

液固比 2 L/kg 及び 10 L/kg によるバッチ溶出試験 (ISO 21268-1, -2) について

○肴倉宏史^{1,2}・平田桂¹・松村光夫¹・加洲教雄¹・ISO/TC190 部会¹

¹ 土壌環境センター、² 国立環境研究所

1. はじめに

ISO/TC 190 Soil quality (地盤環境) /SC 7 Impact assessment (影響評価) /WG 6 Transfer and mobility of components (物質の移動特性) では、土や地盤材料を対象とした溶出試験の国際規格 ISO 21268 シリーズ: Leaching procedures for subsequent chemical and ecotoxicological testing of soil and soil-like materials (地盤材料の化学試験及び生態毒性試験のための溶出操作) を規定している。表-1 に示す試験方法のうち第 1 部から第 4 部は 2007 年に Technical specification (TS, 技術仕様) として発行されたが、正式な国際規格へ格上げすることが 2015 年の TC 190 総会で発議され、技術面での様々な改訂や精度評価を経て、2019 年に正式な規格へ格上げされた¹⁻⁴⁾。4 つの試験方法のうち、ISO 21268-3 (第 3 部: 上向流カラム通水試験) は日本がプロジェクトリーダーとなって正式規格化へ取り組んだものである。ISO 21268 シリーズの概要やカラム試験の規格化の取り組みについては、これまで、逐次、報告を行ってきた⁵⁻¹⁰⁾。また、2018 年より、シリーズの第 5 部として、好気条件および嫌気条件による試験の規格化が現在も進められている¹¹⁾。

本稿では、日本の土壌溶出試験である平成 3 年環境庁告示 46 号 (環告 46 号) と同様の単一バッチ試験を規定する ISO 21268-1 (第 1 部) および ISO 21268-2 (第 2 部) の内容を詳述する。単一バッチ試験は、シリアルバッチ試験や液固比バッチ試験などのあらゆる溶出試験の基礎となるが、本規格にはバッチ試験に関するノウハウが多く詰め込まれており、参考となる記述が多く含まれている。なお、技術仕様の制定の際の議論では、日本の環告 46 号と整合するよう働きかけ、溶出時間は 24 時間だけでなく 6 時間も認められた⁵⁾。また、今回の正式規格化に際しては日本他数カ国の主張により、溶媒は塩化カルシウムだけでなく純水 (脱塩水) も認められた。このように、日本の方法が反映された試験方法であり、今後の定期見直しにおいても注意深く関わっていくことが重要である。

表-1 ISO 21268 シリーズの構成

規格番号	名称	類型
ISO 21268-1	第 1 部: 液固比 2 L/kg によるバッチ試験	判定試験
ISO 21268-2	第 2 部: 液固比 10 L/kg によるバッチ試験	判定試験
ISO 21268-3	第 3 部: 上向流カラム通水試験	特性化試験
ISO 21268-4	第 4 部: 初期の酸/アルカリ添加による pH 依存性試験	特性化試験
ISO/WD 21268-5	第 5 部: 好気条件および嫌気条件によるバッチ試験	特性化試験

ISO 21268 シリーズの序文では、溶出試験は次の 3 類型に分類可能と解説しており、表-1 に示すように、第 1 部と第 2 部は判定試験、第 3 部から第 5 部は特性化試験に分類される。

- (1) 特性化試験 (Basic characterization test) – 短期/長期溶出挙動や各種特性に関する基本的な情報を得るための試験で、溶出特性に影響する液固比、溶媒組成、pH、酸化還元条件、錯形成能等の要因や物理的要因のうち幾つかの項目に絞って影響を明らかにしようとするための試験。
- (2) 判定試験 (Compliance test) – 評価対象物が特定の参照値に適合するかどうかを判定するための試験。判定試験は、事前に特性化試験で解明された影響因子や溶出挙動に注目して行われる。
- (3) 現場確認試験 (On-site verification test) – 受け入れ先で、受け入れ物が判定試験に合格したものと同等程度の性質を有しているかについて確認するための迅速な検証作業であり、溶出試験に限らない。

2. 規格の内容

Batch leaching tests in liquid-solid ratio of 2 L/kg and 10 L/kg (ISO 21268-1,-2)

Hirofumi Sakanakura^{1,2}, Kei Hirata¹, Mitsuo Matsumura¹, Norio Kashu¹, and Study group on ISO/TC 190¹

(¹GEPC, ²NIES)

連絡先: 〒102-0083 東京都千代田区麴町 4-5 (一社) 土壌環境センター

TEL 03-5215-5955 FAX 03-5215-5954 E-mail info@gepc.or.jp

ISO 21268-1（第1部）とISO 21268-2（第2部）の原型となったバッチ試験方法は、ドイツとフランスそれぞれの国内規格であった。規格の構成は共通しており、両者の相違点は液固比のみである。規格の構成を以下に示し、各章の内容を詳述する。なお、液固比の相違は試験結果に明らかな違いをもたらすことから、液固比は統一できなかったものと推察される。因みに、欧州標準化委員会で規格化された廃棄物の溶出試験 EN 12457 は同様の理由で液固比と最大粒径の異なる4つのバッチ試験方法が規定されている¹²⁻¹⁵。

- 1章 目的
- 2章 引用規格
- 3章 用語と定義
- 4章 原理
- 5章 試薬
- 6章 試験器具
- 7章 試料調製
- 8章 試験手順
- 9章 計算
- 10章 報告
- 11章 定量
- 12章 性能特性

付属書 A（参考） 溶出試験結果に影響するパラメーターに関する情報

付属書 B（参考） 土壌試料のための固液分離手順の例（無機物のみを対象）

付属書 C（参考） 遠心分離速度とローター径に基づく遠心分離時間の計算

2.1 目的

この規格の目的（scope）は、この規格で規定する条件における溶出試験データを提供することである。第1部では液固比 2 L/kg、第2部では液固比 10 L/kg の条件によって試験が行われる。測定対象物質は、地盤材料から放出される無機物質および有機物質であり、生態毒性試験に使用するための溶出液を得るために適用しても良い、としている。得られた溶出液の分析は、項目ごとに規定されている規格にしたがって行うこととなる。

対象範囲に関する事項として、揮発性物質は試験できないこと、乾燥質量率（dry matter content）33%未満の材料には適用できないこと、さらには、この規格自体は健康や安全に関する課題に志向しておらず、4章：原理で述べられた条件での溶出特性を決定するだけであること、が述べられている。

さらに注記として、無機物質と有機物質の両方に対して、あるいは異なる有機物質のグループに対して、適切な試験条件を同時に設定することは困難であること、適切な試験条件の設定は有機物質の方が無機物質よりも難しいこと、特に、非極性非水溶性の有機物質は試験装置への吸着に注意する必要があること、等が述べられている。

2.2 用語と定義

定義されている用語のうち、溶出試験（leaching test）、溶媒（leachant）、溶出液（eluate）、液固比（liquid to solid ratio）、乾燥質量率、含水率（water content）は誤解ないものと思われる。試験を行う試料の定義は、大きい画分から縮分される順に、有姿試料（laboratory sample）、調製試料（test sample）、試験試料（test portion）として定義されており、実際に秤量して試験に使用する試料は、「試験試料」が該当する。また、規格のタイトルにある soil-like material の説明は、“excavated soil, dredged materials, manufactured soil, treated soil and fill materials”とされており、コンクリート再生砕石・再生砂や、スラグ・石炭灰等の副産物を原料とした人工地盤材料も含むものと思われる。

2.3 原理

日本語訳は次のとおりである。「粒径 2 mm 以下に調製した試験試料を、低濃度（0.001 mol/L）の塩化カルシウムまたは脱塩水に、規定された条件で接触させる。この方法は、試験中に、液相と固相の間で平衡もしくは準平衡に到達しているとの仮定に基づいている。続いて固液分離を行う。固液分離操作は試験結果に大きく影響し、特に有機物質は顕著である。溶出液は、適切な水質分析法で分析する。また、溶出液は生態毒性試験に適用しても良い。試験終了後、pH、電気伝導率、および、必要に応じて溶存有機炭素、酸化還元電位、もしくは濁度を記録する。」

注釈として、pH等の測定はあらゆる試料からの、無機、有機を問わずあらゆる物質の溶出挙動の解釈に重要であること、0.001 mol/Lの塩化カルシウムは溶存有機炭素の移動(mobilization)を最小化すること、および、この試験方法は有機物質の溶出量を測定することに対してより厳密な条件を規定しているため、もしも無機物質のみを測定する場合は、試験手順のうちの幾つかは、緩和した条件を適用可能であることを述べている。

2.4 試薬

水は、脱塩水、脱イオン水、または、電気伝導率が0.5 mS/m未満でpHが5~7.5の範囲の純度の水を使用する。塩化カルシウム、アジ化ナトリウム、および、硝酸は分析用のものを使用する。洗浄のための有機溶媒には分析用のアセトンを使用する。

2.5 試験器具

17種類の試験器具が規定されており、これらのうち、容器について最も詳細に記述されている。主な内容を記す。

- 容器は、容量1 Lのホウケイ酸ガラス製(ISO 5667-3 準拠)のものを基本とし、キャップはPTFEなど不活性の材質のものを規定している。洗浄は必ず行い、繰り返し使用している場合はブランクを確認しなければならない。ホウ素を測定する場合はPTFEなどのプラスチック製容器を使用しても良い。容器容量を1 Lとしているのは、試験試料350 g(ISO 21268-1:液固比2 L/kg)または100 g(ISO 21268-2:液固比10)の設定に対してヘッドスペースを最小化するためである。粒子密度の小さな材料の場合は、ヘッドスペースの最小化に留意しながら、別の大きさの容器を用いることとなる。さらに注記として、以下の事項が記されている:(1)もし無機物質のみ(Hg除く)を対象とする場合は、HDPE製やPP製も可、(2)有機物質の分解を避けるために着色ガラス製のものをを用いる、アルミ箔で覆う、暗室で実施する、等の対応、などがある、(3)高品質なガラスであれば、有機物質、無機物質のどちらにも適用可能である。生態毒性試験用の場合は有機物質と無機物質の両方への対応が必要である、(4)使用后、ガラス容器から対象物質を除去するために550°Cで加熱しても良いが、この処理は空気からの有機物質の吸着量を増加させてしまう。
- 攪拌装置は、毎分5~10回転できる縦回転攪拌機(End-over-end tumbler)、または毎分10回転のローラーテーブルを用いる。これらは、試料の過度のすり減りを避けることができる。同等の結果が得られる場合には、他の攪拌方法も適用して良い。
- ろ過装置は、吸引ろ過(2.5~4.0 ka)または加圧ろ過(<0.5 MPa)とし、洗浄は必須としている。半揮発性物質を測定する場合は、吸引ろ過は不可としている。
- ろ紙は、0.45 μmメンブランフィルターを用いる。洗浄は必須であり、測定対象物質の吸着や溶出がないものを選定する。フィルターの材質は書かれていない。
- ふるいは、目開き2 mmのものを用いる。ふるいがステンレス製の場合はCr、Ni、Moの、プラスチック製の場合は可塑剤(plasticizer)の、それぞれ汚染可能性に注意する。
- 遠心分離装置は、20000 G~30000 G(Gは重力加速度)での遠心分離が可能な装置を用いる。容器は、PFA(perfluoroalkoxy alkane)、FEP(fluorinated ethylene propylene)製など、有機無機両方に対して不活性なものを用いる(有機物質の吸着は予備試験で確認できる)。2000 G~3000 Gの性能の装置で、ガラス容器にて、遠心分離時間を増やすことで対応しても良いが、望ましい温度を保つために冷却可能なものでなければならない。

2.6 試料調製

試料調製は、「実験室試料の調製と粒度」、「試験試料の調製」、「乾燥質量率と含水率の測定」、「試験試料の調製」の順に、4項目に分けて記述されている。以下に要点を記す。

- 実験室試料は、ISO 18400 シリーズ(サンプリング)に示されているように、2 kg以上を入手する。意図しない変化を避けるため、密封して低温(4°C)で保存する。試験は、土または地盤材料を2 mm以下に篩ったもので行い(ISO 11464)、2 mmふるい上に残留したものは、種類と量を記録して廃棄する。ただし、人工的な材料で2 mm以上の粒子にも対象物質を含むと考えられる場合には、この部分も試験対象として良い。また、実験室試料が均一化されていない場合や、篩い分けできない場合は、30°C未満で乾燥して良い。
- 試験試料は、二分器または四分法によって縮分することで、必要量を調整する。必要量はISO 23909を参照する。

- 乾燥質量率と含水比の測定は、試験試料の一部を取り分けて、ISO 11465 にしたがって、 $105 \pm 5^\circ\text{C}$ で恒量とすることで計算する。風乾した場合も同様である。含水比の測定は、液固比の調整の際に必要な。
- 試験試料の調製では、乾燥質量として $100 \pm 5 \text{ g}$ を試験試料から取り分けて 0.1 g までの精度で秤量して試験に使用する。分析のための必要液量によっては分取量を増やすこととなる。

2.7 試験手順

試験手順は、「温度」、「試験手順の詳細」（さらに「溶媒の調製」、「溶出段階」、「固液分離段階」に分かれる）、「溶出液の分析のための調製」、「ブランク試験」の順に記述されている。以下に要点を記す。

- $22 \pm 3^\circ\text{C}$ の温度で試験を実施する。生物分解しやすい材料は低温（例： 4°C ）で、遮光した環境で行う。ただし低温は溶出挙動にも影響する点は注意を要する。
- 溶媒は、 0.001 mol/L の塩化カルシウム溶液を用いるが、カルシウムまたは塩化物に着目する場合や、試料からの塩の溶解による影響を調べたい場合は、水（脱塩水）をそのまま適用しても良い。注記として、脱塩水を用いる場合は濁度が高く、イオン強度が低くなる場合があり、コロイドに吸着した物質の（ろ紙を通過しての）溶出濃度の上昇につながる可能性があることが記述されている。また、生態毒性試験に用いない場合は、アジ化ナトリウムを 0.1% となるように添加して有機物の微生物分解を防いでも良いこととしている。
- 溶出段階では、乾物質量が $100 \pm 5 \text{ g}$ となるよう分取した試験試料に対して、溶媒を $2 \pm 0.04 \text{ L/kg}$ (ISO 21268-1) または $10 \pm 0.2 \text{ L/kg}$ (ISO 21268-2) となるように加え、 24 ± 0.5 時間攪拌する。ただし、平衡または準平衡を示せる場合、もしくは品質管理等で迅速性が求められる場合には、6 時間も可としている（この事項は日本提案に基づき記述された⁵⁾）。
- 固液分離段階では、 15 ± 5 分静置してから、上澄みを遠沈管へ移し、 $20000 \text{ G} \sim 30000 \text{ G}$ の場合は 30 分、 $2000 \text{ G} \sim 3000 \text{ G}$ の場合は 5 時間、遠心分離を行う。温度は $22 \pm 3^\circ\text{C}$ に保つ。減速は急激には行わず、20 分以内で停止する。固液分離後、上澄みを容器に移し、pH および酸化還元電位を測定し、さらに他の分析用、生態毒性試験用などに保管する。無機物質のみ測定する場合は、遠心分離は省略して、直接ろ過しても良い。例えば $2000 \text{ G} \sim 3000 \text{ G}$ で予備的に遠心分離を行うことも推奨している。1 時間以内にろ過を完了できない場合は、付属書 B（本稿 2.12 参照）に示すような固液分離方法を適用しても良い。その後、EC と pH を測定する。濁度、Eh、溶存有機炭素の測定も推奨されている。特に、アルカリ性溶液の場合はろ過によって pH が変化する可能性があるため、ろ過を行う前に pH を測定することが推奨されている。
- 溶出液の分析に向けて、溶出液を小分けにして ISO 5667-3 にしたがって保存する。バイオアッセイに用いる場合はアジ化ナトリウムを添加できないため、試験中や保管中に有機物の分解が進む可能性がある。そのため、できるだけ速やかにバイオアッセイを実施する必要がある。
- ブランク試験は定期的な頻度で実施するのが望ましい。溶媒を 900 mL 用意し、実試料を用いずに試験を実施する。ブランク試験での測定値は、実試料を用いた場合の試験値の 20% 未満、または、基準値の 20% 未満でなければならない。実際の試験結果からブランク試験値は減算しない。ブランク試験はふるい分け、破碎、縮分の段階には適用できないため、これらの段階は、先に少量の試料を適用してからその試料を廃棄するなどして汚染の影響を緩和する。

2.8 計算

目的とする成分の測定濃度 (mg/L) から溶出量 A (mg/kg 乾燥質量) を計算するための計算式が示されている。

$$A = \rho_{\text{subst}} \times \{(V_L/m_D) + [w_{\text{H}_2\text{O}}/(\rho_{\text{H}_2\text{O}} \times 100)]\}$$

ここで、 ρ_{subst} : 測定濃度 (mg/L)、 V_L : 溶媒の体積 (L)、 m_D : 試験試料の乾燥質量 (kg)、 $w_{\text{H}_2\text{O}}$: 含水比 (%)、 $\rho_{\text{H}_2\text{O}}$: 水の密度 (1 kg/L) をそれぞれ表す。

2.9 報告

以下の事項を報告する。

- ISO 21268-1（または 2）に準拠している点
- 試験機関、責任者
- 試料に関するあらゆる情報

- 試料調製に関する方法とデータ
- 含水率
- 溶媒の種類
- 遠心分離の速度または強度、時間、容器の種類、温度
- ろ過方法の詳細、ならびに疎水性有機物質を対象とする場合にはろ紙への吸着試験結果
- pH、電気伝導率、各物質の測定濃度 (mg/L)、溶出量 (mg/kg 乾燥質量)、および定量下限
- ブランク試験結果
- この規格に記述された内容とは異なるあらゆる事項の詳細

2.10 定量

定量方法はこの規格に含まれていない。定量方法は、定量下限およびブランク試験結果とともに報告することとされている。

2.11 性能特性

本規格の性能特性として、堅牢性 (robustness)、室内再現性 (repeatability)、および室間再現性 (reproducibility) について、DIN 19529 の検証結果が引用されている。試験方法は本規格とほぼ同じであるが、液固比は 2 L/kg であるため、ISO 21268-1 (液固比 2 L/kg) とは同じだが、ISO 21268-2 (液固比 10 L/kg) とは異なる点に注意が必要である。ろ過は無機物質に対しては 0.45 μm メンブランフィルターを、有機物質に対しては 0.7 μm のガラス繊維ろ紙が使われている。

2.12 付属書

本規格には A から C の 3 つの付属書が参考として添付されている。

- 付属書 A: 溶出試験結果に影響するパラメーターに関する情報であり、接触時間、液固比、pH、還元性、有機物質への影響要因、半揮発性物質に対して必要な試験条件、分析値と試験誤差、および、試験結果の評価について詳細に記述されている。
- 付属書 B: 無機物質を対象とする土壌試料の固液分離方法の例として、15 分の静置後に 2000 G で 30 分間遠心分離を行い、その後、加圧濾過する方法が紹介されている。溶出試験は塩濃度の高い試料を対象に開発されたが、塩濃度が低く、かつ、フィルターケーキが十分に形成されない場合は、汚染物質はコロイドに吸着したままろ紙を通過し、ばらつきが大きくなるなど結果に大きく影響する可能性がある。この方法によって誤差を大きく低減できるとされている。
- 付属書 C: 遠心分離速度とローター径に基づく遠心分離時間の計算方法が示されている。

3. おわりに

本稿では、バッチ試験である ISO 21268-1 および 21268-2 の記述内容を詳細に示した。これらの規格にはバッチ試験に関するノウハウが多く詰め込まれており、参考となる記述が多く含まれている。振とう時間や溶媒など、日本からの働きかけが反映された部分も多いことから、今後の定期見直しにおいても注意深く関わっていくことが重要である。振とう方法は、ヘッドスペースを少なく容器をゆっくりと回転することとしており、わが国の方法 (ヘッドスペースを十分確保し水平振とうする) と大きく異なる。振とう方法はバッチ試験の最も基本的な条件の一つであるため、両者の相違の影響について検討する必要があると思われる。

参考文献

- 1) ISO 21268-1:2019 Soil quality – Leaching procedures for subsequent chemical and ecotoxicological testing of soil and soil materials – Part 1: Batch test using a liquid to solid ratio of 2 l/kg dry matter
- 2) ISO 21268-2:2019 Soil quality – Leaching procedures for subsequent chemical and ecotoxicological testing of soil and soil materials – Part 2: Batch test using a liquid to solid ratio of 10 l/kg dry matter
- 3) ISO 21268-3:2019 Soil quality – Leaching procedures for subsequent chemical and ecotoxicological testing of soil and soil materials – Part 3: Up-flow percolation test
- 4) ISO 21268-4:2019 Soil quality – Leaching procedures for subsequent chemical and ecotoxicological testing of soil and soil materials – Part 4: Influence of pH on leaching with initial acid/base addition
- 5) 肴倉宏史, 川端淳一, ISO/TC190 部会 (2013) ISO/TC190(地盤環境)で規格化されている溶出試験について、

第 19 回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会, 同講演集, 94.

6) 肴倉宏史, 古川靖英, 保高徹生, 中島誠, 川端淳一, ISO/TC190 部会 (2014) サイト評価に関する地盤環境の ISO について. 地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会第 20 回, なし, 156-158

7) 保高徹生, 肴倉宏史, 田本修一, ISO/TC190 部会 (2015) ISO/TC190 におけるカラム試験の国際標準化への日本取り組み. 第 21 回 地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会, 同予稿集, 453-454

8) 保高徹生, 肴倉宏史, 田本修一, ISO/TC190 部会 (2016) 上向流カラム通水試験の国際標準化への取り組み状況 (2). 第 22 回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会, 同予稿集, 471-472

9) 保高徹生, 肴倉宏史, 田本修一, ISO/TC190 部会 (2017) 上向流カラム通水試験の国際標準化への取り組み状況 (3). 第 23 回 地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会, 同予稿集, 480-483

10) 保高徹生, 肴倉宏史, 田本修一, ISO/TC190 部会 (2018) 上向流カラム通水試験の国際標準化への取組状況 (4). 第 24 回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会, 同予稿集, 24, 27-29

11) ISO/WD 21268-5 Soil quality – Leaching procedures for subsequent chemical and ecotoxicological testing of soil and soil materials – Part 5: Batch test with forced aerobic or anaerobic conditions

12) EN 12457-1:2002 Characterisation of waste - Leaching - Compliance test for leaching of granular waste materials and sludges - Part 1: One stage batch test at a liquid to solid ratio of 2 l/kg for materials with high solid content and with particle size below 4 mm (without or with size reduction)

13) EN 12457-2:2002 Characterisation of waste - Leaching - Compliance test for leaching of granular waste materials and sludges - Part 2: One stage batch test at a liquid to solid ratio of 10 l/kg for materials with particle size below 4 mm (without or with size reduction)

14) EN 12457-3:2002 Characterisation of waste - Leaching - Compliance test for leaching of granular waste materials and sludges - Part 3: Two stage batch test at a liquid to solid ratio of 2 l/kg and 8 l/kg for materials with high solid content and with particle size below 4 mm (without or with size reduction)

15) EN 12457-4:2002 Characterisation of waste - Leaching - Compliance test for leaching of granular waste materials and sludges - Part 4: One stage batch test at a liquid to solid ratio of 10 l/kg for materials with particle size below 10 mm (without or with size reduction)