

## 1-6 ダイオキシン類の存在形態とモニタリング・分析手法に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 12～平 14

担当チーム：水循環研究グループ（水質）

研究担当者：田中宏明、小森行也、岡安祐司

### 【要旨】

平成 12 年 1 月 15 日より「ダイオキシン類対策特別措置法」が施工され、ダイオキシン類汚染に対して適切な対応を取ることが必要となった。河川管理においても河川水・底質のモニタリングは重要であるが、調査試料は膨大でありこれらに対応するため安価でしかも短時間で結果が得られる簡易な分析手法が必要となっている。

水や底質中のダイオキシン類を従来法と比較して簡易で迅速に、試料の前処理から測定まで行う分析技術の開発について民間との共同研究を実施した。また、現在、専門家が実施しているダイオキシン類の分析についての精度管理手法をパターン化、システム化し、比較的簡単に判定できる精度管理手法の検討を行った。

キーワード：ダイオキシン類、底質、モニタリング、簡易分析、精度管理

### 1. はじめに

河川底質のダイオキシン類汚染対策を実施するために、まず、どこが最も汚染されていて優先的に対策を講じる必要があるのか見極める必要がある。そのためには、汚染区域を詳細に調査することが重要であるが、既存の分析方法(公定法)では、高価な分析機器が必要、分析費用が高額、前処理が煩雑で分析に時間を要する等課題も多い。そのため、公定法と比較して簡易に、迅速に、一般的な実験室、現場にて試料の前処理から測定までできる新たな技術の開発が望まれている。

本研究では、抗原抗体法(ELISA法)などを用いた簡易な分析技術の開発を目的としている。また、公定法の精度管理手法は分析同様複雑で、専門家以外による判定が難しいが、本研究ではこれらをパターン化、システム化し、簡単に判定する手法の検討を行った。

### 2. 研究方法

#### 2.1 簡易分析技術の開発

河川底質のダイオキシン類対策を実施することを想定した場合、公定法での監視の他に①調査段階では汚染範囲の確認調査、②工事段階では工事境界での底質の巻き上げ状況把握、上下流への輸送状況の監視、工事区域外の水質、底質への影響、中間処理・処分施設等の監視を行う必要がある。また、③工事終了後においては汚染現場の改善効果の把握、底質処分場の環境影響を監視する目的でモニタリングを実施する必要がある<sup>1)</sup>。

これらのモニタリングでは多数の試料の測定、連続的モニタリングが対象となることから、分析時間が短い、あるいは低コストである方法について検討を行うことが必要である。また、簡易分析法であっても分析信頼性の確認は重要であり、その分析方法の特徴を十分把握した上で目的にあった利用が望まれる。

簡易分析技術に関する既往の報告<sup>2)~10)</sup>から底質への応用の可能性のある技術をまとめ表-1に示した。

①の方法は、比較的安価な四重極 GC/MS によりダイオキシン類の一部を測定するものであり、公定法で用いる高分解能 GC/MS (HRGC/HRMS) に比べ感度が劣るが、この問題を緩和するため GC に注入する試料濃縮液を従来より数十倍多くし、溶媒を先に揮発放出させてからダイオキシン類を分離カラムに導入するプログラム昇温気化 (Programmed Temperature Vaporizer: PTV) 法を用いる場合が多い。

②の方法は、四重極イオントラップ型 GC/MS/MS によりダイオキシン類の一部を測定する方法であり、対象化合物が持つ特有の 2 次イオンを選択することにより選択性の高い分析を行うことができる。この

表-1 簡易分析技術

簡易分析技術	文献
① 四重極 GC/MS による方法	2)3)
② 四重極イオントラップ型 GC/MS/MS による方法	4)5)
③ 免疫測定 (ELISA) による方法	6)
④ Ah レセプターバインディングアッセイによる方法	7)
⑤ 生物検定による方法	8)9)
⑥ 半・難揮発性有機ハロゲン化合物 (SNVOX) を測定する方法	10)

装置も比較的安価である。

③の方法は、抗原と、抗原に対してきわめて高い特異性を持つ抗体との結合能力を利用した測定方法であり、ダイオキシン類の一部を抗原として取得したモノまたはポリクロナール抗体を用いている。

④の方法は、ダイオキシン類の識別に Ah レセプターバイディング法を、そしてその検出過程に免疫測定法を利用した方法であり、Ah レセプターに反応する物質を測定する。

⑤の方法は、ダイオキシン類の生物への毒性発現メカニズムを用いた方法である。Ah レセプターに結合する物質があるとルシフェラーゼを誘導する遺伝子を組み込んだヒト肝細胞を用いている。

⑥の方法は、半・難揮発性有機ハロゲン化合物 (SNVOX) を測定するものである。ダイオキシン類は、難揮発性有機ハロゲン化合物であることからダイオキシン類の代替指標として検討されている。測定に用いる全有機ハロゲン (TOX) 計は比較的安価で操作も簡便なことから容易に結果を得ることができる。

以上、これらの方法は、分析精度に課題はあるものの、公定法に比べ前処理の簡易化も行っていることから分析結果を得るまでの時間も短縮でき、また、分析費用も安価となる可能性のある技術である。

## 2. 2 免疫抗体による簡易分析法の河川底質の測定利用性の検討

本研究では、平成 12 年度より積水化学工業 (株)・(株) 矢内原研究所・大塚製薬 (株)・東洋建設 (株) と、また、平成 13 年度より (株) クボタ、第一ファインケミカル (株) と簡易分析技術に関する共同研究を実施した。

積水化学工業 (株)・(株) 矢内原研究所・大塚製薬 (株)・東洋建設 (株) は、ウサギ抗ダイオキシンポリクロナール抗体を用いた ELISA 法 (以下、ELISA<sub>Eco</sub> 法)、(株) クボタは、ダイオキシン類の識別にアリアル炭化水素 (Ah) レセプターバイディング法、そしてその検出過程に免疫測定法を利用した方法 (以下、AhR 法)、第一ファインケミカル (株) は、マウス抗ダイオキシンモノクロナール抗体を用いた ELISA 法 (以下、ELISA<sub>D12</sub> 法) による簡易分析手法である。

以下の手順でこれらの簡易分析法の検討を行った。

1) ダイオキシン類標準物質に対する交差性と検出下限値

2) 国土交通省ダイオキシン類実態調査における河川底質試料を用いた適用性の比較

ここで、測定前処理の底質からの抽出については、風乾した試料を高速溶媒抽出法により行い、精製については、硫酸処理と多層シリカゲルカラムクロマトグラフあるいは多層クロマトグラフィーとアルミナカラムによる精製方法を適用した。抽出条件はトルエンを抽出溶媒として、抽出時間 10 ないし 15 分、圧力 2000psi、オープン温度 150℃、サイクル数は 1 ないし 2 回である。抽出溶媒は揮散させ、最終的にジメチルスルフォキシド (DMSO) に溶解させた。また、検討に使用した河川底質は平成 12 年度および 13 年度の国土交通省が実施した全国一級河川ダイオキシン類調査において同一地点で採取され、保存されていた底質試料を用いた。

## 2. 3 同一試料を用いたダイオキシン類簡易検出手法の比較検討

簡易分析手法の検討・評価にあたり、乾燥法、抽出法、精製法、測定法を組み合わせた分析手法で行うことは重要である。このため、図-1 に示すように、抽出条件としてソックスレー抽出、高速溶媒抽出、加熱流下法を増やし、精製方法として多層シリカと三層シリカ、さらに活性アルミナと活性炭吸着を適宜組み合わせた場合を検討した。また、簡易分析は、前述した免疫測定法の他、四重極 GC/MS、SNVOX

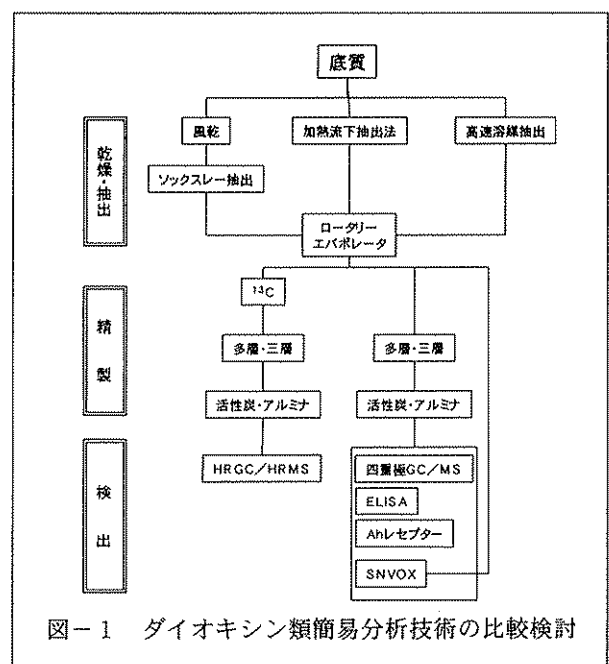


図-1 ダイオキシン類簡易分析技術の比較検討

を用いた場合と HRGC/HRMS を用いる場合とを比較した。本研究では、比較的汚染濃度が高い地域で採取した同一試料を用いて乾燥・抽出・精製と種々の検出手法との組み合わせ技術について、リサイクルチームと連携して研究を進めた。

## 2. 4 精度管理手法の検討

河川水、底質のダイオキシン類の分析において、データの信頼性を確保する手法の提案を目的とし、既存マニュアルの精度管理手法を整理し検討するとともに、現在、専門家が実施している精度管理手法をパターン化、システム化し、比較的簡単に判定できる手法に関する検討を行った。

## 3. 研究結果

### 3. 1 簡易分析技術の開発要件の整理

河川底質のダイオキシン類対策にあたって必要となる簡易モニタリング技術の要件を、表-2 に示し、整理した。対策実施前の調査（調査段階）では、汚染範囲確認調査と工事の影響範囲調査がある。特に底質対策の範囲を確定するためには、公定法に基づかねばならないが、最終的に公定法で測定する範囲に絞り込むために時間がかからず、費用が安い方法が期待される。また、対策実施中の調査（工事段階）や中間処理・処分施設では、水中のダイオキシン類の工事境界と工事区域外での濃度が短時間で得られる方法が望まれる。連続モニタリングが可能或いは短時間に結果が得られる方法が望まれる。施工中、底質処分場からの漏出の有無を監視する目的で行うモニタリングは、水中のダイオキシン類が短時間で結果が得られる方法が望まれる。対策実施後の調査（工事終了後）については、汚染現場の改善効果を確認するため、公定法を用いるための補助手段として低コストの底質分析方法が望まれる。また、底質

処分場は、工事終了後に底質処分場の環境影響を把握するため短時間で結果が得られる水質分析方法が望まれる。本研究では、主に汚染範囲を確定の補助として用いる底質の簡易測定法を検討する。水中のダイオキシン類の連続的モニタリングについては、河川生態チームの濁質による方法を主に用いることになる。

### 3. 2 免疫抗体による簡易分析法の河川底質の測定利用性の検討

#### 3. 2. 1 ダイオキシン類標準物質に対する交差性と検出下限値

共同研究で用いた簡易測定キット（ELISA<sub>ECCO</sub>、AhR、ELISA<sub>DT2</sub>）の特徴の一つにダイオキシン類に対する交差反応性が挙げられる。特に、AhR は、多くの多環芳香族炭化水素に対しても交差反応性を有している。ここでは、ダイオキシン類に対する交差反応性のうち毒性等価係数（TEF）を有するダイオキシン類に対する交差反応性を表-3 に示した。ダイオキシン類は、その濃度を表す際に各異性体にそれぞれ固有の TEF を乗じた後、総量を毒性等量（TEQ）として表す。一方、ダイオキシン類の異性体（以下、異性体）毎に交差率の異なる簡易測定キットで検出した値（濃度）は、2,3,7,8-TCDD 相当量（DEQ）として表している。TEF と交差率が全く同じ異性体に対して公定法と簡易測定キットによる測定値（以下、測定値）は TEQ と DEQ が同じ数値となる。TEF に比べ交差率が小さい場合、公定法より測定値が小さく、逆に TEF に比べ交差率が大きい場合、公定法より測定値が大きくなる。このように TEF に対する交差率の値はキットの特徴を表す重要なファクターである。ELISA<sub>ECCO</sub> の交差率は、TEF を有する 29 異性体のうち 15 異性体は 1 以上、14 異性体は 1 より小さくなっている。AhR の交差率は、26 異性体が 1

以上、3 異性体は 1 より小さい。ELISA<sub>DT2</sub> の交差率は、3 異性体は 1 以上、26 異性体は 1 より小さい。

ELISA<sub>ECCO</sub> は、ほとんどの PCDD、PCDF に対して TEF より交差率の方が小さく、Co-PCB に対しては逆に交差率の方が大きい。PCDD、PCDF の存在量の少ない試料に

表-2 河川底質のダイオキシン類対策にあたって必要となる簡易モニタリング技術の要件

	調査段階		工事段階				工事終了後	
	汚染範囲確認調査	工事の影響範囲調査	工事境界における底質の巻き上げ、上下流への輸送の監視	工事区域外の水質、底質への影響の監視	中間処理・処理施設での固液分離液、仮置きヤードのモニタリング	底質処分場からの漏出の有無の監視	汚染現場の改善効果の把握	底質処分場の環境影響の監視
分析時間短縮	○	○	○	◎	○	◎	○	◎
連続モニタリング			◎		◎	○		
低コスト化	◎	◎		○			◎	○
分析信頼性	○	○	○	○	○	○	○	○

注：簡易モニタリングの検討において考慮すべき事項 ◎：最も優先すべき事項 ○：優先すべき事項

表-3 異性体のTEFと測定キットの交差反応性及び実測濃度(中央値)に占める各異性体の割合

異性体	TEF	交差反応性			実測濃度に占める割合(%)
		ELISA <sub>AECO</sub>	ELISA <sub>AD72</sub>	AhR	
2,3,7,8-TCDD	1	1	1	1	0
1,2,3,7,8-PCDD	1	0.1	0	0.8	0.023
1,2,3,4,7,8-HCDD	0.1	0.003	0	0.5	0
1,2,3,6,7,8-HCDD	0.1	0.001	0	0.5	0.11
1,2,3,7,8,9-HCDD	0.1	0.003	0	0.5	0.13
1,2,3,4,6,7,8-HCDD	0.01	0.002	0	0.2	3.3
O8CDD	0.0001	<0.001	0	0.003	58
2,3,7,8-TCDF	0.1	0.1	0.33	0.06	0.028
1,2,3,7,8-PCDF	0.05	0.006	0	0.07	0.032
2,3,4,7,8-PCDF	0.5	0.6	0.002	0.9	0.042
1,2,3,4,7,8-HCDF	0.1	0.005	0	0.08	0.067
1,2,3,6,7,8-HCDF	0.1	0.004	0	0.6	0.035
1,2,3,7,8,9-HCDF	0.1	0.002	0	0.6	0
2,3,4,6,7,8-HCDF	0.1	0.002	0	0.5	0.074
1,2,3,4,6,7,8-HCDF	0.01	<0.001	0	0.06	0.80
1,2,3,4,7,8,9-HCDF	0.01	<0.001	0	0.07	0
O8CDF	0.0001	<0.001	0	0.008	1.4
3,4,4',5'-TeCB (#81)	0.0001	0.01	0	0.03	0
3,3',4,4'-TeCB (#77)	0.0001	0.02	0.05	0.01	1.9
3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	0.1	0.01	0	0.3	0
3,3',4,4',5',5'-HxCB (#169)	0.01	<0.001	0	0.06	0
2,3,4,4',5'-PeCB (#123)	0.0001	<0.001	0	0.002	0.16
2,3,4,4',5'-PeCB (#118)	0.0001	0.01	0	0.0002	19
2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	0.0001	0.007	0	0.0003	8.0
2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	0.0005	0.004	0	0.001	0.27
2,3',4,4',5'-HxCB (#167)	0.00001	0.002	0	0.0001	0.86
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	0.0005	0.005	0	0.001	2.3
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	0.0005	<0.001	0	0.002	0.48
2,3,3',4,4',5',5'-HpCB (#189)	0.0001	0.002	0	0.0002	0

対しては、公定法より測定値が小さくなり、Co-PCBの存在量が多い試料に対しては、公定法より測定値が大きくなる特徴を有している。

ELISA<sub>AD72</sub>は、2,3,7,8-TCDD、2,3,7,8-TCDF、2,3,4,7,8-PCDF、Co-PCBの#77にのみ交差率を持つキットであるが、2,3,4,7,8-PCDFの交差率はTEFより小さい値であり、2,3,4,7,8-PCDFの存在量が多い試料では公定法より測定値が小さくなる。また、2,3,7,8-TCDF、Co-PCBの#77の交差率はTEFより大きな値となっており、これらの存在量が多い試料では公定法より測定値が大きくなるという特徴を持っている。しかし、実試料の測定においては前処理により2,3,7,8-TCDD以外の異性体を除去する方法を採用している。

AhRは、1,2,3,7,8-PCDD、2,3,7,8-TCDF、1,2,3,4,7,8-HCDFの交差率はTEFより小さいが、この他はすべて大きい。これら3化合物の存在量が多い試料では公定法より測定値は小さくなるが、これら3異性体以外の異性体の存在量が多い試料では公定法より測定値が大きくなるという特徴を有している。

各測定キットが、各異性体に対して

表-3の交差反応性を示し、相互の異性体が相加的に反応を示すと仮定すると、与えられた複数の異性体構成によって予想されるDEQを理論換算DEQと呼ぶことにする。

次に、底質の異性体構成の概略を知る目的で平成13年度、国土交通省が実施した河川底質ダイオキシン類実態調査のデータを用い、底質のダイオキシン類異性体構成比を整理し図-2に示した。なお、整理に用いたデータ数は238、ダイオキシン類濃度は0.24-63 pg-TEQ/g(中央値0.57 pg-TEQ/g)である。TEQ換算する前の実測濃度で計算すると全体濃度に対する各異性体の割合は、1,2,3,4,6,7,8-

H7CDDが3.3%、O8CDDが58%、O8CDFが1.4%、Co-PCBの#77が1.9%、#118が19%、#105が8%、#156が2.3%であった。しかし、各異性体の実測濃度にTEFを乗じ、TEQ濃度で示すと実測濃度で整理した異性体構成パターンと大きく異なっており、1,2,3,7,8-P5CDD、1,2,3,6,7,8-H6CDD、1,2,3,7,8,9-H6CDD、1,2,3,4,6,7,8-H7CDD、O8CDD、2,3,7,8-T4CDF、2,3,4,7,8-P5CDF、1,2,3,4,7,8-H6CDF、1,2,3,6,7,8-H6CDF、2,3,4,6,7,8-H6CDF、1,2,3,4,6,7,8-H7CDFが全体の1%以上で存在している。

図-2に示す代表的なダイオキシン類異性体構成比

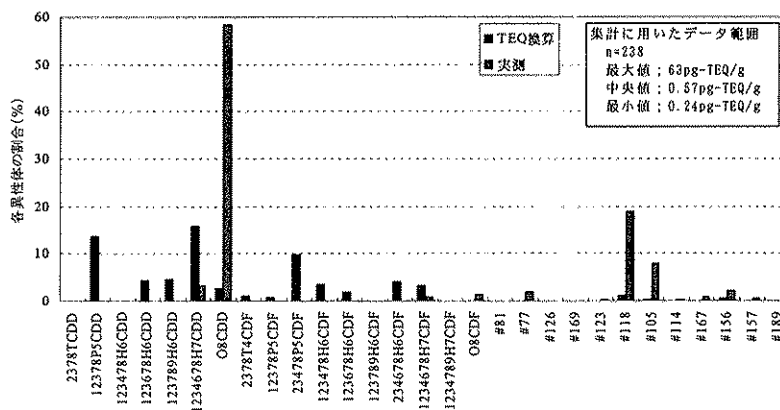


図-2 total TEQ/総実測濃度に占める各異性体の割合

表-4 各キットの検出下限値と定量下限値

キット名	検出下限値			定量下限値		
	下限濃度 (pg/g)	試料使用量 (g)	絶対必要量 (pg)	下限濃度 (pg/g)	試料使用量 (g)	絶対必要量 (pg)
ELISA <sub>ECCO</sub>	8	10	80	26.5	10	265
ELISA <sub>DT2</sub>	0.43	100	43	1.4	100	140
AhR	0.024	5	0.12	0.08	5	0.4

のダイオキシン類からなる底質に対して、理論換算 DEQ は、ELISA<sub>ECCO</sub>、AhR、ELISA<sub>DT2</sub> を用いて測定すると、その値は公定法の TEQ に比べ 3 倍、8 倍、0.7 倍となる。従って、全国平均的な底質に対しては理論的には、公定法による TEQ に比べ、理論換算 DEQ は、ELISA<sub>ECCO</sub>、AhR が過大、ELISA<sub>DT2</sub> が過小となることが予想される。ダイオキシン類の底質対策としてもっとも利用性が高いと考えられる汚染範囲の確定の補助としての利用では、すでに代表的なダイオキシン類の異性体の構成がわかっているため、各キットの交差反応性を考慮した理論的 DEQ を算定し、もっとも TEQ に近いものを選択することが考えられる。ただ、現実的底質には、TEF を持たないダイオキシン類が存在すると考えられるが、キットの中には、TEF を持たない異性体との交差率を持つ場合があり、さらにダイオキシン類以外にも交差反応性を持つ物質が存在している可能性がある。現在のところ測定を妨害する主要な物質との交差反応性は十分にはわかっていない。従って、妨害性のある物質のクリーンアップによる精製を行うなどの方法を経験的に組み合わせることが重要と考えられる。

次に、各キットの検出下限値、定量下限値を表-4 に示した。キットごとに検出性や定量性の定義が異なるため、本研究では各キットとも定量下限値付近の濃度で標準液を繰り返し測定した結果から標準偏差 ( $\sigma$ ) を求め、その 3 倍を検出下限値、10 倍を定量下限値として比較した。

定量に必要な 2,3,7,8-TCDD の絶対量は、ELISA<sub>ECCO</sub> 法が 265pg、AhR が 0.4pg、ELISA<sub>DT2</sub> 法が 140pg であり、AhR の感度が高い。

それぞれの測定法で推奨されている乾燥底質の量が 5~100g までと大きく異なるので、結果的には底質の定量下限は 2,3,7,8-TCDD 換算で、ELISA<sub>ECCO</sub> 法が 26.5pg/g、AhR が 0.08pg/g、ELISA<sub>DT2</sub> 法が 1.4pg/g となる。なお、他の異性体についての検出下限値は交差率の逆数に応じて大きくなる。排水基準 10pg-TEQ/L を検出するには ELISA<sub>ECCO</sub>、ELISA<sub>DT2</sub>、AhR で最低 26.5L、14L、40mL 必要であることから前者二つは理論的に水試料適用は困難と考えられる。

### 3. 2. 2 国土交通省ダイオキシン類実態調査における河川底質試料を用いた比較

#### ELISA<sub>ECCO</sub>

底質 7 サンプルについて公定法及び ELISA 法でそれぞれ測定した結果を図-3 に示した。ELISA 法の測定値は公定法と比較して高値を示し、公定法と ELISA 法の間には良好な相関関係は認められなかった。また、回帰線の傾きが 20 程度と公定法に比べ ELISA<sub>ECCO</sub> はかなり大きな値を示し、また切片も 400pg/g と大きい。

#### AhR

底質 75 サンプルについて公定法及び ELISA 法でそれぞれ測定した結果を図-4 に示した。AhR 法の測定値は、公定法との間にやや低いながら相関性が認められたが、多くの試料で十数倍高い値を示した。これは、前述したように AhR の交差率は多くの異性体について TEF より大きな値となっており公定法より測定値が大きくなる特徴を有していることが原因と考えられる。

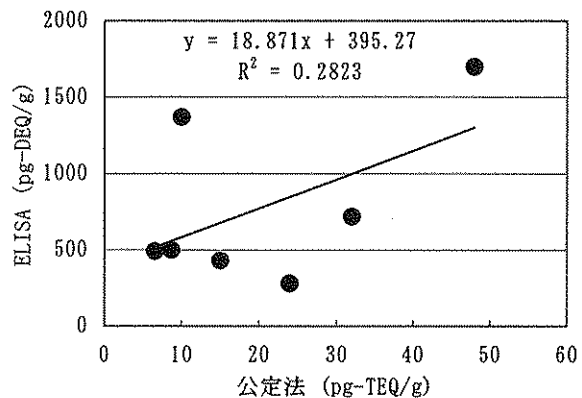


図-3 7地点の河川底質を用いた公定法とELISA<sub>ECCO</sub>の比較

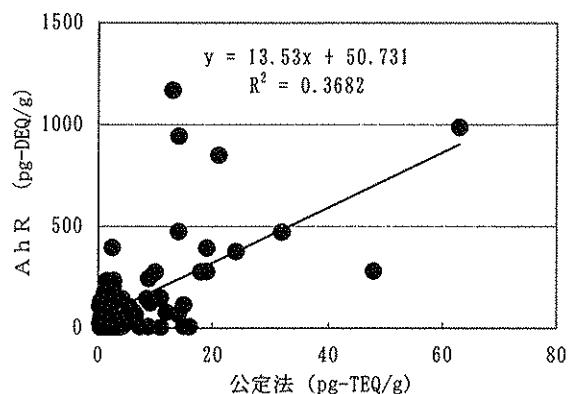


図-4 75地点の河川底質を用いた公定法とAhRの比較

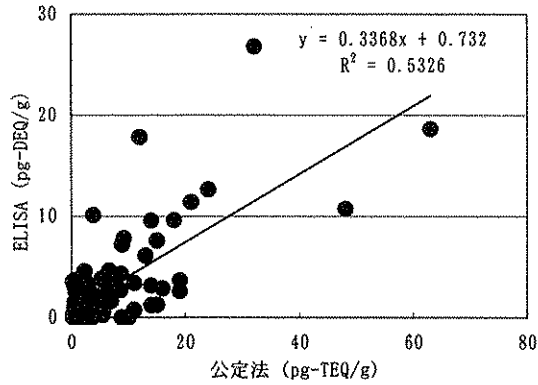


図-5 101地点の河川底質を用いた公定法とELISA<sub>DT2</sub>の比較

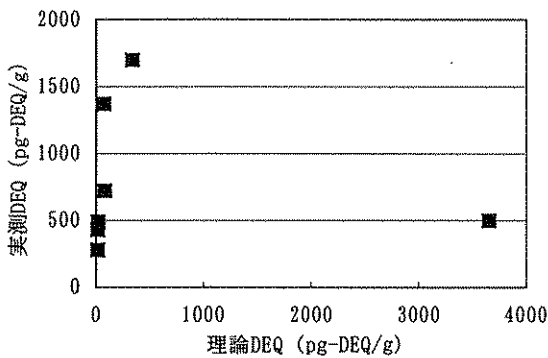


図-6 ELISA<sub>Eco</sub>の理論換算DEQ濃度と実測DEQ濃度の比較

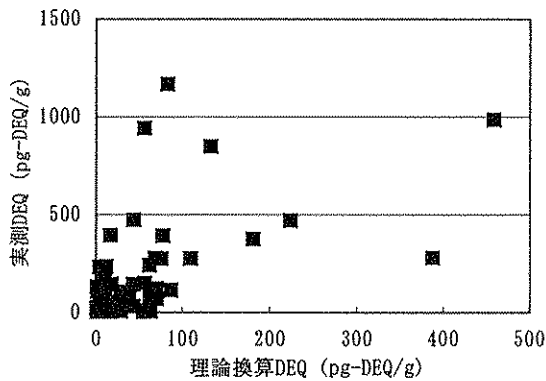


図-7 AhRの理論換算DEQ濃度と実測DEQ濃度の比較

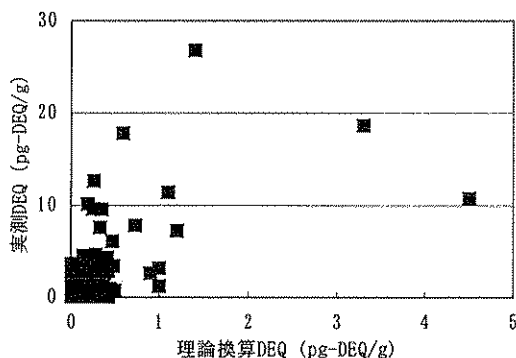


図-8 ELISA<sub>DT2</sub>の理論換算DEQ濃度と実測DEQ濃度の比較

### ELISA<sub>DT2</sub>

底質101サンプルについて公定法及びELISA法でそれぞれ測定した結果を図-5に示した。両者の相関性はやや低いながら認められ、傾きが0.33と公定法よりELISA法の測定値の方がかなり小さくなっている。これは、交差率が限られた異性体には存在しないことが原因と考えられる。

次に、これらのデータについてダイオキシン類異性体実測濃度に公差率を乗じた理論換算DEQ濃度 (pg-DEQ/g) と実測濃度 (pg-DEQ/g) を比較検討した。その関係を図-6、図-7、図-8に示した。

ELISA<sub>Eco</sub>は、理論換算DEQに対し実測DEQが大きいものが多いが、小さくなる場合もある。精製過程での交差反応物質の除去等、前処理の改良が必要である。

AhRは、ほとんどの試料において理論換算DEQに対し実測DEQが数倍大きな値となっており、多くのTEFをもつ異性体やTEFを持たない多くの物質との反応が示唆される。

ELISA<sub>DT2</sub>は、AhR同様、ほとんどの試料において理論換算DEQに対し実測DEQが大きい。精製過程での交差反応物質の除去等、前処理の改良が必要である。

ただし、これらの比較に当たって、注意すべきことは、ここで使用した試料数は同じではなく、環境基準を下回る低濃度の試料であること、異なる河川、地点での試料を基にしていること、使用した試料量は同じでなく、抽出と精製の方法もなどの前処理法が少し異なっていることである。このため、次に述べる同一の試料での比較を行う必要があり、免疫抗体による方法以外の方法も検討対象とする必要がある。

これまでの結果から、対象とした免疫測定系はきわめて高感度のものが含まれるが、各キットともTEFと交差率が同じではなく、またTEFを持たない多くの物質に交差するため、測定値が過小となる場合、逆に過大となる場合が生じる。

### 3.3 同一試料を用いたダイオキシン類簡易分析技術の比較検討

ダイオキシン類の簡易分析は乾燥、抽出、精製の前処理との組み合わせにより可能となる。ここでは、リサイクルチームと連携し、前処理と測定の組み合わせ技術による検討を行った結果のなかから、前処

理が同じ試料を用いて検出法の比較検討を行った結果を報告する。

本検討に用いた底質試料は、関東地方の A 河川で採取した。20 検体以上の採取試料から、強熱減量、四重極 GC/MS による OCDD の測定結果から比較的高濃度の 5 試料を選定した。公定法による乾燥・抽出・精製を行った試料を用い検出法の比較検討を行った結果を述べる。ここで比較検討した検出法は、前述した ELISA<sub>ECO</sub>、AhR、ELISA<sub>DT2</sub> に四重極 GC/MS による方法を加えた 4 検出法である。

四重極 GC/MS 法は多くの異性体の中から特定の異性体だけを選択し、その異性体の存在濃度を測定し、公定法によって測定された TEQ との相関をとって、四重極 GC/MS で測定された特定の異性体の濃度をもとに未知試料の TEQ を推定する方法である。このため、四重極 GC/MS で測定する異性体の選択が重要となる。本検討では、全国の底質調査データを集計・整理した代表的ダイオキシン類異性体 (図-2) の中から TEQ に大きく寄与している上位 3 つの異性体 1,2,3,7,8-P5CDD, 2,3,4,6,7,8-H7CDD, 2,3,4,7,8-P5CDF を分析することとした。

ダイオキシン類濃度 (pg-TEQ/g) とそれぞれの簡易検出法で求めた値と公定法の値の関係を図-9、図-10 に示した。試料数が少なく明確な相関性は認められなかった。ELISA、AhR については前述した理論換算 DEQ との関係についても検討したところ相関性は認められなかった。

次に、1,2,3,7,8-P5CDD、1,2,3,4,6,7,8-H7CDD、2,3,4,7,8-P5CDF の 3 異性体の HRGC/HRMS と四重極 GC/MS で測定した値の関係を図-11 に示す。両者は比較的良好な相関性を示しており、四重極 GC/MS でも今回測定対象とした 1,2,3,7,8-P5CDD、

1,2,3,4,6,7,8-H7CDD、2,3,4,7,8-P5CDF の 3 異性体を比較的良好な精度で測定できていることがわかる。しかし、HRGC/HRMS での測定値に比べ低い値となっていることから測定対象物質すべてを検出できていない可能性があり、測定感度等に課題がみられる。

### 3. 4 精度管理手法の検討

ダイオキシン類の測定分析に関しては『測定値の信頼性確保』のために、公定法 (JIS K 0312) では種々の品質管理項目が定められている。品質管理項目のデータは測定分析機関に記録として保管され、依頼業務の場合、その一部は測定値と共に依頼元へ報告される。しかしながら、ダイオキシン類の測定分析

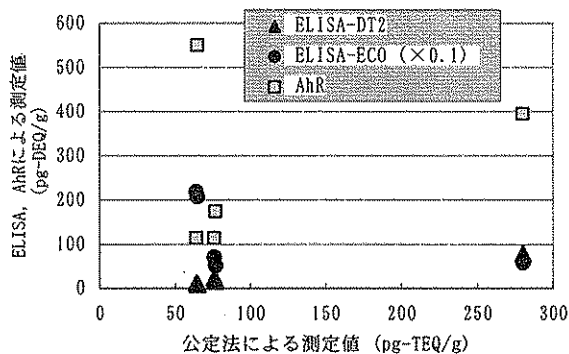


図-9 公定法のTEQとELISA<sub>DT2</sub>法、ELISA<sub>ECO</sub>法、AhR法でのDEQとの比較

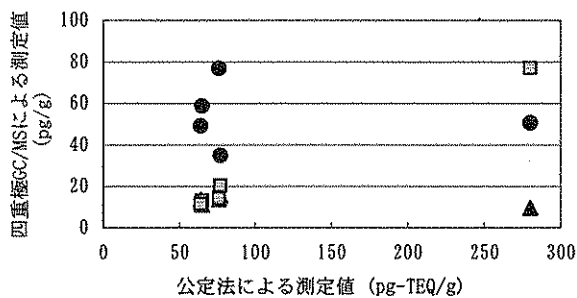


図-10 公定法のTEQと四重極GC/MS法による測定値の比較

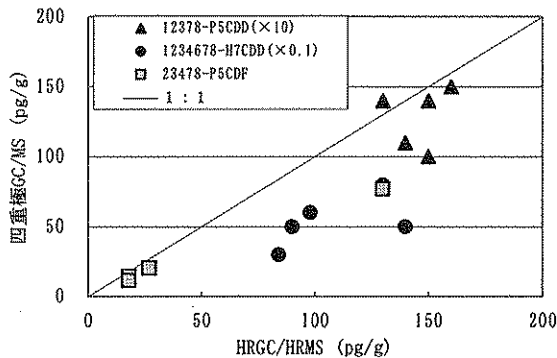


図-11 HRGC/HRMSと四重極GC/MSによる各異性体の測定結果

注：(×10)は実測濃度の10倍、(×0.1)は実測濃度の10分の1

結果の妥当性を、品質管理項目をも含めて確認するためには高い専門知識が必要である。これまで専門家が行ってきたダイオキシン類測定データの精査作業の一部をパターン化、システム化することで、報告された測定値が公定法で定められた品質管理規格を満足する状態で得られたものであるかを確認するソフトウェアを作成した。本システムでの判定項目の1例を表-5に示す。本ソフトウェアの使用方法は、ソフトウェアを測定分析機関等の依頼先へ配布し、測定分析機関は測定分析終了後、数値等をソフトウェアに入力する。本ソフトウェアでは入力されたデータの内容に矛盾や規格逸脱があれば指摘し、また

公定法で定められた規格を満足する状態でなければ出力（印刷等）が不可能とすることで判定が分かりやすい。依頼元は本ソフトウェアの出力結果の提出を要求することにより、定められた品質管理規格を満足しているダイオキシン類測定分析値を得ることが可能となる。

表－5 精度管理のための判定項目と判定基準（例）

判定項目		判定基準	
カリブアツ スバツ	PCDD, PCDF	各塩素数ごとに2, 3, 7, 8-位塩素置換体1種類を添加しているか	
	Co-PCB	ノボ体	全種類を添加しているか
		モノ体 ジ体	各塩素化合物ごとに1種類ずつ添加しているか
分解能		10,000以上であるか	
サンプリング周期		1秒以下であるか	
測定質量数		正しい質量数で測定が行われているか	
カリブアツ スバツの回収率		試料、内標準物質各塩化物ごとに2つ以上の質量数とロックマス用選択イオンの質量数を測定しているか	
サンプリング スバツの回収率		50-120%の範囲にあるか	
塩素同位体比		±15%（検出下限の3倍以下の場合）は±25%の範囲にあるか	
検量線作成時のRRFからの変動範囲		±20%の範囲にあるか	

#### 4. まとめ

本研究では、ELISA等による簡易分析法と精度管理手法について以下の結果を得た。

- 1) 共同研究を実施している ELISA<sub>Eco</sub>、AhR、ELISA<sub>DT2</sub>の異性体ごとの検出と検出下限の特徴を整理し、実試料に適用した場合の結果と比較した。この結果、全国河川底質の実測 DEQ は TEQ より、ELISA<sub>Eco</sub> と AhR は常に過大、ELISA<sub>DT2</sub> は過大あるいは過小となった。理論換算 DEQ と実測 DEQ の比較からは、TEFを持たない物質との交差反応の可能性が示唆され、精製法の検討が重要と分かった。
- 2) 同じ乾燥、抽出、精製の前処理を行った試料を用

い、ELISA<sub>Eco</sub>、AhR、ELISA<sub>DT2</sub>と四重極 GC/MS による簡易検出手法について比較検討した。試料数が少なく明確な相関性は認められなかった。

3) 測定値の信頼性確保のため専門家が行っていた測定データの精査作業の一部をパターン化、システム化し、報告された測定値が公定法で定められた品質管理規格を満足する状態で得られたものであるかを確認するソフトウェアを作成した。

4) 今後、より多くの試料を基に検討を進めるとともに、ダイオキシン類の対策がとられる現場での検討を行う必要がある。

#### 5. 参考文献

- 1) 小森行也、八十島誠、田中宏明、南山瑞彦、鈴木稔、伊藤弘之「河川底質のダイオキシン類対策に必要な簡易測定技術」、環境システム計測制御学会誌、Vol.7、No.2、pp.255-258、2002.9
- 2) 永柳、4重極 GC/MS によるダイオキシン類の簡易測定技術、資源環境対策、Vol.37、pp.921-925 (2001)
- 3) 上東浩、ダイオキシン類測定分析の迅速化・簡易化、資源環境対策、Vo.37、pp.942-947 (2001)
- 4) 大川真、GC/MS/MS によるダイオキシン類の簡易分析、資源環境対策、Vo.37、pp.932-935 (2001)
- 5) 中村朋之 他、大容量注入装置を用いたイオントラップ型 GC/MS/MS によるダイオキシン類分析法の検討、第9回環境化学討論会、pp.248-249 (2000)
- 6) 坂田一登 他、高速溶媒抽出法と免疫測定法を組み合わせた迅速ダイオキシン分析技術、資源環境対策、Vol.37、pp.87-91 (2001)
- 7) 小林康男 他、Ah イムノアッセイによる環境サンプルのダイオキシン類測定の実例、造水技術、Vol.27、pp.3-8 (2002)
- 8) 橋場常雄、リポータージーンアッセイ法によるダイオキシン類の分析について、造水技術、Vol.27、pp.14-19 (2002)
- 9) 村田弘司、ジーン・バイオアッセイによるダイオキシン類の測定、資源環境対策、Vol.37、pp.970-974 (2001)
- 10) 加藤みか、ダイオキシン類の測定を正確かつ大幅に効率化できる方法、第2回効率的な環境管理のための最新の簡易測定技術、エコケミストリー研究会(2002)