

ダイオキシン類の分析におけるクリーンアップ操作の改善に関する考察

吉田 勤 鈴木恵子 三上 篤 水嶋好清 三觜 雄

要 旨

ダイオキシン類の分析におけるカラムクロマトグラフィーによるクリーンアップ操作について、精度の向上、時間の短縮のための検討を行った。多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーのブランク値の低減のためには、試料添加前に100mLのヘキサンで洗浄することで、シリカゲル由来と考えられるコプラナーポリ塩化ビフェニル（以下、コプラナーPCB）を除去できることを確認した。また、活性炭クロマトグラフィーでは、リバースカラムを使用することで、操作時間を大幅に短縮できた。土壌試料のクリーンアップ操作では、55%硫酸シリカゲルを用いることで、従来の硫酸処理より短時間でクリーンアップ操作を行えることが確認できた。

1. 緒 言

当所では、ダイオキシン類に係る大気、土壌、水質及び底質調査マニュアル¹⁾等に基づき、環境試料中のダイオキシン類測定を平成13年度から実施しており、分析は当所で作成した標準作業手順書に基づいて行っている。このうち、試料の前処理行程は、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーと活性炭分散シリカゲルカラムクロマトグラフィーを組み合わせた方法を採用し、土壌及び河川底質など、有機成分が多く含まれると考えられる試料では、さらにそれらのクロマトグラフ操作の前に硫酸処理を行っている。

過去1年間の操作ブランクの測定結果では、コプラナーPCBの、3,3',4,4'-TeCB(#77)、2,3',4,4',5-PeCB(#118)及び2,3,3',4,4'-PeCB(#105)の3種類が高値を示していた。平成20年度第2回ダイオキシン類環境モニタリング研修テキスト²⁾では、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーに用いられるシリカゲルは、ダイオキシン類分析用であっても、コプラナーPCBの汚染があるとの記載があった。そ

こで、多層シリカゲルのブランク値について測定を行い、汚染源除去を試みた。

土壌及び河川底質試料のクリーンアップ操作では硫酸処理を行っており、PAHsやフタル酸エステルなど多くの有機物の除去に効果がある。しかし、操作に要する時間が長いという欠点があった。第17回環境化学討論会では、55%硫酸シリカゲルを用いた夾雑物質のクリーンアップ法に関する報告があり³⁾、硫酸処理に代わるクリーンアップ法として有効であると紹介されていた。そこでこの方法について検証を行った。

また、活性炭分散シリカゲルを用いたクロマトグラフ操作では、リバースカラムを用いることにより、使用する溶媒の量が大幅に減り、操作時間を短縮することができるため、このことについて検証を行った。

2. 方 法

2-1 試薬

ダイオキシン類の標準品及び各スパイク用の内

部標準品は、WELLINTON 社製を用いた。

アセトン、ヘキサン、活性炭分散シリカゲル及び活性炭分散シリカゲルリバースカラムは関東化学(株)製のダイオキシン類分析用を用いた。

トルエン、ジクロロメタン、ノナン、無水硫酸ナトリウム、多層カラム用各種シリカゲルは和光純薬工業(株)製のダイオキシン類分析用を用いた。

2-2 分析フロー及び分析対象物質

当所にて作成した、各媒体の分析標準作業手順書のフローは図1、2及び3のとおりである。

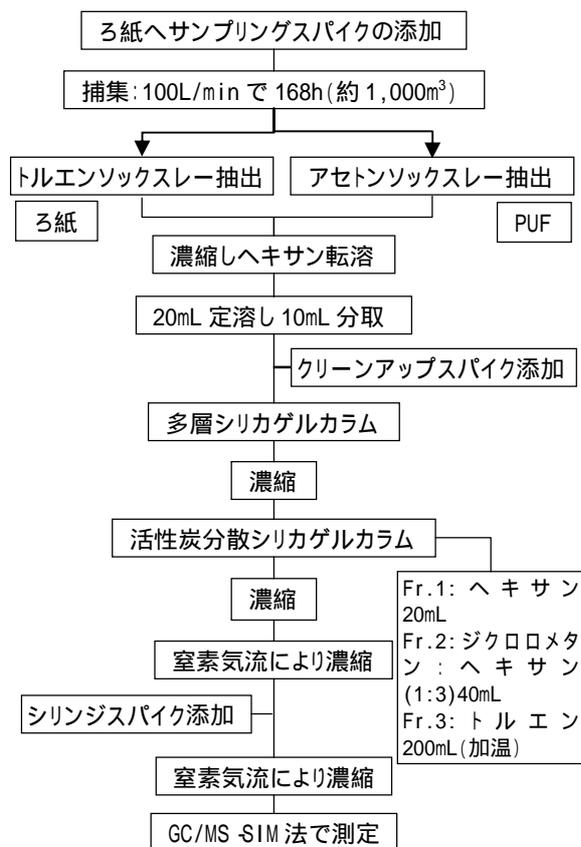


図1 大気試料の分析フロー図

図1、2及び3で示されているサンプリングスパイク、クリーンアップスパイク及びシリンジスパイクに含まれる標準物質は表1のとおりである。

ダイオキシン類の測定対象物質は、2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-p-ジオキシンと、2,3,7,8-テトラクロロジベンゾフラン及びそれらの塩素置換異性体とし、2,3,7,8-位塩素置換体以外でも、キャピラリーカラムでの保持時間情報とイオン強度比からダイオキシン類であると確認できたものは測定対象とした。

PCBの測定対象は、コプラナー-PCBとした。

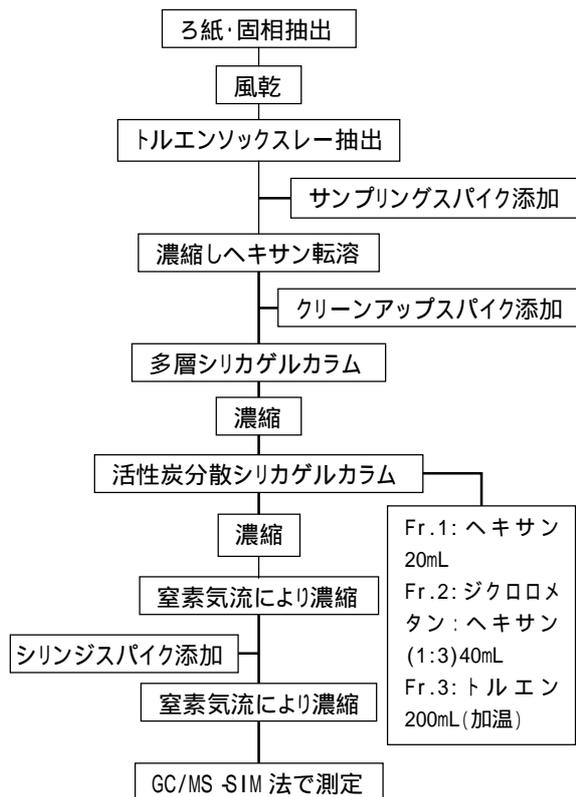


図2 環境水試料の分析フロー図

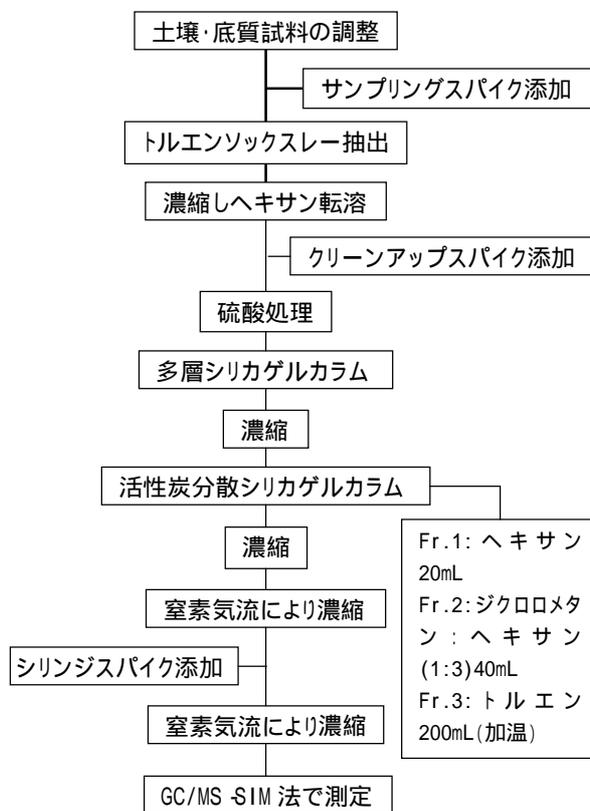


図3 土壌・底質試料の分析フロー図

表1 各スパイクに含まれている標準品の種類

ダイオキシン類		コプラナーPCB	
サンプリングスパイク			
¹³ C -1234 -TeCDD		¹³ C -3,3',4,4' -TeCB(#79)	
¹³ C -1234 -TeCDF			
クリーンアップスパイク			
¹³ C -1368 -TeCDD		¹³ C -3,3',4,4' -TeCB(#77)	
¹³ C -2378 -TeCDD		¹³ C -3,4,4',5 -TeCB(#81)	
¹³ C -12378 -PeCDD		¹³ C -2,3,3',4,4' -PeCB(#105)	
¹³ C -123478 -HxCDD		¹³ C -2,3,4,4',5 -PeCB(#114)	
¹³ C -123678 -HxCDD		¹³ C -2,3',4,4',5 -PeCB(#118)	
¹³ C -123789 -HxCDD		¹³ C -2',3,4,4',5 -PeCB(#123)	
¹³ C -1234678 -HpCDD		¹³ C -3,3',4,4',5 -PeCB(#126)	
¹³ C -OCDD		¹³ C -2,3,3',4,4',5 -HxCB(#156)	
¹³ C -1368 -TeCDF		¹³ C -2,3,3',4,4',5 -HxCB(#157)	
¹³ C -2378 -TeCDF		¹³ C -2,3',4,4',5,5' -HxCB(#167)	
¹³ C -12378 -PeCDF		¹³ C -3,3',4,4',5,5' -HxCB(#169)	
¹³ C -23478 -PeCDF		¹³ C -2,2',3,3',4,4',5 -HpCB(#170)	
¹³ C -123478 -HxCDF		¹³ C -2,2',3,4,4',5,5' -HpCB(#180)	
¹³ C -123678 -HxCDF		¹³ C -2,3,3',4,4',5,5' -HpCB(#189)	
¹³ C -123789 -HxCDF			
¹³ C -234678 -HxCDF			
¹³ C -1234678 -HpCDF			
¹³ C -1234789 -HpCDF			
¹³ C -OCDF			
シリンジスパイク			
¹³ C -1278 -TeCDF		¹³ C -2,3',4,5 -TeCB(#70)	
¹³ C -1234689 -HpCDF			

"-CDD"はクロロジベンゾ p-ジオキシン、"-CDF"はクロロジベンゾフラン、"-CB"はクロロビフェニルの略称で、Te、Pe、Hx、Hp、Oはそれぞれ Tetra、Penta、Hexa、Hepta、Octaを示している。コプラナーPCBの名称の後に括弧で書かれているのはIUPACナンバーである。

上	無水硫酸ナトリウム	約1 cm
	10%硝酸銀シリカゲル	3.0 g
	シリカゲル	0.9 g
	22%硫酸シリカゲル	6.0 g
	44%硫酸シリカゲル	4.5 g
	シリカゲル	0.9 g
	2%水酸化カリウムシリカゲル	3.0 g
	シリカゲル	0.9 g
	10%硝酸銀シリカゲル	2.0 g
下	無水硫酸ナトリウム	約1 cm

図4 多層シリカゲルカラムの内部構成

土壌試料は通常硫黄分を多く含むため、カラムの上端に還元銅を1~3g加える。

2-3 多層シリカゲルカラムでの精製

カラムの調製は、図4に従い、各シリカゲル等を湿式で積層する。無水硫酸ナトリウム以外は、少量のヘキサンで膨潤させた後に積層する。積層後はカラムトップまで液面を下げる。

処理方法は、カラムトップに試料を添加し、ヘキサン180mLを2.5mL/minで流下させる。

2-4 活性炭分散シリカゲルカラムでの精製

活性炭シリカゲルカラムの調製は、ダイオキシン類に係る大気、土壌、水質及び底質調査マニュアル¹⁾に基づき、内径0.8cmのカラムクロマト管に石英ウールを詰め、次に無水硫酸ナトリウムを数ミリ積層する。次に活性炭分散シリカゲルを1g測り取り、その上に充填する。さらに無水硫酸ナトリウムを数ミリ積層して調製する。

活性炭分散シリカゲルカラム処理のフローを図5に示す。試料をカラムトップに添加後、30分静置する。ヘキサン20mLを流下させ、コプラナーPCB以外のPCBs及び夾雑物質を溶出させる。

次にジクロロメタン/ヘキサン(1:3)40mLでモノオルトPCBsを溶出させる。

最後に加温しながらトルエン200mLで、ノンオルトPCBs、PCDD及びPCDFを溶出させる。

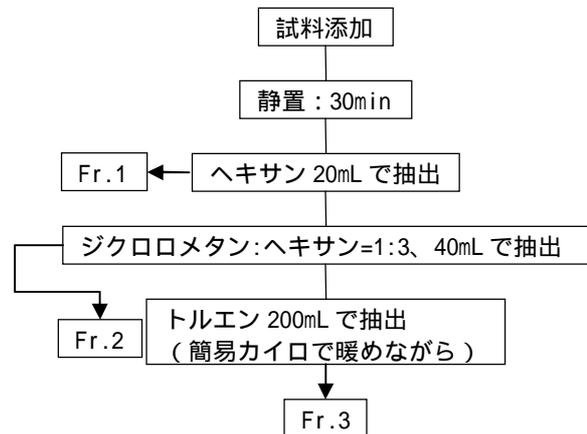


図5 活性炭分散シリカゲルカラム処理

活性炭分散シリカゲルリバースカラムを用いる場合は、図5のフローのトルエン抽出前にカラムを上下反転して、簡易カイロで暖めながら、トルエン40mLで抽出したものを、Fr.3とした。

2-5 硫酸処理による精製

硫酸処理のフローを図6に示す。

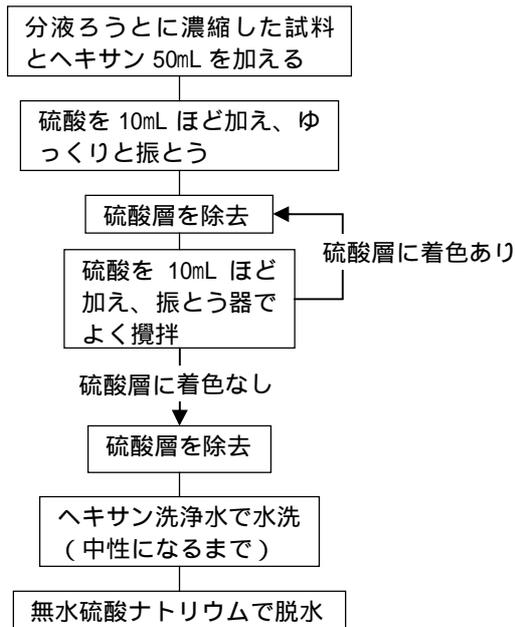


図6 硫酸処理

ソックスレーで抽出した溶液をエバポレーターで濃縮し、ヘキサンに転溶する。この抽出液をヘキサン50mLに溶解し、分液ろうとへ移す。これに硫酸を10mLほど加える。最初は有機物を多く含んでいるので、エマルジョンが形成しないようゆっくりと振り混ぜる。静置してヘキサン層と硫酸層

が完全に分離したのを確認し、硫酸層を除去する。再び硫酸を加えゆっくりと振り混ぜ、エマルジョンが形成しないことを確認してから振とう器を用いてよく攪拌する。静置して2層が分離した後、硫酸層に着色があれば再び同様の操作を繰り返す。

着色がなくなった後硫酸層を除き、ヘキサン洗浄水を10mLほど加え、振とう器で攪拌する。水層を捨てる時、pH試験紙を用いてpHを測定し、中性になるまで水洗を繰り返す。

水洗後、無水硫酸ナトリウムを通して脱水する。

上	無水硫酸ナトリウム	約1 cm
	シリカゲル	0.9 g
	22%硫酸シリカゲル	3.0 g
	44%硫酸シリカゲル	3.0 g
	55%硫酸シリカゲル	10.0 g
	シリカゲル	0.9 g
	2%水酸化カリウムシリカゲル	3.0 g
	シリカゲル	0.9 g
下	無水硫酸ナトリウム	約1 cm

図7 55%硫酸シリカゲルを用いた多層シリカゲルカラム

表2 GC/MS分析条件

GC: Agilent 6890 Plus (Agilent Technologies)

	注入法 : スプリットレス 試料注入量 : 1 μL キャリアーガス流量 : 1.5mL/min
456Cl PCDDs/DFs	カラム : SP2331 60m/0.32mm/0.2 μm (SUPELCO) 昇温条件 : 100 (1min)-20 /min-200 -2 /min-260 (24min) 注入口温度 : 260
78Cl PCDDs/DFs	カラム : HT8-PCB 60m/0.25mm (関東化学) 昇温条件 : 130 (1min)-20 /min-320 (10min) 注入口温度 : 280
コプラナーPCBs	カラム : HT8-PCB 60m/0.25mm (関東化学) 昇温条件 : 130 (1min)-20 /min-200 -2 /min-240 -8 /min-320 (10min) 注入口温度 : 280

MS: JMS700D (JEOL)

イオン化電圧 : 38eV イオン化電流 : 600 μA 分解能 : 10000以上 加速電圧 : 10kV	データ採取方法 : SIM イオン源温度 : 260 (456Cl PCDDs/DFs) : 280 (78Cl PCDDs/DFs) : 280 (コプラナーPCBs)
--	--

2-6 55%硫酸シリカゲルによる精製方法

カラムの調製は、図7に従い、各シリカゲル等を湿式で積層する。無水硫酸ナトリウム以外は、少量のヘキサンで膨潤させた後に積層する。積層後はカラムトップまで液面を下げる。

処理方法は、カラムトップに試料を添加し、ヘキサン180mLを2.5mL/minで流下させる。硫酸シリカゲル層に着色があった場合は、溶出液をエバポレーターで1mL程度まで濃縮し、再度カラム処理を行う。

2-7 GC/MS分析条件

分析機器及び測定条件を表2に示す。

2-8 同定及び定量

同定は、¹³Cラベル体とのマッチングにより行った。定量は、クリーンアップスパイクとの相対感度係数を用い、算出した。

3. 結果

3-1 多層シリカゲルカラムのブランク値

ブランク試験に使用する多層シリカゲルカラムは、乾式で積層し調製した。

試料を添加せずにクリーンアップスパイクのみを添加して、ヘキサン100mLを流下させたものをブランク試料とし、この試料を濃縮後ノナン転溶し、シリンジスパイクを加え、調整した試料をGC/MS-SIM法にて測定した。多層シリカゲルカラムは、コプラナーPCBの汚染を受けているとの報告があったため、測定対象物質はコプラナーPCBのみとした。

測定した結果、3,3',4,4'-TeCB(#77)、2',3,4,4',5-PeCB(#123)、2,3',4,4',5-PeCB(#118)、2,3,3',4,4'-PeCB(#105)、2,3,4,4',5-PeCB(#114)の5つの異性体でピークが確認された。そのうち、#123と#114は、すべての検体で検出されず、検出された検体における定量値も装置検出下限値(IDL)以下であった。

定量値については図8のとおりである。

3-2 活性炭分散シリカゲルリバースカラムのブランク試験及び添加回収試験

ブランク試験添加回収試験は、試料を添加せずにクリーンアップスパイクのみを添加して、抽出を行った。抽出液はノナンに転溶し、シリンジス

パイクを加え、調整した試料をGC/MS-SIM法にて測定した。

回収率は、添加したクリーンアップスパイクの回収率より求めた。

従来使用していた活性炭分散シリカゲルカラムと、活性炭分散リバースシリカゲルカラムの両方のブランク値及び添加回収率を測定し比較した。

それぞれのブランク値は表3のとおりである。従来法及びリバースカラム法のいずれもブランク値は極めて低く、IDLを上回る異性体はなかった。

次に、添加回収試験の結果を表4に示す。

測定対象外ではあるが、HpCB(#180)の回収率が60%を下回ったこと、リバースカラムでHpCB(#189)の回収率が120%を越えた以外は、すべての測定対象の異性体で、回収率が60~120%の範囲内であった。また、従来法とリバースカラム法を比較しても、回収率に大きな違いはなく、ジオキシン、フラン構造体の7、8塩素体は、リバースカラムの方が、若干回収率が高い結果となった。

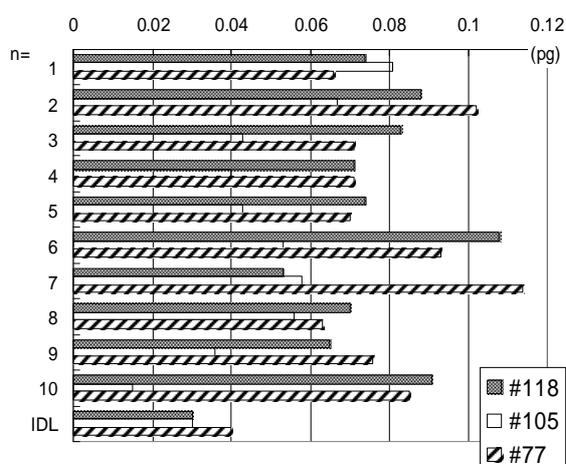


図8 多層シリカゲルカラムのブランク値及びIDL

3-3 55%硫酸シリカゲルを用いた多層シリカゲルカラムによるクリーンアップ方法

硫酸処理を用いる従来法と、55%硫酸シリカゲルを用いた多層シリカゲルカラム法について、クリーンアップスパイクを用いて添加回収試験を行った。その結果は、表5のとおりである。

測定対象外であるHpCBの#170及び#180を除き、すべての異性体で良好な回収率を示した。特に、55%硫酸シリカゲルを用いたカラム処理では、従来

法に比べて高い回収率を示す傾向にあった。

次に硫酸処理を用いた従来法、55%硫酸シリカゲルを用いた多層シリカゲルカラム法、それらを組み合わせる方法の3つの方法について、操作の効率性について検討を行った。

土壌試料60gをトルエンでソックスレー抽出し、

表3 活性炭分散シリカゲルカラムのブランク値

名称	従来法	リバースカラム法	IDL
2378 -T4CDD	0	0	0.04
1368 -T4CDD	0	0	0.02
1379 -T4CDD	0	0	0.04
T4CDDs	0.001	0.003	-
12378 P5CDD	0	0	0.04
P5CDDs	0.003	0.007	-
123478 H6CDD	0	0	0.04
123678 H6CDD	0	0	0.04
123789 H6CDD	0	0	0.02
H6CDDs	0	0.001	-
2378 -T4CDF	0	0	0.02
1278 -T4CDF	0	0	0.04
T4CDFs	0.006	0.001	-
12378 P5CDF	0	0	0.02
23478 P5CDF	0	0	0.03
P5CDFs	0.004	0.003	-
123478 H6CDF	0	0.002	0.04
123678 H6CDF	0	0.002	0.05
123789 H6CDF	0	0	0.03
234678 H6CDF	0	0	0.03
H6CDFs	0	0.004	-
1234678 H7CDD	0.002	0.003	0.04
H7CDDs	0.002	0.005	-
08CDD	0.004	0.001	0.04
1234678 H7CDF	0.003	0.009	0.03
1234789 H7CDF	0.004	0.001	0.02
H7CDFs	0.008	0.014	-
08CDF	0.001	0.002	0.04
TeCB(#81)	0	0	0.02
TeCB(#77)	0.003	0	0.04
PeCB(#126)	0.001	0	0.01
HxCB(#169)	0.007	0	0.03
PeCB(#123)	0.001	0	0.03
PeCB(#118)	0.029	0.008	0.03
PeCB(#105)	0.008	0.004	0.03
PeCB(#114)	0.002	0	0.01
HxCB(#167)	0.002	0	0.03
HxCB(#156)	0.001	0	0.04
HxCB(#157)	0	0	0.02
HpCB(#189)	0.001	0	0.03

(pg/mL)

エバポレーターで濃縮後ヘキサン転溶した抽出液に、クリーンアップスパイクを添加し、3つの方法で処理を行い、有機物が除去できるまでのそれぞれの処理回数を調べた。

なお、上記の組み合わせで添加回収試験を行ったところ、HpCBの#170及び#180を除く、すべての異性体で70%を超える回収率が得られた。

まず従来法は、今回の試料では硫酸処理が6回、多層カラム処理は2回必要であった。

55%硫酸シリカゲルによるカラム処理では、55%硫酸シリカゲルを用いた多層カラム処理が3回、通常の多層カラム処理が1回必要であった。

55%硫酸シリカゲルを用いた多層カラム処理と、硫酸処理を組み合わせる方法では、硫酸シリカゲ

表4 活性炭シリカゲル分散カラムの添加回収試験

Isomer	従来法	リバースカラム法
1368 -T4CDD	92.7	89.5
2378 -T4CDD	99.7	95.5
12378 P5CDD	91.2	95.5
123478 H6CDD	99.7	100.5
123678 H6CDD	88.9	102.2
123789 H6CDD	91.6	103.4
1368 -T4CDF	95.3	83.7
2378 -T4CDF	96.3	87.4
12378 P5CDF	97.4	99.0
23478 P5CDF	101.6	96.9
123478 H6CDF	94.9	99.5
123678 H6CDF	98.4	108.1
123789 H6CDF	96.9	98.6
234678 H6CDF	92.5	103.2
1234678 H7CDD	90.5	93.8
12346789 08CDD	79.0	81.1
1234678 H7CDF	74.1	88.8
1234789 H7CDF	84.5	97.7
12346789 08CDF	76.1	85.4
PeCB(#123)	94.9	93.4
PeCB(#118)	99.6	96.8
PeCB(#114)	94.3	92.1
PeCB(#105)	92.4	92.7
HxCB(#167)	99.6	103.5
HxCB(#156)	95.0	95.1
HxCB(#157)	92.5	95.3
HpCB(#170)	90.5	84.8
HpCB(#180)	58.0	52.1
HpCB(#189)	108.5	121.2
TeCB(#77)	87.7	88.4
TeCB(#81)	86.5	85.7
PeCB(#126)	96.8	99.2
HxCB(#169)	95.6	99.6

(%)

表5 硫酸シリカゲルと従来法の添加回収試験

Isomer	硫酸シリカゲル	硫酸処理
1368 -T4CDD	82.2	68.3
2378 -T4CDD	79.7	65.8
12378 -P5CDD	91.4	65.7
123478 -H6CDD	96.6	63.8
123678 -H6CDD	88.6	62.7
123789 -H6CDD	93.1	70.2
1368 -T4CDF	74.5	63.2
2378 -T4CDF	79.6	63.9
12378 -P5CDF	81.9	67.0
23478 -P5CDF	92.6	67.8
123478 -H6CDF	94.2	65.2
123678 -H6CDF	90.9	71.3
123789 -H6CDF	95.1	70.1
234678 -H6CDF	98.1	65.4
1234678 -H7CDD	82.9	83.8
12346789 -O8CDD	85.0	90.7
1234678 -H7CDF	77.5	84.2
1234789 -H7CDF	82.7	90.4
12346789 -O8CDF	87.6	82.3
TeCB (#77)	89.0	68.9
TeCB (#81)	94.5	74.3
PeCB (#126)	97.8	77.7
HxCB (#169)	97.0	82.4
TeCB (#79)	96.8	97.4
PeCB (#123)	90.5	83.7
PeCB (#118)	88.7	82.4
PeCB (#114)	88.3	75.8
PeCB (#105)	87.5	76.3
HxCB (#167)	83.1	77.2
HxCB (#156)	65.1	56.5
HxCB (#157)	77.4	70.8
HpCB (#170)	34.2	51.8
HpCB (#180)	13.9	26.5
HpCB (#189)	72.8	68.5

(%)

ルによるカラム処理を1回、硫酸処理を2回、多層カラム処理を1回行うことで十分なクリーンアップ効果が得られた。

4. 考 察

4-1 多層シリカゲルクロマトグラフのブランク値
使用前にヘキサンを 100mL 流下させることで、シリカゲル由来のコプラナーPCB を除去し、ブランク値の低減を図ることができた。

現行の手順書では、湿式でカラムを調製しており、その際数十 mL のヘキサンを加えているが、洗

浄溶媒の量として不十分なこと、ヘキサンの量にバラツキがあることから、ヘキサンでの洗浄を追加する必要がある。

4-2 活性炭分散シリカゲルリバースカラムの検討結果

ブランク値及び添加回収試験の結果、リバースカラム法はいずれも従来法と同等以上であることがわかった。また、従来法では3つ目のフラクションでトルエン200mLを用いて溶出させるが、リバースカラム法では40mLに削減できる。従来法では、このトルエンを用いた溶出の過程で3~4時間かかっていたが、リバースカラム法では40~50分程度に短縮することができ、この後の操作であるエバポレーターによる抽出液の濃縮も時間を短縮することができる。

しかし、カラム内に気泡ができやすいなど、操作に習熟する必要がある。

4-3 55%硫酸シリカゲルを用いた多層シリカゲルカラムによるクリーンアップ方法の検討

硫酸処理を行う従来法と、硫酸シリカゲルによるカラム処理で回収率を比較すると、後者の方が高い値を示すことがわかった。この理由として、従来法である硫酸処理は、硫酸層とヘキサン層からなる液-液抽出を行い、不純物である有機物を硫酸層に移行させて除去するという仕組みであるが、硫酸と有機物が反応するとエマルジョンを生成させる原因となり、2つの層が完全に分離しきらない。このため、ダイオキシン類が含まれるヘキサン層の回収が不十分になるためである。

硫酸処理と55%硫酸シリカゲルを用いた多層シリカゲルカラム法の操作効率について検討したところ、図9で示したとおり、2つを組み合わせる方法が最も効率がよかった。これは、それぞれの方法の特徴として、硫酸処理はある程度有機物が減るまで、非常に時間を必要とするのに対し、55%硫酸シリカゲルによるカラム処理では、有機物の量にかかわらず操作時間は一定である。したがって、最初に反応効率のよい多層カラム法で有機物のある程度取り除いて、その後に硫酸処理で精製を行うと、1回あたりの操作時間も短くなり、効率的に

処理を行える。また、硫酸処理は安価であるため、繰り返し処理するには硫酸処理の方が望ましい。

このように、それぞれの方法を組み合わせた方が、操作の手順及び時間を短縮でき、かつ、従来法に比べて回収率の向上が期待できる。

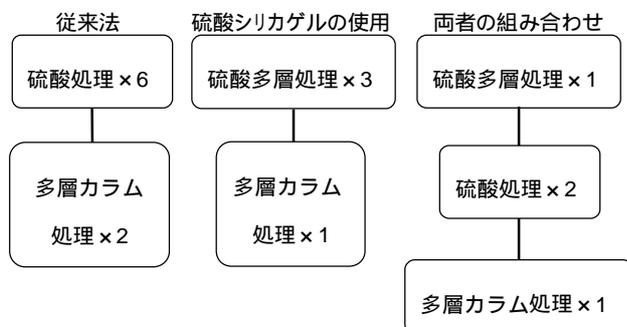


図9 硫酸処理及び硫酸シリカゲルによる多層カラム処理の組み合わせによるクリーンアップ

5. 結 語

多層シリカゲルクロマトグラフィーに使用するシリカゲルには、コプラナーPCBの一部の異性体が含まれており、カラムに充填剤を積層した後、ヘキサン 100mL で洗浄することで取り除くことができた。

活性炭シリカゲルクロマトグラフィーにおいて、リバースカラムの使用を検討したところ、ブランク値、添加回収試験の結果、いずれも従来法と同等の結果であり、分析時間を短縮できることから、リバースカラム法が優れていることがわかった。

55%硫酸シリカゲルによる土壌試料のクリーンアップ法について検討したところ、硫酸処理と組み合わせることで、最も少ない行程でクリーンアップできることがわかった。

以上の検討結果を参考にし、標準作業手順書の改定を行う予定である。

6. 文 献

- 1) 環境庁水質保全局水質管理課：ダイオキシン類に係る底質調査測定マニュアル，2000
- 2) 平成 20 年度ダイオキシン類環境モニタリング研修資料 環境調査研究所，2008
- 3) 伊藤智博，牧野悠一，黒岡正治他：55%硫酸シ

リカゲルを用いた夾雑物のクリーンアップ法，第 17 回環境化学討論会講演要旨集，420-421，2008