指標異性体を用いたダイオキシン類の迅速測定法

柴山 基, 林 篤宏, 井上 毅, 高菅 卓三

(株)島津テクノリサーチ (〒604-8436 京都市中京区西ノ京下合町1番地)

[平成14年8月12日受理]

Rapid Determination for TEQ Evaluation of Dioxins/Furans (PCDD/DFs) and Coplanar Polychlorinated Biphenyls (Coplanar PCBs) by Use of Indicator Isomer

Motoi SHIBAYAMA, Atsuhiko HAYASHI, Tsuyoshi INOUE and Takumi TAKASUGA

Shimadzu Techno-Research Inc.

(1 Nishinokyo Shimoaicho, Nakagyo-ku, Kyoto 604-8436)

[Received August 12, 2002]

Summary

We have analyzed a variety of samples for PCDD/DFs and coplanar PCBs. In these numerous data, besides, a great impact of 2,3,4,7,8-PeCDF to toxicity equivalency quantity (TEQ) contribution was common to different sample matrixes. Consequently, a usage of this isomer for the determination of total TEQ was evaluated and discussed. For example, there was found a good correlation coefficient between the levels of 2,3,4,7,8-PeCDF and total TEQ in exhaust gas, ash, ambient air, soil, sediment, environmental water and human blood. In addition, only in sediment and environmental water, the second indicator isomer was also considered to play a vital role for the total TEQ. Based on these findings, it was quiet possible to calculate the total TEQ just using the correlation factor of indicator isomers. Consequently, in this study, a simple and rapid analytical method was established for the total TEQ of PCDD/DFs and coplanar PCBs.

Key words: PCDD/DFs, coplanar PCBs, indicator isomer, TEQ, rapid analysis, correlation factor & coefficient

1. はじめに

近年, ダイオキシン類に関する種々の法的規制に伴い, 精度管理体制の下に測定されたデータの迅速な報告の需要が高まってきている。公定法ではダイオキシン類濃度の報告は, PCDD/DFs については2,3,7,8位塩素置換体の4~8塩素化の17異性体について, また4~8塩素化それぞれの同族体についての報告が必要とされており, 媒体によってはさらに他の異性体について定量しな

ければならないものもある。coplanar PCBs については non-ortho PCBs 4 異性体及び mono-ortho PCBs 8 異性体を定量しなければならない。そしてこれらの定量値から TEF (2,3,7,8-TeCDD Toxicity Equivalency Factor) を用いて毒性等量 (2,3,7,8-TeCDD Toxicity Equivalency Quantity; TEQ) が算出される。

しかしながらその測定には複雑な操作が必要で, 時間とコストがかかることが問題視されている。この問題を解決すべく測定における各工程についてあらゆる角度か

ら様々な手法が試みられており、その報告には公定法で必要とされている項目を省略する、もしくは異なる方法を用いることでTEQを求める手法が多く見られる。例えば試料採取では新しい吸着剤の開発や簡易採取法、抽出では高速溶媒抽出や超音波抽出、精製ではオンラインクリーンアップ、簡易型カートリッジ、HPLCを用いる手法といったものが上げられる。その中でも機器分析の工程に着目すると、公定法で採用されている高分解能ガスクロマトグラフ質量分析法(HRGC/HRMS法)を用いずに低分解能型のGC/MSやGC/MS/MS、液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS)などを用いる手法や、同族体や関連物質(chlorobenzenes, TOXなど)とTEQの関係から概算値を算出する方法¹⁾がある。他の検出法として抗原抗体反応を利用した手法(イムノアッセイ法²⁾、バイオアッセイ法)などの報告もある。しかしこれらの手法は迅速で簡便な測定法ではあるが、測定精度の面での問題を抱えている。

そこで筆者らは膨大なデータの解析評価からTEQの指標となる異性体を特定し、一定の精度を維持した迅速で簡易なダイオキシン類のTEQ算出方法を検討してきた³⁻⁵⁾。またその結果得られた指標となる異性体にターゲットを絞った迅速な測定方法についても検討した。

2. データ解析評価方法

環境省、厚生労働省及びJISの測定マニュアルに準拠

し自社で測定した精度管理に対する要求を満たす品質のデータから無作為に取り出したもの(n>5000)について、主にPCDD/DFs及びcoplanar PCBsの毒性評価対象の各異性体とTEQとの関係について解析評価した。尚、分析においては毒性評価対象となる異性体PCDD/DFs 17異性体、coplanar PCB 12異性体に対応する全ての¹³Cラベル化された内標物質をクリーンアップスパイクとして用い、PCDD/DFsについては全ての試料(血液を除く)に対し4~8塩素化まで2種類のカラム(SP-2331(Supelco製)及びDB-17(J&W製))を用いて分析を行った。試料は排ガス、灰、環境大気、土壌、水質、底質及び血液について検討を行った。尚、TEQの算出は各公定法に従って行い、排ガス、灰、土壌及び血液については定量下限値未満の異性体を0とし、環境大気、水質及び底質については検出下限値未満の異性体を検出下限値の1/2として算出した。また土壌及び血液についてはこの他に、検出下限値未満の異性体を検出下限値の1/2として算出する場合についても解析評価した。

3. 結果及び考察

3. 1 TEQに対する各異性体の分布

各試料ごとにTEQに対して各異性体が占める割合を百分率で算出し、それらの平均値から得られた媒体別の分布図を示した(Fig.1)。全ての媒体において、1,2,3,7,8-PeCDD及び2,3,4,7,8-PeCDFがTEQに対し

Fig. 1 Toxic equivalent contributions of PCDD/DFs and coplanar PCBs

て比較的大きな割合を占めた。また排ガス、灰及び環境大気の3媒体は類似した分布を示し、2,3,4,7,8-PeCDFがTEQに対し最も大きな割合を占め、且つ同程度の割合(30%程度)で存在していることが確認された。また水質及び底質が似た分布パターンを示し、1,2,3,7,8-PeCDDがTEQに対し最も大きな割合を占め、2,3,4,7,8-PeCDF及び1,2,3,7,8-HpCDDも比較的大きな割合を占めた。土壌ではTEQ算出時の数値の取り扱いが定量下限値未満の異性体を0とする場合〔図中のSoil(0)〕では他の媒体と大きく異なる分布を示したが、検出下限値未満の異性体を1/2とする場合〔図中のSoil(1/2)〕には水質及び底質と近い分布を示した。血液ではTEQ算出時における数値の取り扱いの違いによる差はほとんど見られず、またTEQに対してcoplanar PCBsが占める割合が34.8%と最も大きく、2,3,4,7,8-PeCDF及び1,2,3,7,8-PeCDDも比較的大きな割合を占めた。

次に coplanar PCBs に着目し、coplanar PCBs のみのTEQに対する各異性体の分布図を示した (Fig. 2)。全ての媒体において大部分を3,3',4,4',5-PeCB (#126) が占めていた。また血液においては2,3,3',4,4',5-HxCB (#156) も比較的大きな割合を占めていた。ここでも土壌においてはTEQ算出時における数値の取り扱いの違いにより大きな差が見られた。

土壌においてTEQの算出方法の違いにより異性体分布が大きく異なったのは、土壌では各異性体の定量値がマニュアルで設定された定量下限値未満となる場合が多

く見られることに起因する。そのような場合に定量下限値未満の異性体を0としてTEQを算出すると、比較的高い検出頻度の高い1,2,3,4,6,7,8-HpCDDやOCDD, 2,3',4,4',5-PeCB (#118)などの異性体のみがTEQに占める割合が大きくなるが、検出下限値未満の異性体を1/2としてTEQを算出することにより、検出下限値以上定量下限値未満のものや検出下限値未満であったものが数値化されることで、水質や底質と比較的に近い分布を示す結果となった。

3. 2 各異性体とTEQの相関関係

次に各異性体の実測濃度、PCDD/DFs同族体及びTotal PCDDs + PCDFs (血液は除く)とTEQとの相関関係を調べた。ここで得られた結果をTable 1に示した (coplanar PCBsについては主要な異性体のみ)。TEQとの相関はTEQに占める割合の大きかった2,3,4,7,8-PeCDFが比較的高い媒体においても高い相関が見られ、同族体についてはいずれの媒体においてもPeCDFsが最も高い相関を示した。特に排ガス ($R=0.985$)、灰 ($R=0.963$)、環境大気 ($R=0.988$)、土壌 ($R=0.974$) 及び血液 ($R=0.962$) については2,3,4,7,8-PeCDFとTEQの間には良好な相関が見られた。また土壌及び血液においてはTEQ算出時における数値の取り扱いの違いによる相関の差は認められなかった。水質 ($R=0.950$) 及び底質 ($R=0.948$) では他の媒体と比較して2,3,4,7,8-PeCDFとTEQの相関が若干低くなり、水質

Fig. 2 Toxic equivalent contributions of individual coplanar PCBs to the total

は1,2,3,6,7,8-HxCDD ($R = 0.965$), 底質は1,2,3,4,7,8-HxCDF ($R = 0.980$) が最も高い相関を示した。それぞれの媒体のTEQと最高相関が見られた異性体についての相関図を示した (Fig. 3)。また一例として排ガスにおけるPCDD/DFs 17異性体及びCo-PCBsの主要な3異性体とTEQの相関図を示した (Fig. 4)。数多くの異性体の中でも特に2,3,4,7,8-PeCDFがTEQと高い相関関係にあることを、この図から読み取ることができる。

3. 3 指標異性体の特定

3. 2で各異性体及び同族体とTEQとの相関関係について述べたが、これらからTEQの指標となり得る異性体の特定を検討した。なお同族体についてもPeCDFsとTEQの間に良好な相関関係 ($R > 0.94$) が見られたが、

一般的に同族体は多くのピークを定量するため妨害成分などの影響で分析精度が悪くなることもある。また迅速測定という概念からも分析、評価の面において作業がより簡便であるため異性体を指標とすることにした。また指標異性体となる必要条件として、TEQと良好な相関があること及び、GCでの分離が良く且つ比較的検出され易い異性体であることなどが上げられる。

Table 1に示すように、排ガス、灰、環境大気、土壌及び血液においては、2,3,4,7,8-PeCDFとTEQの間に最も高い相関が見られ、またGC上の条件も満たしており、2,3,4,7,8-PeCDFが指標異性体として最も適当である。水質及び底質では他の媒体と比べて2,3,4,7,8-PeCDFの相関が若干低いため、指標異性体として用いる際は他の異性体についても考慮することが好ましい。そのため、水質及び底質においては2,3,4,7,8-PeCDF

Fig. 3 Relation between the concentration of PCDD/DF isomers/congeners and total TEQ in a variety of samples

とともに TEQ との相関が最も高かった異性体を併用することにした。

水質は 2,3,4,7,8-PeCDF の他に GC 上の分離が良好な 1,2,3,6,7,8-HxCDD を加算した値と TEQ の相関関係について調べた (Fig. 5)。底質は 1,2,3,4,7,8-HxCDF が TEQ と良好な相関が見られたが、この異性体は GC での分離が良くないため、指標として用いるには不适当であると思われる。そこでこの異性体を 2,3,4,7,8-PeCDF に補助的に加算した値と TEQ の相関関係について調べた (Fig. 6)。ただし指標とするこれらの異性体はそれぞれ TEF が異なるため、これらの合計値と TEQ の関係について考える場合には、実測濃度より TEQ 換算濃度を

用いた方が好ましいと考えられる。そこでこれらの媒体についてはそれぞれの異性体の実測濃度に TEF を掛け、TEQ 換算後の異性体濃度の合計値と TEQ の相関関係について調べた。その結果水質、底質どちらにおいても TEQ と良好な相関関係が見られ、これらの媒体においては 2 つの異性体の TEQ 換算濃度を併用 (合計) することで指標異性体として用いることが可能であると思われる。

3. 4 指標異性体を用いた TEQ の算出

特定した指標異性体を用いて TEQ を算出するための式を次に示す。

Fig. 4 Relation between of toxic PCDD/DFs or predominant coplanar PCBs and total TEQ in exhaust gas samples (n=641)

指標異性体濃度×係数*i* = E-TEQ … (式)

係数*i*はFig. 3, 5及び6に示したTEQに対する異性体実測濃度の相関図の一次回帰式から得られた係数である。またこれ以降、指標異性体を用いて算出したTEQを“E-TEQ”(Estimated TEQ)とする。

各媒体の指標異性体及び係数*i*をTable 2に示す。Fiedlerら⁹⁾は排ガスにおけるI-TEQと2,3,4,7,8-PeCDF

の関係からTEQ簡易算出式とその係数(1.75, n=48)を報告している。また浦野ら¹⁾の報告では排ガスにおいて2,3,4,7,8-PeCDFからWHO-TEQを求める算出式が示されており、その係数は1.6(n=64)となっている。筆者らが得たE-TEQ算出に用いる排ガスの係数は1.60(n=641)で、これらの報告の係数と比較して近い値となった。また参考までに同族体についても言及すると

Table 1 Correlation coefficient between the level of each PCDD/DFs and coplanar PCBs and the level of total TEQ in various samples

	Gas	Ash	A. Air	Soil (0)	Soil (1/2)	E. Water	Sediment	Blood(0)	Blood(1/2)
n	641	756	201	144	191	178	203	251	251
2378-TeCDD	0.724	0.811	0.797	0.794	0.797	0.746	0.927	0.844	0.839
12378-PeCDD	0.914	0.894	0.943	0.865	0.869	0.894	0.903	0.942	0.941
123478-HxCDD	0.863	0.951	0.943	0.934	0.937	0.915	0.816	0.781	0.777
123678-HxCDD	0.742	0.883	0.930	0.900	0.905	0.985	0.723	0.673	0.670
123789-HxCDD	0.826	0.904	0.935	0.895	0.900	0.946	0.710	0.683	0.677
1234678-HpCDD	0.641	0.842	0.843	0.812	0.821	0.752	0.423	0.477	0.474
OCDD	0.524	0.769	0.442	0.257	0.291	0.422	0.277	0.456	0.456
2378-TeCDF	0.639	0.703	0.803	0.844	0.851	0.803	0.747	0.586	0.586
12378-PeCDF	0.930	0.909	0.958	0.928	0.932	0.912	0.842	0.606	0.603
23478-PeCDF	0.985	0.963	0.988	0.974	0.975	0.950	0.948	0.962	0.962
123478-HxCDF	0.894	0.942	0.963	0.954	0.957	0.960	0.980	0.710	0.706
123678-HxCDF	0.904	0.961	0.984	0.929	0.932	0.963	0.942	0.722	0.720
123789-HxCDF	0.794	0.836	0.857	0.794	0.799	0.854	0.948	0.057	0.055
234678-HxCDF	0.773	0.896	0.873	0.766	0.773	0.835	0.883	0.601	0.597
1234678-HpCDF	0.715	0.712	0.882	0.786	0.794	0.899	0.896	0.134	0.132
1234789-HpCDF	0.594	0.752	0.713	0.648	0.655	0.747	0.867	0.096	0.093
OCDF	0.433	0.639	0.619	0.627	0.635	0.766	0.134	0.077	0.076
TeCDDs	0.655	0.476	0.423	0.266	0.291	0.370	0.141	-	-
PeCDDs	0.706	0.632	0.878	0.774	0.784	0.683	0.303	-	-
HxCDDs	0.626	0.677	0.803	0.839	0.847	0.853	0.831	-	-
HpCDDs	0.631	0.836	0.844	0.824	0.833	0.757	0.428	-	-
TeCDFs	0.782	0.835	0.858	0.902	0.906	0.844	0.922	-	-
PeCDFs	0.969	0.948	0.971	0.958	0.960	0.966	0.966	-	-
HxCDFs	0.867	0.912	0.963	0.863	0.868	0.948	0.956	-	-
HpCDFs	0.652	0.752	0.807	0.715	0.722	0.837	0.826	-	-
Total PCDD/DFs	0.953	0.878	0.933	0.880	0.885	0.636	0.424	-	-
PeCB #126	0.661	0.773	0.756	0.811	0.822	0.701	0.870	0.908	0.909
HxCB #169	0.467	0.684	0.825	0.946	0.949	0.892	0.867	0.876	0.876
PeCB #118	0.117	0.333	0.231	0.118	0.146	0.270	0.676	0.911	0.913
HxCB #156	0.229	0.626	0.281	0.200	0.230	0.450	0.778	0.911	0.913

Soil (0), Blood (0) : Isomer concentration is zero when isomer concentration less than limit.

Soil (1/2), Blood (1/2) : Isomer concentration is half of limit when isomer concentration less than limits.

Fig. 5 Improvement of relationship between two isomers and total TEQ in environmental water samples

PCDDs + PCDFs を指標とする場合、相関の高かった排ガスでは E-TEQ 算出に用いる係数は 0.0166 ($R = 0.953$) となった。しかし同族体分布は様々な要因が絡み試料ごとに大きく変わることもあり、そのため他の媒体では相関が低くなった。これらのことから TEQ の指標として、同族体は異性体と比べてあまり実用的ではないと考えられる。

本報ではどの媒体においても指標異性体として 2,3,4,7,8-PeCDF を用い、排ガス ($i = 1.60$)、灰 ($i = 2.39$)、環境大気 ($i = 1.72$)、土壌 ($i = 2.02$) 及び血液 ($i = 2.40, 2.44$) においてはこれを指標としその E-TEQ を算出する。また灰は飛灰 ($i = 2.39$) と焼却灰 ($i = 1.48$)、各々について解析した場合の係数も示した。その結果、係数 i は飛灰と焼却灰で異なることが分かった。しかし土壌では農薬など様々な要因の影響を強く受けていると推定される試料が一部に見られ^{7,8)}、そのため他の媒体と同様に E-TEQ 算出式を用いることは難しい

と考えられる。土壌における E-TEQ 算出の詳細については [3.5] 項で後述する。

水質 ($i = 4.25$) 及び底質 ($i = 2.74$) においては指標異性体として 2,3,4,7,8-PeCDF 以外の異性体も併用し、水質は 1,2,3,6,7,8-HxCDD ($i = 1.37$) を、底質は 1,2,3,4,7,8-HxCDF ($i = 1.31$) を用いる。そしてそれぞれの TEQ 換算濃度の合計値と係数から E-TEQ を算出する。ただし、水質及び底質でも土壌と同様に様々な要因の影響を受けていると推定される試料が見られるが、それらの多くは土壌ほど顕著に影響を受けていないために異性体分布に法則性を見出すことは難しい。そのため E-TEQ 算出式を用いる際には、他の媒体と比較して公定法による TEQ との差が大きくなる可能性が高いことを十分留意しなければならない。

どの媒体においても 2,3,4,7,8-PeCDF を指標異性体として用いるが、この異性体が数値化されない場合には、その試料に設定されている下限値に係数 i をかけ、

Table 2 Correlation factor and correlation coefficient of indicator isomers for calculation of TEQ of dioxins

Sample	n	Indicator Isomer I [23478-PeCDF]	Indicator Isomer II	I+II
Exhaust gas	641	1.60 ($R=0.985$)	—	—
Ash	756	2.39 ($R=0.963$)	—	—
Fly ash	258	2.39 ($R=0.959$)	—	—
Bottom ash	308	1.48 ($R=0.992$)	—	—
Ambient air	201	1.72 ($R=0.988$)	—	—
Soil (0)	144	2.02 ($R=0.974$)	—	—
Soil (1/2)	191	2.02 ($R=0.975$)	—	—
Environmental water	178	2.85 ($R=0.951$)	1.37 ($R=0.965$) [123678-HxCDD]	* 4.25 ($R=0.981$)
Sediment	203	1.68 ($R=0.948$)	1.31 ($R=0.980$) [123478-HxCDF]	* 2.74 ($R=0.995$)
Human blood (0)	251	2.40 ($R=0.962$)	—	—
Human blood (1/2)	251	2.44 ($R=0.962$)	—	—

* Isomers concentrations converted into TEQ

Indicator isomer's concentration $\times$ factor (i) = Total TEQ (E-TEQ)

Fig. 6 Improvement of relationship between two isomers and total TEQ in sediment samples

さらに安全を見込んで3倍した数値をE-TEQ(概算値)とする。

3. 5 土壌試料における指標異性体を用いた TEQ 算出式の適用条件

土壌においては全ての試料に対してE-TEQ算出式を適用することが困難なことは前述した。これは一般的に土壌中のダイオキシン類は主に農業及び燃焼由来であると言われているが、特異的に農業の影響を強く受けているものや、希にPCBsに汚染された土壌などが存在するためである。これらの土壌についてその汚染傾向を調べるために、個々の試料別にTEQに対する異性体分布を確認した。またこれらの試料の中から、土壌中のダイオキシン類分布に大きな影響を与えていると考えられる要因が顕著に現れている試料の異性体分布の代表的な例を示し(Fig. 7)、この図において最も寄与の大きい異性体と次に寄与の大きい異性体及びそれらがTEQに占める割合を示した(Table 3)。土壌においてはこのような試料が多く存在するため、2,3,4,7,8-PeCDF以外に他のいくつかの異性体についても定量し、E-TEQ算出式への適合性を確認することが好ましい。

平均的な汚染分布から外れる最も主要な要因は農業

(PCP及びCNP)由来であると推定され⁹⁾、他にPCBs汚染などの要因も考えられる。これらを考慮して、1,2,3,7,8-PeCDD, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD及び3,3',4,4',5-PeCB(#126)の3異性体についても測定することでE-TEQ算出式適用の可否の簡易的な判断をすることができる。これらの異性体は指標異性体を用いた迅速分析を先に見据えて(詳細は4.3で後述)、TEQに対する寄与が大きく、且つHRGC/HRMSで1種類のカラムを用い、これら3異性体全ての分析が1インジェクションで可能であるものを選んだ。適用の可否を判断するためには2,3,4,7,8-PeCDF濃度と別の異性体濃度の比を算出し、これをTable 4に示した数値と比較して両者の数値の大小で判断する。表の数値は、個々の試料についてTEQに対する各異性体濃度の分布を調べ(n>250)、E-TEQ算出式の適用が困難であると判断された試料における各異性体間の関係から導き出した。これらの条件に当てはまる試料については毒性のある全ての異性体の測定を行う方が安全である。

3. 6 指標異性体を用いた TEQ 算出式の有用性の確認

JISや関係省庁から公布されているダイオキシン類測定マニュアルでは測定データの品質管理として二重測定

Fig. 7 TEQ contributions of PCDD/DFs and coplanar PCBs in the characterized origin source for soil samples of Japan

について触れている。そこには二重測定用の2つの試料のPCDDs, PCDFsの2,3,7,8-位塩素置換の各異性体(17異性体)及びCo-PCBsの測定値について、その平均値を求め、個々の測定値が平均値の±30%以内であることを確認するとある¹⁰⁾。ただし媒体によっては2つの試料の分析値について平均値を求め、各々の値の差が平均値に比べて30%以下であることを確認するものもある¹¹⁾。

この評価方法に準じて指標異性体を用いたE-TEQ算出式とその係数の有用性を排ガス、灰、環境大気、土壌、水質及び血液で確認した。また評価には個々の測定値が平均値の±30%以内とする方法を用いた。確認に用いたのは2002年に新たに測定した試料で、土壌についてはTEQ算出時における数値の取り扱いが異なる2つの方法の両方について調べた。比較評価には、排ガスは139試料から2,3,4,7,8-PeCDFが下限値未満の28試料を除いた111試料を、同様に灰は161試料中140試料を、環境大気は101試料中98試料を、水質は87試料中58試料を、血液は122試料中121試料の下限値以上の試料を用いた。土壌は70試料から下限値未満及びE-TEQ算出式に不適合であると判別された試料を除き、定量下限値未満の異性体を0とする場合では40試料、検出下限値未満の異性体を1/2とする場合では49試料を用いた。これらの試料

について、公定法に従い算出したTEQとE-TEQを比較した関連図の一例を示し、個々の測定値が定められた範囲内に入った割合を示した(Fig. 8, Table 5)。尚、参考値として各々の値の差が平均値に比べて30%以下とする評価法を用いた場合の数値も示した。

排ガス、環境大気、水質及び血液はそれぞれの手法間の相関も高く、概ね二重測定で定められた範囲内に収まり良好な結果が得られた。灰は全体では75%と低い値となったが、種類別に見ると飛灰については良好な結果が得られ、焼却灰についても84%の試料が範囲内に収まった。土壌についても90%程度の試料についてはその範囲内に収まった。

これらより指標異性体を用いたTEQ算出式について、公定法における二重測定の判定基準と考え合わせると十分にその有用性が確認できた。このE-TEQ算出式は工場や事業所内の工程管理など多数の試料について測定値の迅速な報告を要するような分析において、十分に効果的に活用できるものと考えられる。

3. 7 指標異性体とTEQの関係の推移

2,3,4,7,8-PeCDFを指標異性体としE-TEQを算出する際の係数値の推移について調べた。対象とした媒体は

Table 3 The contribution (%) of two predominant toxic isomers to the total TEQ in soil samples

Possible origin source	First predominant isomer		Second predominant isomer	
Incineration 1	1,2,3,7,8-PeCDD	24.4%	2,3,4,7,8-PeCDF	16.8%
Incineration 2	2,3,4,7,8-PeCDF	24.0%	1,2,3,7,8-PeCDD	19.5%
PCBs 1	PeCB #126	66.6%	PeCB #118	9.2%
PCBs 2	PeCB #126	72.1%	HxCB #156	11.6%
PCBs 3	PeCB #126	16.1%	PeCB #118	16.1%
PCP 1	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	57.1%	OCDD	15.2%
PCP 2	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	67.7%	OCDD	10.8%
CNP	1,2,3,7,8-PeCDD	50.2%	1,2,3,7,8-PeCDF	11.8%
CNP+PCP 1	1,2,3,7,8-PeCDD	33.7%	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	23.6%
CNP+PCP 2	1,2,3,7,8-PeCDD	52.2%	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	21.5%

Table 4 Major contaminant congeners by agrochemicals and PCBs in soil

Possible origin source	TEQ ^{α)}	Actual level ^{β)}
CNP, CNP+PCP	$\frac{1,2,3,7,8\text{-PeCDD}}{2,3,4,7,8\text{-PeCDF}}$	>3
PCP	$\frac{1,2,3,4,6,7,8\text{-HpCDD}}{2,3,4,7,8\text{-PeCDF}}$	>10
PCBs	$\frac{\text{PeCB \#126}}{2,3,4,7,8\text{-PeCDF}}$	>10

α) and β) indicate respectively the ratio calculated on the basis of the TEQ level and actual level.

Fig. 8 Relationship between our rapid method TEQ and official method TEQ in exhaust gas, environmental water and soil samples

Table 5 Inter-comparison of TEQ measurements in between the official and our rapid methods

	n	$C_1, C_2 \leq \frac{C_1+C_2}{2} \pm 30\%$	$\frac{C_1-C_2}{(C_1+C_2)/2} \leq 30\%$
Exhaust gas	111	93%	71%
Ash	140	75%	41%
Fly ash	51	96%	71%
Bottom ash	85	84%	60%
Ambient air	98	100%	100%
Soil (0)	40	87%	62%
Soil (1/2)	49	88%	61%
Environmental water	58	100%	90%
Human blood (0)	121	96%	79%
Human blood (1/2)	121	100%	86%

C1 and C2 denote the TEQ by the official and our rapid methods, respectively.

TEQ との相関が高く且つ以前より解析を進めていた排ガス、灰、環境大気、血液の4媒体で、それぞれ1999～2000年測定の見料と2001年測定の見料について解析した結果を比較した (Table 6)。全ての媒体で係数は、2001年測定の見料が1999～2000年測定の見料と比べて若干小さくなっている。このような結果となった要因としてダイオキシン類の低濃度化が考えられる。

近年、焼却施設などではダイオキシン類の排出量を削減すべく様々な対策や改善が行われており、その排出量は年々減少の傾向にある¹³⁾。このようにダイオキシン類が低濃度化することで、一部の異性体は検出されないもしくは下限値未満となり、特に排ガスなど発生源の見料では測定値が定量下限値未満でTEQ換算値が0となる異性体が多く見られる。その結果、比較的検出され易い2,3,4,7,8-PeCDFのTEQへの寄与率が増加することなどから、係数が小さくなったと考えられる。またこの結果からも、指標異性体の係数は今後も少しずつ変動していくものと推測される。

4. 指標異性体を用いる迅速測定法の適用

現行の各種測定マニュアルによると、ダイオキシン類の測定では多数の異性体及び同族体を測定しなければならない。しかし2,3,4,7,8-PeCDFを指標異性体としてE-TEQを算出する場合ではPeCDFsのみを測定できれば良く、これに伴い見料採取から定量値の報告まであらゆる工程での作業を迅速且つ簡易に行える。ここでは触れないが2,3,4,7,8-PeCDFは比較的どの媒体でも検出されやすいため、分析に必要な見料量の削減も可能である。現在筆者らが検討している作業の迅速・簡易化の一例を報告する。

4. 1 迅速抽出

対象が固体である場合には、従来のソックスレー抽出法の代わりに高速溶媒抽出 (ASE) 法を用いて抽出を行った。一般的にASE法はソックスレー法と同等の抽出効率が得られると言われている^{13,14)}。しかし高塩素化において抽出法により若干の差が見られることがある

が、指標異性体 (5塩素化) の測定に支障はないものと思われる。実際に両者の抽出法を比較したがほとんど同等の結果が得られた。また抽出に要する時間を1/20以下に短縮することができた。

4. 2 簡易精製

クリーンアップは多層シリカゲルクロマトグラフィーやアルミナ、活性炭を用いるものが一般的であるが、シリカゲル及び活性炭のカートリッジを使用した。これにより溶媒の使用量を減らすことができ、その結果、時間も概ね1/5程度に短縮することができた。シリカゲルはBond-Elut Silica (Varian製)、活性炭はSep-Pak Plus AC-2 (Waters製) を使用し、これらを直結して用いた。使用した溶媒はHexane, 30% Toluene/Hexane及びTolueneで、最終的に活性炭のReverse Flowで得られたToluene Fr.を測定用の溶液とした。

4. 3 迅速分析

通常PCDD/DFsで2種、Co-PCBsで1種のカラムを用いてHRGC/HRMSで測定するが、指標異性体の分離が良く熱安定の良い中極性の1種類のカラム (DB-17HT (J & W製)) で測定した。また測定には低濃度見料や複雑な見料においても分解能が良く、精度及び感度を確保できるHRGC/HRMSを用い1回のインジェクションで分析した。

排ガス、灰、環境大気及び血液においては2,3,4,7,8-PeCDFのみを測定し、水質及び底質においては加えてそれぞれ他の1異性体についても測定し ([3.3]項参照)、ここで得られた定量値よりE-TEQを算出した。

土壌については指標とする2,3,4,7,8-PeCDFの他に [3.5]項で述べた3種類の異性体についても測定した。そこでE-TEQの算出が可能であるかどうかの判定を行い、可能なものについては指標異性体からE-TEQを算出し、算出式の適用ができないものについては毒性評価対象のPCDD/DFs 17異性体及びCo-PCBs 12異性体について再度、分析を行った。

この1インジェクションでの迅速分析は分析時間の短

Table 6 Temporal change of 2,3,4,7,8-PeCDF correlation factor

	1999's and 2000's		In the year 2001	
	n	Factor (i)	n	Factor (i)
Exhaust gas	448	2.03	641	1.60
Ash	759	2.67	756	2.39
Ambient air	390	1.74	201	1.72
Human blood	180	2.98	251	2.44

$$2,3,4,7,8\text{-PeCDF} \times \text{factor (i)} = \text{Total TEQ (E-TEQ)}$$

縮だけでなく、データ処理解析などの作業でも限られた異性体のみ解析評価することで、時間の大幅な短縮とそれに伴うコストの削減ができた。

4. 4 迅速測定法の評価

この迅速測定法で得た E-TEQ は公定法での TEQ とほとんど変わらないことも確認しており、これらの測定法を用いることで 1 週間以内に定量値の報告が必要な迅速測定 of 需要への対応が可能である。一例として環境大気及び土壌について上述の測定法を用いた測定結果を示した (Table 7, Fig. 9)。

環境大気では 2,3,4,7,8-PeCDF 実測濃度及び TEQ は公定法と変わらず、回収率も精度管理上問題のない範囲に収まっている。公定法と比較してクリーンアップを簡略化しているため、クロマトグラムのベースがわずかに不安定になっている点や回収率が若干低めである点などが見られるが、今後、より最適な条件を検討することで

これらの問題は解消できると考えられる。

土壌は焼却炉付近の汚染土壌のダイオキシン類分解処理前と分解処理後の、それぞれ高濃度及び低濃度であると予測される試料について検討した結果を示した。どちらの試料においても、迅速測定法で得た 2,3,4,7,8-PeCDF 実測濃度が公定法の値よりもわずかに高くなり、それに伴い TEQ も同様の結果となった。このような結果となったのは、試料によって TEQ に対する異性体組成に差があることや、抽出方法の違いによる抽出効率の差が要因であると考えられる。ただし 3. 6 で述べた二重測定の評価法を用い、検出下限値未満の異性体を検出下限値の 1/2 として扱う場合について手法間の TEQ を比較すると、どちらの試料も範囲内に収まった。しかし [3. 1] 項で述べた様に定量下限値未満の異性体を 0 として扱う場合について比較すると、分解処理前 (高濃度) の試料は範囲内に収まったが、分解処理後 (低濃度) の試料では大きくその範囲を超えた。

Table 7 Comparison of TEQ and E-TEQ using 2,3,4,7,8-PeCDF in ambient air and soil by the official method and our rapid method

		Method	2,3,4,7,8-PeCDF Actual measurement	Total TEQ	Recovery of ¹³ C-2,3,4,7,8-PeCDF
Ambient air		Official Method	0.076 pg/m ³	0.13 pg-TEQ/m ³	84%
		Rapid Method	0.077 pg/m ³	0.13 pg-TEQ/m ³ (= 0.077 × 1.72)	71%
Soil	Before treatment	Official Method	10000 pg/g	17000 pg-TEQ/g	95%
		Rapid Method	14000 pg/g	28000 pg-TEQ/g (= 14000 × 2.02)	59%
	After treatment	Official Method	1.3 pg/g	(0) 1.3 pg-TEQ/g (1/2) 2.1 pg-TEQ/g	92%
		Rapid Method	1.5 pg/g	3.0 pg-TEQ/g (= 1.5 × 2.02)	59%

Fig. 9 Chromatogram of PeCDFs using our rapid method in ambient air

5. まとめ

ダイオキシン類のTEQの指標となる異性体として、いずれの媒体においても2,3,4,7,8-PeCDFが最も適当である。排ガス、灰、環境大気、土壌及び血液についてはこれを指標異性体とし、各媒体ごとに解析評価から導き出した係数を用いることでTEQを迅速且つ容易に算出することが可能である。水質及び底質についても2,3,4,7,8-PeCDFとそれぞれ他の1異性体を併用することでTEQの算出が可能となる。ただし、特に、土壌ではTEQにおける特異的な異性体分布を示す試料も存在する。このため2,3,4,7,8-PeCDF以外に幾つかの異性体を測定し、指標異性体を用いたTEQ算出式の適用が可能であることを確認することが好ましい。[3.5]項で述べた適用できない試料については、毒性評価対象の全ての異性体を測定する方が安全である。

現在までに報告されている迅速法や簡易法は精度面においての問題を抱えていることが多いが、本報の迅速測定法ではHRGC/HRMSを用いるため異性体の定量値についての精度及び感度が確保できている、この部分が非常に有意な点である。この手法を用い多数の試料を迅速に分析することで、迅速環境モニタリングやプラントの日常運転管理・監視、ダイオキシン類発生抑制実験の検討、分解処理の効果確認など様々な案件への適用が期待できる。また迅速測定法を公定法と組み合わせることで公定法を補完する方法としてより効果的に活用できると言える。

要 約

ダイオキシン類のTEQの指標となる異性体を特定し、迅速で簡易なダイオキシン類のTEQ算出方法を検討した。2,3,4,7,8-PeCDFは排ガス、灰、環境大気、土壌、水質、底質及び血液のいずれの媒体においてもTEQに対する寄与が大きく、且つTEQと良好な相関関係が見られ、これを指標異性体として（水質及び底質については他の異性体を併用）それぞれの媒体ごとに設定した係数を用いることでTEQを算出することができる。この指標異性体を用いることで測定のあらゆる工程での作業を迅速且つ簡易に行える可能性がある。

文 献

1) Urano, K. and Kato, M.: Convenient Substitute Indices to Toxic Equivalent Quantity for Controlling and Monitoring Dioxins from Waste Incinerators. *Organohalogen Compounds*, **54**, 364-367 (2001)

2) Harrison, R.O. and Carlson, R.E.: An Immunoassay for TEQ screening dioxin/furan samples: current status of assay and applications development. *Chemosphere*, **34**, 915-928 (1997)

- 3) 柴山 基, 安田賀子, 横山 孝, 中井 勉, 井上 毅, 高菅卓三: ダイオキシン類分析における指標異性体について (その3まとめ), pp136-137, 第11回環境化学討論会 講演要旨集 (2002)
- 4) 柴山 基, 安田賀子, 中井 勉, 林 篤宏, 井上 毅, 高菅卓三: ダイオキシン類分析における指標異性体について (その2), pp104-105, 第10回環境化学討論会 講演要旨集 (2001)
- 5) 柴山 基, 安田賀子, 井上 毅, 高菅卓三: ダイオキシン類分析における指標異性体について (その1), pp170-171, 第9回環境化学討論会 講演要旨集 (2000)
- 6) Fiedler, H., Lau, C. and Eduljee, G.: Statistical analysis of patterns of PCDDs and PCDFs in stack emission sample and identification of a marker congener. *Waste Management & Research*, **18**, 283-292 (2000)
- 7) Sakurai, T., Suzuki, N., Masunaga, S. and Nakanishi, J.: Origin attribution of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in sediment and soil from a Japanese freshwater lake. *Chemosphere*, **37**, 2211-2224 (1998)
- 8) Sakurai, T., Kim, J.G., Suzuki, N., Matsuo, T., Li, D.Q., Yao, Y., Masunaga, S. and Nakanishi, J.: Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in sediment, soil, fish, shellfish and crab sample from Tokyo Bay area, Japan. *Chemosphere*, **40**, 627-640 (2000)
- 9) Masunaga, S., Takasuga, T. and Nakanishi, J.: Dioxin and dioxin-like PCB impurities in some Japanese agrochemical formulation. *Chemosphere*, **44**, 873-885 (2001)
- 10) 日本規格協会: 排ガス中のダイオキシン類及びコブラナー PCB の測定方法 JIS K0311 (1999)
- 11) 環境庁水質保全局土壌農薬課: ダイオキシン類に係る土壌調査測定マニュアル (2000)
- 12) 環境省: ダイオキシン類の排出量の目録 (排出イベントリー) (2001)
- 13) 辻野一茂, 梅津令士, 大井悦雅, 高菅卓三: 高速溶媒抽出 (ASE) 法を用いた飛灰のダイオキシン類最適抽出条件の検討, pp80-81, 第7回環境化学討論会 講演要旨集 (1998)
- 14) 浅井重博, 北野憲治, 近藤武一, 柳 俊彦, 澁谷隆, 岡部篤宜, 上野順士: 高速溶媒抽出装置を用いた土壌中のダイオキシン類分析の検討, pp242-243, 第9回環境化学討論会 講演要旨集 (2000)