

示す蛍光波長のデータの連続自動測定装置も開発されており、藍藻類と他の種類とを識別する点において有用である。この他にもリモートセンシングによるクロロフィルの分布や藍藻類に特有の phycobiliprotein 色素の測定技術が開発されており、スカムの位置を把握する上で優れた能力を有し、水域の管理に貢献する。採取の頻度を決定する上で、サンプルの輸送、分析、結果の解釈と報告にかかる時間も考慮に入れる必要がある。

亜熱帯および熱帯地域では増殖の環境に変化が少ないため、藍藻類の量が 1 年間にわたって高いことが起こりうるが、このような場合、自然水および処理前の水については月に 1 度というふうに採取の頻度を小さくし、処理を行った飲用水についてはより頻度を高くして採取すべきである。

第11章 フィールドワーク、現地視察と採取

東京農業大学応用生物科学部 藤本尚志

現地視察、試料の採取、現地における分析といったフィールドワークは得られる情報の質を概ね決定する。適切なオリエンテーションとトレーニングは現地の調査において、透視度といった基礎試験を行う上で役に立つ。

11.1 フィールドワークの計画

フィールドワークの効果的な計画の主要な要素は下記に示すことを含む。

- ・時期と準備
- ・サンプルを受け入れ、分析を行う実験室に前もって連絡すること
- ・交通手段の準備
- ・現地との調整

日常的な実地調査が行われる前に、試験的な調査期間を履行すべきである。これは調査や採取に必要な時間を把握する上で有効であり、スタッフの時間や他の機材(車を含む)を最大限に活用する上で役立つ。移動時間の評価は、サンプルの分析までに許容される時間を超えないようにする上で重要である。試験的な調査では詳細な採取場所の調査と記述がなされるべきである。フィールドワークの前に、サンプルの実験室への配達タイミングと実験室内における作業負荷の管理の調整がなされるべきである。フィールド調査に先立って機材が適切に機能するかどうか、サンプルビンの数、容量等の確認が必要である。採取場所の地図、必要な機器のリスト、採取方法、採取容量等を含むチェックリストを準備する必要がある。

11.1.1 安全

藍藻類がスカムを形成しているときに作業を行う場合、注意が必要である。水との接触を極力避け、グローブやゴム靴の着用が望ましい。なぜなら藍藻類は毒素を含み、またアレルギー作用を有する可能性があるためである。透明度が低い場合、水中の危険性が見えにくいので、ボートの使用の際、歩く際、注意が必要である。

11.2 現地視察

飲料水やレクリエーションに用いられる場所は訓練された専門家による視察を必要とする。現地視察では栄養塩類の流入源、主要な土地利用、土地利用の変化に関する認識に取り組むべきである。

11.3 採取

有毒物質の濃度の潜在能力を評価するために、藍藻類の数に取り組む場合、水域において代表する1カ所もしくは数カ所において採取がなされる。危険性を評価する場合、人間や家畜に影響を与えうる場所や、飲料水源の取水口においても採取がなされる。水平方向や鉛直方向における細胞数や毒素の濃度の変化も、採取する試料数と場所を選択する際考慮に入れなくてはならない。サンプルの採取は得られるデータの解釈を容易にするために、現地視察と同時に行うべきである。サンプルの採取と保存の手順は窒素、リン濃度、藍藻種、毒素といった評価項目によって異なってくる。

11.3.1 採取容器

試料の移動に使う容器は理想的には分析を行う実験室において準備されるべきである。これによ

って適した容量を準備し、前処理や薬品の添加の必要性について考慮することが出来る。同じ場所におけるルーチンの採取において、それぞれの採取地点、それぞれの分析項目のためにいつも同じ容器を使用することが望ましい。これによって、特にリンの分析において重要な cross contamination を防ぐことが出来る。

以下に藍藻類とその関連するサンプルのための適した容器を示す。

- ・リン分析

あらかじめ洗浄した 100ml のガラス容器を用い、 4.5 mol l^{-1} の硫酸や塩酸を添加して保存する。サンプルの汚染は、リンを含む洗剤や以前に高濃度のリンを含むサンプルの保存に用いた容器によって引き起こされる。

- ・硝酸イオン、アンモニウムイオン、全窒素

100 ml のきれいなガラス製もしくはポリエチレン製の容器

- ・顕微鏡観察による藍藻類の同定

広口のポリエチレン製のボトル

- ・藍藻類の量の測定

100 ml の褐色ガラス製容器が望ましい。1ml のルゴール液、もしくはホルムアルデヒド溶液を添加する。

- ・細胞に含まれる毒の分析

最低でも 1L の容器を用いる。ガラス製が望ましいがプラスチック製でもよい結果が得られる。

- ・毒の構造解析のための大量の細胞が必要な場合

プランクトンネットにより試料を入れやすいよう広口のプラスチック容器を用いる。フリーズドライする場合は試料の層を 1-2cm 以上にならないようにする。密閉のよい丈夫な家庭用のプラスチックバックも用いることが出来るが、穴があいて漏れないように気をつける必要がある。

- ・溶存性の毒素

最低でも 1L の容器を用いる。ガラス製、プラスチック製どちらでもよい

- ・Chl. a 分析

日光によるクロロフィルの分解を防ぐため、1L の茶褐色のガラス容器が推奨される。透明な容器の場合は、試料を暗所に保存する必要がある。

藻類のサンプルの保存のためのルゴール液の調製

20g のヨウ化カリウムを 200ml の蒸留水に加え完全に混合した後、10g のヨウ素を加える。この溶液はヨウ素で過飽和してはならない。なぜなら過飽和は計数の障害となる結晶を生じさせるためである。過飽和は 100ml の蒸留水に溶液を 1ml 入れることによって調べることが出来る。もしヨウ素の結晶ができるのであれば、ヨウ化カリウムを約 5g 加えて再度調べる。もし結晶が出来ないようであれば 20ml の氷酢酸を加える。100ml の試料にルゴール液 1ml 加え使用する。スカム状のサンプルはヨウ素を急速に消費するため必要に応じてルゴール液をさらに加える必要がある

11.3.2 サンプルの種類

試料のタイプとして、決められた場所、深さ、時間から採取した試料、水域の異なった場所から採取したいくつかの試料を混合した試料の 2 つのタイプがある。前者はビーチにおける藍藻類の量や毒素の濃度を把握するのに適している。後者は藻類の増殖の潜在能力を示す全リンといった水域の物質の全量や藍藻類の総量を把握する上で有効である。いくつかのサンプルを混合したサンプルは分析項目の分布にかたよりのある場合重要である。正確な分布の把握が必要な場合は、それぞれ

のサンプルについて評価する必要がある。深さ方向に統合した試料は、表層から底泥の直上までの連続した水柱、もしくは代表的な深さから数サンプル採取した後、混合することにより得られる。後者は深い湖に有効である。成層すると水域では物理化学的特性や藍藻類の数の異なる表水層と深水層の2つの水塊に分かれる。温度成層はたいてい溶存酸素、栄養塩類、藻類の群集の不均質な分布を引き起こす。このような状況では表層のみの試料よりも、深さ方向に混合された試料のほうが藻類濃度や栄養塩濃度を把握する上で有効である。対象となる湖の成層特性に関する情報が利用できれば、代表的な層を選択することが可能となり、サンプルの数を減らすことが出来る。

スカムはしばしば湖岸で発生するため、広口のプラスチックもしくはガラスの容器により採取される。スカムは藍藻類の濃度や毒性物質濃度の最大値を評価するための最も濃度の高い表層部分および水浴者や子供によって混合された状況を想定したかき混ぜたスカムについて採取し、比較するのに用いられる。

プランクトンネットによる藍藻類の採取は大量の細胞が必要なとき、もしくは藻類の定量が必要なときに用いられる。プランクトンネットによる過量を正確に決定できない点および藻類種によって存在する深さが異なる点に留意する必要がある。

11.4 栄養塩類、藍藻類と毒素

暖かい天気のもと、溶解性反応リンの分析が必要な場合はフィールドや船上において迅速に処理する必要がある。アンモニウムイオンから硝酸イオンへと硝化が起こるかもしれないので、それらを分析する場合は冷蔵して24時間以内に迅速に分析する必要がある。

11.4.1 藍藻類の同定と定量

藍藻類は容器内で層状に集積する傾向があるので、採取する直前に攪拌する必要がある。ルゴール液は藍藻類の色を隠す作用があるので、同定を行うときは生のサンプルのほうが有用である。同定用の生のサンプルはフィールドと同じ条件下であれば24時間まで保存が可能である。もし保存期間が長くなるのであればフォルムアルデヒドによる保存が有効である。

11.4.2 クロロフィルa分析のためのサンプル

クロロフィルaの測定をする際は、色素の分解が早いので、採取地点において過剰、フィルターをアイスボックスに保存することが望ましい。やむなく実験室にて行う場合も4時間以内に迅速に行う必要がある。

11.4.3 藍藻毒の検出のための巨大な藍藻類のサンプル

マウス試験のようなバイオアッセイは機器分析に比較して感度が悪いので、大量のサンプルを必要とする。

11.4.4 細胞由来および溶存性の毒素の定量

レクリエーション用の場所の全毒素の調査および評価のためには、細胞に含まれる毒素の評価が重要である。溶存性の毒素は水道水源において注目される。溶存性の毒素の定量には多くの試料を必要とする。あらかじめ濾紙の重さを量り、藻体の重さを測定することにより、乾燥重量あたりの毒素量を定量することが出来る。

11.5 現地における調査

多くの項目について現地において分析することが出来る。一般的にセッキ板を用いた透明度、温度、溶存酸素が現地において測定される。透明度を測定する際は藍藻類の表層への集積を乱さないように注意深く行う必要がある。

11.6 フィールドに関する記録

現地調査における注意深いフィールドに関する記録は、調査結果の解釈のために極めて重要である。フィールドに関する記録として、スカムの存在、採取日の天候、採取日の2-3日前からの天候、スカムがあるにもかかわらず水浴している人の数、スカム発生場所における水浴に対する不完全な警告、サンプリングプログラムの向上に関する提案、新たに見つかった流入源、農業における変化、土地利用の変化などが挙げられる。

11.7 試料の保存と輸送

試料は、採取場所、日時、深さに関してはっきりとラベルがなされなくてはならない。溶存性の物質を測定する場合、冷蔵保存が重要である。藍藻類同定用の生のサンプル、計数用の固定したサンプル、酸素測定のための Winkler 試薬で固定したサンプルは常温で保存し、直射日光をさける。保存時間は一般的に2,3時間以内が望ましく、24時間以上の保存はさけるべきである。

第12章 実験室における藍藻類の測定

東京農業大学応用生物科学部 藤本尚志

水源における藍藻類の同定と定量は藍藻毒のモニタリングプログラムの基本的な要素であり、有毒である可能性の高いブルームの発生に対して有効で迅速な警告を与える。属名の識別において迅速で単純な手法が用いられるが、危険性の基礎的な評価や管理に関する意志決定のために十分である。藍藻類が許容値を超えているかどうかといった量的な疑問に答えるためにはさらなる測定が必要である。迅速な定量法としては、細胞数の測定やクロロフィル a の測定が用いられる。もし群集の増加や毒素の含有量を予測する場合は、より詳細な種の同定やバイオマスの測定が必要となる。藍藻類の数は、数分や 100m の場所の違いであっても、数倍の差異を示すことがある。従って、1 週間に一つのサンプルについて正確にバイオマスの測定を行っても、群集のサイズに関する評価の基礎を築くことが出来ない。多くのサンプルについて精度を下げて評価することにより、よりよい情報を得ることが出来る。

12.1 サンプルの取り扱いと保存

ルゴール液によって固定された試料は、常温で強光をさけて保存すれば比較的安定である。しかしながら可能な限り迅速に測定することが望ましい。なぜならいくつかの藻類は保存が困難であり、ルゴール液は保存期間を超えると分解するためである。生のサンプルを迅速に分析することが出来ない場合、暗所で温度を現地の温度付近に維持するべきである。生のサンプルのほうが同定には望ましい。例えば *Aphanizomenon* の群体は束状になり、これが同定のポイントとなるが、保存剤はこのコロニーを破壊してしまい、同定を難しくする。クロロフィル a、リン酸イオン、硝酸イオン、アンモニウムイオンなどの分析の際、サンプルは採取後可能な限り迅速にろ過を行うべきである。ろ過水は分析までの時間が 2~3 時間の場合は冷蔵庫に保存し、数週間保存する場合は -18°C で保存する。クロロフィル a 分析用の藻類が集積したろ紙については色素の抽出をすぐに行うことができない場合は、-18°C で保存する方法が多くの実験室でとられている。

12.2 藍藻類の同定

ブルーム形成時のサンプルの顕微鏡観察は、正確な計数が行われなくても極めて有効である。藍藻類が検出されたという情報は、有害な藍藻毒が存在する可能性があるという警告を与えることが出来る。顕微鏡観察に基づく情報により、毒素のレベルを測定する上でバイオアッセイがよいのか、分析がよいのか選択することが出来る。多くの藍藻類は 200~1000 倍の倍率において、形態学的特質から他の藻類と区別することが可能である。図 12.1 は毒素を産生する代表的な藍藻類を示す。藍藻類の分類法は botanical code に従って属名や種名によって識別される。しかしながらこの識別法は不明確であるとされており、同じ種に属していても実際は遺伝学的差異を有する場合がある。一つのコロニーから分離・培養して得られた遺伝的に同一の細胞は strain や遺伝子型と呼ばれ、現地における 1 種の群集は顕微鏡観察によって識別することの出来ない多くの遺伝子型からなる。microcystin の含有量が遺伝子型や strain によって著しく異なることがわかっているため、属レベルの同定が十分である場合がある。もし顕微鏡による種間の識別が困難である場合、属名だけを記載しておくことが望ましい。種名まで優占藻類を同定することは毒素の含有量を推測する上で有効で

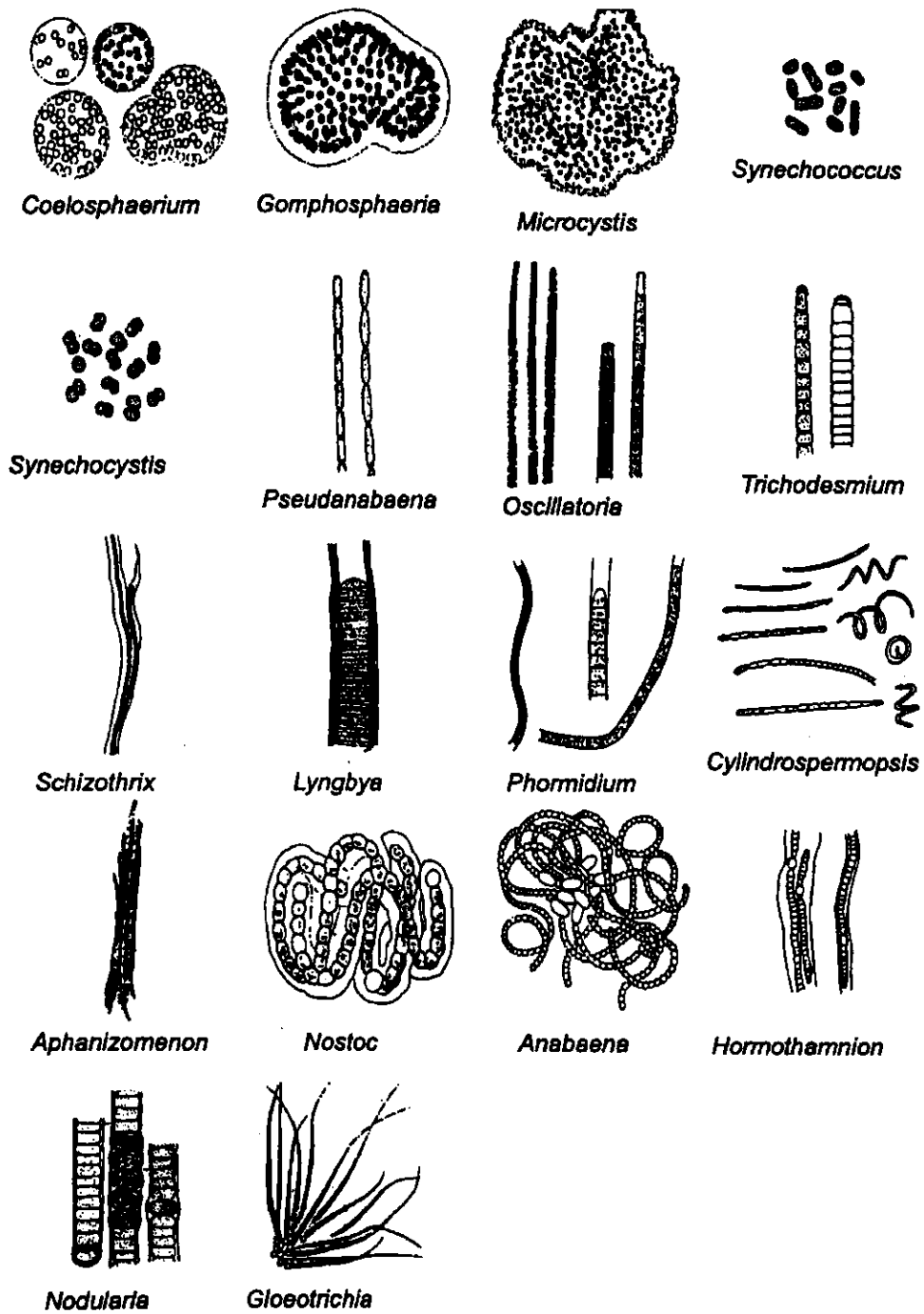


図 12.1 藍藻毒を産生する出現頻度の高い藍藻類

ある。たとえば、*Planktothrix agardhii* および *Planktothrix rubescens* は microcystin を含有するが、それぞれの種が毒性の異なった同族

体を含むことが証明されている。実験室における藍藻類の同定を行う上で、藍藻類同定に関する専門家による初期の相談や時々の技術協力が必要である。専門家は、これらの分類や同定に関する基準を初期において得る上で貢献する。

12.3 定量

多くの水域や採取場所から採取した多くのサンプルのモニタリングのための迅速な手法は、いくつかの国において開発されている。これらの手法は標準化されておらず、国際的にも評価されていない。計数の単位の適切な使用は、発生している藻類が糸状性か円形か、コロニーを形成するか否か、多様か単一種からなるかといったことに依存する。藍藻類のバイオマスはクロロフィル a の定量によって測定することが出来る。これは迅速で単純な手法であるが藍藻類以外の藻類のクロロフィル a の干渉を受けやすい。従って藍藻類が優占している場合に有用である。

12.3.1 計数

藍藻類の細胞、糸状体、コロニーの顕微鏡による計数は有毒藻類の存在の可能性を直接的に評価するという利点を有する。その手法は1試料あたり数分から数時間を消費し、その時間は必要とされる精度、識別される種の数に依存する。

沈降もしくは遠心分離による試料の濃縮

保存された細胞の直接的な計数はカウンティングチャンバーと倒立顕微鏡を用いた Utermohl の計数技術によって行われる。この方法は細胞のタイプが多様な場合の評価に適合しており、信頼できる手法のひとつとして受け入れられている。最も一般的に用いられているチャンバーは直径が2.5cm で高さが0.5-2cm のもので2-10ml の試料を含むことが可能である。もし、倒立顕微鏡を使用できない場合に低濃度の試料を測定しなくてはならない場合は、メスシリンダーにおける沈降を利用した手法などが、試料の濃縮のために用いられる。

沈降が困難な場合は遠心分離が試料を濃縮する上で迅速で便利な手法である。ルゴール液による固定は遠心分離による細胞の分離を容易にする。しかしながら浮上性の細胞は沈みにくいため、遠心分離の操作の前に、圧力をかけることによってガス胞を破壊することが必要である。試料が濃縮されたならばカウンティングチャンバーを用いて、もしくはマイクロピペットを用いて適量をスライドグラス上に滴下し計数することによって、既知の容積について定量することができる。

藍藻類の計数

藍藻類の計数のためには数える単位を定義する必要がある。浮遊性の藍藻類の多くは、識別の困難な多くの細胞からなる糸状体やコロニーとして存在する。定量の正確さは数えた細胞やコロニーの数に依存する。コロニーの数は濃厚なブルーム形成時でも100ml 中20-40個でありそれほど高くない。糸状体に存在する細胞数とコロニーの中に存在する細胞数は著しく異なるため、コロニー数として計測されたデータは、存在する藍藻類の量に関する情報として十分なものではない。一般的に単一の細胞として存在する種は1ml あたりの細胞数として計数がなされる。糸状性の種は糸状体として計数され、糸状体当たりの細胞数が示される。最初の30糸状体の細胞数が計数され、平均値を算出する。選択的に、1ml あたりに存在する糸状体のそれぞれの長さの合計値を藻体量として評価することも出来る。コロニー形成種については、コロニーを数えてコロニーサイズを評価するよりも、コロニーを分解して細胞を数えるほうが望ましい。ルゴール液による固定を行ってから数日後コロニーの分解が起こる。より安定したコロニーについてはアルカリ性加水分解や超音波処理に

よって分解する。もしこのような手法を利用できない場合、それぞれのコロニーの容積を評価すべきである。もし、コロニーのサイズが比較的同じであるならばコロニーあたりの平均細胞数を測定することができ、それからコロニーを計数することによって細胞数を算出することが出来る。一般的に、公表されているコロニーあたりの細胞数の使用は、コロニーのサイズが著しく異なるので、推奨されていない。

以下に示すようにいくつかの体系的な藍藻類の計数手法が存在するが、多くの手法は、試料のある部分を計数し、そのあとに試料全体あたりの量に換算するものである。

- ・チャンバーの全表面を数える方法
- ・チャンバーの端から端まである一定の幅に存在する藻類を数える手法、チャンバーの中心を通らなければならない。
- ・ランダムに選んだ視野に存在する藍藻類を数える方法

低倍率でチャンバーの全表面を計数する手法はサイズの大きい種に合っている。チャンバーの端から端まである一定の幅に存在する藻類を数える手法およびランダムに選んだ視野に存在する藍藻類を数える方法は小さい、もしくは単一の細胞で存在する藍藻類に適している。チャンバー内の藻類の分布は上下方向や水平方向に偏りを生じる場合があるので、偏りにより生じる不正確さを、チャンバーの端から端まである一定の幅に存在する藻類を数える手法(transect counting)により最小限に食い止めることが出来る。1つの transect あたり、100 単位(細胞数、糸状体、コロニー)存在する場合、正確さと計数時間との関係が効率的になることから、このぐらいの濃度になるように希釈や濃縮を行うことが望ましい。

機械的、もしくは電気的な細胞の計測器が計数に要する時間を短縮するが、2-3 種のみが存在する場合だけにおいて有効である。藍藻類の数を計数する上で、倒立顕微鏡とカウンティングチャンバーの使用が最も適しているが、あらかじめ濃縮された試料や藻類濃度が高いサンプルに対しては標準的な顕微鏡を用いてマイクロピペットにより決まった量を滴下することによって計数することが可能である。Sedgewick-Rafter や血球計算盤といったチャンバーも標準的な顕微鏡において使用可能である。油浸を用いて 1000 倍で観察することにより、通常のカウント時に見逃す可能性のある小さい種の存在を確認することも必要である。注射器を用いたろ過により藻類をフィルター上に集めて観察する方法も沈降に要する時間がないため時間の消費が少ない点で有用である。

12.3.2 顕微鏡による藍藻類のバイオマスの測定

細胞のサイズは種間で大きく異なり、毒素の濃度は細胞数よりも試料中の乾燥物質の量と密接な関係を有する。それゆえ、細胞数はしばしば群集量や毒素の潜在性を測定する上で不向きな場合がある。この問題はバイオマスを測定することによって解決することが出来る。細胞数と平均細胞容積から求める方法と、色素の含有量の化学分析から求める方法の2つの方法が有効である。

藍藻類の計数と細胞の容積

藻体の容積は、試料に存在するそれぞれの種の平均細胞容積を計測し、この値に細胞数をかけることによって求めることが出来る。平均容積はそれぞれの種の理想化された幾何学体を仮定し(*Microcystis* は球体、糸状体は円柱)、10-30 細胞の幾何学的な寸法を測定することによって求められる。

12.4 クロロフィル a 分析によるバイオマスの測定

クロロフィル a 色素は一般的に藻類の乾燥重量の 0.5-1% を占める。クロロフィル a は、水域の藻類のほとんどを藍藻類が占めるブルームの形成時に、藍藻類のバイオマスの指標として有効であ

る。しかしながら、多様な藻類群集(藍藻類と他の藻類が混在)について測定がなされたとき、藍藻類のバイオマスとしての正確な測定は出来ない。クロロフィル a の測定は、ろ過器、遠心分離器、分光光度計といった比較的単純な実験室の備品を必要とする。

12.5 栄養塩類濃度の測定

藍藻類のブルームの発生の潜在性は、細胞を構成する元素の利用可能な濃度に依存する。これらの元素は生細胞中のそれらの元素の比に応じて必要とされる(42C, 8.5H, 57O, 7N, 1P, 0.7S, 重量として)。水素と酸素は水環境中に無制限に利用可能である。硫黄も十分な濃度で存在する。炭素は潜在的に制限因子になると考えられてきたがたまにしか制限とならない。多くの場合リン濃度がバイオマス量を制限するが、時々窒素が制限する。主な窒素源は硝酸イオンとアンモニウムイオンであるが、窒素源の不足はいくつかの藍藻類によって空中の窒素を固定することにより、補充される。このようにリンが明らかに制限因子であっても、窒素の利用性の知識が窒素固定種が増加するか否かを推測する上で役に立つ。

藍藻類の細胞は過剰な窒素を蓄積する能力はほとんどないが、4回の分裂に必要なリン酸イオンを蓄積することが出来る。したがってリン酸イオンが検出されたなら藻類群集はリン酸によって増殖を制限されていないということだけを証明できる。水域の藍藻類群集の増加の潜在能力を評価するためには、全リンを測定し、そのあと全窒素と比較する必要がある。窒素が制限になっているかどうかを評価するためには硝酸イオンやアンモニウムイオンといった溶存性のものを測定するだけで十分である。

第13章 ラン藻毒の分析

近藤文雄 愛知県衛生研究所

現在、水中及びラン藻内の毒素を検出、同定するために、様々な方法が用いられている。それらは、複雑さの程度が大きく異なり、そこから得られる情報も種々異なっている。比較的単純で低コストな方法は、危険性を迅速に評価し、とるべき対応策を決定するために用いられる。これに対して、高度に洗練された分析法は、ラン藻毒を正確に同定、定量するために用いられる。本章では、その検出頻度が最も高く、かつ研究成果も多く報告されている、microcystin の分析法を中心に紹介する。

13.1 試料の取り扱いと保存

分析を開始する前に、どのような分析を行うべきなのかを考えなければならない。また、試料が研究室に到着次第、前処理が必要かどうかを速やかに判断しなければならない。

ラン藻毒分析用試料は、ラン藻毒が分解しないよう冷暗所で保存しなければならないが、保存期間は最小限に留めることが大切である（できれば24時間以内）。長期間の保存が必要な場合には冷凍する。ただし、解凍時にラン藻の細胞内から毒素が放出されてしまうので、はじめから細胞外に存在していた毒素量と、細胞内から放出された毒素量を区別して定量することはできず、それらの合計量のみを定量することになる。

スカム状あるいはプランクトンネットで濃縮したラン藻は、凍結乾燥して保存されることが多い。凍結乾燥したラン藻は粉末状になるため、抽出時の秤量が容易になる。しかし、空中に飛散しやすくなり、誤って吸入すると健康被害が起こる恐れがあるため、取り扱いには十分注意する必要がある。

13.2 ラン藻毒を分析するための試料調製とバイオアッセイ

13.2.1 抽出

ラン藻毒を検出するためには、ラン藻の細胞、動物の組織のような生物試料、あるいは水中からラン藻毒を抽出する必要がある。ラン藻からの抽出は、種々の溶媒、例えば5%酢酸、メタノール、酸を含むメタノール溶液（トリフルオロ酢酸添加）、水とメタノールの混合溶媒、ブタノール-メタノール-水(1:4:15) (Harada, 1996) などが用いられている。

13.2.2 試料のクリーンアップ

クリーンアップ法の目的は、分析対象物（ラン藻毒）を損失することなく不純物を除去することと、試料中のラン藻毒を濃縮することである。クリーンアップが必要かどうかは、毒素の同定及び定量を高い確度で行う必要があるかどうかによる。

Tsujiら(1994)は、湖水中のmicrocystinの分析を目的として、ODSシリカゲルとシリカゲルカートリッジを用いた二段階のクリーンアップ法を開発した。試料水をODSシリカゲルカートリッジに負荷し、90%メタノール水でmicrocystin含有画分を溶出させる。この画分を100%メタノール溶液にした後、シリカゲルカートリッジに負荷する。100%メタノールで洗浄後、10%の水を含む0.1%TFA-メタノール溶液で溶出し、目的画分を得る。この方法でクリーンアップを行うことにより、ほとんどの夾雑物が除去される。Tsujiら(1996)は、この二段階のクリーンアップ法とUV検出HPLC法及びLC/MS法を用いて、1992年から1995年にかけて日本の湖で採取したラン藻を含む湖水を分析

し、ラン藻内及びラン藻から水中に放出された microcystin 濃度を定量した。その結果、3種の microcystin (LR, YR, RR) が検出され、その濃度は、水中で $0.02\text{--}2.64 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ 、ラン藻内で $0.02\text{--}378 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ であった。

さらに、新しいクリーンアップ法として、抗 microcystin-LR モノクローナル抗体を用いたイムノアフィニティー精製法が開発されている (Kondo ら、1996)。この方法を用いることにより、実験動物 (マウス、ラット) の肝臓中に含まれる多量の夾雑物が効果的に除去され、microcystin 及びその代謝物を HPLC、Frit-FAB LC/MS で分析することが可能になった。

13.3 毒性試験とバイオアッセイ

13.3.1 バイオアッセイ

ラン藻毒の生物学的検出法としては、マウスを用いたバイオアッセイが一般的である。このアッセイ法は数時間のうちに毒性試験を行える優れた方法であるが、一般的に感度が低く特異性に欠ける問題点がある。

ラン藻毒のスクリーニングを目的として、ブラインシュリンプ (*Artemia salina*)、ダフニア (*Daphnia*)、*Thamnocephalus platyurus*、ショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) などを用いたバイオアッセイが検討されてきた。

13.3.2 生化学的アッセイ法

プロテインフォスファターゼ阻害アッセイ法は、microcystin 及び nodularin の高感度検出が可能なスクリーニング法である。このアッセイ法の測定原理は、プロテインフォスファターゼの作用によって、放射性同位元素で標識した基質から遊離される ^{32}P の量を定量するものである (Lambert ら、1994)。しかし、本法は放射性同位元素を使用するため、そのための施設や規定を設ける必要があり、日常的なモニタリング法としてはあまり相応しくない。また、放射性同位元素の代わりに比色法を用いたプロテインフォスファターゼ阻害アッセイ法が、An と Carmichael (1994) によって報告されている。

13.3.3 免疫学的検出法

酵素免疫吸着測定 (ELISA) 法は、検出感度、特異性の面、さらには操作が容易であることから、今のところ microcystin のスクリーニング法として最も有望な検出法である。Microcystin-LR に対するモノクローナル抗体 (M8H5 抗体) (Nagata ら、1995) を用いた高感度な競合 ELISA 法が開発されており、水中の microcystin の測定に対する検出限界は $0.05 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ である (Ueno ら、1996)。この ELISA 法は、キットとして市販されている。

13.4 機器分析法

機器分析法は、ラン藻毒の分子量、発色団、分子内の官能基の反応性といった物理化学的性質を利用してはいる。

これまでに開発されている機器分析法のほとんどが、microcystin を対象としている。nodularin はその物理化学的性質が microcystin と類似しているため、microcystin と同じ手法で測定が可能である。Microcystin の検出には、UV 検出器と組み合わせた HPLC が最も広く使用されているが、本法により得られる情報は保持時間のみであり、同定するためには標準品を必要とする (Harada、1996a)。フォトダイオードアレイ検出器を用いることにより、microcystin を同定する能力は高まるものの (Lawton ら、1994)、ほとんどの microcystin は類似した UV スペクトルを示すため、個別の成分を識別することはできない。Microcystin を酸化して生成する 1-methyl-3-methoxy-4-phenylbutyric acid (MMPB) を検出することにより、microcystin をスクリーニングする方法も報告されている (Harada

ら、1996b)。

ラン藻毒をより信頼性高く同定しようとする場合は、より高度な手法を用いる必要がある。液体クロマトグラフィー/マススペクトロメトリー (LC/MS) は、複数の microcystin の分離と同定を一度に行うことができる、非常に有力な方法である (Kondo ら、1992)。試料量が極めて限られている場合、マトリックス支援レーザー脱離イオン化-飛行時間型質量分析計 (MALDI-TOF MS) を用いた microcystin の同定法が報告されている (Erhardt ら、1997)。本法は、定性分析用として有望であるが、定量分析には今のところ適用することはできない。

個々の毒素をよりいっそう高い精度、確度及び感度で検出しようとするならば、何段階かの一連の過程が必要となる。まず、高感度で簡単な方法を用いて、少量の試料で microcystin の存在の有無を迅速にチェックする。そのための方法としては、バイオアッセイ (例えば ELISA、プロテインフォスファターゼ阻害アッセイ) 及び MMPB 法が挙げられる。これらのスクリーニング法によるチェックを行うことにより、以後の同定、定量を行うべき試料数を減らすことができ、そのため分析に要する手間を削減することができる。さらに、このチェックは、試験した水が生活用水として使用可能かどうかの判断を、迅速に行うための手助けとなる。もしスクリーニング法により陽性となった場合には、毒素の同定、定量を行う必要がある。水試料中の microcystin 濃度は通常 1-2 $\mu\text{g/l}$ と低いいため、あらかじめクリーンアップ及び濃縮操作を行うことが必要である。水試料中の微量な microcystin を分析するためには、ODS シリカゲル及びシリカゲルカートリッジによる二段階のクリーンアップ法が有効である。最終的には、UV 検出 HPLC 法を用いて microcystin を分離、検出し、個々の成分の濃度を定量する必要がある。なお、スクリーニング法は個々の成分の濃度を定量することはできないが、トータルの microcystin 量のみならば定量が可能である。microcystin の標準品が入手できれば UV 検出 (できることならフォトダイオードアレイ検出が望ましい) HPLC 法でも正確な定量が可能であるが、入手が不可能な場合には、より高度な技術を要する LC/MS を選択するべきである。

Ⅲ. 1,4-ジオキサンの水道水源における実態調査等

1. はじめに

1,4-ジオキサンは、溶剤や洗剤、1,1,1-トリクロロエタンの安定剤として使用される合成有機化合物で、平成9年度の生産量(推定)は約4500t(トリクロロエチレンやテトラクロロエチレンの1/20～1/10)である。また、1,4-ジオキサンはポリオキシエチレン系非イオン界面活性剤等の製造工程で副生するとも言われている。

1,4-ジオキサンは、国内では昭和62年に「化学物質の審査及び製品の規制に関する法律」(化審法)により指定化学物質に指定され、その製造、輸入の際には届出が義務づけられている。また、1,4-ジオキサンは、世界ガン研究機関(IARC)により発ガン性2B(ヒトに対する発ガン性の明らかな証拠があるもの)に、米国環境保護庁(USEPA)により発ガン性B2(ヒトに対して発ガン性物質である可能性が高いもの)に分類される有害物質で、USEPAは飲料水起因による 10^5 の発ガン危険濃度(ヒトの生涯リスクが 10^5 となる濃度)を $30\mu\text{g/L}$ と算出している。さらに、WHOでは2003年に改定される飲料水水質ガイドラインに向けて検討すべき物質として取り上げられている。

1,4-ジオキサンは水への溶解度が高く、水域において広範囲の汚染が確認されている。なかでも我国の河川では、平成11年度に $100\mu\text{g/L}$ の高濃度で1,4-ジオキサンが検出された事例も確認されている。しかし、発生源や環境中での挙動については明らかにされてはいない。一方、浄水処理においては、オゾン処理では50%程度、活性炭処理では10～50%程度除去される程度で、通常処理(凝集沈殿+砂ろ過)では除去されないと報告されている。以上のことから、1,4-ジオキサンについて、浄水場の原水、浄水の調査を定期的に行い、動向を把握しておく必要がある。そこで昨年度に引き続き、全国の河川水、放流水、浄水場、原水等について実態調査及び暴露評価研究として摂取量の市場的調査を行った。

2. 実態調査

2. 1. 研究目的

我が国における1,4-ジオキサンの全国的な存在状況を実施しているのは、当研究プロジェクトが行っている以外に余り報告されていない。本年度は、全国水道事業者のうち大規模事業者の水道水源としての河川水の状況を把握すること、河川への汚染源として考えられる各種事業場及び下水放流水等の発生源での存在状況を把握すること及び原水から通常処理あるいは高度浄水処理などによる浄水での除去性等について検討した。

2. 2. 研究方法

2. 2. 1. 分析方法

[試薬]

(1)1,4-ジオキサン標準原液：(市販の2000mg/ml溶液。)メタノールで希釈して100mg/l溶液としたもの。褐色のアンプルに封入して保存する。

- (2) 1,4-ジオキサン-d8 標準原液：(市販の 1g を全量) メタノールで 2000mg/l 溶液とする。
さらに、メタノールで希釈して 100mg/l 溶液としたもの。褐色のアンブルに封入して保存する。
- (3) 1,4-ジオキサン標準液：標準原液 1ml をアセトンで希釈し、10ml とする。この溶液 1ml は、10 μ g の 1,4-ジオキサンを含む。
- (4) ジクロロメタン：残留農薬試験用 (1000 倍濃縮保証品) に相当するもので、20ml を 1ml に濃縮し、その 2 μ l をガスクロマトグラフ・質量分析計で測定し、1,4-ジオキサンが含まれていないことを確認したもの。
- (5) アセトン：残留農薬試験用 (1000 倍濃縮保証品) に相当するもので、50ml を 1ml に濃縮し、その 2 μ l をガスクロマトグラフ・質量分析計で測定し、1,4-ジオキサンが含まれていないことを確認したもの。
- (6) メタノール：残留農薬試験用 (1000 倍濃縮保証品) に相当するもので、20ml を 1ml に濃縮し、その 2 μ l をガスクロマトグラフ・質量分析計で測定し、1,4-ジオキサンが含まれていないことを確認したもの。
- (7) 水：再精製水もしくは市販のペットボトル入りミネラルウォーター (注 1) で、1,4-ジオキサンが含まれていないことを確認したもの。
- (注 1) 例えば、エビアン水等。

[器具および装置]

- (1) 固相カラム：活性炭固相カラム (注 1) およびスチレンジビニルベンゼンポリマー固相カラム (注 2)。
- (2) マイクロシリンジ：容量 1 ~ 10 μ l のもの。
- (3) 固相抽出用装置
- (4) ガスクロマトグラフ-質量分析計システム：
- a) 試料導入部：スプリットレス方式で、200 ~ 250 $^{\circ}$ C にしたもの。
- b) 分離管：内径 0.20 ~ 0.53mm、長さ 60 ~ 75m の熔融シリカまたはホウ珪酸ガラス製のものであって、内面に 25%フェニル-75%ジメチルポリシロキサンを 0.1 ~ 0.2 μ m の厚さで被膜したもの、またはこれと同等の分離性能を有するもの (注 3)。
- c) 分離管の温度：最適分離を示す昇温条件。一例として、45 $^{\circ}$ C (1 分間保持) -10 $^{\circ}$ C/分 -200 $^{\circ}$ C (5 分間保持)。
- d) 検出器：イオン選択検出器 (SIM) またはマスクロマトグラフ法が行えるもの。
- e) セパレーター温度：機器の最適条件とする。
- f) イオン化電圧：電子衝撃イオン化電圧 (EI) を 70eV にしたもの。
- g) イオン源温度：機器の最適条件とする。
- h) 測定質量数：1,4-ジオキサン；88 および 58、1,4-ジオキサン-d8；96 および 64。
- i) キャリアーガス：純度 99.999v/v% 以上のヘリウムガス。
- (注 1) ウォーターズ社製 Sep-Pak Plus AC-2 もしくはこれと同等の性能を有するもの。
- (注 2) ウォーターズ社製 Sep-Pak Plus PS-2 もしくはこれと同等の性能を有するもの。
- (注 3) 例えば、Aquatic、HP-624、WAX 系カラムなど。

[試料の採取]

試料は、BOD ふらんびん又はガラスびんを精製水で洗浄した後、アセトン洗浄後、120℃で2時間程度加熱したものにVOC用検体の採取に準じて採取する。(ミネラルウォーターのペットボトルの空き瓶を洗わずにそのまま用いてもよい。但し、空けたばかりのものを直ちに使用する。)

200mlを、以下の操作により抽出・濃縮を行う(注1)。

試料は氷冷して輸送し、速やかに測定する。速やかに測定できない場合は、冷暗所に保存する。

(注1) 今回の測定では、同時に測定を行う物質もあるので、必要充分量の試料を採取することに注意。

[試験操作]

- (1) 固相抽出：活性炭固相カラムとスチレンジビニルベンゼンポリマー固相カラムを直列に接続し、スチレンジビニルベンゼンポリマー固相カラム側からジクロロメタン 10ml、アセトン 20ml、及び水 40ml を逐次通してコンデিশョニングする。サロゲートとして 0.5 μ g の 1,4-ジオキサン-d8 を添加した検水 200ml を、調整した固相カラムにスチレンジビニルベンゼンポリマー固相カラム側から流速 10ml/分で通水する。通水後、活性炭固相カラムを取り外して、再精製水 10ml で洗浄する。窒素ガス 2kg/cm² で 20 分間以上パージして充分水分を除去する。2ml のアセトン(注1)を流速約 1ml/分で通水方向とは逆にゆっくり通し、1,4-ジオキサンを回収する。流出液に窒素ガスを緩やかに吹き付け、正確に 1ml とし、これを検液とする。
 - (2) 分析：得られた検液の一定量 (1 ~ 2 μ l) をとり、スプリットレス方式でガスクロマトグラフ-質量分析計に注入する。SIM 法又はマスクロマトグラフ法を用いて、1,4-ジオキサンの特有のフラグメントイオンをモニターし、標準物質と一致することを確かめ、保持時間に相当する位置のピーク高さまたはピーク面積を求める(注2)。
 - (3) 空試験：空試験として、再精製水を 200ml 用い、(1)および(2)と同様に操作してピーク高さまたはピーク面積を求める。
 - (4) 検量線の作成：(3)で調整した 1,4-ジオキサン標準液を 0.02 ~ 1.0ml の間で数段階とり、各濃度段階の溶液すべてに内部標準物質として 1,4-ジオキサン-d8 標準原液 100mg/l を 0.05ml 加え、アセトンによりそれぞれ全量 10ml とし、段階希釈標準液を調製する。これら標準列の一定量を取り、横軸に「1,4-ジオキサンと 1,4-ジオキサン-d8 の濃度比」、縦軸に各濃度比における「1,4-ジオキサンのピーク高さまたはピーク面積と、1,4-ジオキサン-d8 のピーク高さまたはピーク面積の比」をとって検量線を作成する。
 - (5) 濃度の計算：「(4)検液のピーク高さ又はピーク面積と、1,4-ジオキサン-d8 のピーク高さまたはピーク面積の比」から、検量線を用いて「検液中の 1,4-ジオキサンと 1,4-ジオキサン-d8 の濃度比」を求め、1,4-ジオキサン-d8 の濃度を代入すれば検液中の 1,4-ジオキサンの濃度が求められる。これに濃縮倍率をかけて試料 1 リットル中の濃度を算出する。
- (注1) 固相カラムからの脱離溶媒は、ジクロロメタンでもよいが、ジクロロメタンから

は 88 イオンがあるので、アセトンの方がよい。

(注2)一度は脱離液をさらに濃縮して Scan し、ジオキサンのマススペクトルを確認すること。

2. 2. 2. 実態調査

上記の方法を用いて、以下の試料水及び採水方法で水道原水中の存在状況を調査した。

試料水：表流水および地下水、河川水、事業場排水、下水流入水、放流水、水道原水、排水

試料水採取回数：1回もしくは2回

測定項目：非イオン界面活性剤の他、陰イオン界面活性剤 TOC、VOC

結果の報告：別紙の様式に従って、1,4-ジオキサン、非イオン界面活性剤、陰イオン界面活性剤 TOC、VOC を各試料毎に3回繰り返し測定し、その測定値から算出された試料の濃度を平均せずに各々記載することとした。また、定量下限値も記入した。

2. 3. 研究結果

2. 3. 1. 排出源における存在状況

2. 3. 1. 1 排水（放流水）における存在状況

1) 調査事業場の概要

1,4-ジオキサンは PRTR 法にも指定され、使用企業に対して、その使用排気量の届出が義務化されることになった。そこでいくつかの 1,4-ジオキサン使用企業に焦点をあて排水や放流水中の 1,4-ジオキサンの排出量を調査した。

調査した河川流域は SK とした。SK 川は 2 県にまたがる 1 級河川で、その源は 2 つの湖沼と湧水に発している。途中多くの支川を合わせ、旧街道に沿って約 50km 流下し湖に至る。さらに 10km 下流のつぎの湖を経て県の中央部を流れ相模湾に注ぐ流域面積 1,684km²、延長 113km の河川である。YA 県側での流域人口は、1 市等で 19 万人余である。また、水質汚濁源となる事業所は染色繊維業、食品製造業であるがいずれも規模は大きくない。2 湖沼等の周辺流域人口は、5 万人余で、観光客は年間 200 万人である。SK 川中流域での人口は、1 市等の 114 万人余で、下水道普及率は 82.9 % である。今回の実態調査地点は、同水系を水源とする浄水場の原水・浄水及び下流域の流域下水道の終末下水処理場放流水である。また、県内の PRTR 対象事業所 9 カ所を行った。SK 河川水系の環境基準の調査地点は 11 ヶ所で YA 県側では河川 AA 類型及び A 類型、KA 県側では河川 A 類型及び SK 取水堰下流は河川 C 類型で環境基準 (BOD) 達成率は平成 11 年度で 82 % である。SK 河川水系には、2 湖及び平成 12 年に完成した総貯水量およそ 2 億 m³ の湖があり、県民 800 万住民の貴重な水道水源である。まず、企業の概要と 1,4-ジオキサン利用は表 1 の通りである。

(A) 繊維工業

A1 社では、原糸の油、汚れを除去するための前処理剤、染色の分散剤、後処理（色止め）の洗浄剤、反応釜の洗浄剤に非イオン、陰イオン界面活性剤が含有されていた。うち、反応釜の洗浄剤にポリオキシエチレン=ノニルフェニルエーテルが約 30% 含有されていた。

(B) 化学工業

B1 社では、非イオン・陰イオン界面活性剤、1,4-ジオキサンは使用されていなかった。B2 社では、1,4-ジオキサンを反応溶媒として樹脂の製造に使用していたが、現在は使用を廃止していた。また、ノニルフェノールを溶剤に混ぜてフォトレジストの剥離剤として使用しているが、水との接触が無く事業場外への排出はない。B3 社では、反応工程でアルキルエーテル系、ノニルフェニルエーテル系の非イオン界面活性剤を使用していた。B4 社では医薬品を製造する際に、過去に反応溶媒として使用していたが、現在は工程の変更により使用されていない。

(C) 電気機械器具製造業

C1 社では、洗浄剤に非イオン界面活性剤が含有されていたが、PRTR 対象物質ではないとのことであった。C2 社では、製品の仕上げ洗浄に陰イオン界面活性剤を使用していた。C3 社では、脱脂剤と封孔剤に非イオン界面活性剤が含有されており、そのうち、脱脂剤中にポリオキシエチレン=ノニルフェニルエーテルが 6%含有されていた。

(D) 輸送用機械器具製造業

D1 社では、非イオン・陰イオン界面活性剤、1,4-ジオキサンは使用されていなかった。D2 社では、部品の洗浄剤と機械工程の脱脂剤に非イオン界面活性剤が含有されており、そのうち脱脂剤にポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテルが 1～5%含有されていた。

(E) 金属製品製造業

E1 社の利用状況は不明である。

表 1 企業の概要と 1,4-ジオキサン利用


特定事業場	産業中分類	産業C分類	主要製品
A1社	繊維工業	絹紡績業	合繊、絹各種ミシン糸
B1社	化学工業	その他の無機化学工業 製品製造業	ランプ用・TV用蛍光体、放射線用増感紙
B2社	化学工業	写真感光材料製造業	フォトレジスト
B3社	化学工業	その他の有機化学工業 製品製造業	プラスチック加工用安定剤、医薬品及び農薬原体
B4社	化学工業	その他の有機化学工業 製品製造業	医薬品原体及び中間体、有機化学工業薬品
C1社	電気機械器具製造業	その他の電子部品製造業	産業用プリント配線基盤
C2社	電気機械器具製造業	磁気テープ・磁気ディスク 製造業	CD(コンパクトディスク)
C3社	電気機械器具製造業	電気音響機械器具製造業	ステレオ用7MMフロントパネ
D1社	輸送用機械器具製造業	自動車部品・付属品製造業	自動車用気化器
D2社	輸送用機械器具製造業	自動車部品・付属品製造業	自動車部品・付属品
E1社	金属製品製造業	金属熱処理業	車両部品・精密機器のメッキ
F下水処理場	水道業	下水道処理施設維持管理業	—

2) 放流水中 1,4-ジオキサン濃度

選定した事業所の放流水の分析結果を表 2 に示す。非イオン界面活性剤の使用が確認された事業所の放流水では、非イオン界面活性剤が 0.05 ～ 0.24mg/l 検出された。また、事業所の排水の流入する下水道処理場においても 0.03 ～ 0.17mg/l 検出された。1,4-ジオキサンについては、単品の使用は確認されなかったにも関わらず、2 社で 100 μ g/l を超える濃度が検出され、他の事業所からも低濃度ながら検出された。下水道処理場においても非定常的ながら高濃度で検出されているが、発生源は不明である。現在のところ、事業所における界面活性剤の使用と放流水中の 1,4-ジオキサンには関連性が認められないと考えられるが、高濃度に検出された 2 社については更に発生源を究明する必要がある。

表 2 放流水の分析結果

特定事業場	非イオン界面活性剤 (mg/l)	陰イオン界面活性剤 (mg/l)	1,4-ジオキサン (μ g/l)
A 1 社	0.07	<0.03	150
B 1 社	<0.02	<0.03	100
B 2 社	—	—	—
B 3 社	0.15	0.05	0.2
B 4 社	—	—	—
C 1 社	0.12	0.03	1.8
C 2 社	0.02	<0.03	1.5
C 3 社	0.24	0.19	1.2
D 1 社	<0.02	<0.03	3.7
D 2 社	0.05	0.05	0.7
E 1 社	<0.02	<0.03	0.2
F 下水処理場	0.03 ～ 0.17	0.03 ～ 0.04	8.6 ～ 150
河川水	0.02 ～ 1.4 程度	0.07 ～ 2.0 程度	<0.1 ～ 16 程度

 : 聞き取りにより使用を確認

2. 3. 1. 2 下水処理場における流入水と放流水の比較

下水処理場の流入水と放流水の結果を表 3 に示した。ジオキサンの流入水濃度は、KA 県に測定依頼中で不明であるが、放流水中には 0.1 ～ 0.58 μ g/l が検出され、ほぼ常時、環境中に放流されていることが明らかとなった。一方、不純物の主剤と考えられる非イオン界面活性剤は、放流水は流入水に比べ 99%以上減少しており、処理効果が見られる。また、ABS も同時に 99%以上除去されている。

表 3 下水処理の水質

年月日	項目 単位 定量限界値	ジオキサン $\mu\text{g/l}$ 0.1	KMnO_4 mg/l 0.1	TOC mg/l 0.1	ABS(MB) mg/l 0.01	非イオン(PAR) mg/l 0.02
2月2日	下水流入水 下水放流水	— 0.36	181 17.8	— 5.9	2.70 0.09	1.8 0.11
3月1日	下水流入水 下水放流水	— 0.58	171 17	— —	1.90 0.46	3.1 0.7
5月24日	下水流入水 下水放流水	— 0.53	23.7 15.2	59 6.9	3.6 0.13	1.8 0.07
7月5日	下水流入水 下水放流水	— —	— —	— —	— 0.07	2.0 0.10
9月27日	下水流入水 下水放流水	— 0.55	123 16.2	— 6.4	1.65 0.05	3.77 0.08
11月15日	下水流入水 下水放流水	— 0.37	25.1 77.6	— 6.2	1.7 0.06	1.4 0.02

2. 3. 2. 河川水

上記のように、事業場排水から公共用水域に多量で間欠的もしくは微量で日常的に 1,4-ジオキサンが排出されていることは明確となった。そこで、全国のいくつかの主要河川についてその存在状況を本年度も調査した。

2. 3. 2. 1 T河川

T川は、1都2県にまたがる1級河川である。

T川上流域の支川ではダムが昭和32年に築造されT湖が誕生した。ここからの放流水がT川となって関東山地を東に流下し、支川を合流してT湾に注ぐ流域面積1,240km²、延長138kmの河川で流域人口は425万人(平成7年)である。今回の実態調査地点は、T川中流域の本川及び支川、中流域の伏流水から涵養されている上水道・工業用水用の浅井戸等及び同水系を水源とする浄水場の原水・浄水である。T河川水系の環境基準の調査地点は25ヶ所でT川上流域では河川AA類型及びA類型、中流域はC類型、下流域ではD類型で、環境基準(BOD)達成率は平成11年度で68%である。なお、中流域及び下流域の類型指定が平成12年度中に河川B類型に変更される予定である。また、平成10年6月には水域類型指定の変更が行われT湖を「湖沼AA」とした。T川水源は、大都市圏の住民等の貴重な水道水源である。

測定地点を図1、結果を表4に示す。1,4-ジオキサンは、本調査で上流部に当たる、3地点では大部分が定量下限値(0.1 $\mu\text{g/L}$)未満であった(b堰の6月、c用水堰の5、6月は0.1 $\mu\text{g/L}$ 検出された)が、中下流部のd橋、e地先、f取水堰の3地点では、0.4～29 $\mu\text{g/L}$ の濃度範囲で検出された。同月におけるd橋、e地先、f取水堰の3地点間の濃度レベルは、8、9、12、1月以外の月ではほぼ同程度であった(相対標準偏差22%以下)。k水道局の昨年度の調査では、e地先の約3km上流のg堰で1.4～26 $\mu\text{g/L}$ (平均12 $\mu\text{g/L}$)、さらに約5km上流のg橋で100 $\mu\text{g/L}$ を検出しており、本調査よりも高い値であった。