガラス容器(1リットル)に入れ、超音波発振機上にこのガラス容器をセットして、所定時間まで超音波を照射した。超音波照射後の試料中のダイオキシン類濃度を測定した結果を図13と図14に示した。水試料については、分解速度は小さいが時間とともに一次関数的に濃度が減少していることが確認された。照射時間(X時間)と2,3,7,8-TeCDD濃度(Y ng/l)の関係は次式で表現される。

$$Y = -6.78X + 901$$

この式によれば、本実験で用いた水溶液中のダイオキシ

表 5 超音波照射前の試料中のダイオキシン類濃度

同族体	試料中濃度 (濃度単位)	
	水溶液 (ng/l)	焼却飛灰 (ng/g)
モノクロロジベンゾ- <i>p</i> -ジオキシン (MoCDD)	0.00	0.102
ジクロロジベンゾ- <i>p</i> -ジオキシン (DiCDD)	0.00	0.368
トリクロロジベンゾ- <i>p</i> -ジオキシン (TrCDD)	0.24	0.738
テトラクロロジベンゾ- <i>p</i> -ジオキシン (TeCDD)	927	3.84
ペンタクロロジベンゾ- <i>p</i> -ジオキシン (PeCDD)	11.2	15.4
ヘキサクロロジベンゾ- <i>p</i> -ジオキシン (HxCDD)	11.9	44.3
ヘプタクロロジベンゾ- <i>p</i> -ジオキシン (HpCDD)	1.64	56.3
オクタクロロジベンゾ- <i>p</i> -ジオキシン (OCDD)	0.78	52.1
モノクロロジベンゾフラン (MoCDF)	—	1.20
ジクロロジベンゾフラン (DiCDF)	—	2.18
トリクロロジベンゾフラン (TrCDF)	—	4.49
テトラクロロジベンゾフラン (TeCDF)	—	101
ペンタクロロジベンゾフラン (PeCDF)	—	23.3
ヘキサクロロジベンゾフラン (HxCDF)	—	37.7
ヘプタクロロジベンゾフラン (HpCDF)	—	36.5
オクタクロロジベンゾフラン (OCDF)	—	10.3

— ; 測定していない

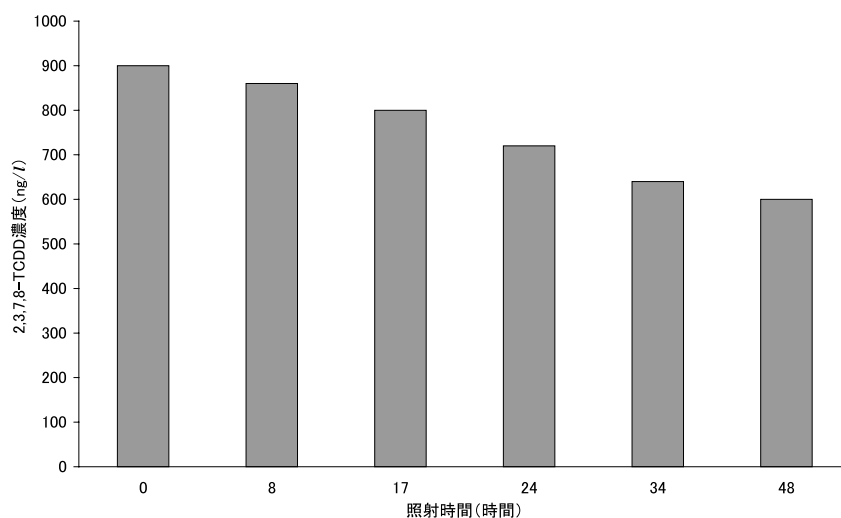


図 13 超音波照射による 2,3,7,8-TCDD の分解

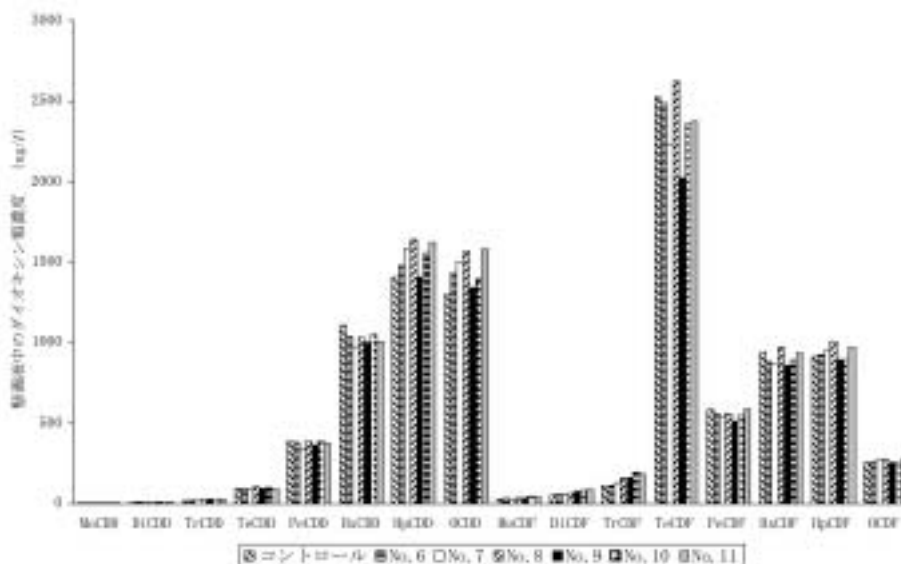


図 14 超音波照射による焼却灰 / 水けんだく液中ダイオキシン類の分解

ン類が分解してしまうまでの時間は133時間(5.5日)になる。また、超音波照射による分解はダイオキシン類の消滅であり、脱塩素による低塩素化ダイオキシンへの移行ではないことも明らかになった。

一方、焼却飛灰を懸濁させた水試料については、図14からも明らかのように、ダイオキシン類はほとんどが分解されなかった。焼却飛灰中のダイオキシン類は水と接触していても、超音波では分解されないことが判明した。

結論として、溶存ダイオキシン類は超音波照射で分解されるが、分解速度はきわめて遅いことが分かった。超音波の出力を上げるなどの工夫をすることによって分解速度を上げることが今後の課題である。

2.3 熱水抽出による土壤中ダイオキシン類等の処理技術開発に関する研究

内分泌かく乱化学物質などの有害化学物質によって汚染された土壌を浄化する技術の一つとして、熱水を用いる方法について検討した。検討した方法は、水熱反応を利用したもので、水蒸気態から亜臨界状態の水を汚染された土壌試料に通じることによって汚染物質を除去しようというものである。この方法では、超臨界水酸化法で使用される高温高压条件を必要とせず、消費エネルギー、コスト面で有利であると期待できる。また、有害な添加物等を加えない「水のみによる環境にやさしい処理」を特徴とする。

2.3.1 抽出・除去率を左右する実験パラメータの検証

実験パラメータとして温度、圧力、時間を変え、土壌からのダイオキシン類の抽出・除去率を測定し、実験パラメータとの関係について検討した。

実験に用いた土壌試料は、つくば市内の草地表層土を乾燥、粉碎後、孔径0.1mmのふるいを通し、均一になるように混合したものである。土壌の化学成分及びダイオキシン類濃度を表6、7に示す。水は、水道水を蒸留後、MilliQ TOC SP(ミリポア社製)でイオン交換した(電気伝導度: 18.3 M, TOC濃度: 5 ppb以下)ものを使用した。実験には、日本分光社製の超臨界水装置SCW-を改造したものを使用した。装置の構成を図15に示す。内容積50mlのセルは、耐腐食性の高いハステロイ製で、金シーリングを施したものをを用いた。このセルに試料を充填し、各種条件で水を通し、時間を

表6 土壌試料の化学成分

種類	表層土壌		
水分 (%)	15.3		
粒径分布 (mm)	0.01<0.1	85.54%	
	0.001<0.01	14.46%	
	<0.001	0	
元素組成 (wt%)	CHN分析及び蛍光X線による半定量値		
C	6.78	P	0.275
H	3.07	S	0.254
N	0.47	Mn	0.138
O	3.34	Sr	0.062
Si	19.9	Cl	0.024
Al	23.2	Rb	0.018
Fe	7.90	Zn	0.014
K	1.52	Cu	0.014
Ca	1.35	Br	0.010
Na	0.358	Zr	0.009
Mg	0.487	Ni	0.006

表7 土壌試料中のダイオキシン類濃度

ダイオキシン類濃度(pg/g dry)			
2378- TCDD	2.6	3,3',4,4'-TeCB (77)	31
12378- PeCDD	28	3,4,4',5'-TeCB (81)	2.9
123478- HxCDD	42	3,3',4,4',5'-PeCB (126)	14
123678- HxCDD	78	3,3',4,4',5,5'-HxCB (169)	6.8
123789- HxCDD	115	2,3,3',4,4'-PeCB (105)	62
1234678- HpCDD	1306	2,3,4,4',5'-PeCB (114)	6.9
OCDD	23000	2,3',4,4',5'-PeCB (118)	91
2378- TCDF	0.90	2',3,4,4',5'-PeCB (123)	5.8
12378- PeCDF	6.6	2,3,3',4,4',5'-HxCB (156)	28
23478- PeCDF	6.8	2,3,3',4,4',5'-HxCB (157)	13
123478- HxCDF	31	2,3',4,4',5,5'-HxCB (167)	16
123678- HxCDF	28	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)	8.4
123789- HxCDF	9.1	2,2',3,3',4,4',5'-HpCB (170)	0.58
234678- HxCDF	34	2,2',3,4,4',5,5'-HpCB (180)	1.0
1234678- HpCDF	248		
1234789- HpCDF	<0.1		
OCDF	995		
TCDDs	87	PCDDs	26614
PeCDDs	157	PCDFs	2425
HxCDDs	836	Co-PCBs	288
HpCDDs	2534	total	29326
TCDFs	107	TEQ(PCDD)	70
PeCDFs	184	TEQ(PCDF)	18
HxCDFs	516	TEQ(Co-PCB)	1.5
HpCDFs	622	TEQ(total)	89

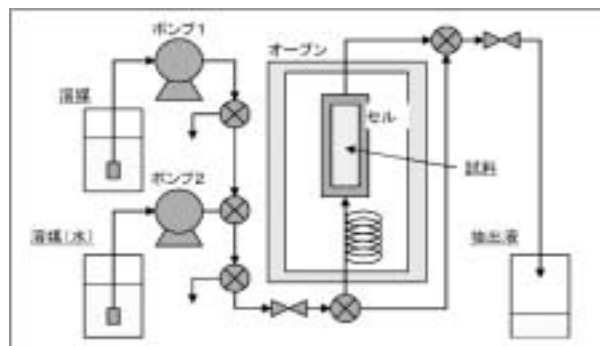


図15 熱水抽出装置の模式図

区切って回収した抽出液中のダイオキシン類を測定した。また、実験後の抽出残渣は、高速溶媒抽出（ASE）によりアセトンで抽出を行い、その抽出液中のダイオキシン類も測定した。

測定の対象は、四～八塩素置換のポリクロロジベンゾパラジオキシン（polychlorodibenzo-*p*-dioxin; PCDD）、ポリクロロジベンゾフラン（polychlorodibenzofuran; PCDF）の全異性体及び表 8 に示す 14 種類のコプラナー PCB とした。そのほかに、抽出水溶液については TOC を、抽出前試料及び抽出残渣では、CHN と元素を測定した。

表 9 に示すように、温度を 25（室温）、150、300、350 に、圧力を 0、5、25 MPa にそれぞれ設定し、抽出時間を 30～240 分に変えて実験を行った。

表 8 測定したコプラナー PCB の種類

名称	IUPAC番号
ノンオルトPCB	
3,4,4',5-tetrachlorobiphenyl	81
3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl	77
3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl	126
3,3',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl	169
モノオルトPCB	
2,3,3',4,4'-pentachlorobiphenyl	105
2,3,4,4',5-pentachlorobiphenyl	114
2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl	118
2',3,4,4',5-pentachlorobiphenyl	123
2,3,3',4,4',5-hexachlorobiphenyl	156
2,3,3',4,4',5-hexachlorobiphenyl	157
2,3',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl	167
2,3,3',4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl	189
ジオルトPCB	
2,2',3,3',4,4',5-heptachlorobiphenyl	170
2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl	180

表 9 実験条件（1）

試料の種類	温度(°C)	圧力(MPa)	水抽出(時間:分)			
			①	②	③	④
表層土壌	-	-	-	-	-	-
	25	<0.2	0-120	120-240	-	-
	300	5	0-30	30-60	-	-
	300	25	0-30	30-60	-	-
	350	<0.2	0-120	120-240	-	-
	300	<0.2	0-30	30-60	60-120	120-240
	300	<0.2	0-30	-	-	-
	150	<0.2	0-30	30-60	60-120	120-240
	150	<0.2	0-30	-	-	-

（1）温度

加圧しない状態で、温度を 25（室温）、150、300、350 に設定して実験を行った。抽出前のダイオキシン類の合計濃度を 100%とした時の抽出残渣中の濃度比を図 16 に示した。室温の水で抽出を行った場合には、残渣中の濃度は、ほとんど変化しておらず、ダイオキシン

類の除去に全く効果がみられない。しかし、温度条件が高くなると、それに反比例するように残渣中のダイオキシン類濃度は低くなっていき、抽出温度は土壤からのダイオキシン類の除去を左右する重要なパラメータであることが分かった。特にその効果は、PCDD において顕著であった。このときのダイオキシン類の残存率を表 10 に示す。150 では、約半分のダイオキシン類が土壤から除去されており、350 では、99.3%が除去されたことになる。室温および 150 では、PCDFs や Co-PCBs の除去率は低く、300、350 では高率で除去されていることが分かる。350 では PCDDs : 99.4%、PCDFs : 98.2%、Co-PCBs : 89%が土壤より除かれた。

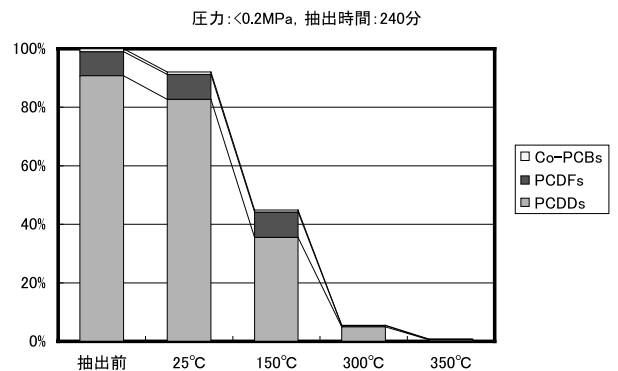


図 16 温度による抽出前後の土壤中ダイオキシン類相対濃度の変化
抽出前土壤濃度を 100 として表示

表 10 ダイオキシン類の残存率

	抽出前	25°C	150°C	300°C	350°C
PCDDs	100%	88%	39%	5.5%	0.61%
		0.028%	0.0068%	19%	6.6%
PCDFs	100%	145%	105%	5.4%	1.8%
		0.050%	0.021%	31%	17%
Co-PCBs	100%	134%	70%	7.7%	11%
		22%	6.1%	74%	106%
全体	100%	92%	45%	5.5%	0.7%
		0.16%	0.068%	20%	7.7%

洗浄前土壤中化合物濃度を100とした場合の相対値

圧力 : < 0.2 MPa, 抽出時間 : 240 分

上段は土壌, 下段は抽出水

土壤より除かれた部分の行方を確認するため、抽出水中のダイオキシン類も測定した。その結果を図 17 に示す。室温及び 150 の場合では、抽出水中からダイオキシン類はほとんど検出されなかった。300 以上でも、抽出水から検出された相対濃度は、抽出前土壌の 20% 以下しかなく、抽出後の土壌から検出されたものを合わせても 100%にはならなかった（図 18）。

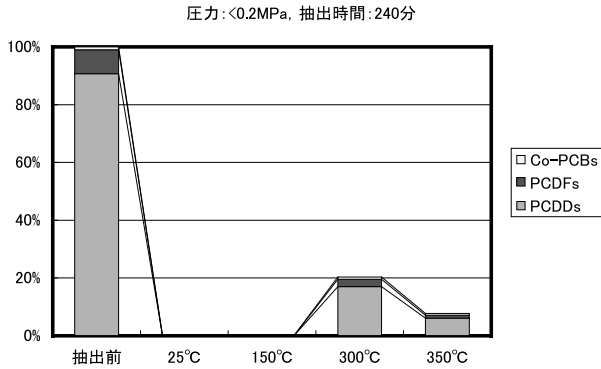


図 17 温度による抽出液中ダイオキシン類相対濃度の変化
抽出前土壌濃度を 100 として表示
洗浄水濃度は土壌濃度に換算

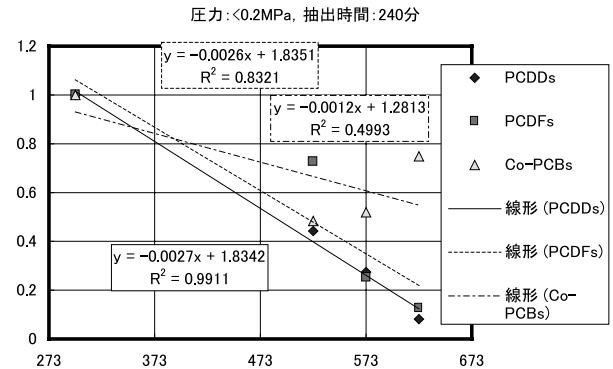


図 19 温度と残存ダイオキシン類濃度との関係
残存濃度：抽出後土壌及び抽出液中の合計
25 (298 K) の残存濃度を 1 として表示
洗浄水濃度は土壌濃度に換算

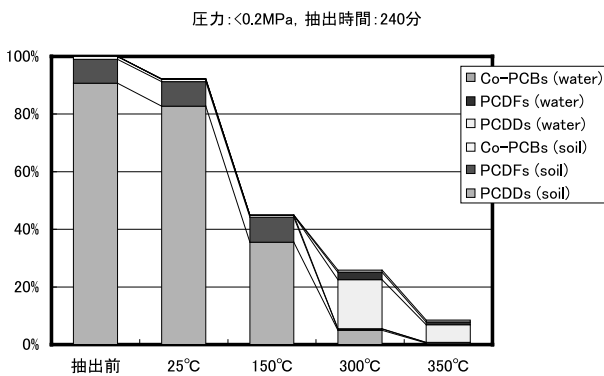


図 18 温度による抽出前後の土壌および抽出液中ダイオキシン類相対濃度の変化
抽出前土壌濃度を 100 として表示
洗浄水濃度は土壌濃度に換算

したがって、土壌から除去されたダイオキシン類は、単に水によって抽出されただけでなく、土壌 - 水系より消失したものと推測できる。特に 350 の場合、抽出後の土壌と抽出水中のダイオキシン類を合わせても、抽出前の 8.4 % にしかなかった。亜臨界・超臨界状態では、水の誘電率が減少し、有機溶媒的な性質に変化することが知られていることから、本研究では、その性質を利用した抽出効果を期待していたが、熱水抽出には、それ以上の効果があることが明らかになった。このことは、添加剤や二次的な処理を行うことなく、しかも無加圧の状態でも、ダイオキシン類を高率で分解可能であることを示唆している。

圧力 0 MPa, 抽出時間 240 分の場合の温度と残存ダイオキシン類濃度との関係を図 19 に示した。抽出後土壌および抽出水中の合計を残存ダイオキシン類濃度とした。温度と残存ダイオキシン濃度の関係式を線形近似式で表した場合、PCDD の相関係数 ($R^2 = 0.991$) は最大

となったが、PCDF ($R^2 = 0.832$) と Co-PCB ($R^2 = 0.499$) はあまり大きくなかった。後節で述べるが、異性体濃度の変化は一樣に起きておらず、この種の解析は、異性体ごとに行った方が妥当であると判断された。しかし、概略的には、3 種の化合物の中で PCDD が最も熱による除去率が大きく、Co-PCB は除去率が低いという傾向が読みとれる。また、Co-PCB は他に比べ近似式の傾きが小さく、3 種の中では熱安定性が高いと考えられる。

(2) 圧力

次に、ダイオキシン類の抽出除去効率に及ぼす圧力の影響について検討した。温度を 300 に固定し、圧力を 0 (< 0.2), 5, 25 MPa に変え、実験を繰り返した。その結果を図 20 及び表 11 に示す。

実験より、圧力が高いほど、土壌中に残存するダイオキシン類濃度は低くなることが確認できた。しかしながら、圧力を加えない場合でも、土壌中の残存率は 24 % に減少していることから、高圧は土壌からのダイオキシン類除去のための必須条件でないことが分かった。ただし、25 MPa の場合、土壌中の残存率は、1.7 % になっており、高圧によって除去効果を高めることができる。

抽出液からもダイオキシン類が検出されたが、それらを抽出残渣から検出された量と合わせても 100 % にはならなかった。これは、前述の実験結果を裏付けるものである。また、圧力が高くなるにつれ、抽出液中の濃度は減少する傾向にあったが、その傾向は残渣ほど顕著ではなかった。

温度 300 , 抽出時間 30 分の時の圧力とダイオキシン類残存濃度の関係を PCDD, PCDF, Co-PCB の別に

温度: 300°C, 抽出時間: 30分

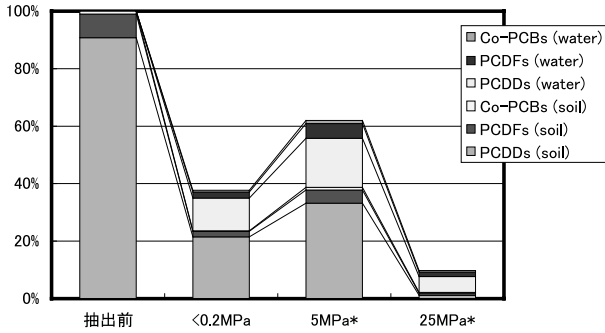


図 20 圧力による抽出前後の土壌及び抽出液中ダイオキシン類相対濃度の変化

抽出前土壌濃度を 100 として表示
洗浄水濃度は土壌濃度に換算
* 実験装置が異なる

表 11 ダイオキシン類の残存率

	抽出前	<0.2MPa	5MPa*	25MPa*
PCDDs	100%	24%	36%	1.2%
		13%	18%	5.9%
PCDFs	100%	23%	39%	6.4%
		25%	43%	13%
Co-PCBs	100%	19%	78%	22%
		63%	95%	43%
全体	100%	24%	36%	1.7%
		14%	20%	6.6%

洗浄前土壌中化合物濃度を100とした場合の相対値
温度: 300°C, 抽出時間: 30分
上段は土壌, 下段は抽出水

温度: 300°C, 抽出時間: 30分

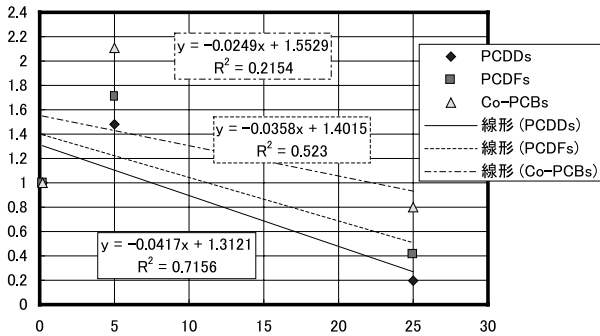


図 21 圧力と残存ダイオキシン類濃度との関係
残存濃度: 抽出後土壌及び抽出水中の合計
0 (<0.2) MPa の残存濃度を 1 として表示
洗浄水濃度は土壌濃度に換算

図 21 に示す。図より, 圧力の上昇に伴い, 各化合物の残存率は負の傾きを示しており, 同じ温度であれば, 圧力が高くなるほど, 除去率が上がることが分かる。また, 温度と残存率の関係 (図 19 参照) と同様に, 3 種の化合物の中では, PCDD の除去率が最も高く, Co-PCB が最も低かった。

(3) 時間

温度 300 , 圧力 0 (< 0.2) MPa に設定し, 抽出時間を 30 分と 240 分に変えて実験を行った結果を図 22 に, 温度 150 , 圧力 0 (< 0.2) MPa に設定し, 抽出時間を 30 分と 240 分に変えて実験を行った結果を図 23 に示す。300 の場合, 30 分抽出の除去率が 76 % であるのに対し, 240 分抽出では, 95 % が除去されており, 抽出時間を長くした効果が現れていると考えられる。一方, 150 の場合, 30 分抽出の除去率が 54 %, 240 分抽出の除去率が 55 % と, ほとんど差がみられなかった。また, 最初の 30 分間での抽出液中のダイオキシン類濃度は比較的高いものの, 30 分以降は非常に低いことから, 土壌中のダイオキシン類は最初の 30 分に大半が除去され, それ以降は少しずつ抽出分解が継続するものと考えられる (図 24)。

温度: 300°C, 圧力: <0.2MPa

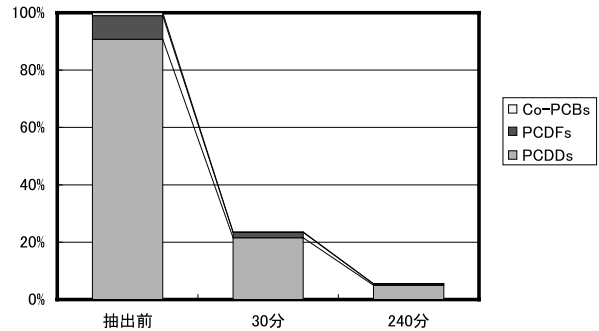


図 22 時間による抽出前後の土壌中ダイオキシン類相対濃度の変化 (300)
抽出前土壌濃度を 100 として表示

温度: 150°C, 圧力: <0.2MPa

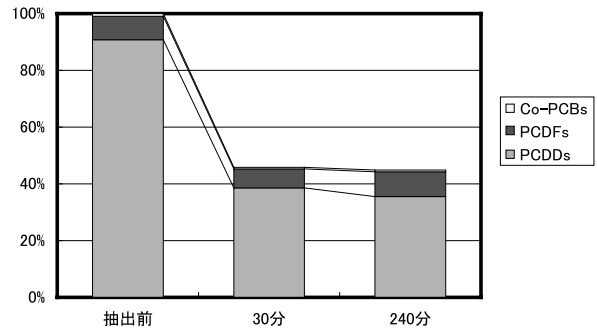


図 23 時間による抽出前後の土壌中ダイオキシン類相対濃度の変化 (150)
抽出前土壌濃度を 100 として表示

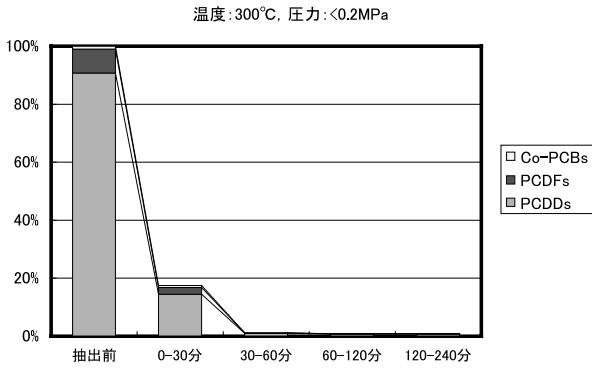


図 24 抽出時間による抽出液中ダイオキシン類相対濃度の変化
抽出前土壤濃度を 100 として表示
洗浄水濃度は土壤濃度に換算

(4) 実験パラメータによる同族体組成の変化

各化合物を構成する同族体の組成の変化について、各種条件との関係について検討した。

図 25 に土壤中の PCDD 同族体組成を実験温度別に示す。実験温度によって、同族体の組成に違いがみられた。25 及び 150 では、OCDD が PCDD の 80 % 前後を構成しており、抽出前の土壤とあまり変わらないが、300、350 では、塩素置換数の少ない同族体の割合の増加が目立つ。特に、300 の場合では、TCDD が 46 %、PeCDD が 29 % と極端に多かった。また、350 では、OCDD が再び増加しているように見えるが、PCDD の総量は減少していることから (図 16 参照)、TCDD や PeCDD などの低塩素化物の量が減少したことにより、相対的に OCDD の割合が多くなったものと考えられる。抽出前土壤に対する同族体の濃度比を表したのが図 26 である。抽出前に比べ、HxCDD、HpCDD 及び OCDD は、温度が高くなるにつれ減少しているのに対し、TCDD と PeCDD は、300 で急増し、TCDD で 7.7 倍、PeCDD で 2.7 倍になっているが、350 では転じて減少し、1 倍以下になっている。

PCDF でも、300 以上で同様な同族体組成の変化がみられたが (図 27)、抽出前土壤に対する同族体の濃度比 (図 28) をみると、PCDD の場合とは異なり、低塩素化物の極端な増加はなかった。ただし、300 では、低塩素化物の抽出前土壤に対する濃度比は、高塩素化物のそれを上回っていた。

高温条件において、高塩素化物は速やかに減少するのに対し、低塩素化物の減少割合は小さく、場合によっては、増加する現象がみられた。このことから、土壤中のダイオキシン類は熱水によって単に抽出除去されただけ

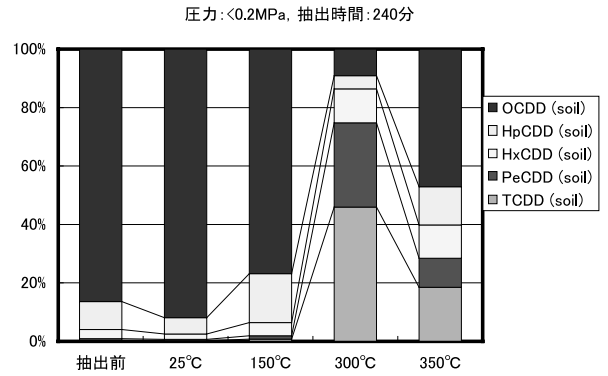


図 25 温度による抽出前後の土壤中 PCDD 同族体組成の変化

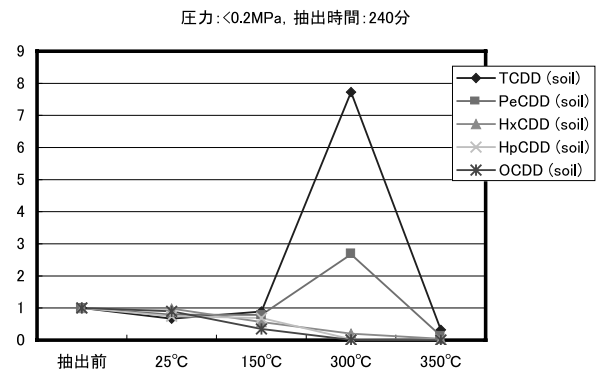


図 26 温度と土壤中 PCDD 同族体濃度比との関係
抽出前土壤中の同族体濃度を 1 として表示

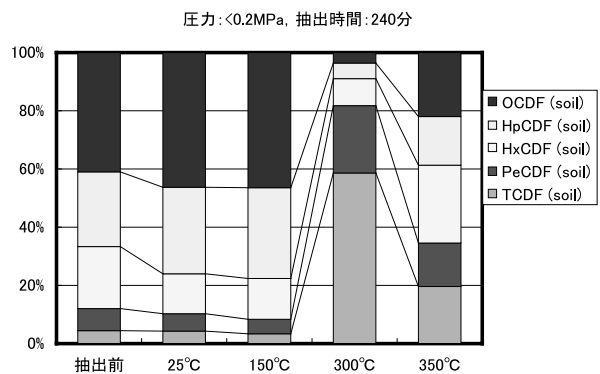


図 27 温度による抽出前後の土壤中 PCDF 同族体組成の変化

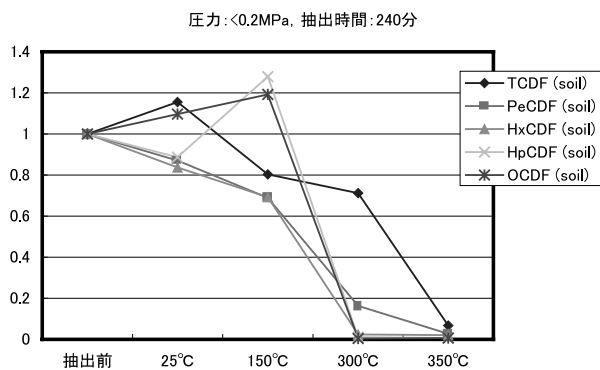


図 28 温度と土壤中 PCDF 同族体濃度比との関係
抽出前土壤中の同族体濃度を 1 として表示

はなく、何らかの反応が起きていることが分かり、低塩素化物の増加現象から、それは脱塩素反応であることが推察できる。

実験に供した土壌試料には、特に OCDD が多く含まれており、これが脱塩素されて低塩素化 PCDD が生成したと考えられる。一方、PCDF では、高塩素化物の量が PCDD ほど多くないために、低塩素化物の増加が顕著ではなかったと推察できる。また、この結果は PCDD から PCDF への変化がほとんど起きないことを示唆している。

観察された脱塩素反応の速度は温度に依存していると推測できる。すなわち、300 において増加した TCDD や PeCDD もさらに実験時間を延長すれば、やがては分解消失し、その同族体組成は 350 のものと同様になると予想できる。その根拠として、同じ温度で抽出時間の異なる実験後のダイオキシン類同族体組成を図 29、30 に示す。

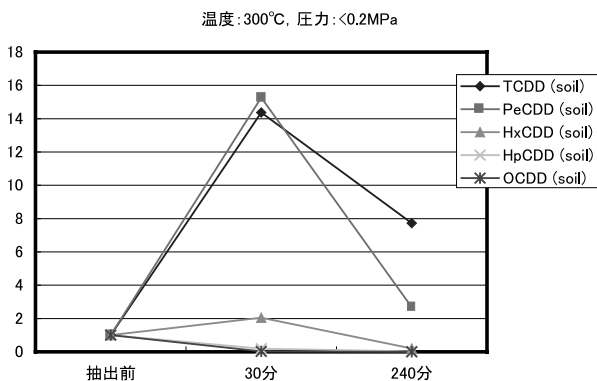


図 29 抽出時間と土壌中 PCDD 同族体濃度比との関係 (300 の場合)
抽出前土壌中の同族体濃度を 1 として表示

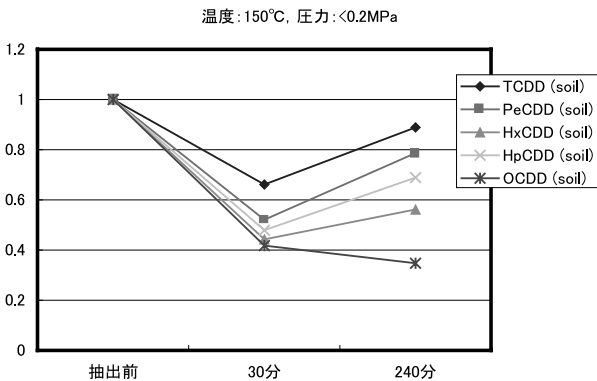


図 30 抽出時間と土壌中 PCDD 同族体濃度比との関係 (150 の場合)
抽出前土壌中の同族体濃度を 1 として表示

図 29 より、300 の場合、OCDD は、30 分抽出後には大きく減少しているが、TCDD と PeCDD は急増している。しかし、240 分後には、低塩素化物も減少に転じている。このことは、低塩素化物の前駆体としての高塩素化物がなくなれば、やがては低塩素化物も消滅することを予想させる。150 の場合 (図 30)、30 分後には、すべての同族体が減少しており、抽出効果が現れていると考えられるが、240 分では OCDD 以外は増加に転じている。これが脱塩素反応によるものとするれば、300 のときに比べ、緩やかな反応が起きていると考えられる。したがって、温度を高くした場合には、この一連の反応が促進され、低塩素化物も早く消失すると考えられる。

(5) 実験パラメータによる TEQ の変化

ダイオキシン類に汚染された土壌の撤去・浄化対策の実施は、常に TEQ を基に判断されることから、各実験における TEQ の変化について検討した。各実験温度における抽出後の TEQ 相対濃度を図 31 に示す。一般的に、TEQ の除去率は、実測濃度と比較して低かった (図 16 参照)。150 の場合、実測濃度では 55 % の除去率であったが、TEQ に換算すると 29 % の除去にとどまった。同様に、300 では、実測濃度 96 % に対し、TEQ 40 %、350 では、実測濃度 99 % に対し、TEQ 95 % の除去率となり、TEQ ベースのダイオキシン類の除去率は、実測濃度に比べ低かった。特に 300 以下の場合、TEQ 除去の割合が低かった。しかし、内訳をみると、抽出前土壌では、TEQ の 79 % が PCDD によるもので、20 % が PCDF、残りの 1 % が Co-PCB であり、150 までは、その構成比にほとんど変化がみられない

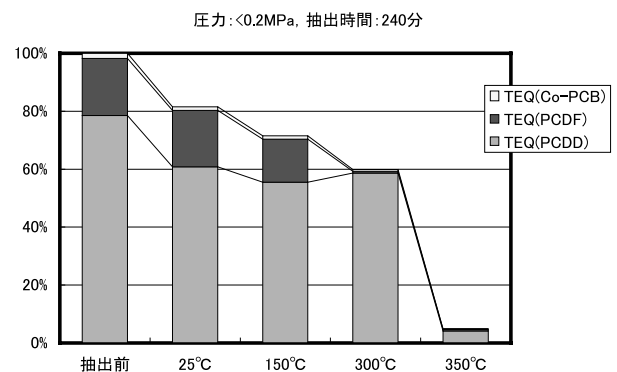


図 31 温度による抽出前後の土壌中 TEQ 相対濃度の変化
抽出前土壌濃度を 100 として表示

が、300 °C では、PCDF と Co-PCB がほとんど消失し、PCDD が TEQ の 98 % を占めている。実験に供した土壌の場合、TEF を持つ PCDD を除去することが、TEQ レベルを効果的に低減するための鍵になると考えられる。

図 32 は、各実験温度における PCDD 同族体の割合を TEQ 換算で表したものである。図より、150 °C までは、TEQ に関する PCDD の同族体組成に、ほとんど差がみられないが、300 °C 以上では、六～八塩素化物の TEQ に占める割合が減り、代わって四、五塩素化物の割合が増加している。300 °C では、TCDD と PeCDD で、TEQ 全体の 94 % を占めている。TCDD と PeCDD で TEF を有する異性体は 1 種類ずつしかなく、それぞれ 2,3,7,8-TCDD と 1,2,3,7,8-PeCDD である。したがって、抽出後土壌の TEQ は、この 2 種の異性体のみで決定されているといえる。

TEQ は温度だけでなく、抽出時間によって変化していることも確認された（図 33）。300 °C の場合、30 分の抽出後では、抽出前より TEQ が 4.4 倍に増加しており、

処理時間が不十分な場合には、かえってダイオキシンによるリスクを増大させる恐れのあることが分かった。この原因は、土壌に含まれる高塩素化ダイオキシン類が脱塩素される過程で、高い TEF を有する異性体に変化するためと考えられる。しかし、やがては、さらに脱塩素化が進行するため、TEQ も減少していくと考えられる。図 34 から、時間の経過に伴い、TEQ に占める割合が、高塩素化物から低塩素化物に移っていく様子が読みとれる。

圧力：<0.2MPa, 抽出時間：240分

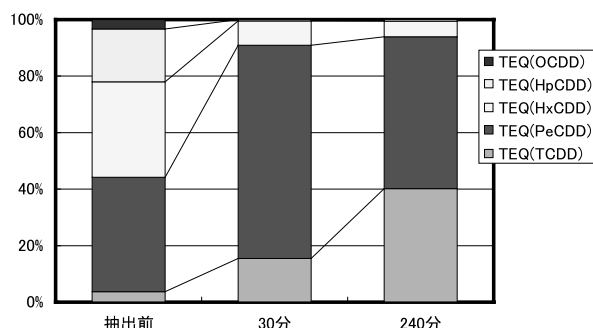


図 34 時間による抽出前後の土壌中 PCDD 同族体組成 (TEQ) の変化

圧力：<0.2MPa, 抽出時間：240分

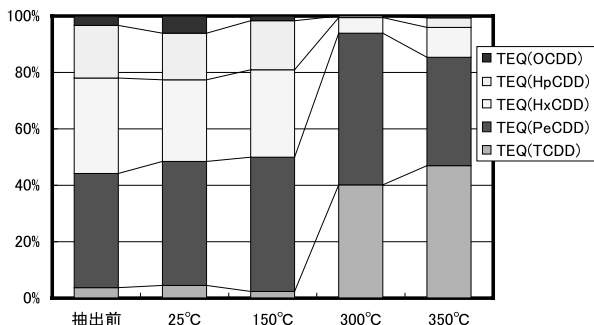


図 32 温度による抽出前後の土壌中 PCDD 同族体組成 (TEQ) の変化

圧力：<0.2MPa, 抽出時間：240分

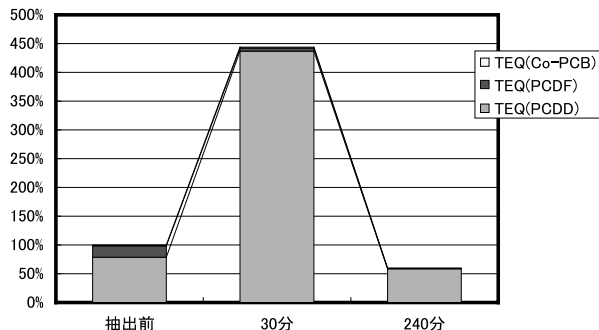


図 33 時間による抽出前後の土壌中 TEQ 相対濃度の変化 (300 °C)
抽出前土壌濃度を 100 として表示

本処理法において、ダイオキシン類によるリスクを上手にマネジメントするためには、脱塩素反応を起こさせない。それが不可能な場合は、2,3,7,8 位の塩素を優先的に脱塩素させる。さらにそれが困難な場合には三塩素化物以下に速やかに脱塩素させる、等の方法が提案できる。

各種実験の結果、350 °C 以上の温度で、25 MPa 程度に加圧すれば、ダイオキシン類の分解は速く進行し、の方法として有効であると考えられる。しかしながら、と については、触媒や添加物が必要になると予想されることから、「水のみによる処理」という本研究の趣旨からは、外れることになり、要検討項目であると判断される。

2.3.2 底質への応用

検証を兼ね、試料を変えて実験を行った。用いた試料は、霞ヶ浦から採取した表層底質で、乾燥、粉碎後、孔径 0.1 mm のふるいを通し、均一になるように混合した。底質試料の化学成分とダイオキシン類濃度を表 12, 13 に示す。水は、水道水を蒸留後、MilliQ TOC SP (ウォーターズ社製) でイオン交換した (電気伝導度：18.3

表 12 底質試料の化学成分

種類	湖沼表層底質		
元素組成 (wt%)	CHN分析および蛍光X線による半定量値		
C	2.71	P	0.175
H	1.19	S	0.580
N	0.29	Mn	0.112
O	<0.005	Sr	0.010
Si	26.4	Cl	0.338
Al	9.90	Rb	0.004
Fe	5.60	Zn	0.013
K	2.12	Cu	0.007
Ca	2.78	Ti	0.112
Na	0.585	Zr	0.007
Mg	0.675	Ni	0.006

表 13 底質試料中のダイオキシン類濃度

ダイオキシン類濃度 (pg/g dry)			
2378- TCDD	0.26	3,3',4,4'-TeCB (77)	107
12378- PeCDD	1.5	3,4,4',5-TeCB (81)	3.9
123478- HxCDD	2.7	3,3',4,4',5-PeCB (126)	4.7
123678- HxCDD	4.1	3,3',4,4',5,5'-HxCB (169)	0.93
123789- HxCDD	5.2	2,3,3',4,4'-PeCB (105)	123
1234678- HpCDD	105	2,3,4,4',5-PeCB (114)	7.3
OCDD	1923	2,3',4,4',5-PeCB (118)	183
2378- TCDF	0.34	2',3,4,4',5-PeCB (123)	5.7
12378- PeCDF	1.6	2,3,3',4,4',5-HxCB (156)	21
23478- PeCDF	0.77	2,3,3',4,4',5'-HxCB (157)	5.7
123478- HxCDF	3.0	2,3',4,4',5,5'-HxCB (167)	7.6
123678- HxCDF	3.5	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)	2.5
123789- HxCDF	2.9	2,2',3,3',4,4',5-HpCB (170)	0.45
234678- HxCDF	5.6	2,2',3,4,4',5,5'-HpCB (180)	0.44
1234678- HpCDF	22		
1234789- HpCDF	<0.05		
OCDF	38		
TCDDs	290	PCDDs	3095
PeCDDs	51	PCDFs	163
HxCDDs	166	Co-PCBs	473
HpCDDs	666	total	3731
TCDFs	25	TEQ(PCDD)	4.3
PeCDFs	24	TEQ(PCDF)	2.2
HxCDFs	52	TEQ(Co-PCB)	0.54
HpCDFs	25	TEQ(total)	7.0

表 14 実験条件 (2)

試料の種類	温度(°C)	圧力(MPa)	水抽出 (時間:分)			
			①	②	③	④
湖沼底質	25	<0.2	0-240	-	-	-
	300	<0.2	0-30	30-60	60-120	120-240

M, TOC 濃度: 5 ppb 以下) ものをを用いた。実験に用いた装置は、前述の日本分光社製の超臨界反応装置 SCW- を改造したものである。各種条件で水を通し、時間を区切って回収した抽出液中のダイオキシン類を測定した。また、実験後の抽出残渣は、高速溶媒抽出 (ASE) でアセトンによる抽出を行い、その抽出液中のダイオキシン類も測定した。実験条件を表 14 に示す。

図 35 に抽出前後のダイオキシン類相対濃度を示す。

圧力:<0.2MPa, 抽出時間:240分

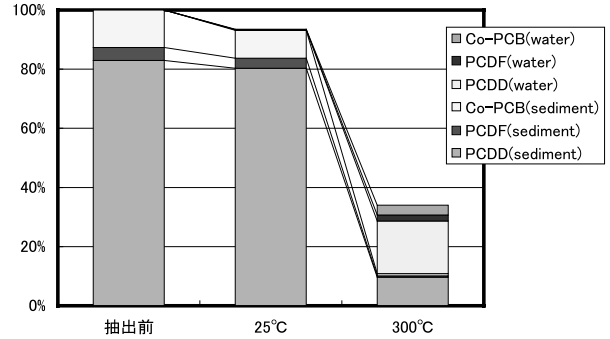


図 35 抽出前後の底質および抽出液中ダイオキシン類相対濃度の変化

表 15 実験に供した土壌と底質中のダイオキシン類濃度

	土壌	底質
PCDD	27,000	3,100
PCDF	2,400	160
Co-PCB	290	470
全体	29,690	3,730

抽出前の底質では、(1) の実験に供した土壌に比べ、Co-PCB の割合が多いものの、PCDD がダイオキシン類全体の 83 % を占めており、PCDD が主成分であることは似ているといえる。

表 15 に示すように、実験に供した土壌の方が底質よりも 1 桁近くダイオキシン類濃度が高いにもかかわらず、結果はよく似たものとなった。300 抽出後の土壌中残存率 (除去率) は、PCDD, PCDF, Co-PCB がそれぞれ 12 (88)%, 11 (89)%, 5.6 (94.4)% で、全体では 23 (73)% で、抽出水から検出される割合も、PCDD が 18 %, PCDF が 2.0 %, Co-PCB が 3.4 % と土壌の場合と近かった (図 36)。底質の場合も、除去された大部分のダイオキシン類は、分解したものと考えられる。また、土壌と同様に TEQ の除去率は、実測濃度に比べ低かった (図 37)。PCDF と Co-PCB の TEQ は、300 ではそれぞれ抽出前の 8.2 %, 8.1 % に減少したが、PCDD は TEQ として 94 % が残った。PCDD の TEQ に寄与する同族体の内訳をみると、土壌の場合と同様に、抽出後に塩素化物が減り、低塩素化物の割合が増加していた (図 38)。ただし、土壌とは異なり、TCDD よりも PeCDD の割合が高かった。その理由の一つとして、底質における脱塩素反応の進行が土壌よりも遅かったことが考えられる。

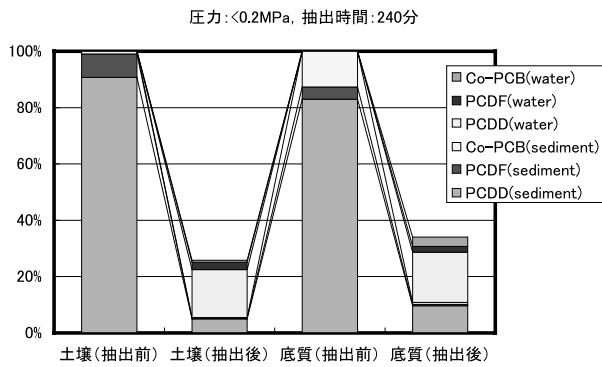


図 36 抽出前後の底質，土壌およびそれらの抽出液中ダイオキシン類相対濃度の変化

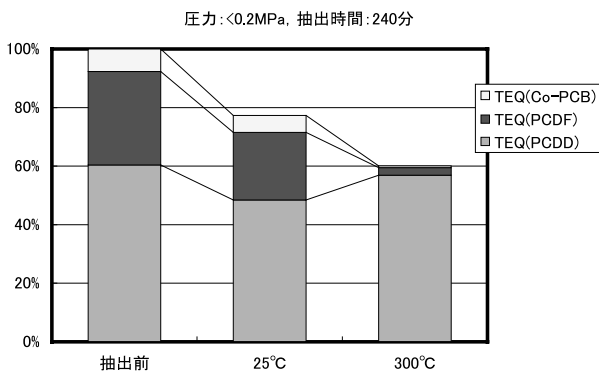


図 37 抽出前後の底質中 TEQ 相対濃度の変化
抽出前土壌濃度を 100 として表示

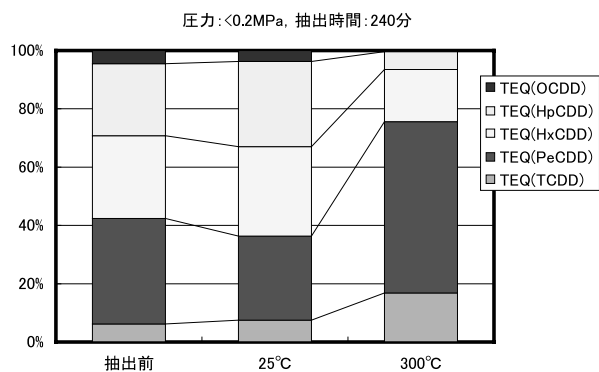


図 38 抽出前後の土壌中 PCDD 同族体組成 (TEQ) の変化

2.3.3 分解経路

これまでの実験で、熱水によって土壌からダイオキシン類が抽出されるばかりでなく、分解されることが分かった。そこで、3種の異なる土壌に OCDD を添加し、熱水抽出実験をすることにより、その分解経路について検討した。

実験に用いた試料は、鹿沼土、赤玉土、黒土の3種で、乾燥、粉碎後、孔径 0.1 mm のふるいを通し、均一になるように混合した。試料の化学成分とダイオキシン類濃度を表 16, 17 に示す。水は、水道水を蒸留後、MilliQ

表 16 試料の化学成分

	鹿沼土	赤玉土	黒土
C	0.15	1.54	14.2
H	2.4	2.42	2.81
N	<0.2	<0.2	0.67
O	8.45	3.69	18.8
Si	21.9	21.7	14.6
Al	15.2	15.0	9.80
Fe	1.19	5.05	3.64
K	1.07	1.66	0.685
Ca	1.45	0.725	0.630
Ti	0.232	0.820	0.539
Na	0.182	0.284	0.307
Mg	0.069	0.549	0.254
P	0.126	0.123	0.291
S	0.013	0.264	0.399
Mn	0.033	0.118	0.058
Cl	0.036	0.025	0.037
Zn	0.004	0.008	0.007
Cu		0.007	0.005
Br		0.003	0.007
Zr	0.003	0.005	
Ni		0.006	

表 17 試料中のダイオキシン類濃度 (pg/g dry)

	鹿沼土	赤玉土	黒土
2378- TCDD	0.065	0.22	0.24
12378- PeCDD	0.22	0.24	1.2
123478- HxCDD	0.12	0.11	0.73
123678- HxCDD	0.22	0.32	2.2
123789- HxCDD	0.20	0.53	5.2
1234678- HpCDD	1.1	1.2	12
OCDD	59	12	111
2378- TCDF	<0.01	0.021	0.21
12378- PeCDF	<0.01	0.070	0.88
23478- PeCDF	<0.01	0.013	0.97
123478- HxCDF	<0.02	0.10	1.4
123678- HxCDF	<0.02	0.12	1.7
123789- HxCDF	<0.02	0.042	0.57
234678- HxCDF	<0.02	0.070	1.8
1234678- HpCDF	<0.05	0.25	5.9
1234789- HpCDF	<0.05	0.22	0.79
OCDF	<0.5	0.21	5.2
3,3',4,4'-TeCB (77)	0.47	0.55	8.1
3,4,4',5'-TeCB (81)	0.025	0.055	0.58
3,3',4,4',5'-PeCB (126)	0.029	0.053	3.3
3,3',4,4',5,5'-HxCB (169)	<0.02	0.68	4.9
2,3,3',4,4'-PeCB (105)	0.74	0.91	20
2,3,4,4',5'-PeCB (114)	0.20	0.59	12
2,3',4,4',5'-PeCB (118)	2.0	2.1	41
2',3,4,4',5'-PeCB (123)	0.048	0.100	3.1
2,3,3',4,4',5'-HxCB (156)	0.12	0.20	10
2,3,3',4,4',5'-HxCB (157)	<0.02	0.075	4.8
2,3',4,4',5,5'-HxCB (167)	0.11	0.13	7.5
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)	<0.05	<0.05	<0.05
2,2',3,3',4,4',5'-HpCB (170)	<0.05	<0.05	<0.05
2,2',3,4,4',5,5'-HpCB (180)	<0.05	<0.05	<0.05
TCDDs	2.2	7.1	47
PeCDDs	1.8	2.3	18
HxCDDs	2.3	4.0	25
HpCDDs	2.3	2.5	25
TCDFs	0.39	0.86	26
PeCDFs	<0.01	0.42	18
HxCDFs	<0.02	0.49	15
HpCDFs	<0.05	0.58	9.9
PCDDs	68	28	227
PCDFs	8.6	16	116
Co-PCBs	3.7	5.4	115
total	72	36	417
TEQ(PCDD)	0.36	0.57	2.4
TEQ(PCDF)	-	0.050	1.2
TEQ(Co-PCB)	0.0034	0.013	0.40
TEQ(total)	0.36	0.63	4.0

TOC SP (ミリポア社製) でイオン交換した (電気伝導度 : 18.3 M , TOC 濃度 : 5 ppb 以下) ものをを用いた。実験に用いた装置は、前述の日本分光社製の超臨界反応装置 SCW- を改造したものである。各種条件で水を通し、時間を区切って回収した抽出液中のダイオキシン類を測定した。また、実験後の抽出残渣を高速溶媒抽出 (ASE) でアセトンによる抽出を行い、その抽出液中のダイオキシン類を測定した。実験条件を表 18 に示す。

表 18 実験条件 (3)

試料の種類	温度 (°C)	圧力 (MPa)	水抽出 (時間 : 分)			
			①	②	③	④
鹿沼土	25	<0.2	0-240	-	-	-
	300	<0.2	0-30	30-60	60-120	120-240
赤玉土	25	<0.2	0-240	-	-	-
	300	<0.2	0-30	30-60	60-120	120-240
黒土	25	<0.2	0-240	-	-	-
	300	<0.2	0-30	30-60	60-120	120-240

(1) OCDD 添加試験

試料に 1,000 ng の OCDD を添加し、加圧しない状態で室温 (25) と 300 で抽出を行い、その結果を比較した。土壌ごと流失したものを結果から除くため、室温で抽出した後の試料中の残留濃度を 100 % とし、300 で抽出した後の土壌中ダイオキシン類濃度を、それぞれ比較した (図 39)。いずれの土壌においても、ダイオキシン類濃度は 300 抽出後には室温で抽出したときより減少していたが、赤土と黒土は 80 % 程度の除去率であったのに対し、鹿沼土の場合は約 40 % の除去率にとどまった。一方、PCDF や Co-PCB は実験後も増加しておらず、PCDD から PCDF や PCB への変化は起きていないことが確認された。

土壌に残留した PCDD の内訳をみてみると、室温で

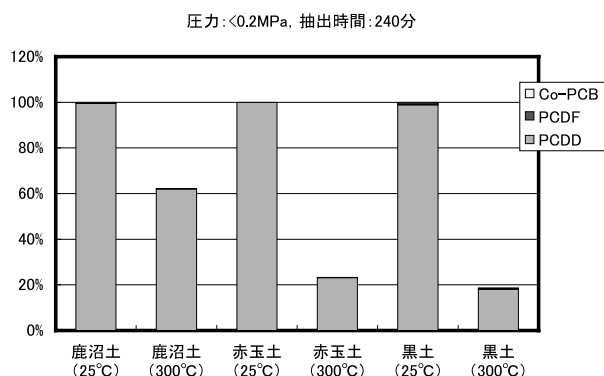


図 39 各土壌における熱水抽出後のダイオキシン類濃度の変化
室温抽出後の土壌濃度を 100 として表示

圧力 : <0.2MPa, 抽出時間 : 240分

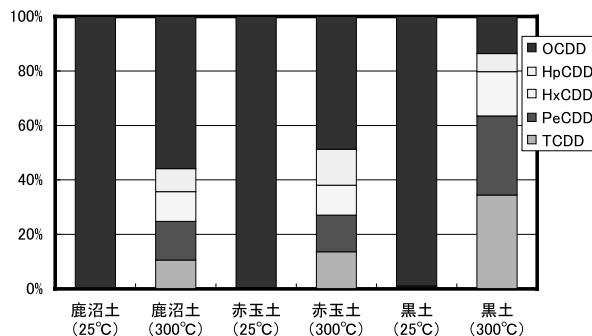


図 40 各土壌における熱水抽出後の PCDD 同族体組成の変化

は OCDD がほぼ 100 % を占めているのに対し、300 の場合では、4-7 塩素化物も比較的多くを占めていた (図 40)。その割合は、試料によって異なっており、特に黒土では、TCDD や PeCDD が多かった。

(2) 異性体組成に基づく分解経路の考察

熱水抽出後の残渣土壌から検出された異性体濃度には大きな変化がみられた。例えば図 41 に示すように、鹿沼土では室温 (25) 抽出後には、残渣から検出される TCDD 濃度は低く、その異性体組成は、一般土壌や大気、一般廃棄物焼却試料によく観察されるものと似ていたが、300 抽出後には TCDD 濃度は非常に増加し、すべての異性体が検出された。検出された異性体は、一般環境試料に多くみられる 1,3,6,8-TCDD と 1,3,7,9-TCDD の割合が少なく、2,3,7,8-TCDD が比較的多いという特徴的な組成を示した。このような異性体組成は、産業廃棄物焼却施設由来の試料に時折観測される。この特徴的な異性体組成は、赤玉土、黒土への OCDD 添加試験でも同様に、300 抽出後の残渣に確認され、すべて同様な機構により生成しているものと推測できる。

図 42 は、黒土の 300 抽出後の残渣中異性体濃度から室温抽出後のそれを差し引いたもので、熱水抽出後の OCDD を除く各異性体の変化量を表している。OCDD から一つの塩素が水素に置換することにより生成する HpCDD には、2 つの異性体が存在するが、図 42 より、1,2,3,4,6,7,9-HpCDD の方がもう一つの異性体 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD よりも増加量が若干多いことが分かる。図 40 より反応の進行が黒土より遅いと思われる鹿沼土や赤玉土でも同様な傾向にあることから、2,3,7,8 位のいずれかの位置の塩素が脱塩素する速さの方が、残りの 1,4,6,9 の位置よりもやや速いことが分かる。

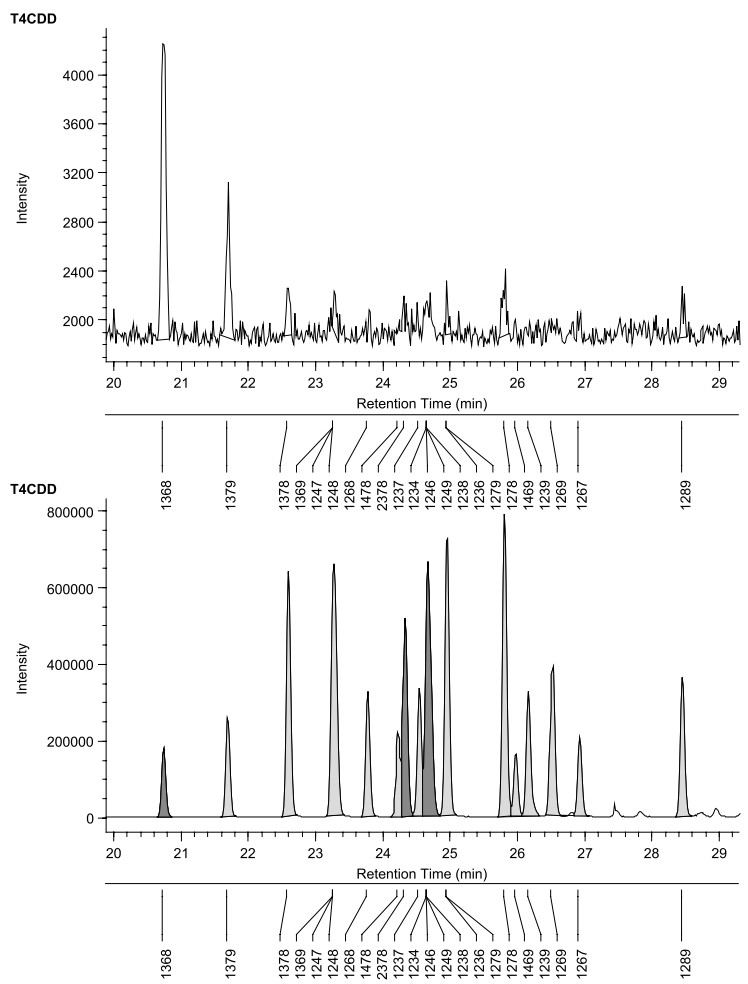


図 41 熱水抽出後に検出される TCDD 異性体の変化
 上段：250 m/z, <0.2MPa, 240 分抽出後の鹿沼土の SIM
 下段：300 m/z, <0.2MPa, 240 分抽出後の鹿沼土の SIM

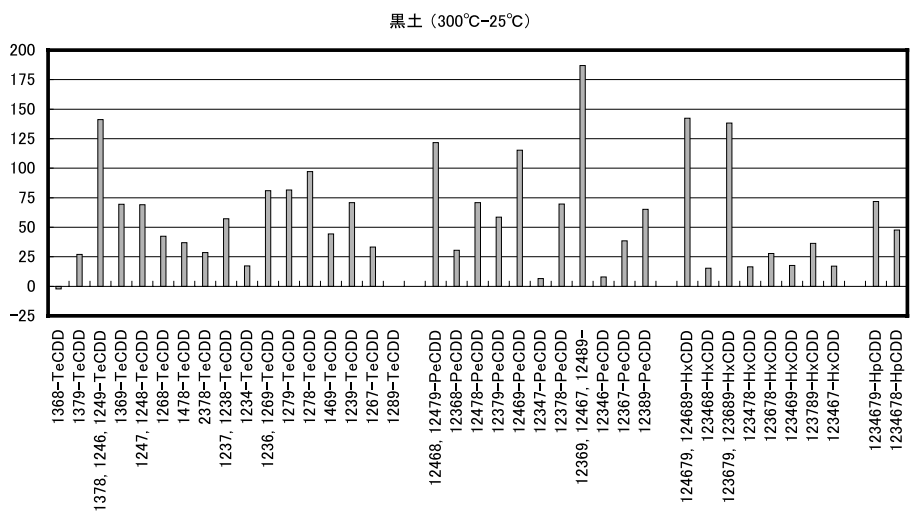


図 42 熱水抽出による各異性体の変化量 (pg/g)
 300 m/z, <0.2MPa, 240 分抽出後の黒土中 PCDD 濃度から 250 m/z, <0.2MPa, 240 分抽出後の濃度を差し引いたもの。

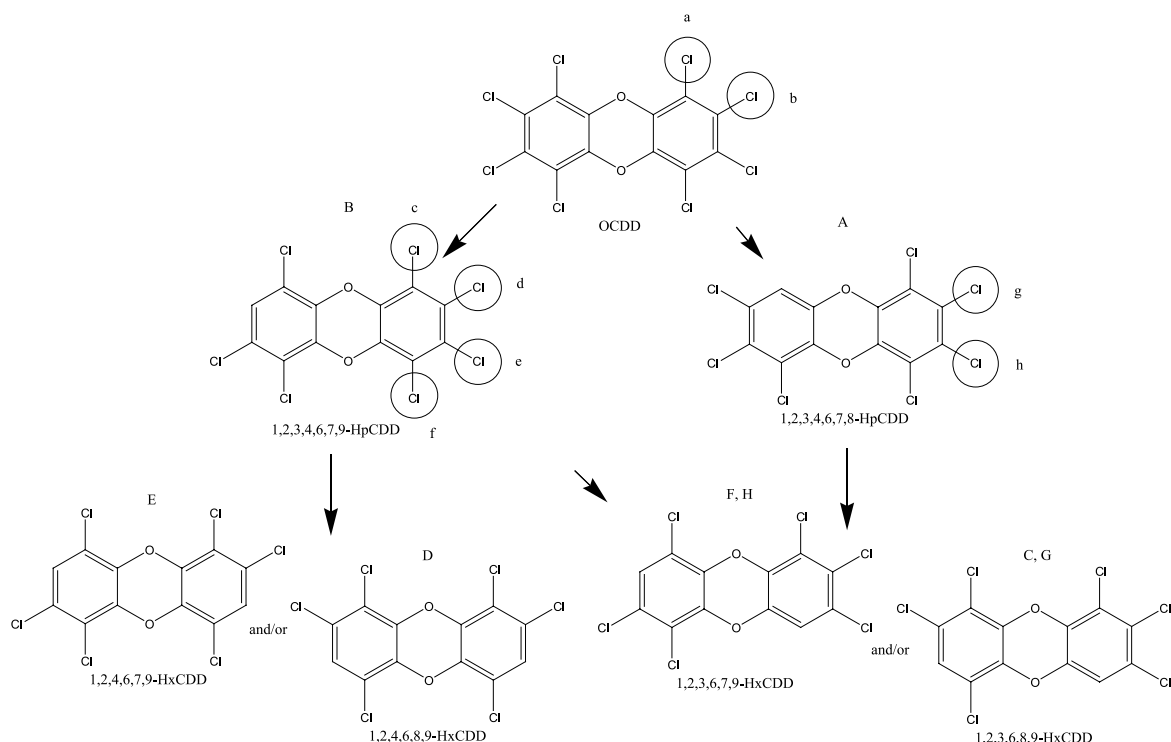


図 43 予測される熱水抽出による OCDD の主な脱塩素経路

図中アルファベット小文字の位置の塩素が脱離することにより、アルファベット大文字の異性体が生成する（同じアルファベットが対応）

図中矢印の大きさは、見かけの反応の速さを示す。

HxCDD と HpCDD の異性体変化量より予測される熱水抽出による OCDD から HxCDD までの主要な脱塩素経路を図 43 に示す。これ以外の異性体も生成していることは、図 42 から明らかであるが、1,2,3,4 の位置のすべてに塩素が置換した異性体の生成割合が少ないということはいえる。

一般に、光分解やラジカル反応による PCDD や PCDF の分解では、2,3,7,8 の位置の塩素が優先的に脱塩素することが知られており、この熱水抽出による分解経路もそれに近い傾向にある。しかしながら、報告に比べ、2,3,7,8-塩素置換異性体の割合が大きく、分解経路は単純ではないことが伺える。土壌の成分により複雑な反応が起きている可能性は否定できない。この反応をコントロールし、2,3,7,8 の位置を優先的に脱塩素させることが可能であれば、処理途中におけるダイオキシン類によるリスクを最小限に抑えることが可能になり、この手法を万全なものにすることができる。

(3) 土壌の構成成分との関係

3つの OCDD 添加試験結果の OCDD 減少量から次の式によって半減期を算出した。

$$t_{1/2} = t / \log_{0.5}(a_t / a_0)$$

ここで、

$t_{1/2}$: 半減期 (分)

a_t : 抽出時間 t 分後の OCDD の量

a_0 : 抽出前の OCDD の量

t : 時間 (分)

これにより、OCDD の半減期は、黒土で最も短く、45 分、鹿沼土が最も長く、158 分と計算された。

このような OCDD 半減期や前述の同族体組成の違いが生じる原因を考察するために、土壌の構成成分との関係を比較検討した。

表 19 に、OCDD 添加実験に用いた土壌の構成元素と 300 -25 の PCDD 異性体変化量との相関係数と有意確率を示した。有意水準を 0.05 とした場合、構成元素のうちでは、Ca, Na, S がいくつかの PCDD 異性体の変化量と有意な相関を示す頻度が高く、Ca で正の相関、Na と S で負の相関を示した。異性体からみると、1,3,6,8-TCDD と 1,2,8,9-TCDD が元素と有意な相関を示す頻度が比較的高いようであった。特に C および H と 1,3,6,8-TCDD 変化量の間には負の相関 (C:-0.9998,

表 19 土壌の構成元素と検出された PCDD 異性体濃度との相関

	C	H	Si	Al	Fe	Ca	Ti	Na	Mg	P	S	Zn	Cu	Br	Ni
1368-TeCDD	-	-		+											
1379-TeCDD															
1378, 1246, 1249-TeCDD															
1369-TeCDD															
1247, 1248-TeCDD											-				
1268-TeCDD						+									
1478-TeCDD							-					-			
2378-TeCDD													-		
1237, 1238-TeCDD						+	-								
1234-TeCDD															
1236, 1269-TeCDD															-
1279-TeCDD													-		
1278-TeCDD													-		
1469-TeCDD															
1239-TeCDD															
1267-TeCDD					-		-					-			
1289-TeCDD		-	+	+						-					
12468, 12479-PeCDD								-							
12368-PeCDD											-				
12478-PeCDD								-							
12379-PeCDD						+		-							
12469-PeCDD									-						
12347-PeCDD											-				
12378-PeCDD						+		-							
12369, 12467, 12489-PeCDD															
12346-PeCDD						+		-							
12367-PeCDD						+									
12389-PeCDD															
124679, 124689-HxCDD															
123468-HxCDD															-
123679, 123689-HxCDD								-							
123478-HxCDD															-
123678-HxCDD												-			
123469-HxCDD								-							
123789-HxCDD												-			
123467-HxCDD												-			
1234679-HpCDD															
1234678-HpCDD															
OCDD															

有意確率 (p) < 0.05、相関係数 @ > 0.99 以上のもののみ表示
 符号: + 相関係数が正のもの、- 相関係数が負のもの

p=0.013, H:-0.9977, p=0.043) があり、有機物量が多いほど、1,3,6,8-TCDD の量が減少していることを示した。しかし、問題の OCDD の減少量とは、どの構成元素も有意な相関は見いだせなかった。

しかしながら、抽出液中の TOC 濃度とダイオキシン類濃度および TEQ の間には正の相関が見られた(図 44, 45)。図 46, 47, 48 に示した各実験の抽出液中のダイオキシン類濃度と TOC 濃度の経時変化より、PCDD, PCDF, Co-PCB は TOC と同様に増減していることが分かる。また、TOC 濃度は温度に依存していることが分かり(図 45, 46 参照)、温度が高いほど抽出液に有機物が溶け出しやすいことを表している。

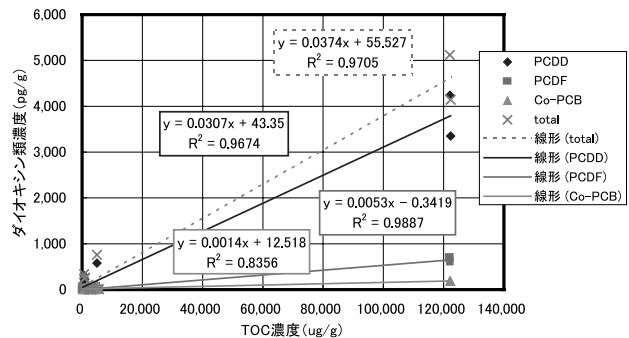


図 44 抽出液中 TOC 濃度とダイオキシン類濃度との相関

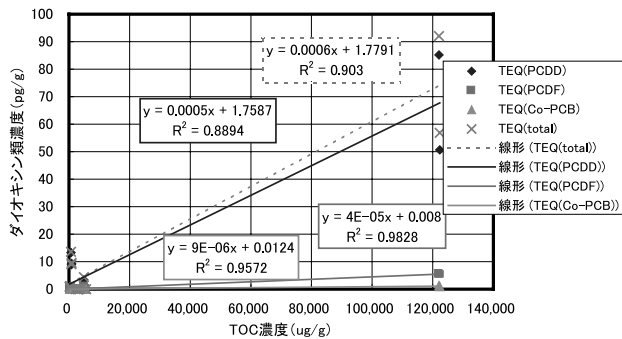


図 45 抽出液中 TOC 濃度と TEQ との相関

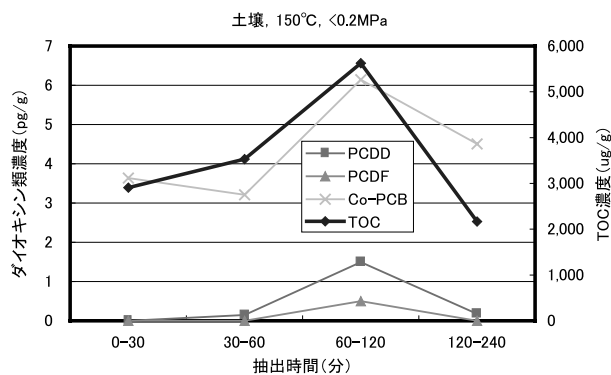


図 47 土壌抽出液中の TOC およびダイオキシン類濃度の抽出時間による変化 (150 °C, <0.2MPa の場合)

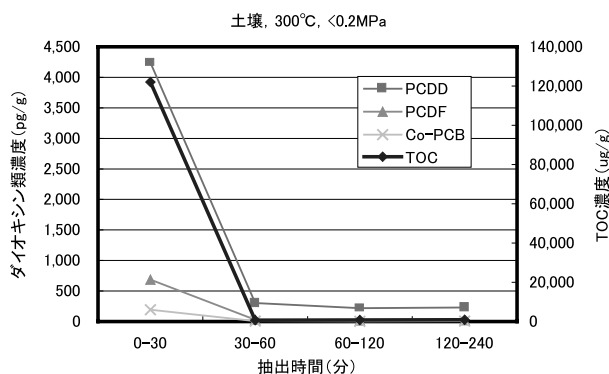


図 46 土壌抽出液中の TOC およびダイオキシン類濃度の抽出時間による変化 (300 °C, <0.2MPa の場合)

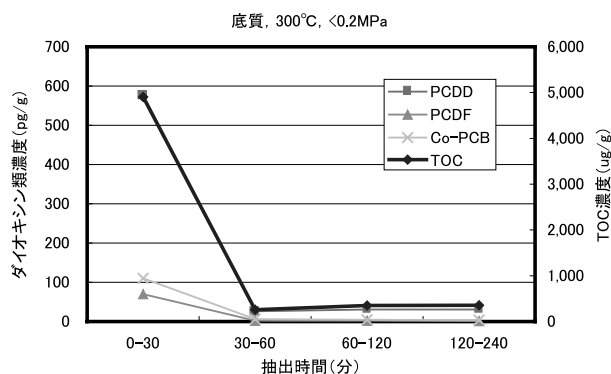


図 48 底質抽出液中の TOC およびダイオキシン類濃度の抽出時間による変化 (300 °C, <0.2MPa の場合)

処理によるダイオキシン類の分解については、有機物（炭素）との関係は明確にはできなかったが、抽出液への溶出に関しては、他の有機物と同様に挙動していると考えられた。

(4) 土壌に含まれるダイオキシン類の同族体組成の違いによる TEQ 変化の試算

この研究で、熱水抽出により汚染された土壌からダイオキシン類を効果的に除去できることが分かった。しかしながら、脱塩素反応の過程で、高い TEF を持つ低塩素化異性体を生じることも確認された。この手法を、より安全に運用するためには、いかなる場合にリスクを上昇させる危険性があるかを把握しておくことが重要である。そこで、試料中の PCDD の同族体組成に着目し、処理による TEQ の変化を試算した。

問題となるのは、高塩素異性体が脱塩素することにより低塩素化物を生じる場合である。

想定したケースは以下のとおりである。

ケース 1：ダイオキシン類のすべてが OCDD の場合。

ケース 2：四～八塩素化 PCDD 同族体の割合がすべて等しい場合。

共通事項：分解機構は脱塩素反応のみとする。PCDF、Co-PCB については考慮しなかった。脱塩素反応速度は、すべての異性体で共通とした。

時間 t 分後の各化合物の残存量は、それぞれ以下の式で計算できる。

$$S_{PCDD} = (S_{PCDD0} \cdot k_{PCDD} \cdot P_{PCDD}) \cdot a_{PCDD}^t$$

一般式：

ここで、

S_{PCDD} ：PCDD の残存量

S_{PCDD0} ：PCDD の初期量

P_{PCDD} ：PCDD の増加量（高塩素化物の脱塩素による増分）

k_{PCDD} ：PCDD 異性体の高塩素化物の脱塩素生成比

a_{PCDD}^t ：PCDD の減少曲線

この場合、 $a_{PCDD}^t = \left(\frac{1}{2}\right)^{\frac{t}{t_{0.5PCDD}}}$ と表せる。

$t_{0.5PCDD}$ ：PCDD の半減期

OCDD:

$$S_{OCDD} = S_{OCDD0} \cdot a_{OCDD}^t$$

HpCDD:

$$S_{HpCDD} = (S_{HpCDD0} + k_{HpCDD} \cdot S_{OCDD0} \cdot (1 - a_{HpCDD}^t)) \cdot a_{HpCDD}^t$$

HxCDD:

$$S_{HxCDD} = (S_{HxCDD0} + k_{HxCDD} \cdot (1 - a_{HxCDD}^t) \cdot (S_{HpCDD0} + S_{OCDD0} \cdot (1 - a_{OCDD}^t))) \cdot a_{HxCDD}^t$$

PeCDD:

$$S_{PeCDD} = (S_{PeCDD0} + k_{PeCDD} \cdot (1 - a_{PeCDD}^t) \cdot (S_{HxCDD0} + (1 - a_{HxCDD}^t) \cdot (S_{HpCDD0} + S_{OCDD0} \cdot (1 - a_{OCDD}^t)))) \cdot a_{PeCDD}^t$$

TCDD:

$$S_{TCDD} = (S_{TCDD0} + k_{TCDD} \cdot (1 - a_{TCDD}^t) \cdot (S_{PeCDD0} + (1 - a_{PeCDD}^t) \cdot (S_{HxCDD0} + (1 - a_{HxCDD}^t) \cdot (S_{HpCDD0} + S_{OCDD0} \cdot (1 - a_{OCDD}^t)))))) \cdot a_{TCDD}^t$$

図 49 に示す PCDD の脱塩素経路から，HpCDD から TCDD までの各異性体の生成比を計算した結果を表 20 に示す。

ケース 1 に基づき，土壤中の PCDD 同族体残存量と TEQ の時間に伴う変化を計算したものがそれぞれ図 50，51 である。図より PCDD は時間とともに減少していることが分かるが，TEQ は処理後しばらくは急増し，80 分をピークにその後減少していく様子が分かる。また，図 52 に 1，30，60，240 分後の計算による PCDD 同族体組成を示す。計算によって得られた組成は，OCDD 添加試験後の各土壤中の PCDD 組成と非常によく似ており，この試算は実験結果を非常によく説明しているといえる。

このケースでは，TEQ を処理開始前のレベルまで下げるためには，400 分を超える処理時間が必要であることが示された。しかし，分解速度を速くできれば，短い時間で処理が可能である。

ケース 2 による土壤中の PCDD 同族体残存量と TEQ の時間に伴う変化の計算結果を，それぞれ図 53，54 に示す。図より，PCDD 残存量は，ケース 1 に比べ

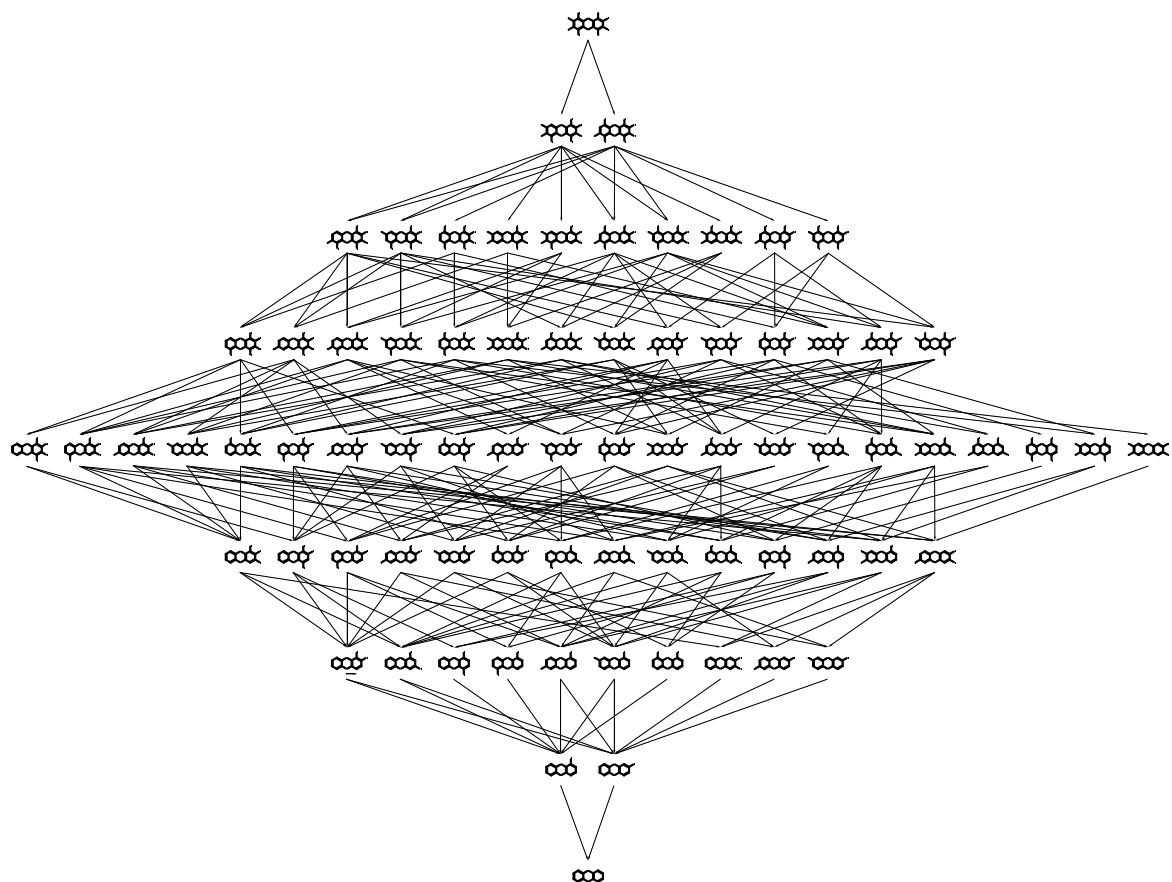


図 49 PCDD の脱塩素反応経路

表 20 脱塩素反応による各異性体の生成比

異性体	生成比	異性体	生成比
1234678-HpCDD	0.5	1234-TCDD	0.02857143
1234679-HpCDD	0.5	1236-TCDD	0.05714286
123467-HxCDD	0.14285714	1237-TCDD	0.05714286
123468-HxCDD	0.14285714	1238-TCDD	0.05714286
123469-HxCDD	0.07142857	1239-TCDD	0.05714286
123478-HxCDD	0.07142857	1246-TCDD	0.05714286
123678-HxCDD	0.07142857	1247-TCDD	0.05714286
123679-HxCDD	0.14285714	1248-TCDD	0.05714286
123689-HxCDD	0.14285714	1249-TCDD	0.05714286
123789-HxCDD	0.07142857	1267-TCDD	0.02857143
124679-HxCDD	0.07142857	1268-TCDD	0.05714286
124689-HxCDD	0.07142857	1269-TCDD	0.05714286
12346-PeCDD	0.07142857	1278-TCDD	0.05714286
12347-PeCDD	0.07142857	1279-TCDD	0.05714286
12367-PeCDD	0.07142857	1289-TCDD	0.02857143
12368-PeCDD	0.07142857	1368-TCDD	0.02857143
12369-PeCDD	0.07142857	1369-TCDD	0.05714286
12378-PeCDD	0.07142857	1378-TCDD	0.05714286
12379-PeCDD	0.07142857	1379-TCDD	0.02857143
12389-PeCDD	0.07142857	1469-TCDD	0.01428571
12467-PeCDD	0.07142857	1478-TCDD	0.02857143
12468-PeCDD	0.07142857	2378-TCDD	0.01428571
12469-PeCDD	0.07142857		
12478-PeCDD	0.07142857		
12479-PeCDD	0.07142857		
12489-PeCDD	0.07142857		

計算条件：① 同族体内の合計を 1 とする。
 ② 異性体の脱塩素速度が同じと仮定。

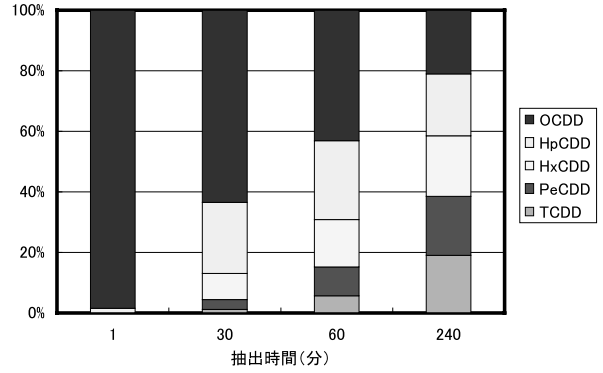


図 52 各時間における PCDD 同族体組成の計算結果

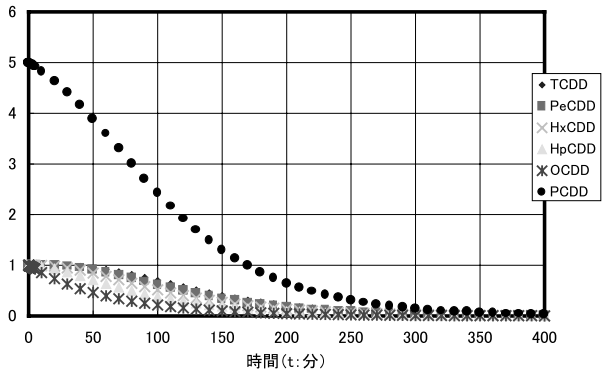


図 53 時間に伴う土壤中 PCDD 残存量の変化の推定
 ケース 2：4～8 塩素化 PCDD 同族体の割合が全て等しい場合
 半減期は全て等しく $t_{1/2}=45$ 分で計算

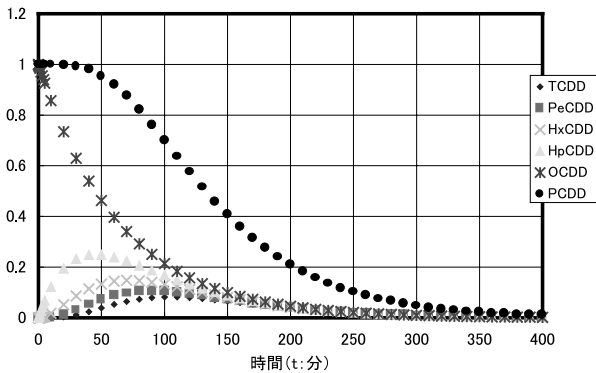


図 50 時間に伴う土壤中 PCDD 残存量の変化の推定
 ケース 1：ダイオキシン類の全てが OCDD の場合
 半減期は全て等しく $t_{1/2}=45$ 分で計算

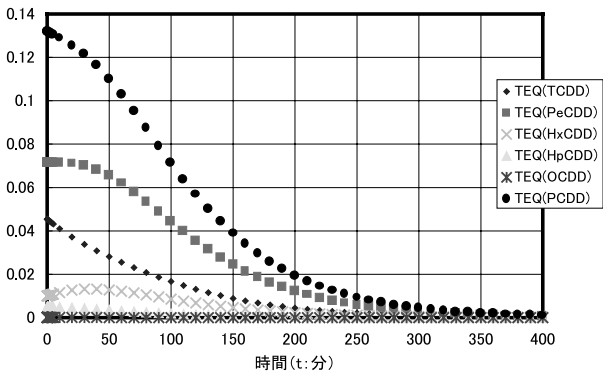


図 54 時間に伴う土壤中 TEQ の変化の推定
 ケース 2：4～8 塩素化 PCDD 同族体の割合が全て等しい場合
 半減期は全て等しく $t_{1/2}=45$ 分で計算

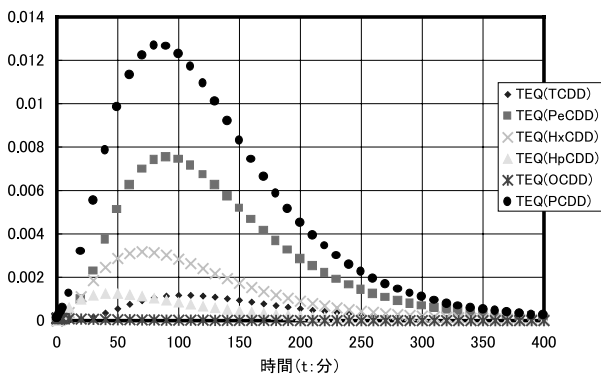


図 51 時間に伴う土壤中 TEQ の変化の推定
 ケース 1：ダイオキシン類の全てが OCDD の場合
 半減期は全て等しく $t_{1/2}=45$ 分で計算

やや速く減少していることが分かる。TEQ においては、処理後より減少が始まり、処理前より TEQ が増加するような現象はみられなかった。PeCDD の減少が緩やかなため、TEQ 全体の低減にはやや時間がかかるようであるが、処理をすればするだけ TEQ を下げる効果があることが分かる。ケース 2 は、平均的な環境試料を表現

すると考えられ、得られた結果から、熱水抽出の有効性が裏付けられた。

2.3.4 まとめ

この研究で、水だけで汚染土壌からダイオキシン類を除去できることが確認できた。温度は、除去率を左右する最も重要な因子であり、温度に比例して除去率が上がることを確認した。150 においても約 50 % のダイオキシン類の除去がみられたが、350 以上での抽出が効果的であることが確認できた (99 % 以上)。

加圧によって、除去を促進できることも確認できた。しかしながら、無加圧の状態であっても、ダイオキシン類の除去は可能であり、圧力は、熱水抽出において副次的な因子であると判断できる。

また、300 の場合では、最初の 30 分の抽出で 80 % 程度が除去され、240 分で 95 % 以上の除去が確認できたが、150 では土壌中のダイオキシン類濃度の減少は緩やかであった。

抽出液と抽出残さの分析から、熱水抽出によるダイオキシン類の分解が確認された。分解率は、温度、圧力の上昇に伴い増加していた。OCDD の添加試験より、脱塩素反応が、その主経路の一つと考えられた。PCDD の場合、2,3,7,8 の位置からの脱塩素がやや優先的であったが、脱塩素の過程で 2,3,7,8-TCDD や 1,2,3,7,8-PeCDD も生成することから、処理の途中では一時的に TEQ が処理前より増加する危険性があることが分かった。高塩素化物が著しく多い土壌の場合には、ダイオキシン類の分解を速やかに完了させる等の対応が必要である。また、PCDD から PCDF や PCB への変化は起きていないことが確認できた。

熱水によるダイオキシン類の除去・分解は試料を変えても同様に起きることが確認されたが、その程度は、試料の質により変化することが分かった。

土壌の構成成分とダイオキシン類の分解との関係は、特に明確ではなかったが、抽出液中の TOC 濃度とダイオキシン類濃度には相関がみられ、ダイオキシン類は他の有機物とともに抽出水へ溶出していると考えられた。

以上、この研究で検討した水熱反応を利用した手法によって、土壌からダイオキシン類を効率よく除去できることと、処理において注意すべき点を明らかにすることができた。付加的な処理や添加剤などを必要とせず、水だけでダイオキシン類などの汚染物質を除去できるこの

手法は、適切に運用すれば、画期的で環境にやさしい処理技術といえる。

2.4 底質中 PCB の回収技術とカリウム - ナトリウム合金による PCB の脱塩素化技術開発に関する研究

PCB 汚染物からの PCB 回収は真空蒸発法と溶媒洗浄法が使われている。PCB 汚染底質については、含有されている PCB を直接分解する方法と回収した後で分解する方法が考えられる。本研究では、回収して分解する方法を基本として技術開発研究を行った。底質中の PCB 回収では、毒性の弱いイソプロパノールを溶剤として、ソックスレー法での抽出を試みた。一方、PCB の分解技術に関してはすでに多くの研究が行われており、実用化されているものもある。これらの方法のひとつに金属ナトリウムを使用する方法が知られている。金属ナトリウムは PCB と反応すると、ナトリウム表面が塩化ナトリウムの皮膜で覆われ、活性が低下することが知られている。反応効率を高めるために、金属ナトリウムを粉状にする方法が使われている。本研究では、新しい方法として、室温で液状であるカリウム - ナトリウム合金を利用する脱塩素化反応を調べた。この合金は極めて高い活性をもつアルカリ金属で、空気中では扱えないために、反応系をすべてアルゴンで置換して実験を行った。

2.4.1 PCB 汚染底質からの PCB の抽出除去

PCB で汚染された河川底質から簡便に PCB を除去する方法としては、高速溶媒抽出法やマイクロウェーブ加熱で抽出する方法、ソックスレー抽出法などがある。いろいろな方法が基準としている抽出法がソックスレー法であり、また大量処理が可能であることや高価な装置を必要としないことを考慮して、ソックスレー抽出法を使うことにした。使用する抽出溶剤としては、沸点があまり高くないこと、水と混和すること、毒性が低いなどの点から、イソプロパノールを選んだ。また、イソプロパノールは水素供与体としても優れているため、抽出段階での脱塩素化反応が起こる可能性も考慮すると、きわめて望ましい溶媒である。

昔、製紙工場の排水が流入していた河川で、PCB で高濃度汚染されていることが分かっている底質を入手し、ドラフト内で室温で風乾したものを実験材料とした。この底質 20 g をイソプロパノール 240 ml でソックスレー

一抽出した。抽出時間は6, 24, 48時間の3通りで行った。表21に抽出前と抽出後のPCB同族体の底質中濃度を示した。6時間抽出でPCBの大半は抽出されていることが分かる。各異性体について、抽出液中のPCB量と底質中に残存していたPCB量を合計した量が、抽出前のPCB量に一致しているかどうか、を調べ

た結果、表22で示すように、抽出操作の過程で、部分的な脱塩素化が起こっていることが分かった。脱塩素化される量は塩素量換算で平均18%であった。低塩素化PCBの方が高塩素化PCBより脱塩素化されやすい傾向が明確に現れていた。

イソプロパノールによるソックスレー抽出での底質か

表21 抽出前と抽出後の底質中PCB同族体別濃度

	底質中PCB濃度 (µg/g-dry)			
	抽出前	6時間抽出後	24時間抽出後	48時間抽出後
一塩化ビフェニル	0.49	0.03	0.02	0.02
二塩化ビフェニル	81.0	1.20	1.10	0.94
三塩化ビフェニル	260	1.60	1.30	1.60
四塩化ビフェニル	180	1.00	0.68	0.76
五塩化ビフェニル	31.0	0.13	0.11	0.11
六塩化ビフェニル	10.0	0.05	0.06	0.05
七塩化ビフェニル	2.70	0.01	0.01	0.01
八塩化ビフェニル	0.54	0.00	0.00	0.00
九塩化ビフェニル	0.06	0.00	0.00	0.00
十塩化ビフェニル	0.00	0.00	0.00	0.00

表22 ソックスレー抽出におけるPCB各異性体の物質収支

異性体		総含有量 (µg)			
		抽出前	6時間抽出	24時間抽出	48時間抽出
一塩化ビフェニル	#1	6.00	4.19	4.43	4.29
	#2	0.65	0.73	0.76	0.75
	#3	3.13	3.18	3.34	3.28
二塩化ビフェニル	#10	4.66	0.00	0.00	0.00
	#4	324	338	371	0.00
	#9	31.9	0.00	0.00	0.00
	#7	9.30	0.00	0.00	0.00
	#6	132	179	0.00	0.00
	#5, #8	954	927	1120	1470
	#11	24.8	0.00	0.00	0.00
三塩化ビフェニル	#15	137	11.8	9.68	9.28
	#19	120	92.2	89.4	0.00
	#18	989	774	795	505
	#17	389	290	334	227
	#24	12.6	0.00	23.2	0.00
	#27	69.1	0.00	73.9	58.4
	#32	308	258	216	223
	#16	316	261	280	239
	#26	150	141	138	135
	#25	58.5	55.0	51.0	0.27
	#31	777	626	690	687
四塩化ビフェニル	#28	775	696	691	740
	#20, #21, #33	621	548	588	663
	#22	315	281	296	370
	#36	12.8	0.00	0.00	0.00
	#39	11.5	0.00	0.00	0.00
	#37	180	147	134	240
	#54	61.5	49.8	49.9	61.6
	#50	20.6	15.0	16.8	20.3
	#53	73.0	54.6	54.7	63.7
	#45	28.6	17.9	21.6	26.1
	#46, #52, #69, #73	293	204	228	267
	#43, #49	229	163	185	201
	#47, #48, #65, #75	187	139	144	181
	#44, #59	314	223	242	234
	#42	106	81.5	82.0	98.4
	#72	199	157	171	179
	#64, #71	192	130	145	132
	#40, #57	62.8	54.7	50.6	59.5
	#58, #63	26.0	31.0	21.2	22.9
	#61, #74	22.4	11.7	18.7	17.4

表 22 (つづき 1)

異性体		総含有量 (µg)				
		抽出前	6 時間抽出	24 時間抽出	48 時間抽出	
四塩化ビフェニル	#70	249	187	212	164	
	#76, #80	498	377	416	245	
	#66	460	362	352	203	
	#55	18.7	11.2	14.9	16.9	
	#56, #60	451	356	325	359	
	#81	4.31	7.91	3.93	3.95	
	#77	58.0	60.4	55.4	51.5	
	五塩化ビフェニル	#93, #95, #98, #102	63.8	48.2	50.1	62.8
		#88, #91, #121	13.0	9.94	9.86	12.6
		#84	36.2	28.8	29.5	35.6
#89, #90, #92, #101		80.3	66.9	67.1	79.4	
#99		35.4	30.3	30.5	27.3	
#112, #119		2.50	2.07	2.45	2.45	
#83, #109		5.16	4.27	4.55	4.42	
#86, #97, #117, #125		35.3	30.1	29.4	34.0	
#87, #111, #115, #116		47.5	39.3	39.5	44.7	
#85, #120		21.2	17.3	17.3	19.0	
#110		108	89.5	90.2	103	
#82		16.7	14.8	14.9	16.2	
#124		3.70	3.40	3.54	3.76	
#107, #108		6.99	6.24	6.43	6.75	
#123		2.21	2.02	2.12	2.11	
六塩化ビフェニル		#106, #118	89.2	81.3	83.0	89.3
	#114	4.29	3.71	3.73	3.88	
	#122	2.55	2.22	2.34	2.54	
	#105, #127	60.3	47.6	46.4	47.4	
	#126	0.23	0.36	0.36	0.32	
	#148	6.55	4.70	5.25	5.87	
	#154	0.00	0.21	0.21	0.26	
	#151	6.30	5.13	5.01	5.76	
	#135	4.05	3.49	3.65	3.95	
	#144, #147	2.76	2.19	2.35	2.70	
	#139, #149	28.1	23.4	23.2	26.0	
	#143	2.51	1.74	1.75	1.84	
	#133	1.30	1.03	1.03	1.17	
	#146	4.96	4.73	4.69	5.13	
#161	15.0	12.3	13.2	13.4		
#153	34.9	32.4	31.7	34.6		
#141	8.17	7.34	7.48	7.45		
#137	2.97	2.62	2.60	2.64		
#130	2.78	2.65	2.51	2.65		

らの PCB 除去率 (脱塩素化も含めて) は 6 時間抽出で 99.3 % , 24 時間抽出で 99.4 % , 48 時間抽出で 99.4 % であった。除去後の底質中 PCB 濃度は 3 ~ 4 µg/g であった。リスクの小さい底質とするためには PCB 含有濃度をさらに数 10 分の 1 以下に下げることが必要であり、今後の課題である。

2.4.2 カリウム - ナトリウム合金の調製と実験の概要

ナトリウムの融点は 97.9 °C , カリウムの融点は 63.6 °C であるが、カリウムの含量が 46 ~ 89 % のカリウム - ナトリウム合金は室温で液体である。本研究では、カリウムとナトリウムの等モルをフラスコに入れ、加熱かくはんして、簡単に合金を調製した。有機溶媒中でカリウム - ナトリウム合金をかくはんすると、微細な粒子状となって、液中に分散していき、PCB と反応しやすくなる。

本研究では、反応機構解明のために、特定の PCB 異性体 (2,2',4,4',5,5'-ヘキサクロロビフェニル) で実験を行った後に、市販された PCB 製品であるカネクロール 600 を使用した脱塩素化実験を行った。

2,2',4,4',5,5'-ヘキサクロロビフェニル (以下、ヘキサクロロビフェニルとよぶ) およびカネクロール 600 (以下、KC600 とよぶ) の実験条件を表 23 に示した。

実験 No. 3 と No. 5 は反応中間体を調べるためのもので、15 分のかくはん後すぐに反応を終了させて、生成物を分析した。PCB の分析条件は以下の通りである；カラム、PTE™-5 フェーズドシリカキャピラリーカラム (長さ 30 m , 内径 0.25 mm , 膜厚 0.25 mm) ; カラムオープン温度、50 °C で 1 分間保持後、20 °C / 分の速度で 220 °C まで、次に 5 °C / 分の速度で 300 °C まで昇温、300 °C で 5 分間保持；注入部温度、280 °C ; インターフェース部温度、300 °C ; キャリアガス (He) のカラム

表 22 (つづき 2)

異性体		総含有量 (μg)				
		抽出前	6 時間抽出	24時間抽出	48時間抽出	
六塩化ビフェニル	#163, #164	14.1	14.4	13.9	13.4	
	#138	37.5	36.0	36.4	37.3	
	#158, #160	8.42	7.45	7.49	7.81	
	#129	2.70	2.42	2.51	2.60	
	#166	0.00	0.41	0.41	0.45	
	#128	10.4	9.55	9.83	9.51	
	#167	3.30	2.90	3.10	3.05	
	#156	10.2	9.49	9.23	9.23	
	#157	1.88	1.93	1.98	1.88	
	#169	0.09	0.02	0.01	0.01	
	七塩化ビフェニル	#179	2.71	2.28	2.26	2.50
		#176	1.17	0.79	0.79	0.89
		#178	1.34	0.87	0.83	0.83
		#175	0.00	0.32	0.22	0.22
#182, #187		5.94	5.32	4.93	5.40	
#183		3.44	3.17	3.19	3.11	
#185		0.47	0.59	0.54	0.53	
#174		5.49	5.33	5.10	5.25	
#181		0.00	0.13	0.12	0.12	
#177		3.92	3.04	2.94	3.10	
#171		2.42	1.86	1.95	1.92	
#173		0.00	0.17	0.19	0.19	
#192		1.14	1.12	1.09	1.08	
#180, #193		15.6	14.9	14.6	14.0	
八塩化ビフェニル	#191	0.00	0.37	0.43	0.33	
	#170	8.39	8.10	7.74	8.13	
	#190	2.10	2.13	2.11	2.17	
	#189	0.68	0.63	0.62	0.62	
	#202	0.40	0.39	0.37	0.37	
	#200	0.32	0.31	0.31	0.3	
	#197	0.09	0.10	0.10	0.10	
	#199	0.35	0.32	0.31	0.30	
	#198, #201	2.38	2.27	2.23	2.20	
	#196, #203	2.80	2.71	2.77	2.65	
	#195	1.06	0.98	1.07	0.91	
	#194	3.19	3.21	3.19	3.06	
	#205	0.21	0.18	0.22	0.20	
	九塩化ビフェニル	#208	0.17	0.14	0.15	0.16
#207		0.13	0.11	0.11	0.12	
#206		0.89	0.83	0.89	0.86	
十塩化ビフェニル	#209	0.03	0.03	0.03	0.03	

表 23 カリウム - ナトリウム合金によるポリ塩化ビフェニルの脱塩素化反応の条件

実験番号	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5
サンプル名	2,2',4,4',5,5'-ヘキサクロロビフェニル	2,2',4,4',5,5'-ヘキサクロロビフェニル	2,2',4,4',5,5'-ヘキサクロロビフェニル	KC600	KC600
サンプル使用量 (mol)	0.00176	0.00176	0.00176	0.00176	0.00176
金属カリウム量 (mol)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
金属ナトリウム量 (mol)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
溶媒	ベンゼン	シクロヘキサン	シクロヘキサン	シクロヘキサン	シクロヘキサン
溶媒量 (ml)	80	80	80	80	80
攪拌時間 (min)	30	30	15	30	15
還流時間 (min)	120	120	還流は行わず	120	還流は行わず

ヘッド圧力, 82 kPa ; キャリアガス流速, 1.4 ml/分 ;
 キャリアガス線速度, 43.0 cm/sec ; 注入方式, スプリットレス方式 ; パージ時間, 60 sec ; イオン源温度, 192 ; イオン源圧力, 8.5×10^{-3} Pa ; イオン化エネルギー, 70 eV. 定量は質量分析計の選択イオン検出法 (SIM) で行い, 10 μg/ml と 50 μg/ml の標準溶液 (塩

素数が 1 個から 10 個までの異性体を混合した溶液) で作成した検量線を用い, 絶対検量線法で定量した。

2.4.3 2,2',4,4',5,5'-ヘキサクロロビフェニルの脱塩素化
 ヘキサクロロビフェニルについての実験結果を説明する。反応は室温下で 30 分間のかくはんによる接触反応

(還流前), 次いで2時間の還流(還流後), 最後にメタノールによる後処理(後処理後)の3段階について検討した。反応は発熱反応であるが, 反応液の温度上昇は溶媒によって差が観察された。ベンゼンを溶媒とした場合は温度上昇の幅が8 °であったのに対し, シクロヘキサンを溶媒とした場合は, その幅が15 °であった。この違いは溶媒の水素供与能力に起因しており, シクロヘキサンは大きな水素供与能力を持っていると考えられる。結論としては, ベンゼンよりも, シクロヘキサンの方が溶媒として, 優れている。反応の進行と共に不溶性のスラッジが生成した。このスラッジは分析の結果, 無機塩化物(塩化ナトリウムと塩化カリウム)であることが分かった。

脱塩素化の様子を図55に示した。実験No.1では, 加熱前での脱塩素化率は94.33%で, 終了時点では99.9998%であった。これに対し, 実験No.2では反応は初期の30分以内にほぼ終了し, この段階での脱塩素化率(塩素原子が無機化した割合)は99.9999%以上であった。このことから, シクロヘキサン中では, ヘキサクロロビフェニルの脱塩素化は急速に進行し, 30分以内に定量的に反応終了することが判明した。生成した塩素イオンは化学量論的値と一致していたことから, ヘキサクロロビフェニルの塩素は完全に無機化したことが分かった。また, 分解後の生成物を分析した結果, 塩素を含む生成物は微量しか検出されなかったことも, 上記の

結果を支持している。この微量の生成物はすべて塩素数が5以下のポリクロロビフェニルであった。ベンゼンあるいはシクロヘキサンを溶媒とした時の低塩素化体の生成状況を図56及び図57に示した。実験No.1においては, 加熱前で微量ながらいくつかの低塩素化体が観察されたが, 分解終了時ではごく微量になった。また, 実験No.1では, 微量ながら塩素数が3~5のターフェニルとクアテルフェニルが検出された。一方, 実験No.2ではこの種の副生物はまったく検出されなかった。

脱塩素化による還元体としては, 実験No.1ではピフェニル, シクロヘキシルベンゼン, シクロヘキセニルベンゼンが検出され, 実験No.2ではジシクロヘキシル, ビフェニル, シクロヘキシルベンゼン, シクロヘキセニルベンゼンが検出された。図58にこれら還元体のうち, 主成分の生成状況を示した。ただ, これらの生成量は少量であり, 大半は重合して, 有機溶媒に不溶な樹脂状物質となった。この樹脂状物質の重量は約0.3gで, 計算で求めた予想値(0.27g)と非常に近かった。

実験No.3で得られた脱塩素化反応の中間体濃度(表24参照)をもとに, 脱塩素化の反応機構を考察し, 図59のような経路を考えた。立体障害により, オルト位の塩素は脱塩素化されにくい傾向が観察された。メタ位とパラ位の塩素では, パラ位が反応しやすいと考えられる。

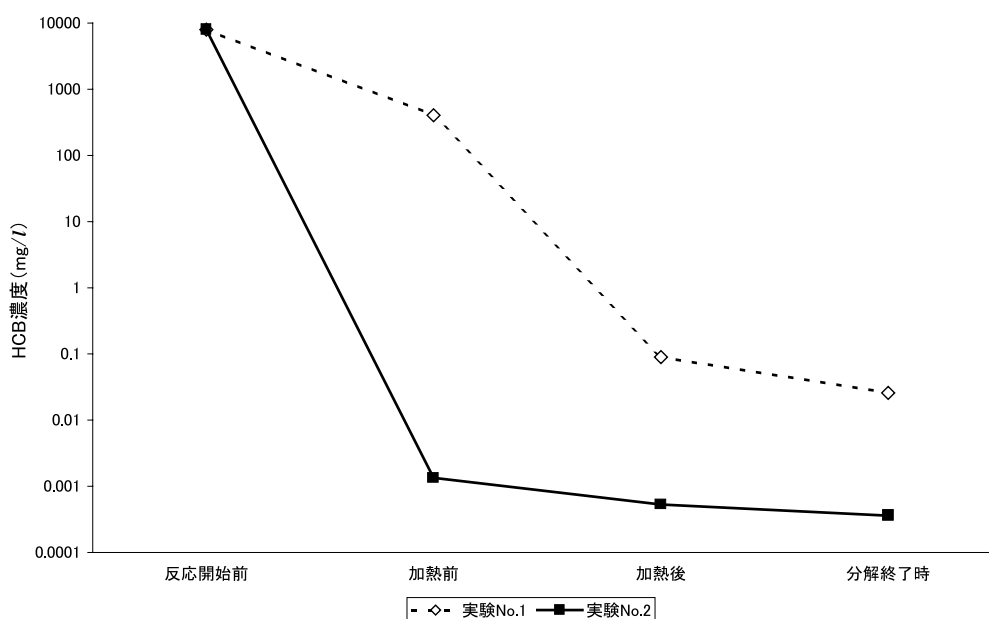


図55 カリウム - ナトリウム合金による2,2',4,4',5,5'-ヘキサクロロビフェニル(HCB)の脱塩素化反応におけるHCBの残存量

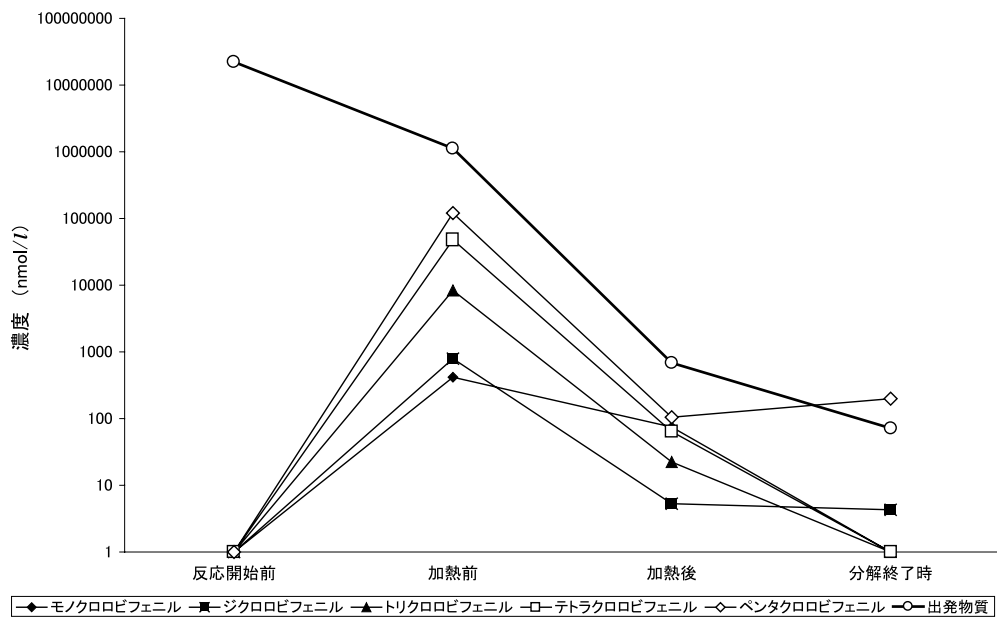


図 56 ベンゼンを溶媒とした時の脱塩素化反応の様子

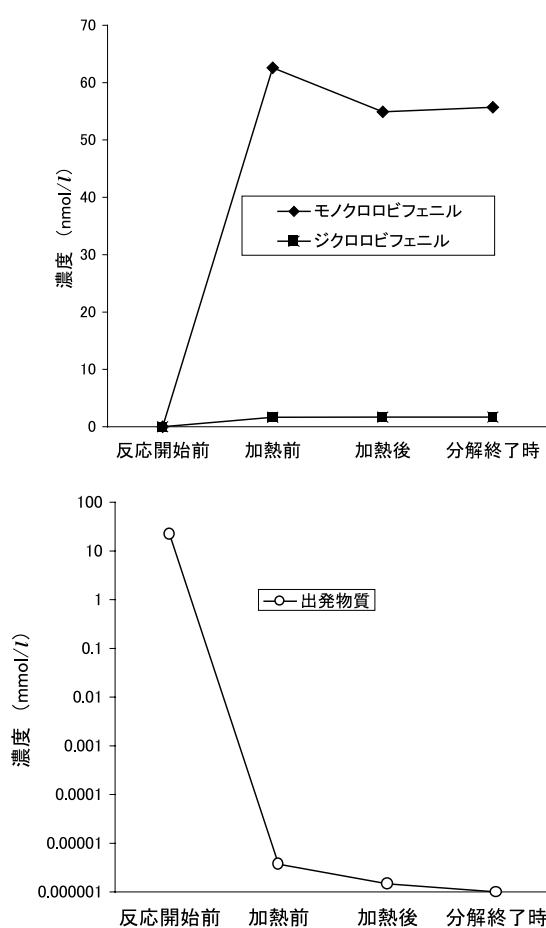


図 57 シクロヘキサンを溶媒とした時の脱塩素化反応の様子

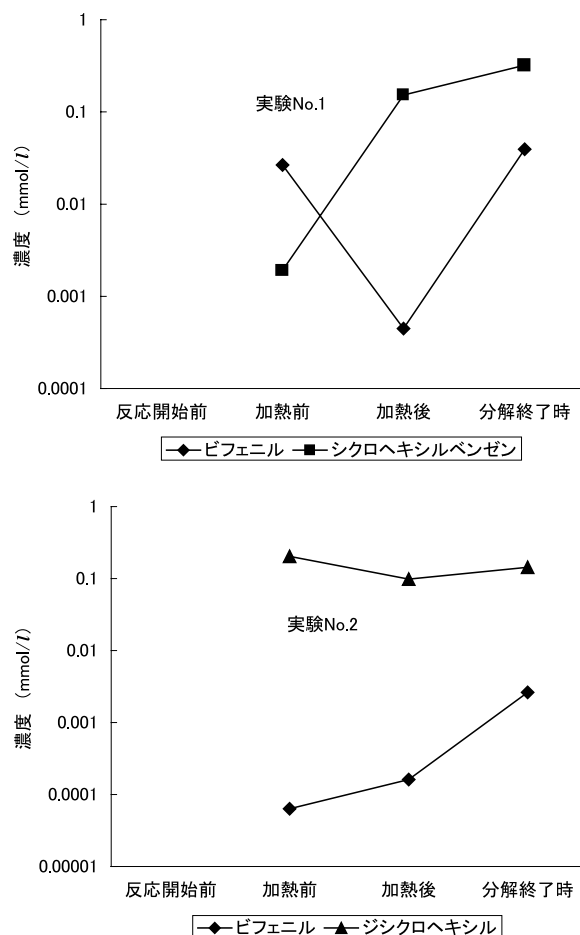


図 58 脱塩素化反応における還元体の生成状況

表 24 実験 No.3 における脱塩素化反応で検出されたポリクロロビフェニル異性体

化合物名	保持時間(分)	濃度(nmol/l)
2-クロロビフェニル	8.35	0.077
3-クロロビフェニル	8.80	0.036
4-クロロビフェニル	8.85	0.007
2,2'-ジクロロビフェニル	9.09	0.095
2,4/2,5-ジクロロビフェニル	9.37	0.145
2,3'-ジクロロビフェニル	9.50	0.066
2,4'-ジクロロビフェニル	9.56	0.015
3,3'-ジクロロビフェニル	9.94	0.040
3,4/3,4'-ジクロロビフェニル	10.02	0.160
2,2',5-トリクロロビフェニル	10.05	0.588
2,4,5-トリクロロビフェニル	10.45	0.752
2,3',5-トリクロロビフェニル	10.50	0.147
2,4',5/2,4,4'-トリクロロビフェニル	10.61	0.028
2,3',4'-トリクロロビフェニル	10.76	0.840
3,3',4-トリクロロビフェニル	11.34	0.300
3,4,4'-トリクロロビフェニル	11.46	0.038
2,2',5,5'-テトラクロロビフェニル	11.09	0.901
2,2',4,5'-テトラクロロビフェニル	11.16	0.187
2,2',4,4'-/2,2',4,5-テトラクロロビフェニル	11.22	8.86
2,3',4,5-テトラクロロビフェニル	11.80	1.11
2,4,4',5-テトラクロロビフェニル	11.95	0.186
2,3',4',5-テトラクロロビフェニル	12.01	2.59
2,3',4,4'-テトラクロロビフェニル	12.07	0.17
2,2',4,5,5'-ペンタクロロビフェニル	12.50	38.2
2,2',4,4',5-ペンタクロロビフェニル	12.59	6.96
2,3',4,4',5-ペンタクロロビフェニル	13.69	14.5

出発物質(2,2',4,4',5,5'-ヘキサクロロビフェニル)の初期濃度は770 nmol/l

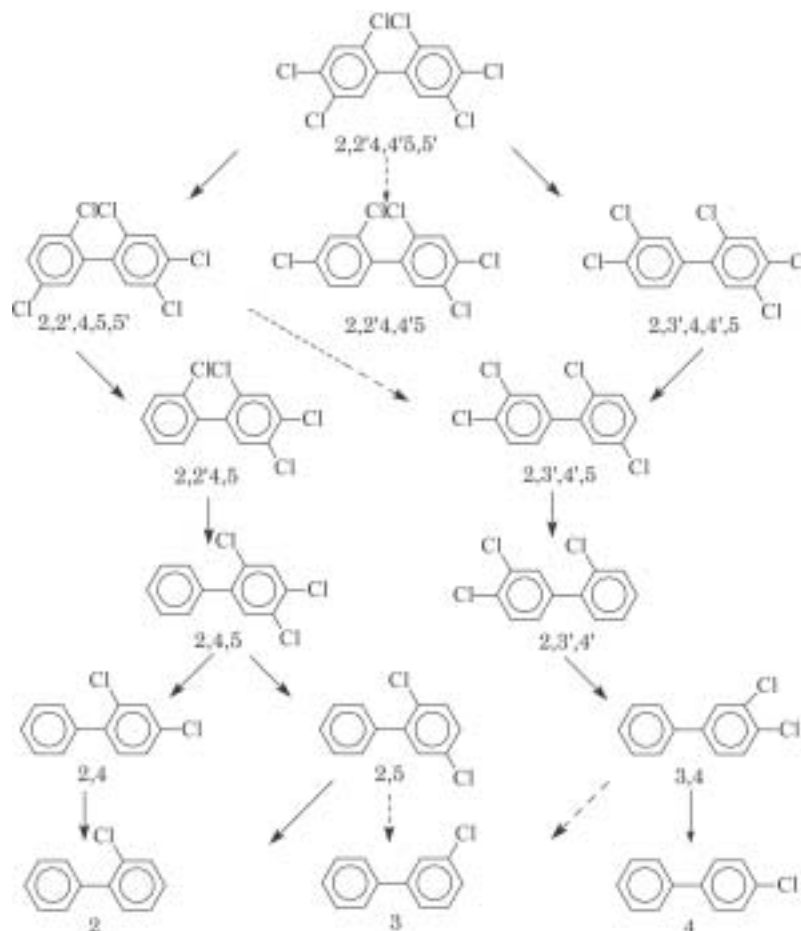


図 59 脱塩素化反応機構(推定)

2.4.4 カネクロール 600 の脱塩素化

次にカネクロール 600 (KC600) を使用した分解実験の結果を述べる。上述の実験結果を踏まえて、反応溶媒はシクロヘキサンを用いた。反応熱による温度上昇の幅は図 60 に示したように 16.1 °C であり、ヘキサクロロビフェニルの時とほとんど同じであった。

図 61 に総 PCB に含まれる塩素量の変化を示した。塩素量は PCB 各異性体のモル量に塩素原子数と塩素原子量を掛け合わせた値の総和で表示した。脱塩素化反応

前の総塩素量は 381,238 μg であったが、室温でのかくはんだけで 0.263 μg 、加熱還流で 0.231 μg 、メタノール分解 (反応終了) 後で 0.136 μg に減少した。したがって、脱塩素化は室温下での 30 分間のかくはんだけで、ほぼ終了することが判明し、塩素量から計算された脱塩素化率は 99.99996 % (平均値) であった。また、反応終了後の PCB 平均濃度は 0.0067 mg/kg で、PCB 含有廃油処理液の廃棄基準である 0.5 mg/kg より十分に低い濃度にまで減少した。

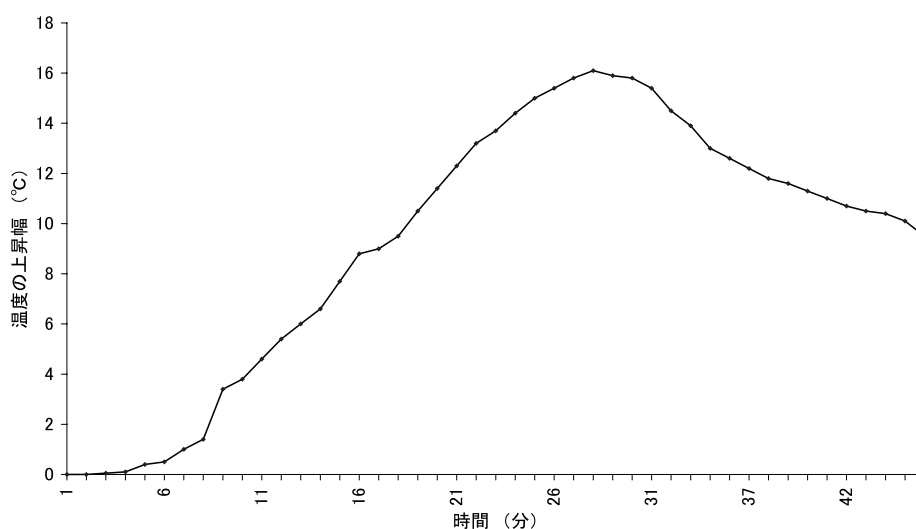


図 60 カネクロール 600 の脱塩素化反応における温度変化

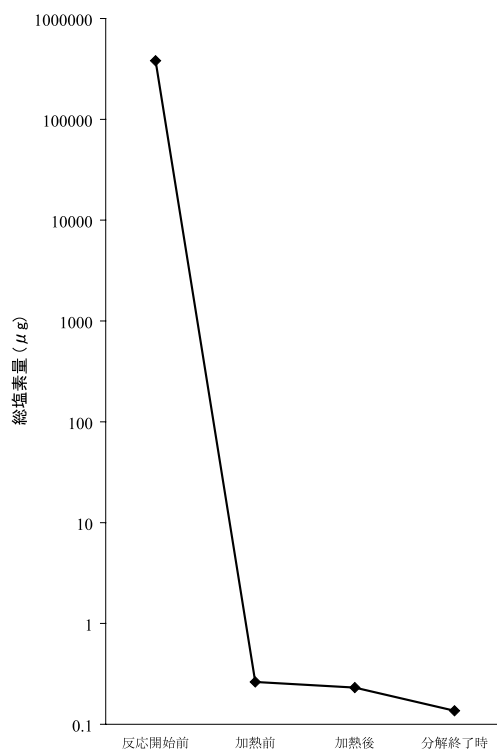


図 61 カネクロール 600 の脱塩素化反応における PCB 中の総塩素量の変化

反応に使用した KC600 中に含まれる塩素総量 (381,238 μg) を 100 % とした時の、反応終了後の塩素量の分布を調べた結果を表 25 に示した。PCB を使用しないで、同様の反応を行った実験 (コントロール実験) では、水層から 2260 μg の塩化物イオンが検出された。この塩化物イオンはカリウム - ナトリウム合金及び有機溶媒に含まれていた塩素化合物に由来すると考えられる。脱塩素化反応における水層中の塩化物イオン量は 386,000 μg であり、コントロール実験の塩素量を差し引くと約 384,000 μg となる。測定法の誤差が 5 % 程度であるので、真の塩素量は 403,000 μg ~ 365,000 μg (反応前の塩素量の 106 ~ 96 % に相当) の範囲にあると考えられる。残存 PCB 中の塩素量は 0.136 μg であり、反応前の塩素量の 0.00003 % に相当する。以上のことから、PCB 中の塩素は大半が K-Na 合金によって無機の塩化物イオンに変化したと考えられる。

アルカリ金属によるウルツ反応では PCB が二量化してクアテルフェニルおよびその塩素化体が生成することが予想される。反応終了後の溶液濃縮物をスキャンモ-

ドの GC/MS で測定し、マスクロマトグラフィーで二量体の存在を調べたが、検出されなかった。

GC/MS による分析の結果、反応生成物はビフェニル、シクロヘキシルベンゼン、ジシクロヘキシルであった。また、これらの化合物が重合して生成したと考えられる不溶性スラッジ (0.40 g) が得られた。PCB 量および脱塩素化反応生成物の生成量の関係をモル換算で図 62 に示した。還元体は予想された量よりもかなり少ない。PCB の塩素原子がアルカリ金属で置換された後に加水分解されるだけならば、ビフェニルが主生成物となるが、実際にはさらに還元が進んだシクロヘキシルベンゼンやジシクロヘキシルが生成していることから、別の反応機構が存在すると考えられる。アルカリ金属から電子が PCB に移動して生じたラジカルアニオンが塩素アニオンを脱離すると共に、溶媒のシクロヘキサンから水素が移動することによって、これら 3 種類の反応生成物が生じたと考えられる。

原料の KC600 に含まれる PCB 異性体を塩素数ごとに集計した成分組成を表 26 に示した。塩素数が 6 個、

表 25 脱塩素化反応における塩素収支

	総塩素量 (μg)		
	脱塩素化実験		コントロール実験
	反応前	反応後	反応後
PCB中の塩素量	381,000	0.136	0
水層中の塩素量	0	386,000	2260

有効数字は 3 桁。コントロール実験では PCB を使用しないで、同じ操作を行った。

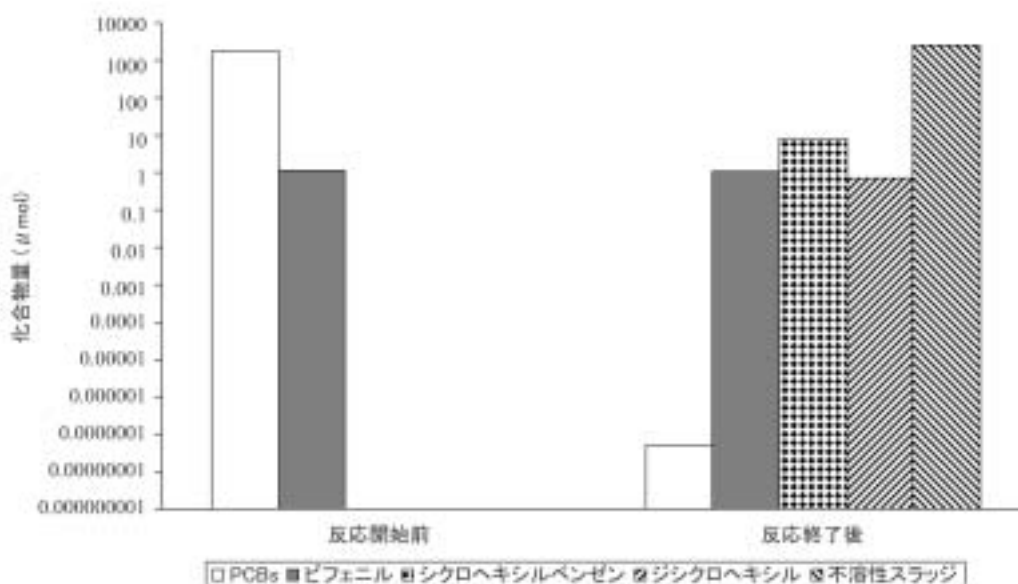


図 62 カネクロール 600 の脱塩素化反応における PCB 量と脱塩素化生成物の収支
不溶性スラッジはビフェニルの重合体と仮定した時のモノマー量で表示

表 26 カネクロール 600 中に含まれる PCB 異性体の塩素数ごとに集計した組成比率

塩素数	組成比 (%)
1	0.03
2	0.24
3	1.15
4	1.34
5	11.9
6	38.6
7	35.9
8	10.5
9	0.41
10	0.016

7 個の異性体が主成分である。反応前の KC600 溶液, KC600 滴下終了後 15 分後と 30 分後に採取した反応溶液中の PCB 異性体の濃度を表 27 に示した。反応 15 分後では, 七塩化ビフェニル, 八塩化ビフェニルの比率が減少し, 五塩化ビフェニル以下の低塩素化ビフェニルの比率が増加した。これは高塩素化物からの脱塩素によって低塩素化物が生成したと思われる。還元的脱塩素化では低塩素化物よりも高塩素化物が脱塩素化されやすいと

の報告に合致している。

SIM による定量の結果では, 30 分後でも 2-クロロビフェニルが残存していた。各異性体について分子構造から検討した結果, 反応前の試料ではオルト位に塩素原子をもつ異性体が大半を占めているが, 反応 15 分でもオルト位の塩素原子が脱離した異性体は生成しにくいことから, オルト位の塩素原子は脱離しにくいことが観察された。2-クロロビフェニルが残ったのは, この理由によると思われる。

2.5 植物の生育による土壌中の PCB・ダイオキシン類およびビスフェノール A の浄化技術開発に関する研究

PCB の分解技術として日本国内で認められている方法はアルカリ触媒化学分解法 (BCD 法), 化学抽出分解法, 金属ナトリウムを使用する方法, カリウム tert-ブトキサイド法, 触媒水素化脱塩素化法, 超臨界水酸化法などである。これらの方法は高い分解効率を示すが, 処

表 27 カネクロール 600 の脱塩素化反応における PCB 異性体の濃度変化

ポリ塩化ビフェニル異性体	反応開始前	反応開始後	反応開始後
		15分	30分
2-chlorobiphenyl	8.74	2.08	0.00031
3-chlorobiphenyl	0.594	0.297	nd
4-chlorobiphenyl	3.46	0.933	nd
2,6-/2,2'-dichlorobiphenyl	13.3	3.48	nd
2,5-/2,4-dichlorobiphenyl	2.08	0.988	nd
2,3'-dichlorobiphenyl	5.79	2.28	nd
2,4'-/2,3-dichlorobiphenyl	47.6	12.0	nd
3,5-dichlorobiphenyl	nd	0.0461	nd
3,3'-dichlorobiphenyl	nd	0.133	nd
4,4'-dichlorobiphenyl	15.6	nd	nd
2,2',6-trichlorobiphenyl	4.48	1.09	nd
2,2',5-trichlorobiphenyl	42.5	11.0	nd
2,2',4-trichlorobiphenyl	29.5	3.01	nd
2,3,6-/2,3',6-trichlorobiphenyl	5.40	1.31	nd
2,2',3-/2,4',6-trichlorobiphenyl	32.2	5.65	nd
2',3,5-trichlorobiphenyl	nd	0.276	nd
2,3',5-trichlorobiphenyl	10.4	2.95	nd
2,3',4-trichlorobiphenyl	6.47	0.876	nd
2,4',5-/2,4,4'-trichlorobiphenyl	99.4	12.5	nd
2,3,4-/2,3,3'-/2',3,4-trichlorobiphenyl	23.2	9.89	nd
2,3,4'-trichlorobiphenyl	23.2	4.48	nd
3,3',4-trichlorobiphenyl	nd	0.401	nd
3,4,4'-trichlorobiphenyl	12.8	2.47	nd
2,2',6,6'-tetrachlorobiphenyl	5.70	1.20	nd
2,2',4,6'-tetrachlorobiphenyl	1.75	0.248	nd
2,2',3,6-tetrachlorobiphenyl	5.40	1.55	nd
2,2',3,6'-tetrachlorobiphenyl	130	21.0	nd
2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl	26.4	4.57	nd
2,2',3,5-/2,2',4,5'-tetrachlorobiphenyl	11.3	3.25	nd
2,2',4,4'-/2,4,4',6-/2,2',4,5-/2,3,5,6-tetrachlorobiphenyl	nd	7.43	nd

表 27 (つづき 1)

ポリ塩化ビフェニル異性体	反応開始前	反応開始後	反応開始後
		15分	30分
2,2',3,5'-/2,3,3',6-tetrachlorobiphenyl	36.8	2.07	nd
2,2',3,4'-tetrachlorobiphenyl	9.33	0.236	nd
2,2',3,4-/2,3,4',6-tetrachlorobiphenyl	31.9	5.60	nd
2,2',3,3'-/2,3,3',5-tetrachlorobiphenyl	4.82	0.854	nd
2,3',4,5-tetrachlorobiphenyl	1.41	0.719	nd
2,3,4',5-/2,3,3',5'-tetrachlorobiphenyl	1.52	0.188	nd
2,3,4,5-/2,4,4',5-tetrachlorobiphenyl	19.6	2.63	nd
2,3',4',5-tetrachlorobiphenyl	77.4	14.9	nd
2,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl	nd	0.199	nd
2,2',3,6,6'-/2,2',4,5',6-pentachlorobiphenyl	nd	0.348	nd
2,2',4,4',6-pentachlorobiphenyl	nd	0.671	nd
2,2',3,5',6-/2,2',4,5,6'-/2,2',3',4,6-/2,2',3,5,6-pentachlorobiphenyl	573	63.5	nd
2,2',3,4,6-/2,2',3,4',6-/2,3',4,5',6-pentachlorobiphenyl	10.0	2.28	nd
2,2',3,3',6-pentachlorobiphenyl	nd	nd	0.00036
2,2',3,5,5'-pentachlorobiphenyl	53.5	8.59	nd
2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl	756	74.3	0.00021
2,2',4,4',5-pentachlorobiphenyl	45.6	4.96	nd
2,3,3',5,6-/2,3',4,4',6-pentachlorobiphenyl	1.07	0.441	nd
2,2',3,3',5-/2,3,3',4',5-pentachlorobiphenyl	4.33	0.0353	nd
2,2',3',4,5-/2,2',3,4,5-/2,3,4',5,6-/2',3,4,5,6'-pentachlorobiphenyl	30.6	4.98	nd
2,2',3,4,5'-/2,3,3',5,5'-/2,3,4,4',6-/2,3,4,5,6-pentachlorobiphenyl	80.9	10.1	nd
2,2',3,4,4'-/2,3',4,5,5'-pentachlorobiphenyl	7.71	1.44	nd
2,3,3',4',6-pentachlorobiphenyl	301	42.7	nd
2',3,4,5,5'-pentachlorobiphenyl	306	nd	nd
2,3,3',4,5'-pentachlorobiphenyl	5.47	nd	0.00064
2,3,3',4,5-/2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl	157	15.5	nd
2,3,4,4',5-pentachlorobiphenyl	0.875	nd	nd
2,3,3',4,4'-/3,3',4,5,5'-pentachlorobiphenyl	59.2	4.82	nd
3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl	508	nd	nd

理コストが高く、高濃度汚染媒体の処理には適しているが、大量の低濃度汚染媒体の処理には適用しにくいと考えられる。一方、ダイオキシン類の処理方法としては、高温分解が有効であるが、大量の廃棄物の処理には不向きである。大量処理が可能な方法は、汚染土壌などを掘削除去、埋設、盛土による封じ込めである。しかし、この方法はダイオキシン類汚染媒体を単に別の場所に移動するだけの一時的な処理法にすぎない。これに対して、植物を用いた環境浄化は低コストかつ現場で実施できる対策法として期待されている。また内分泌かく乱化学物質の疑いが持たれているビスフェノールA (BPA) は微生物で分解することは知られているが、分解機構や植物による分解の可能性については不明である。本研究では、植物による土壌中 PCB・ダイオキシン類の浄化実験及び BPA の浄化実験を行った。

2.5.1 ベラドンナ毛状根による PCB の分解実験

ベラドンナ (*Atropa belladonna*) から誘導した毛状根 (M-01724-No.8 クローン) をカネクロール 300 (KC300) を含有する MS 培地 (Murashige 氏と Skoog 氏が開発した培地) で培養し、PCB の分解を調べた。PCB は MS 培地に完全には溶解しないが、ジメチルスルホキシド (DMSO) を 0.5 % 添加すると、毛状根の生育を阻害することなく、PCB を分散させることが可能となった。0.5 % DMSO を添加した MS 培地に KC300 を 10 mg/l および 100 mg/l になるように溶かし、毛状根を培養した。培地および毛状根中の PCB 各異性体の個別定量を行い、毛状根の PCB 分解について調べた。毛状根の生育は PCB 添加により阻害され、PCB 添加濃度が高いほど生育阻害効果は高かった。培地への PCB 添加濃度 10 mg/l の場合、培養 3 週間後から二塩化 PCB の分解が確認された。しかし、PCB 添加濃度 100 mg/l では、培養 5 週間を経過しても、顕著な PCB 分解は確

表 27 (つづき 2)

ポリ塩化ビフェニル異性体	反応開始前	反応開始後	反応開始後
		15分	30分
2,2',4,4',6,6'-hexachlorobiphenyl	nd	1.10	nd
2,2',3,3',6,6'-hexachlorobiphenyl	440	49.0	nd
2,2',4,4',5,6'-hexachlorobiphenyl	767	1.08	nd
2,2',3,5,5',6-hexachlorobiphenyl	nd	36.4	0.00022
2,2',3,3',5,6'-hexachlorobiphenyl	362	32.1	nd
2,2',3,4',5,6-/2,2',3,4,5',6-hexachloro-biphenyl	1880	147	0.00037
2,2',3,4,4',6-/2,2',3,4',5',6-hexachloro-biphenyl	54.4	nd	nd
2,2',3,3',5,6-hexachlorobiphenyl	205	3.66	nd
2,2',3,3',4,6-/2,2',3,4,5,6-hexachloro-biphenyl	2250	24.8	nd
2,3,3',5,5',6-hexachlorobiphenyl	nd	nd	0.0016
2,2',3,4',5,5'-hexachlorobiphenyl	399	172	nd
2,3,3',4,5',6-hexachlorobiphenyl	468	nd	nd
2,2',3,3',4,6'-hexachlorobiphenyl	nd	24.1	nd
2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl	8.54	0.785	nd
2,2',3,4,4',5'-hexachlorobiphenyl	1510	97.5	0.00045
2,3,3',4,4',6-hexachlorobiphenyl	nd	8.25	nd
2,2',3,3',4,4'-/2,3',4,4',5,5'-hexachloro-biphenyl	69.2	8.53	nd
2,3,3',4,4',5-hexachlorobiphenyl	68.2	nd	nd
2,2',3,3',5,6,6'-heptachlorobiphenyl	720	48.6	0.00043
2,2',3,3',4,6,6'-heptachlorobiphenyl	201	18.6	nd
2,2',3,3',5,5',6-heptachlorobiphenyl	189	11.6	nd
2,2',3,3',4,5',6-heptachlorobiphenyl	nd	2.90	nd
2,2',3,4,4',5,6'-heptachlorobiphenyl	1310	72.8	0.00053
2,2',3,4,4',5',6-heptachlorobiphenyl	594	nd	0.0004
2,2',3,4,5,5',6-heptachlorobiphenyl	138	43.2	nd
2,2',3,3',4,5,6'-heptachlorobiphenyl	894	2.18	0.00047
2,2',3,3',4',5,6-heptachlorobiphenyl	436	69.0	nd
2,2',3,3',4,4',6-heptachlorobiphenyl	182	27.5	nd
2,2',3,3',4,5,6-heptachlorobiphenyl	nd	15.2	nd

認できなかった。また、培養日数が進むにつれて培地に添加した PCB が油滴となって分離する現象が観察されたことから、PCB の培地への分散・溶解状態が培養期間を通じて十分に維持されなかったために、毛状根による PCB 分解が十分に達成されなかった可能性がある。そこで、PCB を培地に分散溶解させ、毛状根の生育阻害を最小限にできる界面活性剤を探索した。その結果、DMSO および非イオン界面活性剤を 0.01 ~ 0.1 重量% 培地に添加するのが最適であることが分かった。代表的な実験結果を表 28 に示した。Ri プラスミドで誘導されたベラドンナ毛状根は Tween20 添加状態で、100 mg/l 濃度の PCB を 3 週間で 50 % あまり分解することが明らかとなった。

2.5.2 ベラドンナ栽培による土壤中の PCB およびダイオキシン類の浄化

実際の植物を人工的に調製した PCB およびダイオキ

シン類で汚染させた土壌で栽培し、土壌中の PCB およびダイオキシン類がどの程度除去されたか、調べた。

PCB およびダイオキシン類を含有する土壌の調製は以下のように行った。赤玉土とピートモスを容積比で 8 : 2 になるように混合し、さらに被覆複合肥料(緩効性肥料)を 5 g/l の割合で混合した。この土壌に、PCB (KC300) の DMSO 溶液 (20 g/l) およびゴミ焼却場飛灰のトルエン抽出物をジクロロメタンに溶かした溶液を、PCB およびダイオキシン類の土壌中濃度がそれぞれ 100 mg/l および 1 ng-TEQ/g になるように添加して、かくはん混合した。

上で調製した PCB およびダイオキシン類含有土壌 1 リットルを 1/5000 アールのワグネルポットに充填し、ベラドンナを、1 ワグネルポット当たり 3 株植え込んだ。温室内で適宜灌水や除草などの通常管理を施し、1 年間栽培した。栽培期間終了後、検土壌を用い、1 ポットにつき 5 点サンプリングし、これを合せて分析用サンプル

表 27 (つづき 3)

ポリ塩化ビフェニル異性体	反応開始前	反応開始後	
		15分	30分
2,2',3,3',4,5,5'-heptachlorobiphenyl	nd	8.04	nd
2,3,3',4,5,5',6-heptachlorobiphenyl	nd	nd	nd
2,3,3',4',5,5',6-heptachlorobiphenyl	nd	nd	nd
2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl	1860	101	0.00081
2,3,3',4,4',5',6-heptachlorobiphenyl	25.8	2.38	nd
2,2',3,3',4,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl	653	31.9	0.00039
2,2',3,3',5,5',6,6'-octachlorobiphenyl	143	6.80	nd
2,2',3,3',4,5,6,6'-octachlorobiphenyl	101	6.66	nd
2,2',3,4,4',5,6,6'-octachlorobiphenyl	42.5	2.46	nd
2,2',3,3',4,4',6,6'-octachlorobiphenyl	97.0	2.50	0.0028
2,2',3,3',4,5,5',6'-octachlorobiphenyl	29.6	0.271	nd
2,2',3,3',4,5,5',6-/2,2',3,3',4,5',6,6'-octachlorobiphenyl	431	19.6	nd
2,2',3,4,4',5,5',6-/2,2',3,3',4,4',5',6-octachlorobiphenyl	523	18.5	nd
2,2',3,3',4,4',5,6-octachlorobiphenyl	148	2.58	0.0034
2,2',3,3',4,4',5,5'-octachlorobiphenyl	378	12.0	nd
2,3,3',4,4',5,5',6-octachlorobiphenyl	44.4	nd	nd
2,2',3,3',4,5,5',6,6'-nonachlorobiphenyl	12.0	0.257	nd
2,2',3,3',4,4',5,6,6'-nonachlorobiphenyl	9.34	0.274	nd
2,2',3,3',4,4',5,5',6-nonachlorobiphenyl	49.5	0.498	nd
2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-decachlorobiphenyl	2.62	0.0076	nd

nd: 不検出

表 28 ベラドンナ毛状根による PCB 分解モデル実験の結果

	培養条件				毛状根の生重量(g)			添加したPCBに対する割合(%)			
	培地	添加剤	PCB濃度	生物種	開始時	培養1週後	培養3週後	培養1週後		培養3週後	
								培地中のPCB	根中のPCB	培地中のPCB	根中のPCB
実験No.1	MS培地	DMSO 0.05ml/l	10mg/l	Riプラスミド誘導ベラドンナ毛状根	0.20	1.16	1.67	58	40	14	64
実験No.2	MS培地	DMSO 0.5ml/l Tween20 0.01%	100mg/l	Riプラスミド誘導ベラドンナ毛状根	0.20	0.31	0.78	60	17	19	29
コントロール実験	MS培地	DMSO 0.05ml/l	10mg/l	非誘導ベラドンナ毛状根	0.20	0.28	0.43	81	16	68	25

とした。土壌サンプルは風乾燥、常法により PCB およびダイオキシン類を分析した。結果を、土壌中の残存率でみると、PCB は 74 %，ダイオキシン類は 83 %であった。

結論としては、植物による土壌中の PCB およびダイオキシン類の浄化は新しい実現可能な技術であり、植物の改良により、さらに効率のよいものとなり得るであろう。

2.5.3 植物による BPA の分解実験

BPA はプラスチックなどから環境中に多量に放出されている物質で、内分泌かく乱化学物質の疑いが持たれ

ている。この物質が土壌 / 植物圏の中でどのように吸収・分解されていくのか、ほとんど知られていない。本研究では、植物 (タバコ) の細胞及び実生による BPA の吸収・代謝機構の解明、および BPA の浄化に適した植物のスクリーニングを行った。

(1) タバコ液体培養細胞 BY-2 による BPA の吸収・代謝

タバコ液体培養細胞 BY-2 が BPA を吸収するか、また吸収された BPA が代謝されるかどうかを調べた。

16 μM の 2,4-D を含んだ Murasige-Skoog (MSD) で 25 , 2 週間、振とう培養したタバコ液体培養細胞

BY-2へBPAを溶解し、10 mg/l (43.86 μM) となるように培養液に添加した。培養液 (50 ml) 中のBPAの濃度を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定した。HPLCの分析はC₁₈逆相カラム (3.9 × 150 mm, Waters製), 移動相40%メタノール, 流量1 ml/min, カラムオープン40, 測定吸収波長217 nmの条件で行った。細胞数の測定は血球計算盤を用いた。

アイソトープを用いての代謝産物の同定は以下のように行った。放射ラベルしたBPAを2週間MSDで振とう培養したタバコ液体培養細胞BY-2 (50 ml) にpropyl-2[¹⁴C]-BPA 410 kBqを濃度10 mg/lになるように与え、25°Cで一定時間培養した。一定時間経過後、各培地と細胞のサンプリングを行った。培地の25 μlをシンチレーション液 (aquasol) に入れ、シンチレーションカウンターで測定した。また培地の20 μlをHPLCにかけ、0.5 mlずつシンチレーション液に分取して、それをシンチレーションカウンターで測定した。

3 mlの細胞を含む培地を10 mlのメタノールに加えて混合し、24時間室温に放置した。上澄みの50 μlを上記と同じ条件でHPLCにかけ、0.5 mlずつ分取して、シンチレーションカウンターで放射活性を測定した。

図63には培地中のBPAがタバコ液体培養細胞BY-2によって減少していく様子を示した。図63(A)に示すように、BPA 10 ppmを培地に加え、その経時変化を観察したが、細胞が入っていないコントロールとして、細胞を取り除いた培地にBPAを投入した場合でも、新しい培地にBPAを投入した場合のどちらもBPAの濃度に変化がなかった。それに対し、細胞を新しい培地に移し

替えた後にBPAを投入したものと培養直後の培地にBPAを投入したものの、どちらもBPAが時間とともに減少し、2.5時間後にはほぼ0となった。

図63(B)は¹⁴CでラベルしたBPAを細胞の入った培地に投入した時の培地の放射活性を示したものであるが、細胞が入っていない場合はBPA濃度に変化がなかったのに対し、細胞が培地に入っているものでは3分の1にまで放射活性が減少した。このことから、BPAが細胞の出している物質によって変化しているのではなく、細胞内に取り込まれている可能性があるかと推測された。

細胞内に取り込まれた¹⁴C-BPAをHPLCで分析すると、BPAを投入した直後はBPAのままであるのに対し (図64(A)), 0.25時間後に抽出をしたものはBPAのピークが減少し、他にBPAより極性が高い保持時間に2つのピークが現れた (図64(B))。0.5時間後にはBPAより高い極性をもつ4本のピークが現れた。極性の低いものから順にC, D, G, Lと呼ぶことにする。

0.5時間後では0.25時間後よりさらにBPAのピークが減少し、Lのピークが大きくなった (図64(C))。これより、BPAは細胞に取り込まれた後、BPAより極性の高い代謝産物に代謝され、その代謝産物は少なくとも4種類あると考えられた。

図65でBPAの代謝産物が培地に放出されている様子を示した。図63でラベルされていないBPAを用いた場合2.5時間後にBPAはほぼ0にまで減少したが、¹⁴CでラベルしたBPAを用いたものは4時間後でも投入量の3分の1量までしか放射活性が減少しなかった。図65(B)は¹⁴C-BPA投入後2時間の培地をHPLCで分

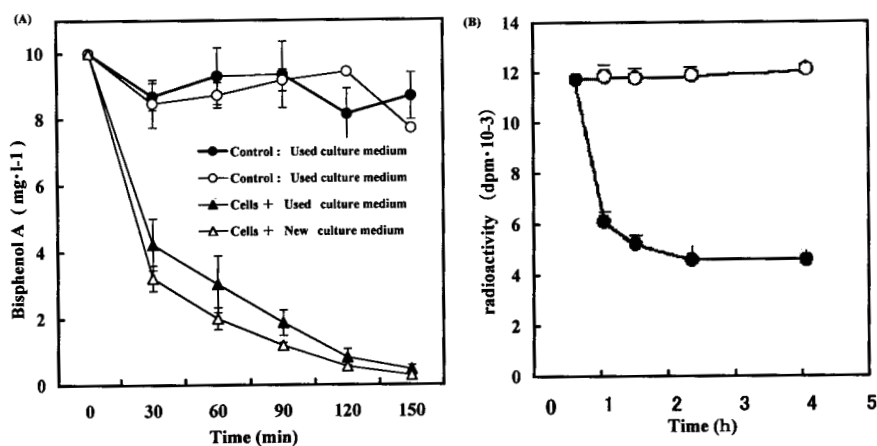


図63 BY-2細胞による培地内のBPAの吸収
 (A) 培地内のBPAをタバコ液体培養細胞BY-2が吸収していく過程を示した。
 (B) ¹⁴C-BPAを培地に加えたものである (n=3)。

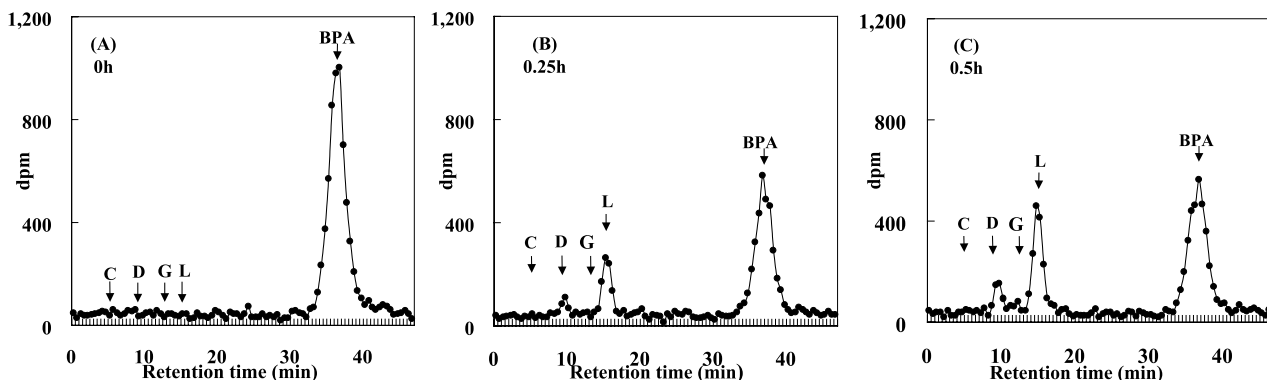


図 64 細胞内抽出液中の BPA 由来放射活性
 それぞれ ^{14}C -BPA 投入後、(A) 0 時間、(B) 0.25 時間、(C) 0.5 時間を示した。

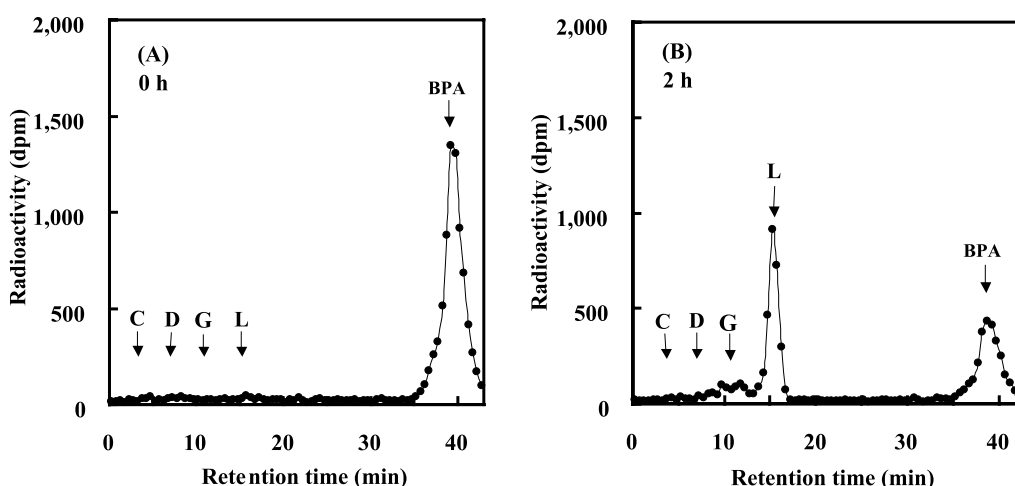


図 65 培地内での BPA 由来放射活性
 それぞれ ^{14}C -BPA 投入後、(A) 0 時間、(B) 2 時間を示した。

析し、その放射活性を測定したものであるが、BPA よりも極性の高い位置に少なくとも 2 つのピークが出現し、その保持時間は図 64 の細胞内代謝産物の保持時間 G、L と一致した。これより、培地中の BPA は細胞に吸収、代謝され、その代謝産物の一部が培地中に排出されているものと考えられた。

(2) 代謝産物の同定

タバコ液体培養細胞 BY-2 による BPA の代謝産物の一つ、L の構造決定を行った。

2 週間培養した 2 l のタバコ液体培養細胞 BY-2 に 10 mg/l となるように BPA を投入し、25 °C で 3 時間培養した。その後、細胞をろ過し、水で洗浄後、1 l のメタノールで抽出した。抽出液をエバポレーターで濃縮乾固し、それを 200 ml の 67 %メタノールで溶解して、pH 10 となるように水酸化ナトリウムを加えた。クロロホルムで 3 回抽出し、脂溶性物質を除去した。水溶性画分

は酢酸で pH を 4 に合わせたあとエバポレーターで濃縮乾固させた。残留物は 50 °C で 200 ml のクロロホルムで溶解した。クロロホルム抽出物はエバポレーターで乾固したのち、2 ml の水に溶解した。溶解物を HPLC (移動相、35 %メタノール) で分離した。L のピークを分取して、エバポレーターで濃縮乾固した。

精製した L および標準試料 (BPA、3 種類の糖) を重水素化メタノールまたは重水に溶解し ^1H -核磁気共鳴 (NMR) を測定した。なお L については重水置換後に乾固して、もう一度重水に溶解した。

^1H の共鳴周波数は 500 MHz、信号取り込み時間 6.5 秒、待ち時間 8.5 秒にて 16 回積算した。測定は室温で行った。データ処理は溶媒信号 (重水素化メタノールは 3.3 ppm、重水は 4.65 ppm) を基準とした。

高速原子衝撃質量分析法 (FAB-MS) ではグリセリンをマトリックスにして測定した。

酵素反応による糖の分析は以下のように行った。分取

した代謝産物数 μg を酵素液 (50 μl) 中に入れ, 37 で2時間培養した。各酵素反応は以下の条件で行った。

-glucosidase(0.5 U), 10mM acetate, pH 6.0, 1 mM EDTA; -glucosidase(0.5 U), 10 mM acetate buffer, pH 5.0; -glucosidase(0.5 U), 10 mM phosphate buffer, pH 7.5, 10 mM MgCl_2 , 45 mM 2-mercaptoethanol; -mannosidase(6.5 mU), 4 mM citrate buffer, pH 4.5; -mannosidase(60 mU), 2 mM acetate buffer, pH 4.0 で処理を行った。各々 C_{18} 逆相カラム, 移動相 40 %メタノールを使用し, HPLC で分析した。

BPA を培地に与えて2時間後の細胞内抽出液を HPLC で分析したところ, 図 64 で L と同じ保持時間をもったピークを検出した。L を精製し, NMR と MS で構造を決定した。

図 66 は NMR スペクトルである。L の芳香環由来の信号が4種類すべて二重線であった。これは p-二置換ベンゼン環の特徴である2種類の二重線が2つ分と考えられ, 磁気的環境の異なる p-二置換ベンゼン環が2つ存在することを示している。また化学シフトの差が大きいことより, ベンゼン環に置換している官能基の電気陰性度は大きく変化していないと考えられる。

メチル基由来の信号は一重線であることから, 2つのベンゼン環に挟まれたメチル基2つは構造変化を受けていないと考えられる。

OH 基 (フェノール) は試料の前処理段階で重水置換

したため観察されなかった。アルデヒド基由来および糖由来の信号があることより, L は配糖体であり重水溶解により開環しアルデヒド由来の信号が現れたものと推察される。

よって NMR から, L は BPA の一方のフェノール基がエーテル結合により配糖体となっていることが強く示唆された。

L の FAB-MS 分析の結果を表 29 に示した。L の正イオン FAB-MS で m/z 413 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ のピークが観測された。これは, 不純物として微量に含有しているナトリウムイオンとのクラスターイオンと考えられ, このことから L の分子量は 390 であると推定された。また, 負イオン FAB-MS で m/z 227 $[\text{BPA} - \text{H}]^-$ のピークが観測された。BPA の分子量が 228 であることから, 試料 L は BPA に類似した部分構造を持つと推定された。以上の結果と NMR で糖由来の信号が観察されたことを考慮すると, 試料 L は BPA にヘキソースが結合した配糖体であると推定された。

L に含まれる糖の種類を特定するため, 酵素の基質特異性を利用した。図 67 は, L に -glucosidase を処理し, 30 で2時間反応させたものである。(A) は L のみを入れたもので, BPA は出現していない。(B) は L に -glucosidase を入れたもので, BPA が出現している。(C) は -glucosidase を処理したもので, BPA は出現しなかった。

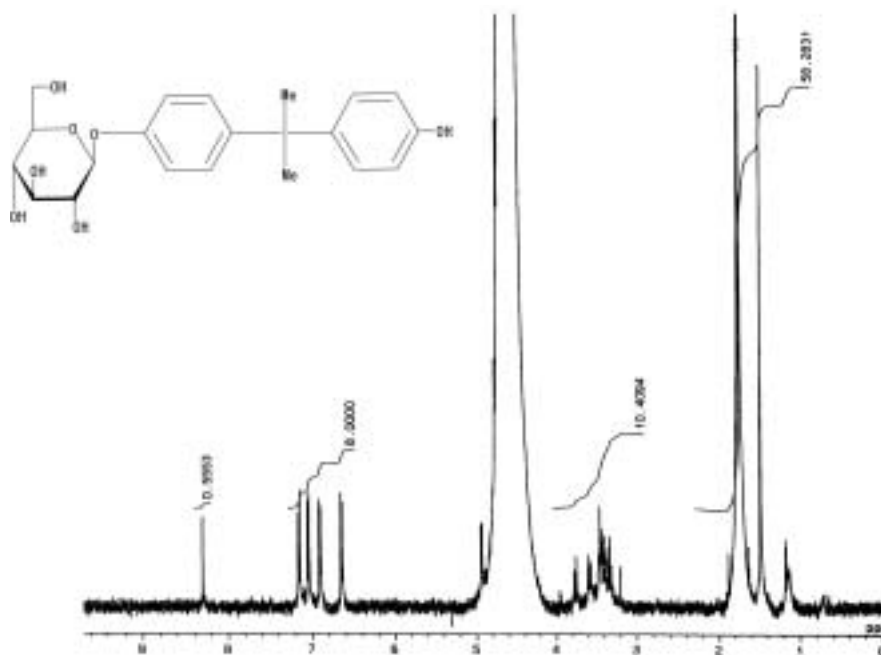


図 66 NMR による BPA 代謝物 L の化学構造

表 29 タバコ液体培養細胞 BY-2 による BPA 代謝産物 L の質量スペクトル

		m/z
FAB+	$[M + Na]^+$	413
	$[HOC_6H_4(CH_3)_2C_6H_4OH + H]^+$	229
FAB-	$[HOC_6H_4(CH_3)_2C_6H_4OH - H]^-$	227
	$[M - H]^-$	389

装置：JEOL Mstation (JMS-700)

イオン化法：FAB（正イオン及び負イオン）

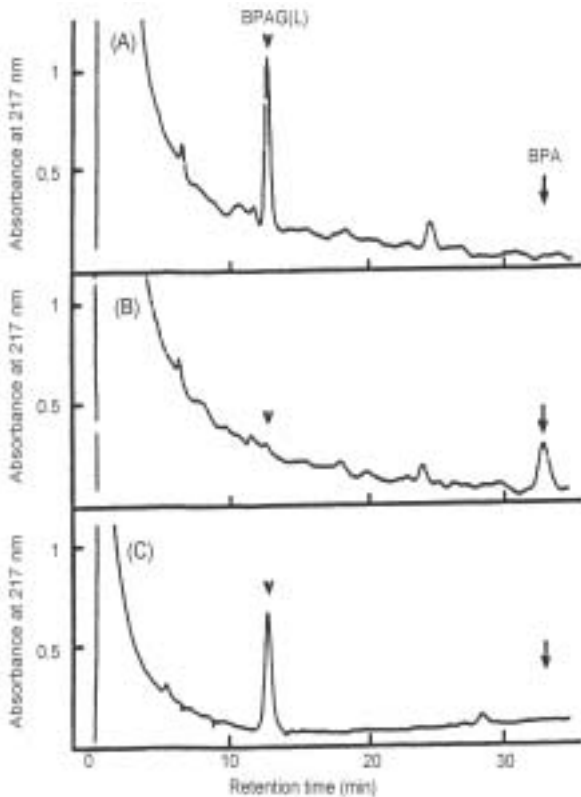


図 67 酵素活性による配糖体の同定
 (A) コントロール：酵素なし
 (B) β -glucosidase による処理
 (C) β -glucosidase による処理

以上のことより L は BPA に β -D-glucose が結合した 4,4'-isopropylidenediphenol-mono-O- β -D-glucopyranoside (BPAG) の構造であることが判明した (図 66)。

また、BPAG を化学的に合成し、合成品で ELISA 及び酵母 two-hybrid assay でエストロゲン活性を測定した。BPAG を化学的に合成する際の副産物である BPA-di- β -Glucoside についても同様のテストを行い、活性があるかどうかを調べた。

ELISA では BPAG のレセプター結合活性は BPA のレセプター結合活性に比べて 1/5 に低下していた。また、BPA-d-G の結合活性はさらに低く、ほとんど活性が見られなかった。

酵母 two-hybrid assay による BPA と BPA-d-G のアゴニスト活性を調べた。BPA をラットの肝臓酵素 S9 で処理した場合、アゴニスト活性の増加が見られた。BPAG を S9 処理したもの (+S9 test) ではわずかながら活性が見られるが、ダイレクト (-S9 test) では活性が見られなかった。S9 処理の有無に関わらず、BPA-d-G には活性はなかった。

以上のことより、BPAG は BPA よりもエストロゲン活性が低減することが判った。酵母 two-hybrid assay の結果から、レセプターとの結合活性がほとんどなくなると考えられた。

(3) タバコ液体培養細胞 BY-2 による Bisphenol A glucosyltransferase (BPAGTase) の活性

タバコ液体培養細胞 BY-2 による BPA の代謝物である BPAG が酵素活性で生産されることを証明し、その活性を測定することを目的とした。

2 週間培養したタバコ細胞 (*Nicotiana tabacum* cv. BY-2) をろ過し、細胞を等量の抽出 Buffer (50 mM Tris-HCl pH 7.5, 1 mM 2-mercaptoethanol, 0.5 mM PMSF) と、PVPP 0.5 g, 石英砂 1 g を入れすりつぶした。遠心分離後の上澄みを、50 mM Tris-HCl (pH 7.5) 1 mM 2-mercaptoethanol で平衡化した脱塩カラムに通し、溶出液を酵素液とした。酵素液 200 μ l に、UDP-Glucose (UDPG) と BPA を加え、30 分で培養した。反応を停止するために 20 μ l の 60% 過塩素酸を加えた。BPAG の活性を確認する試験には UDPG 0.9 mM と BPA 500 μ M を加え、反応時間は 30 分で行った。BPA に対する K_m 値の測定試験では UDPG 0.9 mM, BPA 0.05 ~ 0.24 mM, 反応時間を 10 分とした。

UDPG に対する K_m 値測定試験では UDPG 0.05 ~ 0.15 mM, BPA 0.5 mM, 反応停止時間 10 分とした。不溶性物質を遠心除去し、上清を 20 μ l 取り、HPLC で生成した BPAG を定量し、 k_m 値を求めた。タンパク

定量はLowry法で行った。反応で生じたBPAGと同じ保持時間をもつHPLCピークを分取して、MSで同定した。

図68の(C)に示したように、BPAとUDPG両方の基質を入れたときにだけBPAGと同じ保持時間をもつピークが出現した。あらかじめ酵素の反応を止めたもの(D)やBPAのみ(E)、またUDPGのみ(F)を投入したものはこのピークは出現しなかった。このピークを分取して、MSで同定したところ、BPAGと同じス

ペクトルを持つことが判明し、これがBPAGであることが証明された。

また図69(A)には酵素量に対する反応生成物BPAGの生成量を示した。BPAGの生成量は酵素投入量50 μ lまで直線的に増加した。反応時間に対するBPAG生成量も同様に直線的な増加を示した(図69(B))

これらのことよりタバコ液体培養細胞BY-2はBPAとUDPGを基質としてBPAGを生成する酵素活性(BPAGTase)を持つことが明らかとなった。

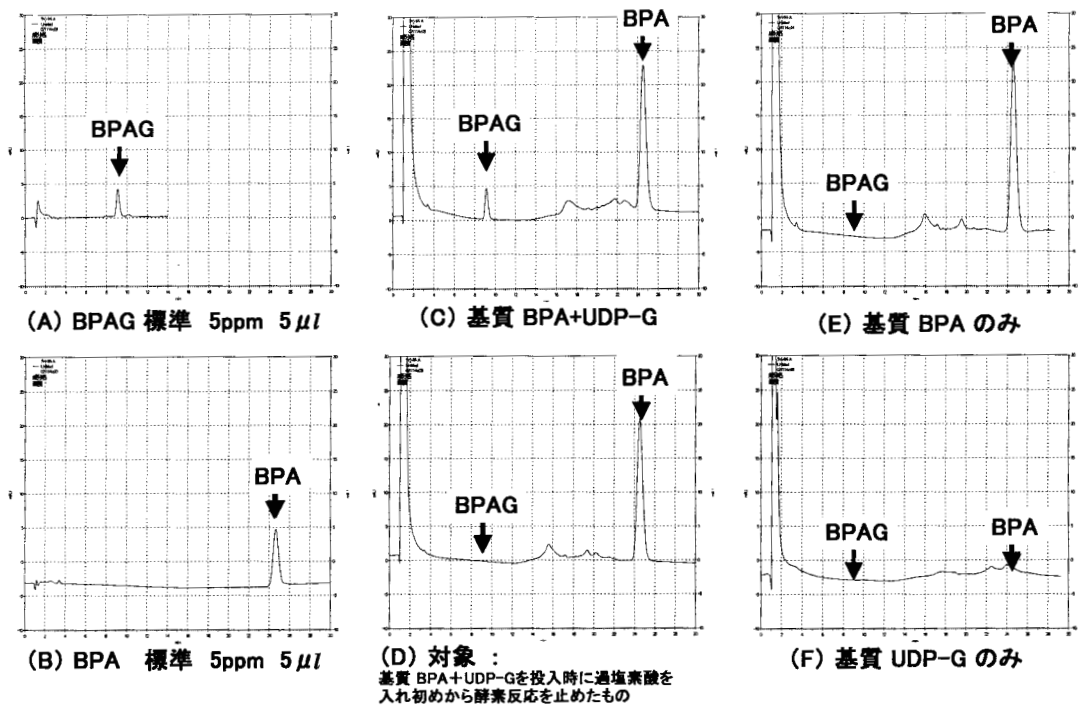


図68 BPAGTase 酵素反応の証明

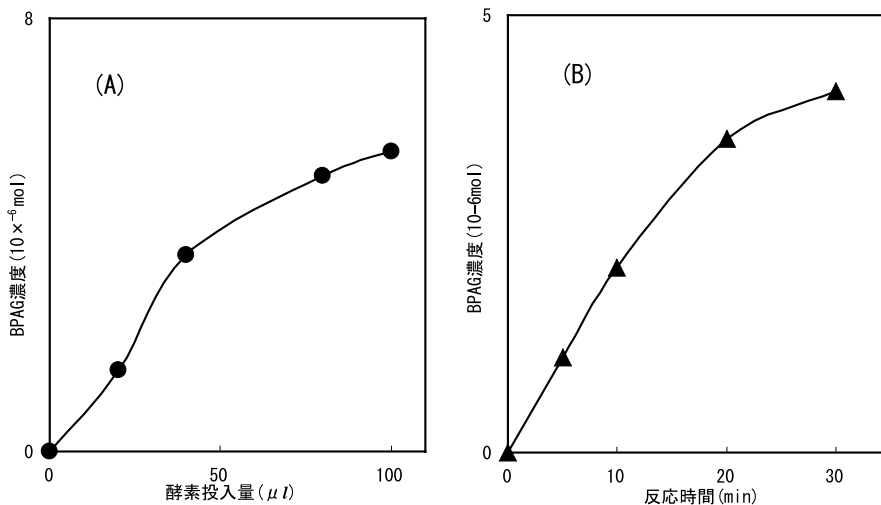


図69 BPAGTaseの酵素投入量及び反応時間に対する反応速度
 (A) 酵素投入量に対するBPAG反応速度
 (B) 酵素投入後の反応時間に対する反応速度

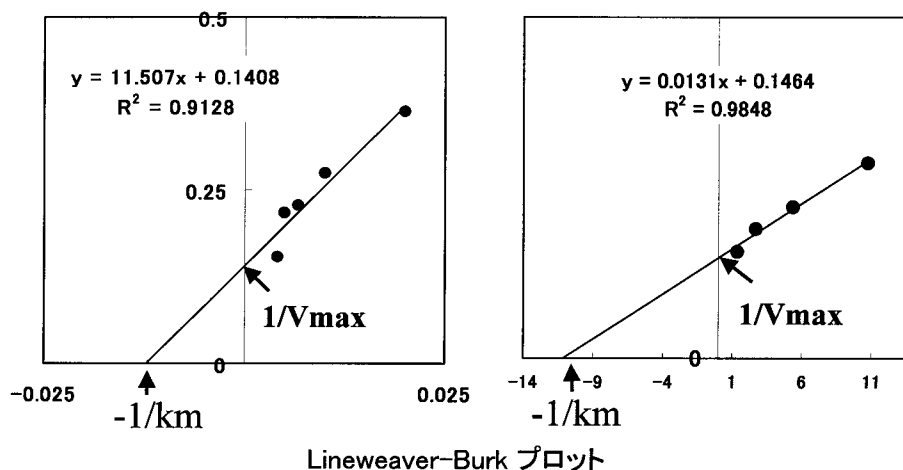


図 70 BPAGTase のミカエリス定数
 (A) 基質 BPA に対する km 値 : 82 μmol
 (B) 基質 UDPG に対する km 値 : 89 μmol

また、タバコ液体培養細胞 BY-2 の BPAGTase 活性の BPA に対するミカエリス定数 (K_m) は 82 μM 、UDPG に対する K_m は 89 μM 、また比活性は 130 nmol/mg/h であることが分かった (図 70)。

(4) タバコ実生による BPA の吸収代謝及び移動

タバコ液体培養細胞 BY-2 で行われた BPA の吸収・代謝が実生でも行われるかどうかを確認し、代謝産物が実生のどこに移動するかを追跡することを目的とした。

タバコ実生 (*Nicotiana tabacum* L. cv. Xanthi NC) を播種し発芽したものを園芸培養土に移植し、日中気温 25℃、夜間気温 20℃、湿度 70% に調整した温室内で 2 週間生育した。根を蒸留水で洗浄し、8 kBq の ^{14}C -BPA を含んだ、1.5 ml の 10 mg/l BPA 溶液に浸した。蛍光灯 (100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) 下、20℃ で培養した。時間ごとに溶液と植物体をサンプリングした。根を大量の水で洗い流し、根、茎、葉に分けた。これらの組織をメタノール数 ml で抽出した。抽出液はエバポレーターで濃縮乾固し、40% メタノール 0.1-0.2 ml で溶解した。試料は上述したように HPLC で分析した。

図 71(A) に根を浸した培養液中の放射活性を示した。培養液中の放射活性は徐々に減少し 0.5 時間で、その 16% が減少し、4 時間後には 73% まで減少した。組織中の放射活性は 0.5 時間では、そのほとんどが根に存在し、時間とともに徐々に増加した (図 71(B))。葉では 0.5 時間でわずかしかかった放射活性が時間とともに直線的な増加を示し、4 時間では根と同等量の放射活性が蓄積された。培養している間、茎にはほとんど放射活性は見

られなかった。培養液中で減少した放射活性の 2/3 量の放射活性が葉に移行した。以上のことよりタバコ実生の根から吸収された BPA は葉に移行することが分かった。タバコ実生による BPA の吸収は根からの吸収能力によることが明らかとなった。タバコ実生の BPA 吸収能力は 31 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{mg}$ (根の生体重) であることが判明した。これはバクテリアによる分解と同等の能力であった。

次に根、葉のメタノール抽出液を HPLC で分析した結果を図 72 に示した。根では放射活性の中で最も BPA の量が多かった (A)。0.5 時間で C, D, BPAG が根で見られた。しかし、培養液中から失われた総放射活性の 30% にすぎなかった。根においては、時間とともに BPA の量は低減したが C と BPAG は有為な変化を示さなかった。一方、G は 4 時間で 5 倍に増加した。茎ではわずかながら BPA と 3 つの代謝産物が 4 時間後に見られたのみであった。少量の BPAG と C が 4 時間後の培養液中で見られたが、この量は各実生が吸収した放射活性の 15% であった。これは BPA 由来の代謝産物のほとんどが実生中に保持されていることを示す。葉の中における放射活性は曝露後 0.5 時間で現れた。C, G, BPAG と BPA は 1 時間で見られ、BPAG の量は 4 時間で 4 倍に増加した (B)。これらの結果よりタバコ実生は BPA を根で吸収し、BPAG と化合物 C と G へ代謝して、それから葉に代謝産物が移動することが分かった。

培養している間、実生全体の放射活性は増加しているにもかかわらず、代謝産物と BPA を合計した放射活性量は、2 時間目では 1 時間目より減少した。これは本

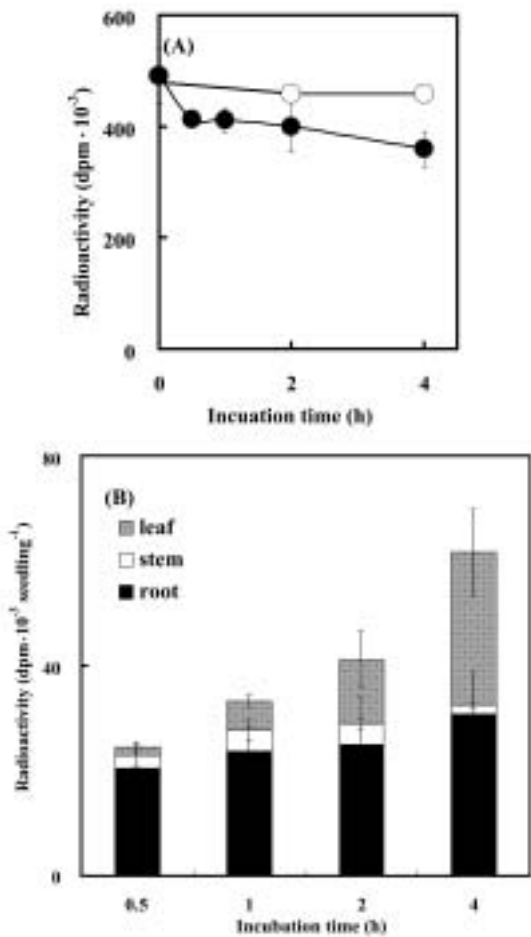


図 71 タバコ植物体 Xanthi NC による ¹⁴C-BPA の培地からの取り込み
 (A) 培地内 ¹⁴C-BPA 由来の放射活性の減少
 (B) 根, 茎, 葉内の ¹⁴C-BPA 由来の放射活性

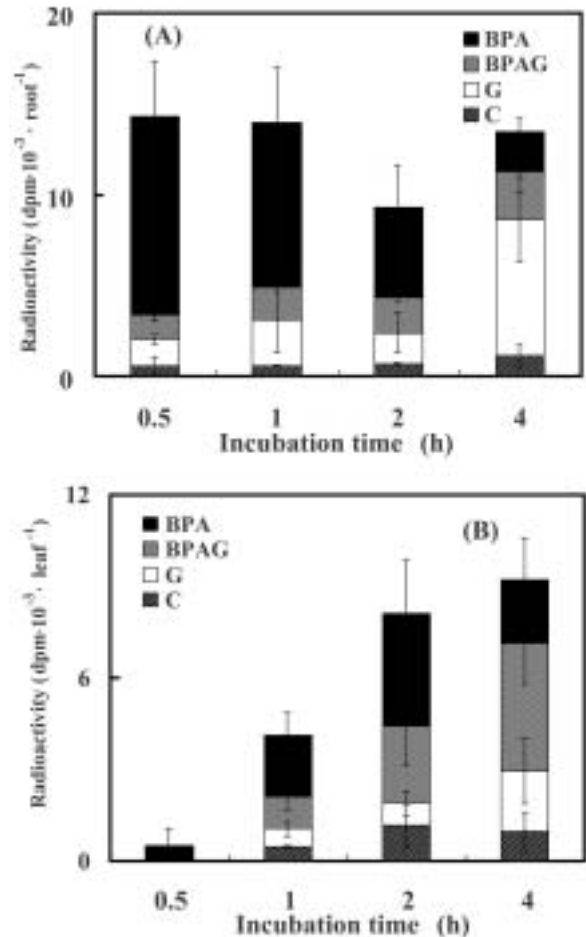


図 72 ¹⁴C-BPA 由来の生体内代謝物の放射活性
 (A) 根内の放射活性
 (B) 葉内の放射活性

研究の HPLC の分析条件では検出できなかった代謝産物があることを示唆している。4 時間培養した根のメタノール抽出物を HPLC にかけて、40 %メタノールで溶出したあとに 2-プロパノールで溶出すると残り半分の放射活性が溶出された。このことは非常に極性の低い代謝産物が形成されている可能性を示唆し、その物質はもっと長時間の BPA 曝露下において生産される可能性があるものと考えられた。

以上の結果、タバコ実生はタバコ液体培養細胞 BY-2 と同様の代謝経路で BPA を代謝していると考えられた。4 時間の曝露時間中、根では代謝産物の増加は見られなかったが、葉の中では増加した。そして根から葉に放射活性の移動が見られた。葉では BPAG は最も多く著しい増加を示した。これらの結果から、BPAG はタバコの葉に蓄積する BPA の主要な代謝産物であると考えられる。

(5) タバコ実生による BPAGase の活性

タバコ実生にもタバコ液体培養細胞 BY-2 と同様 BPAGase の活性があることを確認し、その活性の強度を測定することを目的とした。

生育日数およそ 3 ~ 4 週間のタバコ植物体 (*Nicotiana Tabacum* cv. Xanthi NC) を根, 茎, 葉に分け, 各組織を液体窒素で凍結後細かく砕き, タバコ液体培養細胞 BY-2 の酵素液と同様に調製した。酵素反応は 3 反復, 酵素液は BPA が 493 μM, UDPG が 1 mM となるように計 200 μl を調製した。30 で培養し, 30 分反応させた後, HPLC で BPAG を定量した。

BPAGase の酵素活性が根, 茎, 葉の各部位で検出され, BPAGase 活性が各組織にあることが示された。比活性は根で 147 pmol/mg/h, 茎で 490 pmol/mg/h, 葉で 576 pmol/mg/h であることが判明した。また葉で一番高い酵素活性を示したことより, 葉において BPA の代謝が活発であると考えられる。

以上のことによりタバコ液体培養細胞 BY-2 だけでなく、タバコ実生でも BPAGTase 活性があることが判明した。

(6) 様々な植物による BPA の吸収

この試験では様々な植物の BPA 吸収能力を比較検討することを目的とした。

栽培植物は発芽後およそ 2 ~ 3 週間園芸培養土でガラス温室内にて生育させ、本葉が展開したものを使用した。各植物 5 個体を、根が 10 mg/l の BPA 溶液に浸されるようにして、試験環境照度 531.9 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ 、気温 25、水温 20 にて培養した。培養 0, 0.5, 1, 2, 4, 8 時間の時点で溶液を 50 μl ずつサンプリングし、8 時間後には吸水量を測定した。また試験終了後、根、茎、葉の各生体重と根長、茎長、葉長を測定した。

図 73 には 1 時間 1 個体あたりの各植物の BPA 吸収速度を示した。ホテイアオイが最も吸収速度が大きかった。キャベツ、ササゲ、アズキ、タバコ、トウゴマ、ナタネなどがそれに続いた。吸収速度が小さかったのは、イネ、水草のアマゾンソード、ゴマ、ハクサイなどであった。マメ科植物は、BPA 吸収速度が大きい傾向があった。このように BPA 吸収速度は種類によってかなり差があった。

(7) 様々な植物による BPAGTase の活性

(6) で BPA の吸収能力を検討したが、個体の大きさ、ステージも様々であり、その吸収能力を直接推し量ることは困難であった。また BPA 吸収能力が単に吸水量に依存するのか、それとも BPAGTase の活性に依存しているのかも不明であり、何に依存するのかを調べる目的で各植物の BPAGTase 活性を測定した。

(6) と同様に 2 ~ 3 週間生育させた植物を、根、茎、葉に分け、各組織を液体窒素で凍結後細かく砕き、タバコ液体培養細胞 BY-2 の酵素と同様に調製した。酵素活性は 3 反復、BPA が 493 μM 、UDPG が 1 mM となるように計 200 μl を調製した。30 で培養し、30 分反応させた後、HPLC で BPAG を定量した。

BPAGTase の活性が植物体の根、茎、葉で観察されたものと今回の測定条件では観察されなかったものがあった。また、植物体によっては根、茎、葉で差があり、葉で比活性が高いものも多く見られ、茎ではほとんどの植物で活性が見られなかった。図 74 に BPAGTase 比活性を示した。(A),(B) はそれぞれ根および葉の BPAGTase 比活性を表している。ソルガムの根に高い比活性が見られた。アブラナ科のキャベツ、サントウサイ、ナタネ、ダイコンの根と葉に高い比活性が見られた。

図 75 に各組織あたりの BPA 吸収速度に対する

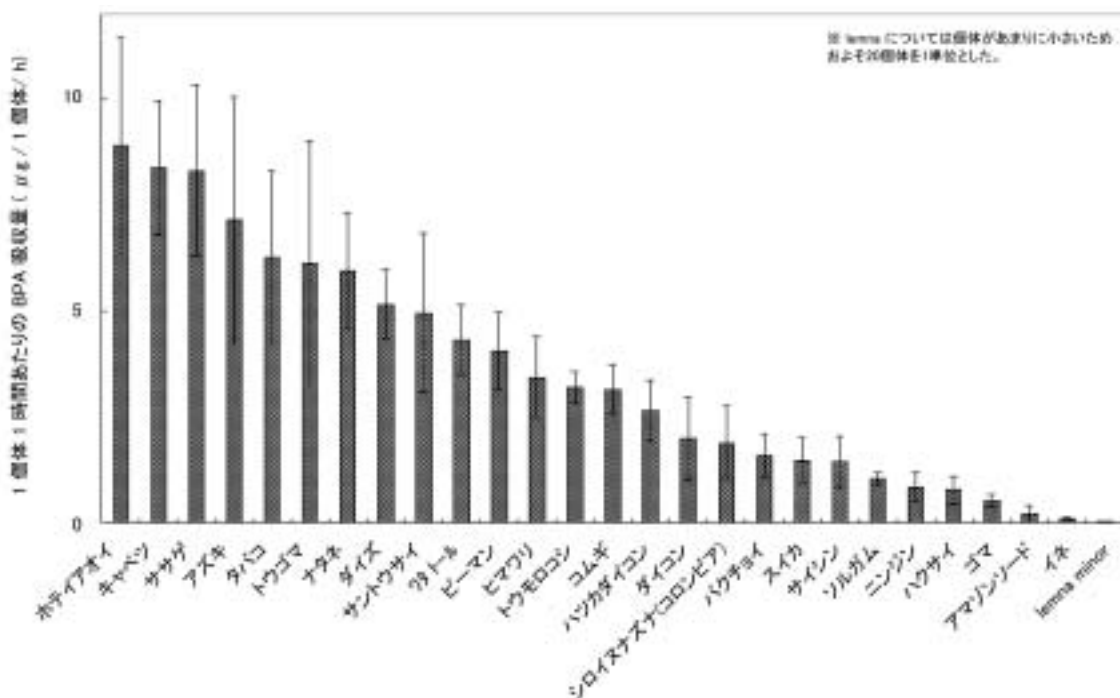


図 73 1 個体 1 時間あたりの BPA 吸収量

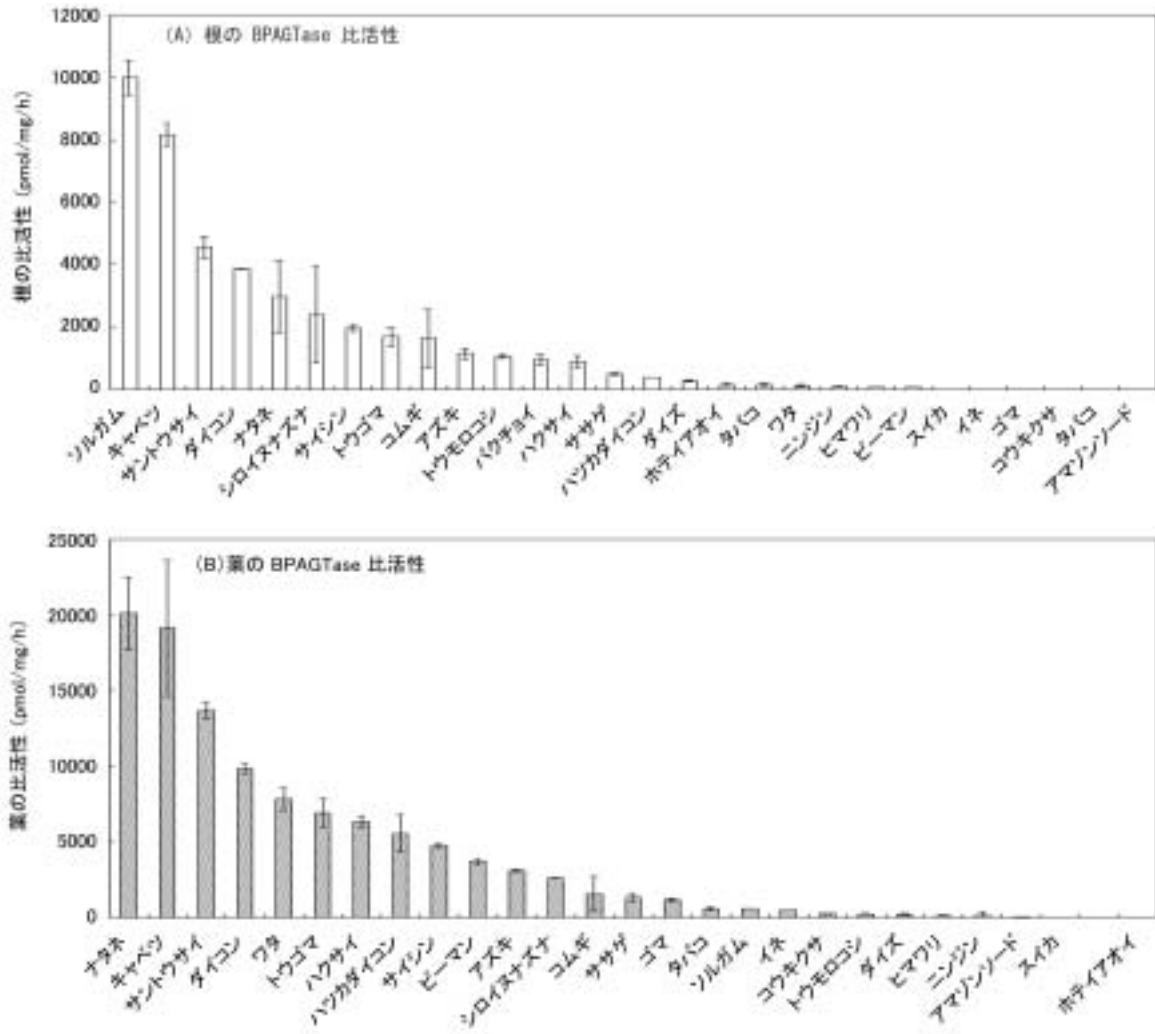


図 74 さまざまな植物による BPA GTase 比活性

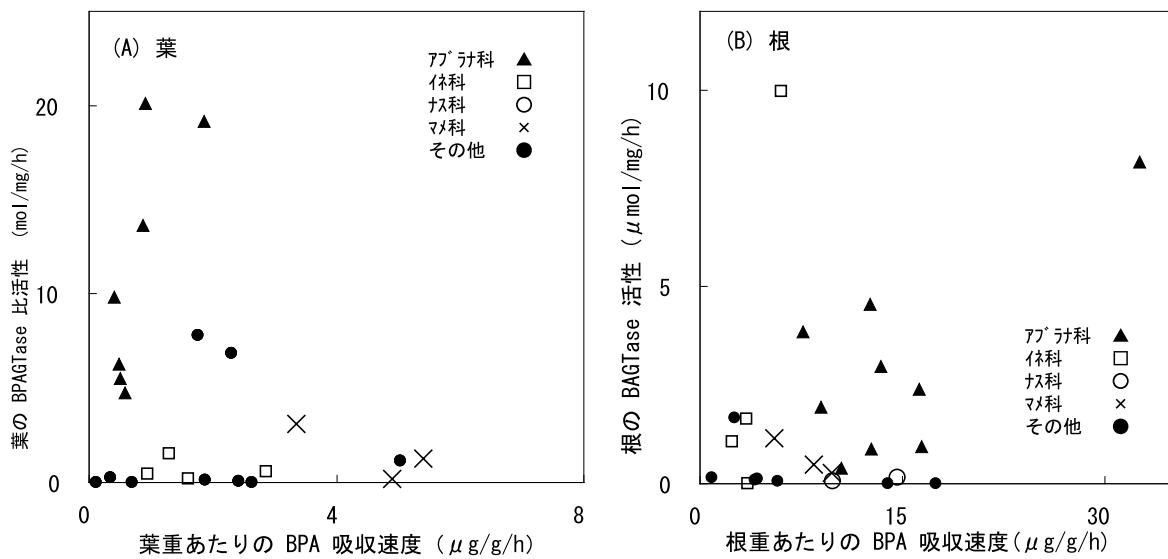


図 75 各組織あたりの BPA 吸収量に対する BPA GTase 比活性の関係

BAPGTase 比活性の関係を示した。根 (図 75(A)) ではマメ科で比活性は低いが BPA の吸収速度が高いという傾向がみられた。イネ科では比活性が低く、かつ BPA 吸収速度も低い傾向があった。ただし、ソルガムは吸収速度が高かった。葉重あたりの BPA 吸収速度に対する葉の比活性 (図 75(B)) はアブラナ科で高い比活性値を示したが、BPA 吸収速度が他の植物より低い傾向を示した。全体的にみると、BPAGTase 活性と吸収速度との間には相関はないように思われる。

図 76 にアブラナ科のみにおける各組織あたりの BPA 吸収速度に対する BPAGTase 比活性の関係を示した。根では $R^2 = 0.4897$ 、葉では $R^2 = 0.5717$ と弱い相関を示した。

図 77(A)に様々な植物による BPA 吸収速度と吸水速

度の関係を示した。全体の相関は $R^2 = 0.584$ であった。図 77(B), 77(C)にアブラナ科、イネ科それぞれの BPA 吸収速度と吸水速度の相関を示したが、どちらも強い相関を示した。また、マメ科のみでも同様に強い相関を示した。

以上の結果より、植物の種類により BPA 吸収速度には差があり、吸収速度が BPAGTase の活性に依存するグループと吸水速度のみに依存するグループがあることが明らかとなった。以上の結果、植物を用いて BPA を吸収・回収するには吸水速度が大きい植物、BPAGTase 活性の強い植物を選べば良いことが明らかとなった。またアブラナ科の場合、BPAG 活性を人為的に上昇させることでより吸収能力の高い植物を育種できる可能性があると思われる。

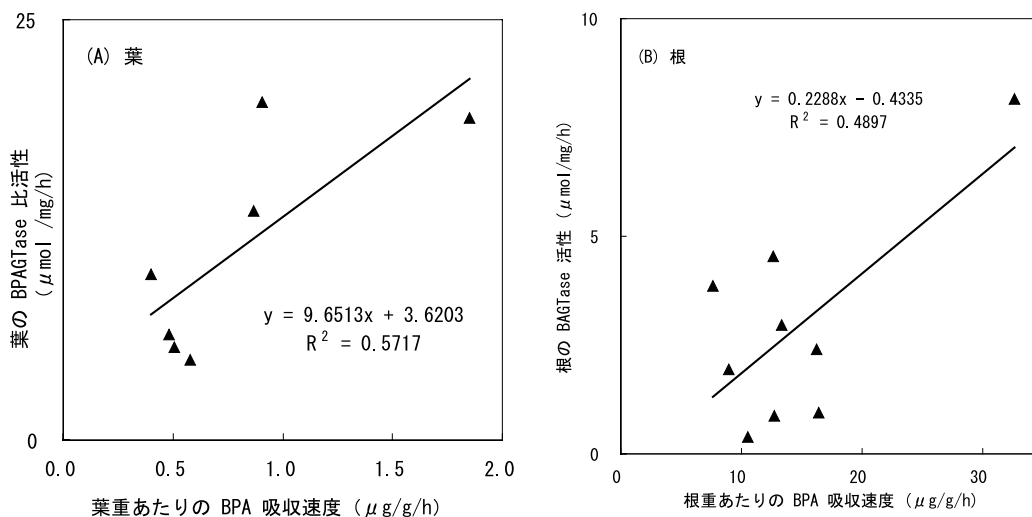


図 76 アブラナ科における各組織あたりの BPA 吸収量に対する BPAGTase 比活性の関係

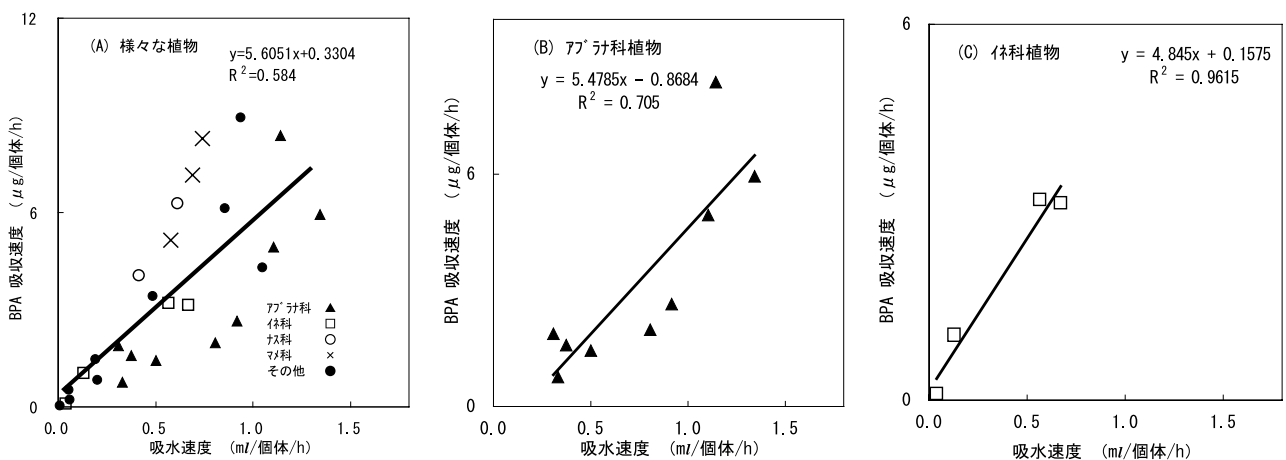


図 77 さまざまな植物による BPA 吸収速度と吸水速度の関係

(8) まとめ

環境中からダイオキシンなどの環境ホルモン作用をもつ物質を除去する方法として化学的、物理的方法が検討されているが、これらの方法は狭い範囲の高濃度の汚染を除去するのに適しているが、低濃度に広がった汚染を除去するにはコストが高すぎるという問題点がある。本研究ではこのような汚染を除去する方法として、ファイトレメディエーションがどの程度有効であるのかを調べるために、植物に環境ホルモンを吸収する能力があるのかどうかを検討した。浄化の対象物質として、環境中に大量に排出されている BPA を選んだ。本研究では植物による BPA 吸収・代謝機構を明らかにし、BPA を環境中から除去するのに適した植物をスクリーニングする時の指標を見いだすことを目的とした。BPA 吸収・代謝の機構について、タバコ液体培養細胞 BY-2 およびタバコ植物体を用いた研究で、次の点が明らかになった。

1) BPA は植物に吸収され、細胞内で少なくとも 4 つの代謝産物に変化した。

2) 代謝産物の一つは BPA に Glucose が結合したものの (BPAG) であることが NMR および MS で同定された。また代謝産物の他の一つが BPA に Glucose が 2 つ結合したものである可能性が示唆された。

3) BPAG のエストロゲン活性は BPA よりも著しく低減していた。

4) BPA に Glucose を結合させる酵素 (BPAGTase) が存在することがタバコ液体培養細胞 BY-2 細胞でもタバコ実生でも確認された。BY-2 細胞の BPAGTase 活性は BPA に対するミカエリス定数 (K_m) が $82 \mu\text{M}$ 、UDPG に対する K_m が $89 \mu\text{M}$ 、また比活性は 130 nmol/mg/h であることが分かった。タバコ実生では BPAGTase の酵素活性が根、茎、葉の各部位で測定され、BPAGTase 活性が各組織にあることが示された。比活性は根で 147 pmol/mg/h 、茎で 490 pmol/mg/h 、葉で 576 pmol/mg/h であることが判明した。

様々な植物体について BPA 吸収速度と BPAGTase 活性の相関について調べた結果、BPA 除去に実際に役立つ植物をスクリーニングする際の指標となることを明らかにした。

1) 植物には BPA を速やかに吸収するものとあまり吸収しないものがあり、よく吸収するものはホテイアオイ、ササゲ、キャベツであった。

2) BPAGTase 活性は各植物の組織で見られた。

3) 多くの植物では BPA 吸収速度は吸水速度と相関が強かったが、アブラナ科の植物は吸水速度と BPAGTase 活性の両方と相関があった。

結論として、吸水速度と BPAGTase 活性が、実際に環境中から BPA を吸収し、取り除くという目的に適した植物をスクリーニングするための指標になると考えられる。

2.6 研究のまとめ

サブテーマ 1 においては、高濃度のダイオキシン類を含む排水に対する応急処理対策として、粉末活性炭を利用した吸着除去法の有効性を、各種の基礎データを測定して明らかにした。ダイオキシン類の水中濃度と活性炭への吸着量の間には直線関係が観察されるので、処理水濃度を基準以下に抑えるための活性炭量が迅速に計算できる。この結果は、高濃度汚染水が排出された場合における応急処理対策として活用される。

サブテーマ 2 では、排水などに含まれるダイオキシン類を超音波照射で分解する実験を行った。分解過程も検証できるように、最も毒性の強い 2,3,7,8-TCDD を 900 ng/l 濃度となるように調製した水溶液に超音波を照射した結果、反応速度は遅いながらも分解することが確認された。分解生成物を確認するにはいたっていないが、塩素原子が逐次的に脱離していく反応機構ではないことが分かった。

サブテーマ 3 においては、ダイオキシン類で汚染された土壌を熱水で処理することにより、含有されるダイオキシン類を抽出するとともに一部分解させることに成功した。除去率は温度によって大きく左右され、 350 以上では 99% 以上の除去率が得られた。分解の主反応は脱塩素化であると考えられるため、高塩素化ダイオキシン類が多く含まれる土壌では、脱塩素化の過程で一時的に毒性等量が増加することが観測された。この技術は土壌以外の固形試料にも適用できると考えられ、実用化に向けた研究が望まれる。

サブテーマ 4 は、PCB で汚染された底質から低コストで簡便に PCB を回収する方法および回収された PCB を脱塩素化によって無害化する新しい方法の開発である。検討した回収方法はイソプロパノールを用いたソックスレー抽出法で、実際の汚染底質を使って実験した結果、平均で 99% 以上の除去率を実現した。次に、回収された PCB を室温で迅速に脱塩素化する技術として、

カリウム - ナトリウム合金を使用する方法を検討した。実験室内では、30分以内で99.9999%以上の脱塩素化率を実現した。また、脱塩素化の反応機構から、メタ位とパラ位の塩素原子が優先的に脱離することが解明され、ダイオキシン類似の毒性を有するコプラナー PCB が分解されやすいことも分かった。

サブテーマ5は、ダイオキシン類・PCBやビスフェノールAなどの内分泌かく乱化学物質を吸収して分解する植物を生育させることにより、土壤中に含まれるこれらの有害化学物質を浄化することを目指した実験である。ベラドンナによる土壤中ダイオキシン類・PCBの浄化については実現可能性を示すことができた。またタ

バコ液体培養細胞やタバコ実生を使った土壤中ビスフェノールAの吸収・分解実験により、今まで知られていなかった植物の吸収機構や代謝機構が明らかになった。また、ここで得られた結果をもとにファイトレメディエーションに適した植物をスクリーニングする方法を提示することができた。

全体としては、本研究においてはいくつかの要素技術を取り上げて、新しい観点からの技術開発を行い、有用な成果を得ることができた。ここでの研究は萌芽的研究であり、これらの技術を実用化するためには産業界との連携のもとに研究を深めることが不可欠である。

[資 料]

I 研究の組織と研究課題の構成

1 研究の組織

[A 研究担当者]

環境ホルモン・ダイオキシン研究プロジェクトグループ

プロジェクトグループリーダー 森田昌敏

対策技術チーム 安原昭夫

橋本俊次

伊藤裕康

総合化研究チーム 鈴木規之

流動研究員等 北村公義

大島幸子

生物多様性研究プロジェクトグループ

分子生態影響評価研究チーム 中嶋信美

化学環境研究領域

計測管理研究室 崔 宰源

生態化学研究室 John Edmonds

[B 客員研究員]

形見武男 (岐阜県保健環境研究所) (平成 12 ~ 13 年度)

[C 共同研究者]

丸田俊久 (株式会社太平洋コンサルタント) (平成 11 ~ 13 年度)

山口 修 (太平洋セメント株式会社) (平成 11 ~ 13 年度)

高野博幸 (太平洋セメント株式会社) (平成 11 ~ 13 年度)

山崎 剛 (株式会社太平洋コンサルタント) (平成 11 ~ 13 年度)

神谷 隆 (太平洋セメント株式会社) (平成 11 ~ 13 年度)

三好久美子 (筑波大学) (平成 11 ~ 12 年度)

2 研究課題と担当者 (* 客員研究員)

(1) 活性炭吸着法による水中ダイオキシン類の処理技術開発に関する研究

森田昌敏・鈴木規之・伊藤裕康・崔 宰源・北村公義

(2) 超音波照射による水中ダイオキシン類の分解技術開発に関する研究

森田昌敏・安原昭夫・形見武男 *

(3) 熱水抽出による土壌中ダイオキシン類等の処理技術開発に関する研究

森田昌敏・橋本俊次

(4) 底質中 PCB の回収技術とカリウム - ナトリウム合金による PCB の脱塩素化技術開発に関する研究

森田昌敏・安原昭夫・三好久美子・形見武男 *

(5) 生物的手法による土壌中ダイオキシン類の処理技術開発に関する研究

森田昌敏・中嶋信美・大島幸子・John Edmonds・丸田俊久・山口 修・高野博幸・山崎 剛・神谷 隆

Ⅱ 研究成果発表一覧

1 誌上発表

発表者・題目・掲載誌・巻(号)・頁・刊年

Miyoshi K., Nishio T., Yasuhara A., Morita M.: Dechlorination of hexachlorobiphenyl by using potassium-sodium alloy, *Chemosphere*, 41: 819-824, 2000

野馬幸生, 安原昭夫, 酒井伸一: PCB の処理技術と分析方法, *安全工学*, 40 (6): 353-361, 2001

Hashimoto S., Yasuhara A., Sakai S., Morita, M.: Preliminary studies for reduction of dioxins from polluted waste and environmental samples by hot water, *Organohalogen Compounds*, 54: 247-250, 2001

松永充史, 安原昭夫: PCB の還元的脱塩素化反応, *環境化学*, 12 (1): 33-43, 2002

Nakajima N., Ohshima Y., Serizawa S., Kouda T., Edmonds J. S., Shiraishi F., Aono M., Kubo A., Tamaoki M., Saji H., Morita M.: Processing of bisphenol A by plant tissues: glucosylation by cultured tobacco BY-2 cells in suspension and translocation by tobacco plants *Nicotiana tabacum*, *Plant Cell Physiol.*, 43: 1036-1042, 2002

岡本研作, 安原昭夫, 村山真理子, 中野 武, 劔持堅志, 太田壮一, 八木孝夫, 鶴田 暁, 松村 徹, 竹内正博, 木田孝文, 松本保輔, 柿田和俊, 小野昭紘, 坂田 衛: ダイオキシン類及びポリ塩化ビフェニル同族体分析用河川底質標準物質の開発, *分析化学*, 51 (11): 1049-1062, 2002

三好久美子, 西尾建彦, 森田昌敏, 安原昭夫: K-Na 合金による PCB 混合物 (KC600) の脱塩素化, *環境化学*, 12 (4): 799-808, 2002

岡本研作, 安原昭夫, 中野 武, 劔持堅志, 松村 徹, 八木孝夫, 柿田和俊, 小野昭紘, 坂田 衛: 河川底質中ポリ塩化ビフェニルの分析におけるアルカリ分解条件等の比較検討, *分析化学*, 52 (1): 61-66, 2003

Kouda T., Shiraishi F., Ohshima Y., Nakajima N., Edmonds, J. S., Morita M.: Synthesis and estrogen activity of bisphenol A mono- and di-*-D*-glucopyranosides. Plant metabolites of bisphenol A, *Environ. Tox. Chem.*, (in press).

Matsunaga A., Yasuhara A.: Complete dechlorination of 1-chloronaphthalene by electrochemical reduction with naphthalene radical anion as mediator, *Environ. Sci. Technol.*, (in press).

Miyoshi K., Nishio T., Yasuhara A., Morita M., Shibamoto T.: Detoxification of hexachlorobenzene by dechlorination with potassium-sodium alloy, submitted to *Chemosphere*

Hashimoto S., Watanabe K., Nose K., Morita M.: Reduction of dioxins from soil by subcritical water extraction without additives; -- examination about parameters for reduction, submitted to *Chemosphere*

Hashimoto S., Watanabe K., Nose K., Morita M.: Reduction of dioxins from soil by subcritical water extraction without additives; -- consideration about dechlorination process on soil type, submitted to *Chemosphere*

2 口頭発表

発表者・題目・学会等名称・開催都市名・年月

山崎 剛, 神谷 隆, 高野博幸, 布施 修, 丸田俊久: ペラドンナ毛状根による PCB の分解, 日本内分泌攪乱化学物質学会第 1 回研究発表会, 京都, 1998.10

三好久美子, 安原昭夫, 森田昌敏, 西尾建彦: K-Na 合金による有機塩素化合物の脱塩素化, 第 8 回環境化学討論会, 北九州, 1999.7

橋本俊次, 安原昭夫, 森田昌敏: 高温高压水による土壌からのダイオキシン類の除去, 第 9 回環境化学討論会, 札幌, 2000.6

大島幸子, 壁谷俊彦, 芹澤滋子, 中嶋信美, 森田昌敏: タバコ培養細胞 BY-2 による Bisphenol A の分解, 日本内分泌攪乱化学物質学会第 3 回研究発表会, 横浜, 2000.12

中宮邦近, 安原昭夫, 森田昌敏: 超好熱菌による環境ホルモン類分解の可能性, 日本内分泌攪乱化学物質学会第 4 回研究発表会, つくば, 2001.12

大島幸子, 中嶋信美, 小宇田智子, 鈴木智恵子, 芹澤滋子, John S. Edmonds, 森田昌敏: タバコ培養細胞 BY-2 及びタバコ植物体 Xanthi NC による Bisphenol A の分解, 日本内分泌攪乱化学物質学会第 4 回研究発表会, つくば, 2001.12

安原昭夫: 廃棄物処理における化学物質対策, 平成 13 年度岐阜県保健環境研究所学術講演会, 岐阜, 2002.3

大島幸子, 中嶋信美, 芹澤滋子, 永野公代, John S. Edmonds, 森田昌敏: Bisphenol A を配糖化するタバコの Glucosyltransferase の性質, 日本内分泌攪乱化学物質学会第 5 回研究発表会, 広島, 2002.11

中宮邦近, 橋本俊次, 伊藤裕康, 安原昭夫, 森田昌敏: フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)分解菌の分離, 日本農芸化学会 2003 年度大会, 横浜, 2003.3

中嶋信美, 大島幸子, 玉置雅紀, 青野光子, 久保明弘, 佐治 光, 森田昌敏: タバコ由来のビスフェノール A のグルコース配糖化酵素の性質, 日本植物生理学会 2003 年度年会, 東大阪, 2003.3

REPORT OF SPECIAL RESEARCH FROM
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN

国立環境研究所特別研究報告

SR - 48 - 2003

平成 15 年 9 月 30 日発行

編 集 国立環境研究所 編集委員会

発 行 独立行政法人 国立環境研究所

〒 305-8506 茨城県つくば市小野川 16 番 2

電話 029-850-2343 (ダイヤルイン)

印 刷 前田印刷株式会社筑波支店

〒 305-0033 茨城県つくば市東新井 14-3

Published by the National Institute for Environmental Studies
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506 Japan
September 2003

無断転載を禁じます

