

バイオアッセイ法による琵琶湖流入一河川の ダイオキシン類汚染状況の把握

○鈴木祐麻¹、佐藤圭輔¹、高松正嗣¹、清水芳久¹
中村昌文²、藤野潤子²、藪下尚智²

1、京都大学大学院工学研究科附属環境質制御センター

2、(株) 日吉

概要：本研究では、バイオアッセイ法を用いて、琵琶湖に流入する一河川の流域における表層土壌、および河川底質のダイオキシン類濃度を把握することを目標とした。分析の結果、森林に代表されるように大気を媒体にして輸送されるダイオキシン類のみが存在する箇所におけるダイオキシン類濃度は、土壌の有機炭素含有率に比例することが分かった。また、一部の水田や畑では、過去に散布された農薬に副生成物として含まれていたダイオキシン類の影響がいまだに大きいことが確かめられた。さらに、流域内を移動し易い小さな粒子に、ダイオキシン類が多く収着されていることが分かった。

キーワード：ダイオキシン類、バイオアッセイ、流域調査、土壌特性、スクリーニング

1 はじめに

ダイオキシン類の主な排出源の一つとして焼却施設が挙げられる。焼却施設から放出されたダイオキシン類は大気により広範囲に輸送され、最終的には沈着によって湖沼や表層土壌に供給される。わが国では、ごみの多くを焼却により最終処分しており、ダイオキシン類がごく微量で生体に対して毒性を持つということを考慮すると、広範囲の、そして多数の地点における濃度を把握することが望ましい。また、過去に散布された農薬に含まれていたダイオキシン類の影響がいまだ大きいことが推測されていることから¹⁾、土地利用に着目した調査が必要と考えられる。

ダイオキシン類濃度分布が広範囲に、かつ土地利用ごとに計測されている例は少ない。この要因の一つとして、日本における公定法である HRGC/HRMS 法が高価であることに加え、分析に長い時間を要することが考えられる。そこで、本研究ではバイオアッセイ法を利用することで琵琶湖に流入する一河川の流域における表層土壌、および河川底質の汚染状況をスクリーニングすることを目標とした。バイオアッセイ法はダイオキシン類毒性濃度を短時間かつ安価で測定することが可能であるため、広範囲、多数のダイオキシン類濃度の把握が可能である。本研究では、土壌特性（粒径分布、有機炭素含有率）がダイオキシン類の挙動に与える影響に着目することで、今後、健全な流域環境管理計画を遂行する上で考慮しなければならない点も考察した。

2 サンプリングと分析方法

2.1 対象流域の概要とサンプリング

本実験では琵琶湖流入一河川として Y 川を選択した。Y 川は、琵琶湖流入河川の中でも有数の流域面積の

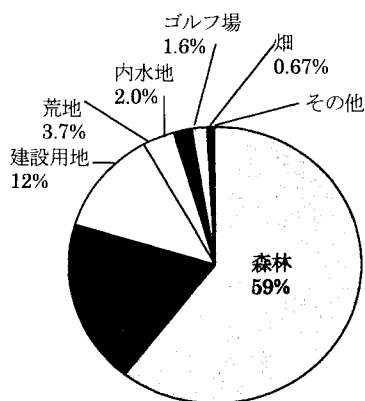
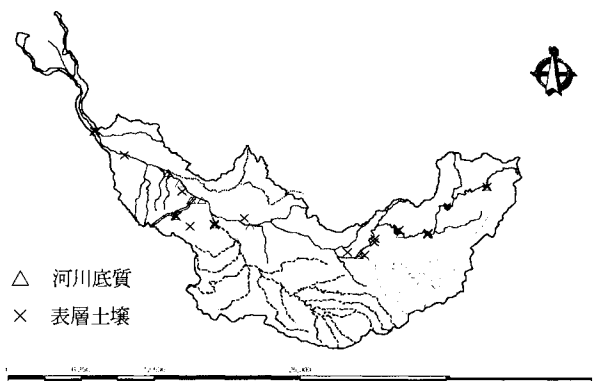
図-1 Y 川流域の土地利用²⁾

図-2 表層土壌および河川底質のサンプリング地点

広さを持つ河川であり、ゴルフ場や水田地帯を含んでいるなど土地利用も多彩である(図-1)。本研究では、5つの土地利用別(森林、水田、畑、ゴルフ場および市街地(建物用地))にそれぞれ数地点のサンプリングポイントを設定(図-2)し、ステンレス製スコップを利用して表層部 5cm、500g 程度の土壌を採取した。また、Y 川に流入している主要な河川を考慮して、それぞれの流入部付近を中心に Y 川流域内 13 地点の河川底質を採取した(図-2)。なお、底質の採取は表層土壌と同様にステンレス製スコップを利用して底質の表層部 5cm、500g 程度を採取した。表層土壌と河川底質は、ポリエチレン製シリンダーボトルに充填し、実験室まで冷蔵輸送した後、凍結乾燥機(Freeze dryer FDU-830)を用いて素早く乾燥処理を行なった。

2.2 土壌特性の分析方法

粒度分布は、凍結乾燥した土壌、底質試料を孔径 2,000 μm 、500 μm 、250 μm および 53 μm のステンレス製篩(JIS-Z8801)を用いて 5 分画に篩い分け、それぞれの重量を電子天秤(EK-1200A)で標定することによって測定した。有機炭素含有率は、全有機体炭素計(SHIMADZU・TOC・5000A)と固体試料燃焼装置(SHIMADZU・SSM-5000A)を使用して重量比で測定した。なお本研究では、試料中の無機炭素量(IC)を測定した結果、全有機炭素量(TOC)に比べて十分小さかったことから、全炭素量(TC)をそのまま全有機炭素量(TOC)として扱うこととした。

2.3 CALUX Assay³⁾によるダイオキシン類の定量

本研究では、米国の Xenobiotic Detection Systems 社が開発した CALUX (Chemically Activated Luciferase Expression) Assay を利用してダイオキシン類の TEQ 濃度を定量した。CALUX Assay はバイオアッセイの一種であり、短時間での測定が可能で、および安価であることからスクリーニングの手段として有効である。また、HR-GC/HR-MS との高い相関も確認されている(図-3)。細胞に暴露されたダイオキシン類は、リガンドとして細胞膜の内部に侵入し AhR (Polycyclic aromatic hydrocarbon Receptor) と結合する。リガンド・AhR 複合体はこれを細胞核内に運搬する ARNT と結合する。CALUX Assay はリガンド・AhR・ARNT 複合体が作用する DNA の一部をルシフェラーゼ酵素を合成する遺伝子に組換えられた細胞にダイオキシン類を暴露し、発生したルシフェラーゼの発光量を測定することによって、試料中のダイオキシン類濃度を定量する方法である。

CALUX Assay による土壌サンプル中ダイオキシン類の測定方法の手順を図-4 に示す。まず、土壌試料の溶媒抽出液から、硫酸ナトリウム、セライトを利用して粒子および水分を除去する。精製の段階では、夾雑有機物と硫酸シリカとを反応させることによってこれを除去し、その精製液に含まれるダイオキシン類を活性炭に収着させる。その後、活性炭に収着されたダイオキシン類は、二種類の溶出液によってそれぞれダイオキシン/フランとコプラナー-PCB に分画される。分画されたそれぞれの溶液は、96 穴マイクロプレート内

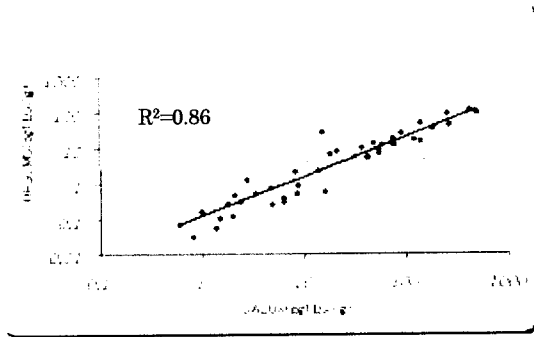


図-3 土壌試料における HR-GC/HR-MS と CALUX との分析結果の比較

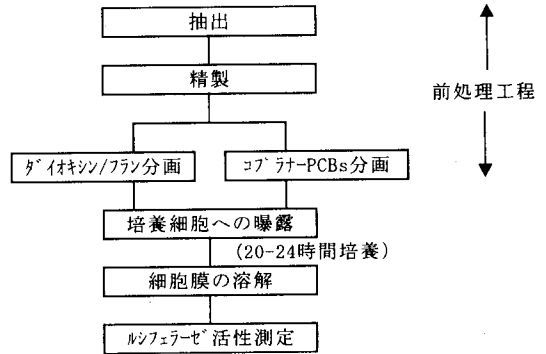


図-4 CALUX Assay による土壌サンプル中ダイオキシン類の測定方法

で培養された遺伝子組換え細胞に曝露される。一晚培養後、生成されたルシフェラーゼをルミノメータで測定し、それぞれダイオキシン/フラン画分およびコプラナー-PCB 画分の TEQ 濃度を定量する。

3 実験結果と考察

3.1 表層土壌におけるダイオキシン類 TEQ 濃度と有機炭素含有率との関係

図-5にY川流域内でサンプリングした表層土壌のダイオキシン類 TEQ 濃度と有機炭素含有率との関係を示す。森林ではダイオキシン類 TEQ 濃度が有機炭素含有率に比例していることがわかる。このことは以下の2つのことを示唆している。

- ・ 有機炭素含有率が高いほど(有機物の約50%を占めている有機炭素の割合が大きいほど)炭素同士による非分極性の結合が多く、疎水性であるダイオキシン類を多く収着することが可能である。
- ・ 森林には一様な量のダイオキシン類が供給されている。つまり、森林におけるダイオキシン類の起源は、流域を通して一定と考えられる大気からの沈着が主である。

水田・畑に関しては、先に考察した森林における近似直線の上にはほぼ位置するものと、有機炭素含有率に関係なく高い値を示しているものに大別できる。前者に関しては森林と同じように大気由来のダイオキシン類しか存在していない、または(毒性量として)現在では影響が小さいことがわかる。一方、後者は大気由来のダイオキシン類に加え、ダイオキシン類を含む物質(農薬と推測される)が人為的に供給されたことを意味している。

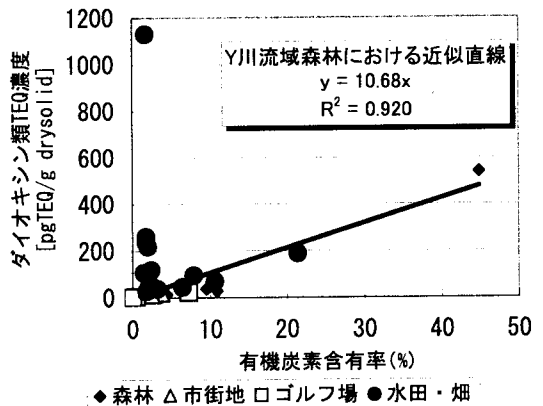


図-5 各土地利用におけるダイオキシン類 TEQ 濃度と有機炭素含有率との関係

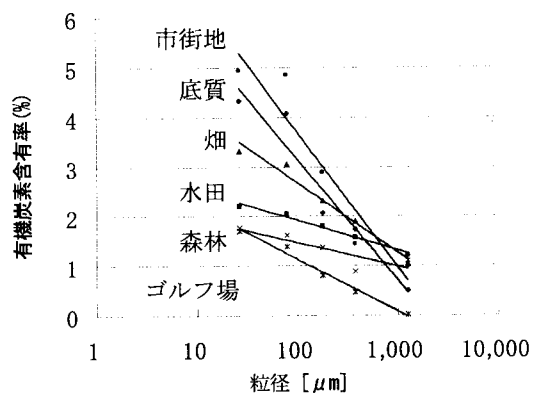


図-6 土地利用別の粒径と有機炭素含有率の関係

一方、粒径が小さい粒子ほど一般的に有機炭素含有率が高い(図-6)。このことと図-5より、小さい粒子はダイオキシン類TEQ濃度が高いことが分かる。図-7には有機炭素含有率とダイオキシン類TEQ濃度に関して、河川底質と表層土壌とを比較した結果を示す。小さい粒子ほど表層土壌から河川に流出しやすいと考えられることから、表層土壌から流出した粒子の内、ダイオキシン類TEQ濃度が高い小さい粒子は河川底質として堆積しにくく、最終的に琵琶湖に達していると推測される。

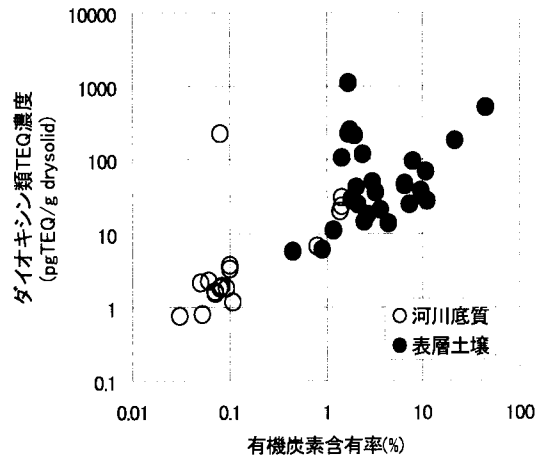


図-7 河川底質と表層土壌との比較

4 健全な流域環境管理計画のために

今回の調査により人為的にダイオキシン類が供給されたと考えられる箇所を除いては、肥えた(即ち、有機成分が多い)土地ほどダイオキシン類TEQ濃度が高いという皮肉な事実が浮き彫りとなった。しかし、一概に肥えた土地ほど危険とは言いきれない。ダイオキシン類のような微量有機毒性物質が環境中に放出されたとき、有機炭素含有率の低い土壌はこれらの毒性物質の貯蔵庫としての役割が低いいため、毒性物質は水の流れと共に一般河川に流出しやすいと考えられるからである。森林に代表されるような、大気由来のダイオキシン類のみが存在する表層土壌はその範囲が広いために直接的な修復が困難である。したがって、ポイントソースである焼却施設からの放出の削減に努めることが有効と思われる。一方、一部の水田・畑において最高では1,000pgTEQ/g dry solidを超える高濃度のダイオキシン類が検出された。これらの土地は今後も一般河川にダイオキシン類を放出し続けるため、速やかな土壌の直接的修復が望まれる。

5 おわりに

以下に、本研究で得られた知見をまとめる。

- (1) 大気由来のダイオキシン類が一樣な量で供給されている森林ではダイオキシン類TEQ濃度が有機炭素含有率に比例する。
- (2) 一部の水田や畑では、過去に使用された農薬の影響がいまだに残存している。
- (3) 粒径の小さい粒子は、ダイオキシン類を多く収着するとともに降雨等によって容易に流出し、流域環境中を移動して最終的には琵琶湖の底質に蓄積する。
- (4) 今後、健全な流域環境管理計画を効果的に遂行するためにはダイオキシン類で汚染された表層土壌を改善する必要があるが、過去においてダイオキシン類TEQ濃度が人為的に直接供給された箇所の修復が不可欠である。

参考文献

- 1) Atsuko Kishimoto, Toshihiro Oka, Kikuo Yoshida and Junko Nakanishi: Cost Effectiveness of Reducing Dioxin Emissions From Municipal Solid Waste Incinerators in Japan, Environmental Science & Technology, Vol. 35, No. 14, 2001, pp.2861-2866.
- 2) 増田貴則: GISを活用した流域環境情報の統合化とその現象解析・計画論への適用に関する研究 -琵琶湖流域を対象として-, 京都大学工学研究科博士学位論文, 2000, 付録p.46.
- 3) Denison, M., Brouwer, A. and Clark, G., U.S. patent # 5,854,010, 1998