

◆ 報 文 ◆

# ダイオキシン類底質対策に用いる簡易測定技術の適用可能性

八十島誠\* 小森行也\*\* 田中宏明\*\*\*

## 1. はじめに

ダイオキシン類は、燃焼等に伴って非意図的に生成する物質であり、発ガン性などの毒性に加え、外因性内分泌攪乱化学物質（いわゆる環境ホルモン）であることなどから、社会的な関心事となっている。ダイオキシン類とは、ダイオキシン類対策特別措置法<sup>1)</sup>（以下、特措法）においてポリ塩化ジベンゾ-パラジオキシン（以下、PCDDs）、ポリ塩化ジベンゾフラン（以下、PCDFs）、コプラナーポリ塩化ビフェニル（以下、Co-PCBs）の総称と定義されている（図-1）。WHO等ではこれらダイオキシン類について、長期毒性、短期毒性、生体内及び試験管内での生化学反応を試験し、得られた結果を同族体、異性体間で比較してきた。その結果、最も毒性が強いとされる2,3,7,8-TCDDの毒性を基準“1”とし、その他のダイオキシン類の毒性を、相対的な毒性の強さを示す“毒性等価係数”（TEF：Toxicity Equivalent Factor）によって表すことにしている。PCDDsには75種類、PCDFsには135種類、Co-PCBsには14種類の異性体があるが、現在、TEFが設定されているダイオキシン類は、PCDDsは7種類、PCDFsは10種類、Co-PCBsは12種類である。

特措法では、法施行時に大気、水質、土壌について環境基準を設け、継続的にモニタリングを行うことを義務づけている。底質については、環境大臣が2001年12月に中央環境審議会に対して「ダイオキシン類対策特別措置法に基づく水質汚濁のうち水底の底質に係る環境基準の設定等」について諮問しており、2002年6月24日に同審議会は環境大臣に対し答申した。答申を受け環境省告示第46号（2002年7月22日）で、水底の底質の環境基準「150pg-TEQ/g以下」が追加され、2002年9月1日から施行された。

ダイオキシン類の分析は、JISや各種測定マニュアル（以下、公定法）に準拠して行われている<sup>2) 3) 4) 5)</sup>。公定法では、高度な前処理技術と高

価な分析装置を要するため、1検体の分析費用は、一般に15～35万円<sup>6)</sup>と高額である。また試料採取後、分析結果が報告されるまでには一ヶ月程度の期間を要する場合が多い。「ダイオキシン類対策特別措置法に基づく底質環境基準の施行について（通知）」<sup>7)</sup>（以下、通知）によると底質において環境基準値を超える汚染が判明した場合は、対策を講じることとされているが、底質環境基準値超過が判明した場合、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かを見極める必要がある。そのためには、汚染範囲を詳細に調査することが重要であるが、公定法では、より正確な結果が得られる反面、分析費用が高額、タイムリーに結果が得られない等課題も多い。そこで、安価に、かつ、迅速にダイオキシン類濃度を知る方法（以下、簡易測定技術）があれば、この方法を用いて対策を講じる範囲を決定することも可能になる。そのため、対策実施のためにも簡易測定技術の開発が望まれている。

本稿では、既存のダイオキシン類簡易測定技術を整理するとともに、土木研究所水質チームでこれまでに行ってきたダイオキシン類の簡易測定技術についての検討の概要を報告する。

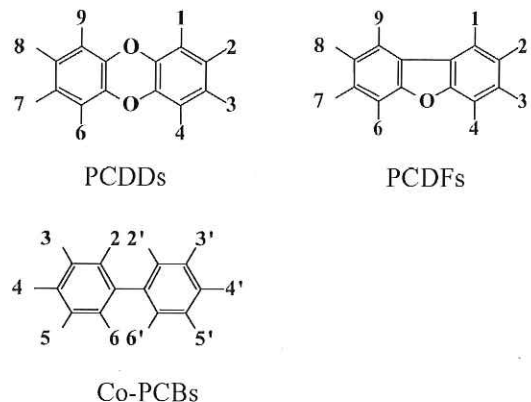


図-1 ダイオキシン類の構造

Application Possibility for Simple Measurement  
Technology of Dioxins Applicable to the Sediment  
Countermeasure

## 2. ダイオキシン類の簡易測定技術

ダイオキシン類のほとんどは焼却施設から排出<sup>8)</sup>されており、大気中に排出されたダイオキシン類の多くは、ばいじん等に吸着して地面や水面に落下し、土壌や底質に蓄積される。先般、底質の環境基準が施行されたことにより、この基準を超過しているところでは具体的な対策が必要であり、このためにも簡易測定技術の開発が急がれる。

ダイオキシン類の簡易測定技術については、これまでも多くの報告がある。既報の技術は、ダイオキシン類そのものを測定する技術と、ダイオキシン類と相関があるとされる代替指標を測定するものに大別される。代表的な簡易測定技術は、以下のとおりである。

### 1) ダイオキシン類そのものを測定する技術

- ①四重極 GC/MS による方法<sup>9), 10)</sup>
- ②四重極イオントラップ型 GC/MS/MS による方法<sup>11), 12)</sup>
- ③免疫測定 (ELISA) による方法<sup>13)</sup>
- ④アリルヒドロカーボン (Ah) レセプターバインディングアッセイによる方法<sup>14)</sup>
- ⑤生物検定による方法<sup>15), 16)</sup>

### 2) 代替指標を測定する技術

- ⑥クロロベンゼン、クロロフェノールを測定する方法<sup>17)</sup>
- ⑦半・難揮発性有機ハロゲン化合物 (SNVOX) を測定する方法<sup>18)</sup>

①の方法は、比較的安価な四重極 GC/MS で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 HRGC/MS に比べ感度は劣るが、GC に注入する試料濃縮液を従来の方法より数十倍多くし、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 (PTV: Programmed Temperature Vaporizer) 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 で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で選択性の高い分析を行うことができる。この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クローナ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 レセプターバインディング法を、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、ダイオキシン類生成の前駆物質であるクロロベンゼン類、クロロフェノール類を測定する方法であり、測定が容易なことからダイオキシン類の代替指標として焼却施設の燃焼管理への適用が検討されている。

⑦の方法は、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。

これらの方法では、土壌や排ガス、焼却灰等に適用した例は多いが、底質を対象とした例は少ない。一方でこれらの方法は、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時間短縮、コスト縮減等が期待できる。

## 3. 河川底質のダイオキシン類対策と簡易測定技術

河川底質のダイオキシン類対策実施を想定すると、調査段階、工事段階、工事終了後においてダイオキシン類の測定が必要となる。『調査段階』では汚染範囲の確認調査及び工事の影響範囲調査、『工事段階』では工事境界での底泥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、底質への影響及び中間処理・処分施設等の監視を行う。『工事終了後』で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。モニタリングでは多数の試料の迅速な測定、対策中の監視とフィードバックが必要となることから、迅速な分析が可能で、低コストの方法であることが望ましく、目的によっては連続モニタリングが必要である。

簡易測定技術の適用は、通知において、「汚染範囲確定のための詳細調査範囲を絞り込む場合に用いることは差し支えない」とされている。従って、調査段階における汚染範囲確認調査においては簡易測定技術の適用が可能である。他の工事段階では、簡易測定技術の適用は明確化されてはい



ないが、公定法を用いてダイオキシン類濃度をモニターした場合、分析結果が得られるまで工事が進捗しないなど課題も多い。このため、他の工事段階においても簡易測定技術を適用できる可能性が高いと考えられる。しかし、簡易測定法であっても分析信頼性の確認は重要であり、その方法の特徴を十分把握した上で目的にあった利用が必要である。

4. 簡易測定技術の底質への適用可能性の検討

土木研究所水質チームでは、民間との共同研究により、先に示した簡易測定技術のうち底質への適用が可能と考えられる測定方法として、免疫測定法(a)、Ah レセプターバインディングアッセイ法(b)について適用可能性の検討を行っている。共同研究としては、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、新たな抗体の取得から前処理技術についての検討を実施している。本共同研究では、19匹の家兎に免疫して新たな抗体を作成<sup>19)</sup>し、この抗体を用いたELISAキットの作成(エコアッセイ<sup>®</sup>ダイオキシンELISAキット：以下ELISA<sub>ECO</sub>)と標準物質を用いた測定特性の把握、底質試料への適用について検討を進めている。平成13年度からは、(株)クボタ、第一ファインケミカル(株)との共同研究も開始し、製品化されているELISAキット(DELFLIA TCDD Test Kit：以下ELISA<sub>DT2</sub>)、Ah レセプターバインディングアッセイ(Ah-イムノアッセイ<sup>TM</sup>：以下Ah-IA)を底質試料に応用するための前処理方法の改善と検出できる異性体特性について検討を行っている。また、前処理の簡易化<sup>20)</sup>についても併せて検討を行っている。前処理の簡易化については、公定法(A)を基本とし、加熱流下抽出法(B)、高速溶媒抽出法(C)を用いた方法について検討している。具体的には、(A)、(B)、(C)それぞれの前処理を行ったのち、(a)、(b)の簡易測定技術及び公定法(HRGC/MS)で測定を行っている。本検討では、抽出条件、精製方法、検出系を適宜組み合わせ検討しており、特に、検出系について着目している。

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、簡易測定キットで検出した値は、2,3,7,8-TCDD相当量(DEQ)として表している。また、2,3,7,8-TCDDと各キットの抗体の反応量を“1”として、他の異性体と

抗体の反応量を相対的に示したものを交差率と呼ぶ。TEFと交差率が全く同じ異性体に対する公定法と簡易測定キットによる測定値は、TEQとDEQが同じ数値になる。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。先に述べた3つのキットについてTEFを持つ29異性体との交差率を整理した結果は、表-1に示すとおりである。なお、表-1に示した交差率は、共同研究社の既存資料および本共同研究における追加調査結果を元に整理した。これによると、各キットとも、異性体毎に公定法によ

表-1 簡易測定技術の交差率

異性体	TEF	交差率		
		ELISA <sub>ECO</sub>	ELISA <sub>DT2</sub>	Ah-IA
P C D	2,3,7,8-TCDD	1	1	1
	1,2,3,7,8-PCDD	1	0.1	<0.001
	1,2,3,4,7,8-HCDD	0.1	0.003	<0.001
	1,2,3,6,7,8-HCDD	0.1	0.001	<0.001
	1,2,3,7,8,9-HCDD	0.1	0.003	<0.001
	1,2,3,4,6,7,8-HCDD	0.01	0.002	<0.001
	OCDD	0.0001	<0.001	<0.001
P C D F	2,3,7,8-TCDF	0.1	0.1	0.33
	1,2,3,7,8-PCDF	0.05	0.006	<0.001
	2,3,4,7,8-PCDF	0.5	0.6	0.002
	1,2,3,4,7,8-HCDF	0.1	0.005	<0.001
	1,2,3,6,7,8-HCDF	0.1	0.004	<0.001
	1,2,3,7,8,9-HCDF	0.1	0.002	<0.001
	2,3,4,6,7,8-HCDF	0.1	0.002	<0.001
	1,2,3,4,6,7,8-HCDF	0.01	<0.001	<0.001
	1,2,3,4,7,8,9-HCDF	0.01	<0.001	<0.001
	OCDF	0.0001	<0.001	<0.001
C o i P C B	3,4,4',5'-TeCB(#81)	0.0001	0.01	<0.001
	3,3',4,4'-TeCB(#77)	0.0001	0.02	0.05
	3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	0.1	0.01	<0.001
	3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.01	<0.001	<0.001
	2,3,4,4',5'-PeCB(#123)	0.0001	<0.001	<0.001
	2,3',4,4',5'-PeCB(#118)	0.0001	0.01	<0.001
	2,3,3',4,4',5'-PeCB(#105)	0.0001	0.007	<0.001
	2,3,4,4',5'-PeCB(#114)	0.0005	0.004	<0.001
	2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	0.00001	0.002	<0.001
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)	0.0005	0.005	<0.001
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	0.0005	<0.001	<0.001
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	0.0001	0.002	<0.001

表-2 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>ECO</sub>	8	10	80	26.5	10	265
ELISA <sub>DT2</sub>	0.43	100	43	1.4	100	140
Ah-IA	0.024	5	0.12	0.08	5	0.4

る測定値に比べて過大あるいは過小に評価する特徴を有している。底質中ダイオキシン類の異性体分布パターンは、PCDD、PCDF、Co-PCBのいずれか、あるいは複数が卓越する場合、又は、ある特定の異性体が卓越する場合など多様である。従って、対象とする底質中ダイオキシン類の異性体分布パターンによって、理論的には公定法と測定キットの測定値との乖離性が異なると考えられ、対象とする底質の特性に応じて適用するキットを適切に選択していく必要があると考えられる。

各キットの検出・定量下限値、測定範囲は、表-2に示すとおりである。キット毎に検出性や定量性の定義が異なるため、ここでは、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を求め、その3倍を検出下限値、10倍を定量下限値と定義して比較した。

定量に必要な2,3,7,8-TCDDの絶対量は、ELISA<sub>ECO</sub>では、265pg、ELISA<sub>DT2</sub>では140pg、Ah-IAでは0.4pgとなり、Ah-IA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と異なるため、底質としての定量下限値は、2,3,7,8-TCDD換算で、ELISA<sub>ECO</sub>では26.5pg/g、ELISA<sub>DT2</sub>では1.4pg/g、Ah-IAでは0.08pg/gとなる。

### 5. 河川底質試料を用いた比較

ここでは、各キットが、各異性体に対して表-1の交差率を示し、相互の異性体が相加的に反応すると仮定し、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DEQと定義する。本節では、理論DEQと公定法の測定値、あるいは、実測DEQの比較により、各キットの特徴を整理する。測定の対象に用いた試料は、平成12・13年度に国土交通省が行った「全国一級河川におけるダイオキシン類に関する実態調査」時に採取されたもので、保存されていた採取試料の中で各キットの検出下限値等を考慮し、検出できるレベルにある試料を共同研究社に配布し測定されたものである。なお、入手され、測定に供した試料には、環境基準値を上回る濃度の試料は含まれていな

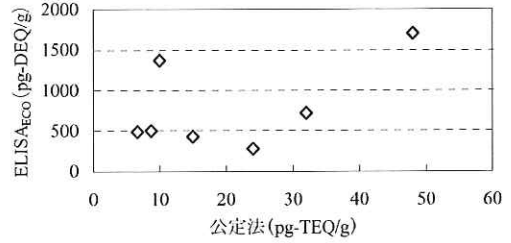


図-2 公定法とELISA<sub>ECO</sub>の測定値の比較

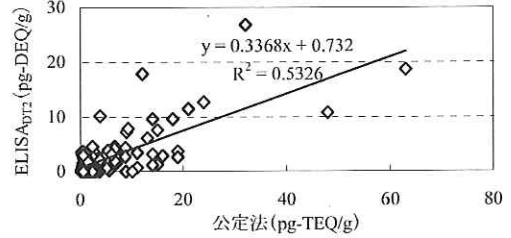


図-3 公定法とELISA<sub>DT2</sub>の測定値の比較

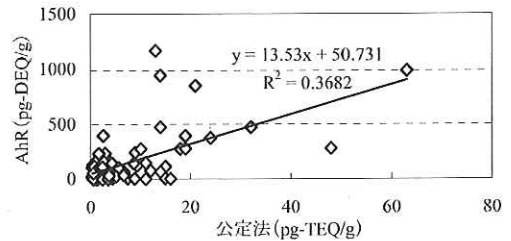


図-4 公定法とAh-IAの測定値の比較

かった。

#### ELISA<sub>ECO</sub>

底質7試料について公定法及びELISA<sub>ECO</sub>で測定した結果は、図-2に示すとおりである。ELISA<sub>ECO</sub>の測定値は、公定法と比較して高値を示す傾向にあった。今後、試料数を増やし、相関関係を検討する必要があると考えられる。

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

底質101試料について公定法及びELISA<sub>DT2</sub>で測定した結果は、図-3に示すとおりである。両者の相関性はやや低いながら認められたが、傾きが0.33と公定法よりELISA<sub>DT2</sub>の測定値の方がかなり小さくなっている。これは、ダイオキシン類のうち交差率が設定されているのは、限られた異性体のみであることが原因と考えられる。

#### Ah-IA

底質75試料について公定法及びAhレセプターバインディングアッセイ法で測定した結果は、図-4に示すとおりである。両者の相関性はやや



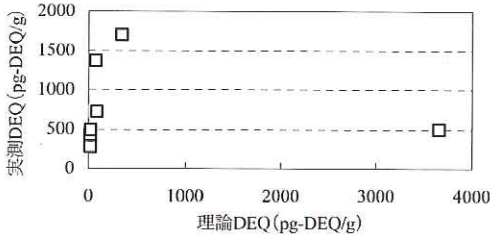


図-5 理論 DEQ と実測 DEQ の比較 (ELISA<sub>ECO</sub>)

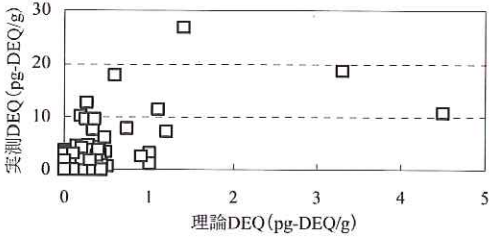


図-6 理論 DEQ と実測 DEQ の比較 (ELISA<sub>DT2</sub>)

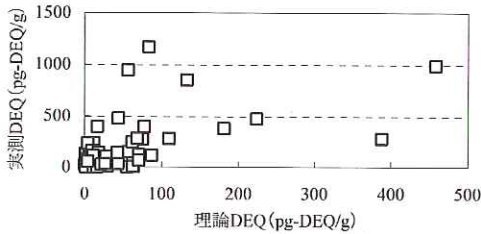


図-7 理論 DEQ と実測 DEQ の比較 (Ah-IA)

低いながら認められたが、多くの試料で十数倍高い値を示した。これは、Ah-IA の交差率が多くの異性体について TEF より大きな値となっているため、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。

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交差率を乗じた理論換算 DEQ 濃度 (pg-DEQ/g) と実測濃度 (pg-DEQ/g) を比較した (図-5、図-6、図-7)。

ELISA<sub>ECO</sub> は、理論 DEQ に対し実測 DEQ が大きいものが多いが、1 例だけその傾向から乖離していた。今後、試料数を増やし検討する必要がある。

ELISA<sub>DT2</sub> は、ほとんどの試料において理論 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。

Ah-IA は、ほとんどの試料において理論 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。

ただし、これらの比較にあたっては、使用した試料数は同じではなく、本研究では環境基準を超える濃度の試料を入手できなかったこと、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、抽出と精製方法などの前処理法が若干異なっていることに注意する必要がある。

本研究で対象とした免疫測定系には、極めて高感度のもが含まれるが、TEF と交差率が一致せず、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あることが明らかになった。実際の底質には、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、現在のところ測定を妨害する主要な物質との交差率は十分にはわかっていない。従って、妨害性のある物質の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。

## 6. おわりに

本研究では、河川底質のダイオキシン類対策に適用できる (又は可能性のある) 簡易測定技術について、適用可能性を検討し、以下の結果を得た。

- 1) 対象とした簡易測定キットの交差率は、TEF と必ずしも一致していなかった。このため、公定法による測定値と簡易測定キットの理論値は必ずしも一致しないことが示唆された。
- 2) 全国の底質を用いて公定法による測定値と簡易測定キットの理論値を比較したところ、やや低い相関 (ELISA<sub>DT2</sub>、Ah-IA) が認められた。簡易測定キットの実測値は TEQ に比べて、過大あるいは過小 (ELISA<sub>DT2</sub>)、又は、常に過大 (ELISA<sub>ECO</sub>、Ah-IA) となった。また、簡易測定キットでは、TEF を持たない物質との交差反応の可能性が示唆されたため、さらに精製法の検討を行う必要があると考えられた。

今回の検討で簡易測定キットの実測値と公定法による測定値の間に必ずしも高い相関関係が認められなかったのは、対象とした試料が全国各地から入手されたものであり、ダイオキシン類の異性体組成が異なっていたことが要因の一つとして考えられる。

- 3) 実際の対策は、同一河川の近接地点で行われるケースが多いものと予想される。同一河川の近接した地点では、一般にダイオキシン類の異性体組成が類似していると考えられるため、簡

易測定キットの実測値と公定法による測定値に相関関係が認められる可能性がある。このため今後は、ダイオキシン類の異性体組成の類似した同一河川の近接地点での両者の関係を明らかにし、実際の対策に応用できるようにデータを取得する予定である。

参考文献

- 1) ダイオキシン類対策特別措置法, 2000
- 2) 国土交通省:平成11年度水環境における内分泌かく乱物質及びダイオキシン類に関する実態調査結果について, 2000年7月21日
- 3) 環境省:平成11年度公共用水域等のダイオキシン類調査結果について, 2000年8月25日
- 4) 国土交通省:平成12年全国一級河川におけるダイオキシン類に関する実態調査等の結果について, 2001年12月18日
- 5) 環境省:平成12年度ダイオキシン類に係る環境調査結果について, 2001年12月18日
- 6) ダイオキシン等微量有害物質測定・分析機関一覧2002, 資源環境対策, Vol.38, No.13, pp.25-45, 2002年
- 7) 環境省環境管理局水環境部長:ダイオキシン類対策特別措置法に基づく底質環境基準の施行について(通知), 2002年7月22日
- 8) 環境省:ダイオキシン類の排出量の目録(インベントリー), 2002年12月
- 9) 永柳 衍: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年
- 10) 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年
- 11) 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年
- 12) 中村朋之、加藤譲一、鈴木 滋、山岸陽子: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年
- 13) 坂田一登、松本宏和、岡本巧誠、谷岡洋平、藤本昇: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年
- 14) 小林康男、中西俊夫: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年
- 15) 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年
- 16) 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年
- 17) 前田恒昭:クロロベンゼン・クロロフェノール測定による焼却炉煙道でのダイオキシンの連続測定, 資源環境対策, Vol.37, pp.936-941, 2001年
- 18) 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, 2001年12月4日
- 19) 小平 司、加藤郁夫、兪新民、矢内原昇、伊佐野隆、大石和之、川辺俊樹、田中宏明、小森行也、岡安祐司:非意図的生成物質(ダイオキシン類)の簡易測定法の開発, 第38回環境工学研究フォーラム講演集, pp.136-138, 2001年
- 20) 南山瑞彦、落 修一、鈴木 穰:底質中のダイオキシン類の抽出手法, 土木技術資料, Vol.44, No.7, pp.40-45, 2002年

八十島誠\*



独立行政法人土木研究所  
水循環研究グループ水質  
チーム交流研究員  
Makoto YASOJIMA

小森行也\*\*



独立行政法人土木研究所  
水循環研究グループ水質  
チーム主任研究員  
Koya KOMORI

田中宏明\*\*\*



独立行政法人土木研究所  
水循環研究グループ水質  
チーム上席研究員, 工博  
Dr. Hiroaki TANAKA