保管 PCB 廃棄物試料中の PCBs, ダイオキシン類のバイオアッセイ評価

滝上 英孝, 鈴木 剛, 野馬 幸生, 酒井 伸一

国立環境研究所循環型社会形成推進・廃棄物研究センター
(〒305-8506 茨城県つくば市小野川16-2)

[平成16年 5 月21日受理]

Bioassay Analysis of PCBs and Dioxin-like Compounds in the Waste PCB Stockpiles

Hidetaka TAKIGAMI, Go SUZUKI, Yukio NOMA and Shin-ichi SAKAI

Research Center for Material Cycles and Waste Management,
National Institute for Environmental Studies
(16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506)

[Received May 21, 2004]

Summary

Quantitative analyses with ELISA adopting monoclonal antibody for PCB #118 and DR-CALUX dioxin receptor/reporter gene assay were applied to 33 samples of PCB preparations and waste PCB stockpiles in order to grasp the concentration of major PCB congeners (e.g., #118) and evaluate TEQ of the complex mixtures of PCBs, respectively. Cleanup procedure was designed to separate PCBs from sample matrices by conducting DMSO partition and the following silica gel/sulfuric acid (44%) reflux treatment. With the cleanup, both the ELISA and DR-CALUX yielded a linear correlation with the corresponding chemical analysis results (PCB sum and WHO-TEQ, etc.). Pole transformer oils (mineral oil-based) especially required the cleanup for the both assay evaluation due to the presence of strong matrix interferences. However, for the ELISA, only dilution of high PCB oil samples (transformer insulation oil, capacitor insulation oil, stabilizer oil and heat transfer medium containing 30~100% PCBs) with DMSO gave results in agreement with those obtained for the Kanechlor preparation counterparts.

Key words: Bioassay, DR-CALUX, ELISA, Waste PCB stockpile

1. はじめに

PCB, ダイオキシン類を検出するバイオアッセイについては, “golden standard”としての機器分析(高分解能ガスクロマトグラフ/質量分析計)値との対応性, スクリーニング力が十分であり, 現行の測定法に比べて分析

時間が短く, 分析費用が安価な手法の開発, 導入が望まれている。特にPCBの場合, 広域処理の稼動を控えており, 以下のようなケースでバイオアッセイを含む簡易測定技術の実際的な適用が, 以前にもまして強く求められている。

①保管 PCB, PCB 汚染廃棄物中の PCB 濃度迅速把握

②環境（土壌、底質、水質等）中のPCBスクリーニング

③ PCB 処理、PCB 汚染環境浄化過程での処理評価

変圧器（トランス）など重電機器内の本来 PCB を使用していないはずの絶縁油中から微量 PCB（ppm レベル）の検出事例が報告されたこともあり、①については、高圧トランス、コンデンサ、安定器といった高濃度レベルのもののみならず、膨大な数量に及ぶ低濃度汚染物のスクリーニングへと分析ニーズが高まっている。

②に関して言えば、PCB は食物連鎖系に混入し、生物濃縮を受けやすい物質であることから、環境モニタリングの必要性が高いと考えられる。特に、土地取引や再開発等に際して PCB 土壌汚染等の環境汚染が顕在化する可能性が考えられる。汚染地点発見のための一斉スクリーニング、あるいは排出基準や環境基準に対応するモニタリングの目的で簡易分析法が活用される機会が増えるものと考えられる。

③については、とりわけ広域 PCB 廃棄物処理事業における液処理 PCB モニタリングにおいて、公定分析との相関性確認に基づいた上での簡易分析法の適用が、考え方として認められてきている²⁰。今後の PCB 関連処理、浄化プロセスモニタリングへの展開が期待される。

さらに、PCB 問題はダイオキシン類汚染問題としての側面も有している。PCB 処理においては PCB 総体だけでなく、コプラナー PCB（Co-PCB）やジベンゾフラン（PCDF）、ヒドロキシ PCB 等についても問題となるレベルで処理物に含まれないことが求められる²¹。

PCB、ダイオキシン類を検出するバイオアッセイは、現在実用段階にあるものとして、それらの分子構造を認識し結合親和性の高い免疫抗体と Ah 受容体をそれぞれ用いたイムノアッセイ（ELISA）^{3,8}と Ah 受容体結合アッセイ^{3,6,9-10}に分類できる。本研究では、保管 PCB 廃棄物試料について各々のタイプのアッセイを用いて、ケース①に該当する試料の測定を試みた。すなわち、簡易迅速に PCB をモニターする観点から PCB 主要異性体の把握を目的として PCB #118 を認識するモノクローナル抗体を用いた ELISA¹⁰を適用した。また、Co-PCB を始めとするダイオキシン様化学物質（TEQ 関連物質）の測定を目的として Ah 受容体レポーター遺伝子アッセイである DR-CALUX（Dioxin-responsive Chemical Activated Luciferase Expression）⁹⁻¹⁰を適用した。対象とした保管 PCB 廃棄物は、各種機器用絶縁油、熱媒体、感圧紙、蛍光灯安定器部品を網羅した計33試料（製品 PCB として未使用のカネクロール 5 試料を含む）を選んだ。用いたバイオアッセイのそれらの試料に対する検出特性を調べ、対応する化学分析値（PCB 総濃度、WHO 毒性当量等）との比較を行い、実試料への適用に向けた基礎知見獲得を試みた。

2. 実験方法

2. 1 試料

Table 1 に本研究で用いた保管 PCB 廃棄物試料のリストを示す（以降、試料名は Table 中に記載されている試料 No. で呼ぶ）。保管 PCB 廃棄物試料は、使用後に保管に移されたものであり、絶縁油17検体（高圧トランス絶縁油 4 試料、高圧コンデンサ絶縁油 4 試料、蛍光灯用安定器絶縁油 5 試料、ナトリウム灯用安定器絶縁油 1 試料、柱上トランス絶縁油 3 試料）、熱媒体として 2 検体、廃感圧紙として 1 検体、蛍光灯用安定器アスファルト系充填材 2 検体、蛍光灯用安定器樹脂系充填材 3 検体、ナトリウム灯用安定器充填材 1 検体、蛍光灯用安定器ケース 1 検体、蛍光灯用安定器鉄心 1 検体の合計28試料を対象とした。併せて、製品 PCB として未使用のカネクロール 5 種（KC-300, 400, 500, 600, 1000）を保管廃棄物試料との比較に用いた。これら試料の化学分析値（PCB、ダイオキシン類濃度）については既報¹⁹に記載されており、本研究における結果解析、考察に引用した。

2. 2 試料前処理

保管 PCB 廃棄物、製品 PCB 試料について液状（油状）のものは、原液を採取して Dimethylsulfoxide（DMSO）にて希釈後、直接アッセイに供した（これを「前処理なし」と呼ぶ）。併せて、全ての試料について油分（鎖状炭化水素類等）や夾雑有機物（多環芳香族炭化水素類等）の除去を目的に、基本的に Fig. 1 に示すフローに従って、DMSO 分配^{14,15}と44%硫酸シリカゲル加熱還流法¹⁶⁻¹⁹を組み合わせた試料前処理を行った（製品 PCB 試料については DMSO 分配を省略した）。DMSO 分配は試料中の油分除去に特に効果的な方法である^{14,15}。また、44%硫酸シリカゲル加熱還流法は多環芳香族炭化水素類（PAHs）の除去に非常に有効で、加熱還流操作を通じての PCB（2～10塩素化 PCB）とダイオキシン類の回収率は良好であることが知られている¹⁹。

保管 PCB のうち絶縁油、熱媒体と製品 PCB についてはヘキサンで希釈した後、前処理に供した。廃感圧紙、蛍光灯、ナトリウム灯用充填材についてはトルエンでソックスレー抽出したものを、蛍光灯安定器ケース、鉄心についてはそれぞれ表面をヘキサンを染み込ませた脱脂綿でふき取り、ヘキサンで振とう抽出したものを前処理に供した。上記の希釈、抽出操作は PCB、ダイオキシン類の化学分析前処理¹⁹と共通で実施した。バイオアッセイ用に供した正味試料量は、絶縁油（柱上トランス絶縁油を除く）、熱媒体と製品 PCB について10～100 μ g、柱上トランス絶縁油は 5 g、廃感圧紙、蛍光灯、ナトリウム灯用充填材については0.009～4 g、蛍光灯安定器ケース、鉄心のふき取り面積はそれぞれ110,50cm²であ

り、最終画分は30~100 μ lのDMSOに溶解させて、アッセイ試料とした。なお、前処理に際しては、操作ブランク試料についても作製し、定量評価においては操作ブランク測定値を差し引いて評価を行った。

2. 3 バイオアッセイ

2. 3. 1 ELISA

製品PCB中の主要異性体である2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB #118) に特異的に高く反応する抗PCBモノクローナル抗体を用いて直接競合法を

Table 1 List of waste PCB stockpile samples

Sample	No.	Manufacturer	Year of manufacture	Capacity	Duration of use	Duration of storage	Remarks
Transformer insulation oil	A1	Toshiba	1972	200VA	Unclear	Unclear	
	A2	Toshiba	1959	750KVA	Approx. 33 years	11 years	
	A3	Hitachi	1962	200VA	Approx. 28 years	12 years	
	A4	Hitachi	1961	200VA	Approx. 29 years	13 years	
Capacitor insulation oil	B1	Mitsubishi	1970	Unclear	Unclear	Unclear	
	B2	Mitsubishi	1972	Unclear	Unclear	Unclear	
	B3	Toshiba	1963	10 μ F	Unclear	Unclear	
	B4	Toshiba	1965	10 μ F	Unclear	Unclear	
Stabilizer oil for fluorescent light	C1	Toshiba	Unclear	40W $\times$ 2, 200V, 60Hz, 0.5A	Unclear	Unclear	Boat type
	C2	Toshiba	Unclear	200V, 60Hz, 110W, 0.8A	Unclear	Unclear	Boat type
	C3	Toshiba	Unclear	110W $\times$ 2	Unclear	Unclear	Cylinder type
	C4	Toshiba	Unclear	110W $\times$ 2	Unclear	Unclear	Cylinder type
	C5	Toshiba	Unclear	Unclear	Unclear	Unclear	Boat type
Stabilizer oil for sodium light	C6	Toshiba	Unclear	200V, 50Hz, 0.9A	Unclear	Unclear	
Pole transformer oil	D1	Unknown	Unclear	Unclear	Unclear	Unclear	
	D2	Toshiba	1960	30KVA	Unclear	Unclear	
	D3	Toshiba	1960	30KVA	Unclear	Unclear	
Heat transformer medium	E1	Kanegafuchikagaku	Unclear	Unclear	Unclear	Over 25 years	
	E2	Monsanto	Unclear	Unclear	Unclear	Approx. 35 years	
Carbonless paper	F1	Unclear	Unclear	Unclear	Unclear	Unclear	
Filler of stabilizer for fluorescent light	G1	Toshiba	Unclear	40W $\times$ 2, 200V, 60Hz, 0.5A	Unclear	Unclear	Asphalt filler of sample C1
	G2	Toshiba	Unclear	Unclear	Unclear	Unclear	Asphalt filler of sample C5
	G3	Toshiba	Unclear	200V, 60Hz, 110W, 0.8A	Unclear	Unclear	Resin filler
	G4	Toshiba	Unclear	110W $\times$ 2, 200V, 50Hz	Unclear	Unclear	Resin filler of sample C3
	G5	Toshiba	Unclear	110W $\times$ 2, 200V, 50Hz	Unclear	Unclear	Resin filler of sample C4
Filler of stabilizer for sodium light	G6	Toshiba	Unclear	200V, 50Hz, 0.9A	Unclear	Unclear	Asphalt and Resin filler
Case of stabilizer for fluorescent light	G7	Toshiba	Unclear	110W $\times$ 2, 200V, 50Hz	Unclear	Unclear	Case of sample C3
Steel core of stabilizer for fluorescent light	G8	Toshiba	Unclear	110W $\times$ 2, 200V, 50Hz	Unclear	Unclear	Steel core of sample C3

Fig. 1 Cleanup procedures of waste PCB stockpile samples for bioassays

原理としてデザインされたELISAキット（PCB/Coplanar-PCB EIA System, 株式会社エンバイオテック・ラボラトリーズ製）を用いた。ELISAの実施にあたっては使用説明書に従った。本キットの定量範囲は、#118として6.5～250ng/ml（DMSO溶液あたり）の範囲であり、試料の測定にあたっては、対象試料をDMSOにて適宜希釈した上でELISAに供し、標準曲線（対数濃度軸表示）の線形部分（曲線の中央部分、50%阻害濃度 IC_{50} 値（≒25ng/ml）付近）において定量を行った。

また、ELISAについて、PCB製品中の主要異性体27種、多環芳香族炭化水素類（PAHs）など関連化合物に対する交叉反応性をTable 2に示す。調査を行った異性体では、PCB #118と共通位置に塩素基をもつ3,4塩素化PCBに最大15%程度までの交叉反応性が認められている。

2. 3. 2 DR-CALUX

DR-CALUXの実施にあたっては、H4IIE-luc細胞（BioDetection Systems b.v. (Amsterdam, the Netherlands) より入手）を使用した。アッセイを行う際には、コンフルエントに達した細胞を96wellマイクロプレートに70,000～100,000cells/100 μ l/wellの割合で播種した。24時間培養した後、試料又は2,3,7,8-TCDD（定量標準品）を含む培養液100 μ lを各well（n = 3）に添加した。このとき試料または2,3,7,8-TCDDはDMSOに溶解後、培養液で希釈し、DMSOの最終濃度は一律0.4%とした。

24時間試料曝露後、誘導されたルシフェラーゼ活性を発光測定キットLucLite™（Perkin Elmer）を用いて測定した。測定に際しては希釈列を取り、線形性を確認した後、2,3,7,8-TCDDの検量線における1～4 pM（ウェル中濃度）の濃度域（濃度応答曲線の立ち上がりである線形活性域）に相当する試料の活性値を採用して定量を行い、CALUX-TEQとして表現した。DR-CALUXの定量下限値は1 pM未満であった。標準物質の比活性（CALUX-TEF）は基本的にはTCDDと同様に濃度応答曲線を描き、 EC_{50} （あるいは、 EC_{20} 、 EC_5 ）のTCDDとの比較により求めるが、CALUX細胞ではPCDD/FsについてWHO-TEF（TCDD毒性等価係数）と比較的よく一致した2,3,7,8-TCDD比活性（CALUX-TEF）を与えることが知られている²⁰。

3. 実験結果と考察

3. 1 ELISA

ELISA測定結果（二重測定を実施した）の一覧を、既報²⁰で得られた関連化学分析値（PCB総濃度、PCB #118濃度）と併せて、Table 3に示す。ELISAのPCB測定への適用にあたっては、簡易迅速性が特に求められる。このため、抽出操作を必要とする廃感圧紙、蛍光灯安定器充填材以外の油（保管PCB）試料については、ELISAの試験溶媒であるDMSOによる直接希釈のみ（前処理なし）による測定可能性について初めに検討した。

まず、製品PCBであるカネクロール（KC-

Table 2 Cross-reactivity (CR) of major PCB congeners and related chemicals in the ELISA

Predominant PCBs	IUPAC #	% CR	PAHs	% CR
2,3-DiCB	5	< 0.1	Acenaphthene	< 0.1
2,4'-DiCB	8	< 0.1	Acenaphtherene	< 0.1
2,2',5-TriCB	18	< 0.1	Anthracene	< 0.1
2,3,3'-TriCB	20	< 0.1	Benzo(a)anthracene	< 0.1
2,4,4'-TriCB	28	3.5	Benzo(a)pyrene	< 0.1
2,4',5-TriCB	31	12.9	Benzo(b)fluoranthene	< 0.1
2',3,4-TriCB	33	2.6	Benzo(ghi)perylene	< 0.1
2,2',3,5'-TeCB	44	< 0.1	Benzo(k)fluoranthene	< 0.1
2,2',5,5'-TeCB	52	< 0.1	Chrysene	< 0.1
2,3',4,4'-TeCB	66	15.2	Dibenzo(ah)anthracene	< 0.1
2,3',4',5-TeCB	70	14.9	Fluoranthene	< 0.1
2,2',3,5',6-PeCB	95	< 0.1	Indeno(123cd)pyrene	< 0.1
2,2',4,5,5'-PeCB	101	< 0.1	Naphthalene	< 0.1
2,3,3',4,4'-PeCB	105	2.5	Phenanthrene	< 0.1
2,3,3',4',6- PeCB	110	0.88	Pyrene	< 0.1
2,3',4,4',5-PeCB	118	100	Hexachlorobenzene	< 0.1
2,2',3,4,4',5'-HexCB	138	< 0.1	Other related compounds	% CR
2,2',3,4',5',6-HexCB	149	< 0.1	Biphenyl	< 0.1
2,2',4,4',5,5'-HexCB	153	< 0.1	1,2-dichlorobenzene	< 0.1
2,2',3,3',4,4',5-HepCB	170	< 0.1	3,4-dichloroaniline	< 0.1
2,2',3,3',4,5,6'-HepCB	174	< 0.1	3,4-dichloroanisole	< 0.1
2,2',3,4,4',5,5'-HepCB	180	< 0.1	3,4-dichloronitro-benzene	< 0.1
2,2',3,4',5,5',6-HepCB	187	< 0.1	3,4-dichlorophenol	< 0.1
2,2',3,3',4,4',5,5'-OctCB	194	< 0.1	3,4-dichlorotoluene	< 0.1
2,2',3,3',4,4',5',6-OctCB	196	< 0.1	1,2,3-trichlorobenzene	< 0.1
2,2',3,3',4,5,5',6'-OctCB	199	< 0.1	3,4,5-trichloroaniline	< 0.1
2,2',3,4,4',5,5',6-OctCB	203	< 0.1	3,4,5-trichlorophenol	< 0.1
			2,3,7,8-TCDD	< 0.1
			2,3,7,8-TCDF	< 0.1

300, 400, 500, 600, 1000) の DMSO 希釈試料についての ELISA の濃度応答曲線を、Fig. 2 に示す。Fig. 2 に示すとおり、各製品 PCB における濃度応答曲線は PCB #118 のそれとほぼ同等の形状を示した。このことから、PCB #118 の標準曲線を用いて、実試料に ELISA を適用し、得られた測定値 (PCB #118 濃度) から PCB 濃度を推算することの妥当性が示唆された。カネクロールに対する ELISA の応答感度は、カネクロール各種について、KC-300 ではサンプル重量あたり 3.9% 分の PCB を検出、KC-400 で 7.4%、KC-500 で 9.1%、KC-600 で 1.7%、KC-

1000 で 5.8% という結果が得られた。使用した ELISA キットの PCB #118 に対する検出下限が 6.5 ng/ml であることから、各々のカネクロールに対する検出下限は、PCB #118 についての下限値を上述カネクロールの交叉反応率で除すことにより、70~380 ng/ml (ppb) の範囲と算定された。

保管 PCB 試料については、前処理なしの場合、柱上トランス絶縁油試料 3 種 (D1, D2, D3) 以外は、全て測定値が得られた。柱上トランス絶縁油試料については、試料と使用バッファの混合の際に白濁が生じ、測定値

Table 3 ELISA and chemical analysis results for waste PCB stockpile and Kanechlor preparation samples

Sample category	No.	Estimated KC	PCB sum (g/g-sample)	PCB #118 (g/g-sample)	Without cleanup			With cleanup		
					ELISA results (g/g-sample)	ELISA value/ PCB sum	ELISA value/ PCB #118	ELISA results (g/g-sample)	ELISA value/ PCB sum	ELISA value/ PCB #118
Transformer insulation oil	A1	1000	0.61	0.037	0.048	0.079	1.3	0.077	0.13	2.1
	A2	1000	0.60	0.063	0.049	0.082	0.78	0.10	0.17	1.6
	A3	1000	0.58	0.045	0.044	0.076	1.0	0.094	0.16	2.1
	A4	1000	0.62	0.049	0.049	0.080	1.0	0.049	0.079	1.0
Capacitor insulation oil	B1	300	0.93	3.8E-03	0.038	0.041	9.9	0.037	0.039	9.6
	B2	300	0.97	5.0E-03	0.037	0.038	7.3	0.048	0.050	9.6
	B3	400	1.0	0.022	0.060	0.060	2.7	0.17	0.17	7.6
	B4	400	1.0	0.022	0.067	0.067	3.0	0.12	0.12	5.6
Stabilizer oil for fluorescent light	C1	300	0.95	4.0E-03	0.032	0.034	8.0	0.049	0.052	12
	C2	500	0.94	0.065	0.083	0.088	1.3	0.089	0.094	1.4
	C3	300	0.90	2.4E-03	0.030	0.033	12	0.011	0.012	4.4
	C4	300	0.93	3.0E-03	0.034	0.036	11	0.014	0.015	4.6
Stabilizer oil for sodium light	C5	500	0.97	0.092	0.093	0.096	1.0	0.085	0.088	0.92
	C6	500	1.0	0.065	0.076	0.076	1.2	0.016	0.016	0.25
Pole transformer oil	D1	500	1.8E-05	3.4E-06	ND**	-	-	4.7E-06	0.26	1.4
	D2	400	1.7E-05	9.6E-07	ND**	-	-	2.0E-06	0.11	2.0
	D3	400	1.9E-05	7.1E-07	ND**	-	-	1.2E-06	0.064	1.7
Heat transfer medium	E1	500	0.30	0.023	0.017	0.055	0.72	0.020	0.066	0.86
	E2	Aroclor 1242	0.32	2.8E-03	0.011	0.035	4.0	0.011	0.035	4.0
Carbonless paper	F1	300	0.021	1.1E-04				3.8E-05	1.8E-03	0.34
	G1	300	2.7E-02	7.2E-05				8.0E-03	0.30	110
	G2	500	4.2E-06	3.4E-07				1.3E-06	0.31	3.8
Filler of stabilizer for fluorescent light	G3	300	1.2E-07	6.0E-10				3.6E-09	0.030	6.0
	G4	300	6.4E-03	1.0E-05				3.8E-04	0.060	38
	G5	300	9.9E-03	2.2E-05				2.5E-04	0.025	11
	G6	500	5.1E-08	1.4E-09				2.2E-09	0.043	1.6
Filler of stabilizer for sodium light	G7	300	9.4E-06	6.1E-07				1.1E-07	0.012	0.18
Case of stabilizer for fluorescent light*	G8	300	1.5E-06	8.9E-08				2.0E-08	0.013	0.23
Steel core of stabilizer for fluorescent light										
Kanechlor 300	KC-300	300	1.0	1.7E-03	0.039	0.039	23	0.030	0.030	17
Kanechlor 400	KC-400	400	1.0	0.02	0.074	0.074	3.7	0.069	0.069	3.5
Kanechlor 500	KC-500	500	0.97	0.057	0.091	0.094	1.6	0.18	0.18	3.1
Kanechlor 600	KC-600	600	1.0	6.8E-03	0.017	0.017	2.5	9.7E-03	0.010	1.4
Kanechlor 1000	KC-1000	1000	0.68	0.035	0.058	0.085	1.7	0.055	0.081	1.6

*: Values for G7 and G8 are shown in g/cm²; **: Turbidity formation was observed during assay.

Fig. 2 Response profiles of the ELISA for Kanechlor preparations

が得られなかった。柱上トランス絶縁油は、鉱物油系絶縁油中に ppm オーダーまでの微量 PCB が溶解している性状のものであり¹⁾、化学分析に際しても煩雑な前処理を必要とする^{13,14)}。ELISA においても、抗原抗体結合を阻害する夾雑物除去のための適切な前処理の必要性が示唆された。

その他の保管 PCB 試料の試験結果については、PCB #118の実測濃度とあわせ、推定されたカネクロールの種別に Fig. 3 に並べ示した(熱媒体 E2については、

Aroclor 1242相当と考えられるが、ここでは KC-300相当に便宜的に分類した)。高圧トランス絶縁油、高圧コンデンサ絶縁油、蛍光灯安定器絶縁油、熱媒体といった PCB 含有量の高い試料については、ELISA 測定値が 0.023~0.093g/g-sample (重量比にして 2.3~9.3%) と高い値を示している。また、カネクロール別に ELISA の測定値をみるとカネクロールの種類によって検出特性が異なることが分かる。まず、5 塩素化 PCB を最大同族体として含む KC-500、KC-1000 関連試料では、ELISA 測定値は基本的に高く、0.076~0.093g/g-sample となった (ELISA 値/総 PCB 濃度比でみると、0.076~0.096 で総 PCB の 7.6~9.3% を検出している算定となる)。これらの試料で ELISA 値/PCB #118 濃度比は 0.72~1.3 であり、PCB #118 濃度のみで ELISA 測定値をほぼ説明できる。一方、KC-400 関連試料 (B3, B4) では、ELISA 測定値 (0.06~0.067g/g-sample) に対して、ELISA 値/PCB #118 濃度比は 2.7~3 と、やや PCB #118 以外の物質による交叉反応の検出寄与が高くなっていることが分かる。6 塩素化物を主体とする KC-600 でも同様の傾向であった。PCB #118 以外の交叉反応による検出が最も高いと考えられたのが KC-300 相当の試料であった。B1, B2, C1, C3, C4 についてはいずれも、0.03~0.038g/g-sample の検出値となっているが、ELISA 値/PCB #118 濃度比は、8~12 の範囲であり、理論的には ELISA 測定値の 90% 程度は #118 以外の PCB 異性体によるものと考えられる。使用した ELISA に用いられている

Fig. 3 Comparison of the ELISA results and PCB #118 concentrations for each Kanechlor-originated sample

モノクローナル抗体の交叉反応性データ (Table 2) から、抗体は PCB #118 (2,3',4,4',5-PeCB) と共通の位置に塩素基を有する低塩素化合物 (調査した PCB 27種のうち、少なくとも5種の低塩素化 PCB については) に交叉反応性を有していることが明らかになっている。このことから、今回の KC-300, KC-400相当の試料への応答性の理由として、これらのカネクロールに含有される主要異性体である3,4塩素化 PCB の検出可能性が高いという説明ができる。

このように、PCB 濃度が30~100%と高濃度の保管 PCB 試料に関して、DMSO による希釈のみを行うことで測定値が得られ、カネクロール別の ELISA の検出特性に一定傾向 (廃 PCB と該当するカネクロールの検出特性に一致性) がみられた。このことから、高濃度廃 PCB 試料については、希釈操作のみにより PCB の定量的な評価が可能で、PCB 組成未知の試料に対しても、ある程度の幅をもった濃度の推定が行える可能性が示唆された。しかし、混入物、共存試料マトリックスの性状によっては前処理を必要とする場合も十分考えられる。

次に、前処理を実施した試料の ELISA 結果 (Table 3) について述べる。前処理を行わなかった場合には ELISA 実施時に白濁がみられ、測定値が得られなかった柱上トランス絶縁油試料についての前処理の適用可否が焦点となる。これまでに柱上トランス絶縁油模擬試料 (PCB 添加鉱物油) については、DMSO 分配と44%硫酸シリカゲル加熱還流処理を適用し、ELISA 測定が可能であった実績がある¹⁷⁾。すなわち、鉱物油に添加した PCB (KC-400) に上述の前処理を適用し、今回用いた ELISA を用

いて測定を行った結果、50~0.5mg-PCB/kg までの検出が可能であることが既に明らかとなっている¹⁷⁾。

カネクロール5種についての前処理試料では、前処理を行わなかった場合と比べて検出値にずれが少なく (0.02~0.18g/g-sample: 最大、KC-500で2倍程度の検出値の増加をみている)、カネクロールについては前処理の必要性のないことが確認できた。同様に、保管 PCB (高圧トランス絶縁油、高圧コンデンサ絶縁油、蛍光灯安定器絶縁油、熱媒体) についても大半の試料で前処理を行わなかった場合と比べて、ELISA 測定値 (0.011~0.17g/g-sample) に1~3倍程度の差しかみられなかった (最大のずれでナトリウム灯安定器絶縁油 (C6) の5倍弱であった)。これらの差異が前処理時の PCB の損失や希釈時の誤差等に起因するであろうことから、前処理の必要性はないものと考えられた。

柱上トランス絶縁油3種類については、いずれも前処理を実施した試料で ELISA 測定値 (1.2×10^{-6} ~ 4.7×10^{-6} g/g-sample) が得られた。PCB 総濃度の6.4~26%の範囲で測定値が得られ、かつ、ELISA/PCB #118比についても、推定されるカネクロールの標準品と近い値を示した。このことから、実施した前処理で白濁の要因となる夾雑物が除去されており、含有 PCB 量相当の検出が可能であると考えられた。

廃感圧紙 (KC-300使用と推定) については、PCB 総濃度や#118濃度に比べて ELISA 測定値 (3.8×10^{-5} g/g-sample) が非常に低く、#118濃度 (1.1×10^{-4} g/g-sample) をやや下回った。製品 KC-300と同族体比や異性体比が類似している¹⁸⁾一方で ELISA の測定傾向に大き

な違いがみられた理由としては、感圧紙に含まれる抗原抗体反応妨害成分の影響が考えられる。

蛍光灯／ナトリウム灯安定器充填剤のうち、KC-500を安定器絶縁油として使用していたと考えられるG2、G6については、KC-500そのものと同桁のELISA値／PCB総濃度比、ELISA値／PCB #118比で測定値が得られた。一方、アスファルト系充填剤G1（KC-300由来と推定）については、ELISA測定値の対PCB総濃度および#118比が、KC-300より1桁ほど高い結果が得られた。KC-300を絶縁油として使用していた蛍光灯樹脂系充填剤3種（G3、G4、G5）についてはKC-300とELISA/PCB総濃度比ではほぼ一致し、ELISA/PCB #118比について最大3倍程度の差があるものの同桁の値となった。KC-300を絶縁油として使用していた蛍光灯安定器ケースや鉄心の拭き取り試料については、PCB #118濃度の1/4から1/6程度のELISA測定値となった。廃感圧紙や、蛍光灯安定器充填剤中の残存PCBのELISA結果については、夾雑含有成分の影響やPCBの揮発移行等により当初使用されたPCBとは異なる組成を取っている場合があるため、保管PCBの油試料とは検出特性が異なると考えられる。

保管PCB、製品PCB全33試料（前処理実施分）について、ELISA測定値（PCB #118当量値）とPCB総濃度との相関性を両対数軸グラフ上に示す（Fig. 4（A））。両対数軸上で良好な線形相関が得られ、傾きも1となっていることから、今回実施した前処理とELISAの組み合わせによりPCB総濃度の推定をある程度、桁を違えることなく行えるものと考えられた（高濃度PCB油試料については試料希釈のみ行えばよく、前処理は必要ないと考えられた）。さらに、今回の保管PCB廃棄物がどのカネクロールに由来するか推定されている¹³⁾ため、ELISA測定値を各試料の推定カネクロールの交叉反応率で除したカネクロール当量値とPCB総濃度との関係性をみた（Fig. 4（B））。相関係数はさらに若干向上し、両対数軸上でみればELISA値（カネクロール当量）とPCB総濃度はほぼ等しいものと考えられた。

使用方式や保管方法によるPCB組成の変化や夾雑化学成分等がELISA測定値からPCB濃度を見積もる際の誤差要因となりうる。今後、ELISA測定値から確度の高いPCB濃度（幅）を予測する統計手法を構築することや、PCBの低塩素化物から高塩素化物まで漏れなく対応する複数抗体を活用したELISAを開発、適用すること、前処理における回収率補正を考慮することなど、スクリーニング手法とはいえ、PCB測定精度確保、低濃度PCB測定保証のための検討が今後必要であると考えられる。

3. 2 DR-CALUX

DR-CALUX結果の一覧を、化学分析関連値（WHO-TEQ）と併せて、Table 4に示す。測定に際し、3回の独立したアッセイを実施し、平均値をデータとして表示した（3回のアッセイの変動係数は概ね30%以内であった）。

製品PCBであるカネクロール（KC-300、400、500、600）のDMSO希釈試料（前処理なし）についてのDR-CALUXの濃度応答曲線を、Fig. 5に示す。カネクロールは、陽性対照とする2,3,7,8-TCDDに比べると5桁ほど高い濃度（0.1mg/ℓレベル）から活性（ルシフェラーゼ発現）がみられているが、活性のインダク

Fig. 4 Relationship between total PCB concentration and ELISA value (A) PCB #118-equivalent ELISA value, (B) Kanechlor-equivalent ELISA value

ション (ルシフェラーゼ誘導の強さ) は TCDD ほど高くなく、数 mg/ℓ 前後からインダクションが TCDD の 30～50% 程度を最高として下降しはじめる。また、さらに濃度を高くすると 100mg/ℓ 前後で細胞毒性のため、細胞が死滅することが分かった。インダクションが TCDD ほど上昇しない原因としては、PCB 異性体のうち、特に 2～4 ortho PCBs による Ah 受容体へのアンタゴニスト作用

による活性抑制作用が報告されている^{10,21,22)}。カネクロールがこのような活性特性を示すことから、保管 PCB 等、実際の試料についても十分な濃度応答曲線が得られない場合が考えられる。このため、再現性のよい曲線の立ち上がり部分 (TCDD で 1～4 pM の低活性領域部分) を TCDD と比較することによって、未知試料のダイオキシン様活性 (CALUX-TEQ) の定量を行うことが妥当で

Table 4 DR-CALUX and chemical analysis results for waste PCB stockpile and Kanechlor preparation samples

Sample category	No.	Estimated KC	WHO-TEQ (ng/g-sample)				Without cleanup		With cleanup		Theoretical CALUX-TEQ (ng/g-sample)
			Sum	PCDD/F-TEQ	Non-ortho PCB-TEQ	Mono-ortho PCB-TEQ	CALUX-TEQ (ng/g-sample)	CALUX-TEQ/WHO-TEQ	CALUX-TEQ (ng/g-sample)	CALUX-TEQ/WHO-TEQ	
Transformer insulation oil	A1	1000	11,000	160	2,000	8,800	580	0.053	2,600	0.24	4,000
	A2	1000	19,000	340	4,100	15,000	1,800	0.095	11,000	0.58	6,900
	A3	1000	14,000	130	2,900	11,000	1,600	0.11	3,100	0.22	13,000
	A4	1000	15,000	160	3,300	12,000	1,100	0.073	1,500	0.10	5,200
Capacitor insulation oil	B1	300	2,800	64	1,900	840	1,900	0.68	2,100	0.75	6,800
	B2	300	4,700	130	3,300	1,300	4,700	1.0	4,900	1.0	12,000
	B3	400	17,000	88	12,000	4,900	7,800	0.46	15,000	0.88	20,000
	B4	400	17,000	89	12,000	4,900	7,600	0.45	12,000	0.71	21,000
Stabilizer oil for fluorescent light	C1	300	3,600	100	2,600	900	4,500	1.3	6,500	1.8	3,900
	C2	500	22,000	200	5,200	17,000	2,900	0.13	7,100	0.32	7,900
	C3	300	2,500	22	1,900	580	2,000	0.80	340	0.14	7,600
	C4	300	1,900	32	1,200	670	680	0.36	600	0.32	5,300
	C5	500	30,000	250	7,100	23,000	2,100	0.070	3,600	0.12	11,100
Stabilizer oil for sodium light	C6	500	20,000	370	3,500	16,000	1,700	0.085	2,900	0.15	7,400
Pole transformer oil	D1	500	1.3	0	0.48	0.82	2,700	2100	0.43	0.33	0.66
	D2	400	0.6	0	0.38	0.22	2,500	4200	0.39	0.65	0.60
	D3	400	0.34	0	0.18	0.16	2,500	7400	0.29	0.85	0.34
	E1	500	7,200	120	1,200	5,900	2,600	0.36	790	0.11	2,800
Heat transfer medium	E2	Aroclor 1242	2100	39	1,400	660	4,500	2.1	1,300	0.62	3,800
Carbonless paper	F1	300	80	3.2	53	24			3.0	0.038	220
Filler of stabilizer for fluorescent light	G1	300	67	2.5	49	16			25	0.37	220
	G2	500	0.074	0.00025	0.0024	0.071			0.013	0.18	0.22
	G3	300	0.00029	0.00012	0.000021	0.00015			0.019	0.66	0.0025
	G4	300	8.5	0.077	6.0	2.4			6.1	0.72	31
	G5	300	14	0.16	8.9	4.9			8.4	0.60	45
Filler of stabilizer for sodium light	G6	500	0.00033	0	0.000022	0.00031			0.0036	11	0.00079
Case of stabilizer for fluorescent light*	G7	300	0.48	0	0.35	0.13			0.0027	0.006	1.8
Steel core of stabilizer for fluorescent light*	G8	300	0.073	0	0.053	0.020			0.0008	0.011	0.28
Kanechlor 300	KC-300	300	1,500				360	0.24	2,200	1.5	5,900
Kanechlor 400	KC-400	400	15,000				11,000	0.73	14,000	0.93	21,000
Kanechlor 500	KC-500	500	16,000				2,100	0.13	2,300	0.14	4,600
Kanechlor 600	KC-600	600	7,700				3,100	0.40	810	0.11	5,600
Kanechlor 1000	KC-1000	1000	11,000				1,900	0.17	2,400	0.22	4,300
Kanechlor-mix	KC-mix	-	10,000				3,500	0.35	-	-	9,300

*: Values for G7 and G8 are shown in g/cm².

Fig. 5 Response profiles of the DR-CALUX for Kanechlor preparations

あると考えられた。

前処理なしの場合の CALUX 定量結果について述べる。カネクロール 5 種および、KC-300, 400, 500, 600 の等量混合物である KC-mix の CALUX-TEQ (360~11,000ng/g) は全て、化学分析により得られた WHO-TEQ (1,500~16,000ng/g) を下回る値となり、CALUX-TEQ/WHO-TEQ の比は、0.13~0.73 であった。CALUX-TEQ/WHO-TEQ 比の最も高かったものは KC-400 であり、逆に最も低かったのが KC-500 と KC-1000 であった。KC-mix は、KC-300, 400, 500, 600 の CALUX-TEQ の平均値に近い値を示し、WHO-TEQ の約 1/3 であった。保管 PCB (A1~E2) についてみると、CALUX-TEQ は、580~7,800ng/g の範囲となった。CALUX-TEQ/WHO-TEQ 比をみると、高圧トランス絶縁油、高圧コンデンサ絶縁油、蛍光灯安定器絶縁油、ナトリウム灯安定器絶縁油、熱媒体については、ほぼ 1 を下回る値となった。特に、KC-500, 1000 を使用していると考えられた試料 (高圧トランス絶縁油全て、蛍光灯安定器絶縁油のうち、C2, C5, ナトリウム灯安定器絶縁油 C6) については、CALUX-TEQ/WHO-TEQ 比の値が低く、0.053~0.13 の範囲であった。一方で、柱上トランス絶縁油 3 試料については、CALUX-TEQ が 2,500~2,700ng/g を示し、WHO-TEQ の 2,100~7,400 倍高い値を示したことから、PCB 由来の TEQ とは別物質を CALUX で検出していることが考えられた。

次に、試料前処理を実施した際の DR-CALUX 結果 (Table 4) について述べる。製品 PCB のうち、KC-400, 500, 1000 については、前処理を実施しなかった場合と実施した場合の間で CALUX-TEQ 値に差はないと考えられた。KC-300 については前処理実施により、CALUX-TEQ が増加 (360→2,200ng/g)、KC-600 では減少する定量結果が得られた (3,100→810ng/g)。

保管 PCB 試料 (柱上トランス絶縁油 3 試料、廃感圧紙 1 試料を除く 16 試料) では、前処理の実施により、12 試料で CALUX-TEQ はやや増加する傾向にあり、高圧トランス絶縁油 A1 で最大 6.1 倍高くなった。一方、CALUX-TEQ が減少した試料 4 試料については減少の程度は最大で 1/6 程度 (C3) となった。16 試料全体を通しては、CALUX-TEQ/WHO-TEQ 比は、0.1~1.8 倍という範囲になった。

柱上トランス絶縁油については、前処理により CALUX-TEQ が大幅に減少し 0.29~0.43ng/g となった。CALUX-TEQ/WHO-TEQ 比は、0.33~0.85 と他の PCB 試料と同様のレベルになった。柱上トランス絶縁油の主成分である鉱物油は、原料となる原油の産地等異なるが、パラフィン系、シクロパラフィン系および、Ah 受容体のリガンドである芳香族系の炭化水素 (PAHs) から構成される。PAHs の種類や量は鉱物油によって異なる

が、一般に数%は含まれているといわれている²⁹⁾。本研究で採用した前処理 (44%硫酸シリカゲル加熱還流) は、焼却飛灰中の PAHs (EPA 指定 16 種) の除去に顕著な効果のあることが確認されている³⁰⁾。鉱物油系絶縁油への適用実績もあり、鉱物油に添加した PCB (KC-400) に本研究同様の前処理を適用した結果、DR-CALUX では、50~0.5mg/kg までの PCB を含む鉱物油試料について WHO-TEQ と関連した検出が可能であることが明らかとなっている¹⁷⁾。

前処理を行った上で DR-CALUX の実施が可能であった廃感圧紙 1 試料、蛍光灯安定器充填材関連試料 8 試料について、アスファルト系充填材 2 試料 (G1, G2)、樹脂系充填材 2 試料 (G4, G5) では、製品 PCB や保管 PCB における CALUX-TEQ/WHO-TEQ 比と同様の範囲にある測定結果が得られたが、樹脂系充填材 1 試料 (G3)、ナトリウム灯用充填材 (G6) では、WHO-TEQ に比べてそれぞれ 68, 11 倍高い CALUX-TEQ が得られた。これらの試料の WHO-TEQ 値 (約 0.0003ng/g) は非常に低く、前処理スケールから考えると DR-CALUX では定量下限レベル (約 0.001ng/g) 以下であり、誤差を生じる可能性が高い。一方、廃感圧紙 (F1)、蛍光灯用安定器ケース (G7)、鉄心 (G8) 試料では、WHO-TEQ をはるかに下回る CALUX-TEQ が得られた。いずれも、当該試料に含まれ、バイオアッセイの画分に残留する成分の影響を受けた結果であると考えられる。

保管 PCB、製品 PCB 試料全 33 試料 (前処理実施分) について、DR-CALUX 測定値 (CALUX-TEQ) と WHO-TEQ との関係を両対数軸グラフ上に示す (Fig.6 (A))。両対数軸上での線形相関は良好であり ($R^2=0.90$)、今回実施した前処理と DR-CALUX の組み合わせにより WHO-TEQ の推定をある程度行えるものと考えられる。ただし、使用されているカネクロールの種類によって DR-CALUX の応答特性は異なることが、CALUX-TEQ と WHO-TEQ の関係を線形軸に変換したプロットから明瞭に分かる (Fig.6 (B))。WHO-TEQ が 1,000ng/g を超えるような高濃度 PCB 試料のデータ傾向をみれば、KC-300, 400 由来と考えられる試料については、CALUX-TEQ/WHO-TEQ 比が相対的に高く (プロット勾配は 1 ないしそれ以上)、一方で KC-500, 600, 1000 由来と推定される試料については、プロット群の示す勾配が小さい (1 未満)。カネクロールの PCB 組成に着目した考察を行うと、KC-300, 400 由来推定試料については WHO-TEQ における non-ortho PCBs の寄与が高く、ほぼ全ての試料で 60~75% を占めている³¹⁾。これらの試料では、non-ortho PCBs 由来の TEQ のほとんどを PCB #77, 126 が占める³²⁾。DR-CALUX におけるこれら 2 異性体の TCDD 比活性 (CALUX-TEF, EC₅₀ 重量単位ベース) はそれぞれ、0.0017 (WHO-TEF は 0.0001), 0.078

(WHO-TEFは0.1)と、WHO-TEFと同様かそれ以上となっており²⁰⁾、CALUX-TEQにおけるこれら2異性体の寄与が明らかと考えられる。KC-500, 600, 1000由来推定試料については、WHO-TEQにおいてmono-ortho PCBsの寄与が高く、ほぼ全ての試料で80%程度を占めている¹³⁾。DR-CALUXにおけるこれらmono-ortho PCBs

のTCDD比活性(CALUX-TEF, EC₅₀重量単位ベース)はWHO-TEFと比べていずれも0.026~0.85倍となり²⁰⁾、CALUX-TEQがWHO-TEQを下回る原因のひとつと考えられる。

ダイオキシン類(PCDD/Fs 17異性体および、Co-PCBs 12異性体)の実測濃度に、それぞれの異性体のCALUX-TEF (EC₅₀重量単位ベース)²⁰⁾をそれぞれ乗じて足し合わせたCALUX-TEQ理論値(theoretical CALUX-TEQ)を算出し、Table 4に示した。WHO-TEQとCALUX-TEQの一致性よりも、この理論値とCALUX-TEQの一致性の方がより高くなるはずであるが、33試料中29試料でCALUX-TEQの実験値が理論値を下回り、得られた相関式は、次式のようにになった。

$$\begin{aligned} & (\text{CALUX-TEQ 実験値, ng/g または ng/cm}^2) \\ &= 0.57 \times (\text{CALUX-TEQ 理論値, ng/g または ng/cm}^2) - 360 \\ & (R^2=0.69) \end{aligned}$$

実験値が理論値を下回することは、PCB試料中にCALUX-TEQ値をWHO-TEQ値に比べて低く見積もらせる要因(Co-PCBsに対するWHO-TEFを下回る低いDR-CALUX比活性以外の要因)が存在することを意味する。試料の曝露濃度段階では総じて細胞毒性は観察されていないことから、既報^{10,21,22)}で指摘されるように試料中に、2~4 ortho PCBsを主体とするAh受容体アンタゴニストの存在が示唆される結果となっている。今回実施した前処理は基本的に、直鎖炭化水素や多環芳香族炭化水素の除去に効果があるものと思われるが、PCBに関しては平面構造を有するCo-PCBs(non-ortho, mono-ortho PCBs)と非平面構造のPCBs(2~4 ortho PCBs)との分離を図るためにデザインされたものではない。活性炭カラムの使用などにより、アンタゴニストの主体と考えられる2~4 ortho PCBsの除去を図る検討を行うことも今後、有用であると考えられる。

今回の試験結果より、DR-CALUXを廃PCB試料中のTEQ測定(WHO-TEQと対応するスクリーニング)に適用する際の課題として、前述したように使用されているカネクロールの違いにより、CALUXの応答性が異なってくるのが挙げられる。このため、カネクロール種別にCALUX-TEQの換算補正を実施することが必要と考えられた。前処理を実施した試料について、CALUX-TEQを、対応する製品カネクロール(前処理を実施したもの)のCALUX-TEQ/WHO-TEQ比で除すことにより、換算補正值を算出し、WHO-TEQとの相関をみた。その結果、一部試料を除いて、CALUX-TEQ補正值は、WHO-TEQとよく一致する傾向がみられた(Fig. 6(C))。実際に今回の前処理とDR-CALUXの組み合わせを用いて保管PCB廃棄物のTEQスクリーニングを精度

Fig. 6 Relationship between WHO-TEQ and CALUX-TEQ values (A) plot on the logarithmic coordinates, (B) plot on the linear coordinates, (C) plot on the linear coordinates (correlation between WHO-TEQ and converted CALUX-TEQ)

よく行う場合は、CALUX-TEQ に、推定されるカネクロール別の換算補正を行って WHO-TEQ を予測する必要があると考えられる。カネクロールの推定が困難な試料の場合は、例えば KC-mix を標準として TEQ を推測すること、また、前処理における回収率補正の考慮を含め、信頼幅を設定した、範囲性をもった定量評価が必要と考えられる。また、DR-CALUX のような細胞ベースのバイオアッセイでは、試料への応答として、ダイオキシン様作用の加成性のみならず、拮抗性等、混合物に対する総合応答が観察される。このため、WHO-TEQ の簡易モニタリングのみならず、PCB 複合物の包括的なリスク評価に資する試験結果の活用も可能であることを付け加えたい。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、国立環境研究所 木田ひとみ、粕谷陽子各氏の実験上の協力を得た。ここに記して謝意を表す。

要 約

製品 PCB (カネクロール)、保管 PCB 試料全33試料について、簡易迅速に PCB を検出する観点から抗 PCB #118モノクローナル抗体を用いた ELISA を、また、ダイオキシン様物質の測定を目的として DR-CALUX を適用した。DMSO 分配、44%硫酸シリカゲル加熱還流処理を組み合わせた前処理を行うと、ELISA 測定値と PCB 総濃度、DR-CALUX 結果 (CALUX-TEQ) と WHO-TEQ の間にそれぞれ線形相関がみられた。また、ELISA では、高濃度 (PCB 30~100%) の保管 PCB 油試料について試料希釈のみにより測定値が得られ、かつ、対応するカネクロールの検出特性との間に一致性がみられた。

文 献

- (社)日本電機工業会：変圧器等への微量 PCB の混入可能性に関する調査結果について、2003年11月 (2003)
- 環境事業団ポリ塩化ビフェニル廃棄物処理事業検討委員会：北九州ポリ塩化ビフェニル廃棄物処理事業の処理施設について、平成13年11月 (2001)
- 滝上英孝、酒井伸一：ダイオキシン類、PCB を検出するバイオアッセイ、*ぶんせき*, **9**, 502-510 (2003)
- 酒井伸一、滝上英孝、細江和典、ピーター・バーニッシュ：ダイオキシン様物質の培養細胞によるバイオアッセイ、*廃棄物学会誌*, **14**, 34-50 (2003)
- Behnisch, P.A., Hosoe, K. and Sakai, S.: Bioanalytical screening methods for dioxins and dioxin-like compounds — a review of bioassay/biomarker technology. *Environment International*, **27**, 413-439 (2001)
- Diaz-Ferrero, J., Rodriguez-Larena, M.C., Comellas, L. and Jimenez, B.: Bioanalytical methods applied to endocrine disrupting polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and polychlorinated dibenzofurans. A review. *Trends in Analytical Chemistry*, **16**, 563-573 (1997)
- 大村直也、齊木 博、片岡千和、澤田石一之：免疫測定 (イムノアッセイ) 法、*環境管理*, **39**, 251-256 (2003)
- Harrison, R.O. and Eduljee, G.H.: Immunochemical analysis for dioxins — progress and prospects, *The Science of the Total Environment*, **239**, 1-18 (1999)
- Hoogenboom, R.: The combined use of the CALUX bioassay and the HRGC/HRMS method for the detection of novel dioxin sources and new dioxin-like compounds. *Environ. Sci. & Pollut. Res.*, **9**, 304-306 (2002)
- Aarts, J.M.M.J.G., Denison, M.S., Cox, M.A., Schalk, M.A.C., Garrison, P.M., Tullis, K., de Haan, L.H.J. and Brouwer, A.: Species-specific antagonism of Ah receptor action by 2,2',5,5'-tetrachloro- and 2,2',3,3',4,4'-hexachlorobiphenyl. *Eur. J. Pharmacol.*, **293**, 463-474 (1995)
- Garrison, P.M., Tullis, K., Aarts, J.M.M.J.G., Brouwer, A. Giesy, J.P. and Denison M.S.: Species-specific recombinant cell lines as bioassay systems for the detection of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-like chemicals. *Fundamental and Applied Toxicology*, **30**, 194-203 (1996)
- Okuyama, A., Takenaka, H., Nishi, K., Mizukami, H., Kozaki, S., Kirihaata, M., Miyatake, K., Takigami, H., Sakai, S. and Morita, M.: Development of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Pre-Screening of Coplanar Polychlorinated Biphenyls. *Organohalogen Compounds*, **58**, 333-335 (2002)
- 野馬幸生、石川 紫、能勢和聡、峯戸松勝秀、滝上英孝、酒井伸一、泉澤秀一、鍋木儀郎：保管 PCB 廃棄物の PCBs およびダイオキシン類、*環境化学*, **14**, 501-518 (2004)
- 小泉敏章、吉村広三：鉱油及び廃油中のポリ塩化ビフェニル分析の前処理法、*分析化学*, **34**, T143-T147 (1985)
- 高菅卓三、井上 毅、大井悦雅：各種クリーンアップ法と HRGC/HRMS を用いたポリ塩化ビフェニル (PCBs) の全異性体詳細分析方法、*環境化学*, **5**, 647-675 (1995)

- 16) Behnisch, P.A., Hosoe, K., Shiozaki, K., Ozaki, H., Nakamura, K. and Sakai, S.: Low-temperature thermal decomposition of dioxin-like compounds in fly ash: combination of chemical analysis with in vitro bioassays (EROD and DR-CALUX). *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 5211-5217 (2002)
- 17) Takigami, H., Hosoe, K., Behnisch, P.A., Shiozaki, K., Mizukami, H. and Sakai, S.: Validation Study for Practical Bio-Monitoring of Waste PCB Samples during their Destruction Treatment Using DR-CALUX Assay and PCB Immunoassay. *Organohalogen Compounds*, **58**, 397-400 (2002)
- 18) Takigami, H., Ohno, M., Ohara, A., Shiozaki, K., Behnisch, P.A. and Sakai, S.: Practical CALUX-Monitoring of PCB Wastes during Their Chemical Dechlorination Treatments. *Organohalogen Compounds*, **60**, 219-222 (2003)
- 19) 酒井伸一：ダイオキシン類・PCBの分解処理とモニタリング 平成13年度文部科学省革新的技術開発研究推進費補助金研究成果報告書（課題番号12321）(2002)
- 20) Behnisch, P.A., Hosoe, K. and Sakai, S. Brominated dioxin-like compounds: in vitro assessment in comparison to classical dioxin-like compounds and other polyaromatic compounds. *Environment International*, **29**, 861-877 (2003)
- 21) Suh, J., Kang, S.K., Yang, K. H. and Kaminski, N. E.: Antagonism of aryl hydrocarbon receptor-dependent induction of CYP1A1 and inhibition of IgM expression by di-ortho-substituted polychlorinated biphenyls. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **187**, 11-21 (2003)
- 22) Van der Plas, S.A., Sundberg, H., van den Berg, H., Scheu, G., Wester, P., Jensen, S., Bergman, A., de Boer, J., Koeman J. H. and Brouwer, A.: Contribution of planar (0-1 ortho) and nonplanar (2-4 ortho) fractions of Aroclor 1260 to the induction of altered hepatic foci in female Sprague-Dawley rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **169**, 255-268 (2000)
- 23) トビックス 潤滑油（ベースオイル）の発がん性について 一多環芳香族分（PCA）含有量で規制する方向一，潤滑経済 96年1月号（1996）