

生物検定法によるダイオキシン類測定

～ばいじん及び焼却灰を対象として～

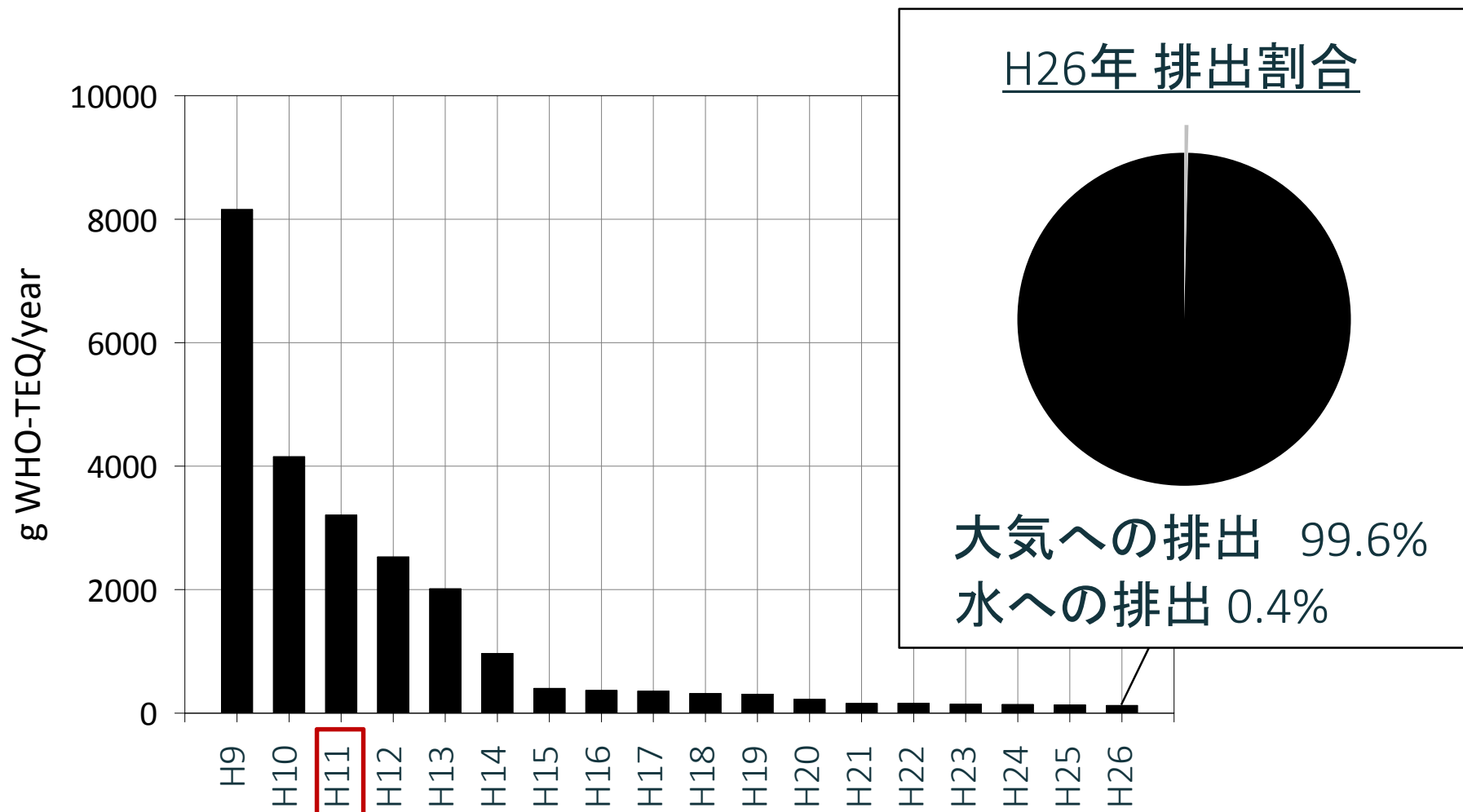
鈴木 剛



国立研究開発法人 国立環境研究所
資源循環・廃棄物研究センター

日本におけるダイオキシン類の排出実態

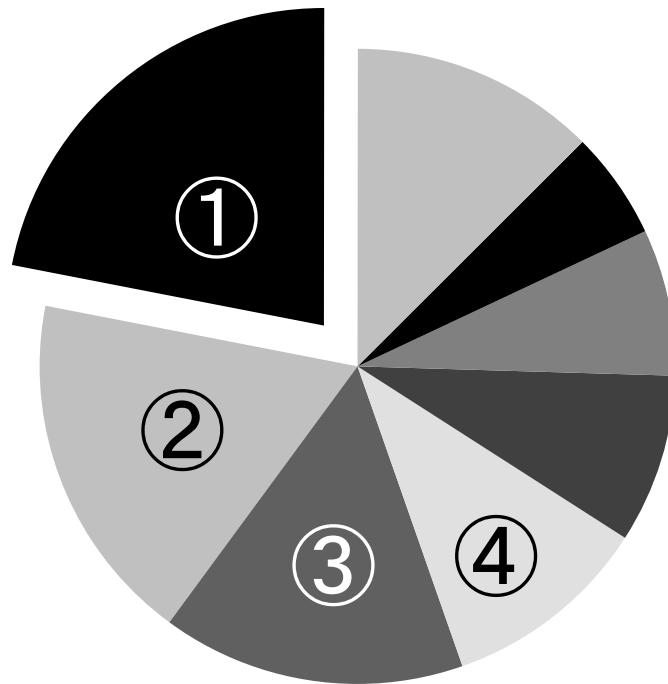
日本におけるダイオキシン類の排出インベントリー



H11年3月 **ダイオキシン対策推進基本指針**
7月 **ダイオキシン類対策特別措置法**

大気基準適用施設からの排出について

H26年 排出源別寄与率



①一般廃棄物焼却施設	21.9%
------------	-------

②製鋼用電気炉	18.0%
---------	-------

③産業廃棄物焼却施設	15.4%
------------	-------

④小型廃棄物焼却炉等	10.6%
------------	-------

廃棄物焼却炉がダイオキシン類の主要な発生源

ダイオキシン類の排出基準（排ガス・焼却灰・排出水）

1. 大気排出基準：

特定施設種類		大気排出基準 (ng WHO-TEQ/m ³ N)		燃え殻等の 処理基準 (ng WHO-TEQ/g)
		新設施設	既存施設	
廃棄物焼却炉	4トン／時間以上	0.1	1	3
	2トン／時間未満	1	5	3
	～2トン／時間未満	5	10	3
焼結鉍製造用焼結炉		0.1	1	-
製鋼用電気炉		0.5	5	-
亜鉛回収用焙焼炉等		1	10	-
アルミニウム合金製造用焙焼炉等		1	5	-

2. 水質排出基準： 10 pg WHO-TEQ/L

生物検定法とは

ダイオキシン類の測定義務

第二十八条 大気基準適用施設又は水質基準適用事業場の設置者は、毎年一回以上で政令で定める回数、政令で定めるところにより、大気基準適用施設にあつては当該大気基準適用施設から排出される排出ガス、水質基準適用事業場にあつては当該水質基準適用事業場から排出される排出水につき、そのダイオキシン類による汚染の状況について測定を行わなければならない。

2 廃棄物焼却炉である特定施設に係る前項の測定を行う場合においては、併せて、その排出する集じん機によって集められたばいじん及び焼却灰その他の燃え殻につき、法令で定めるところにより、そのダイオキシン類による汚染の状況について、測定を行わなければならない。

ダイオキシン類の測定

ガスクロマトグラフ高分解能質量分析装置 (GC-HRMS)

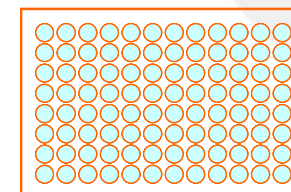
個別異性体を分析可能、内標法による精確性
ただし、多大な分析時間と費用が必要

→ ¥100,000～¥150,000 / 1試料

生物検定法 (H17年 特措法に簡易測定公定法として追加)

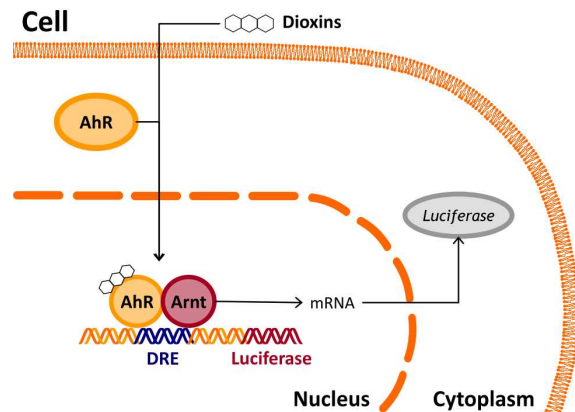
費用対効果が高い、ハイスループット分析
ただし、個別異性体情報が得られない

→ ¥20,000～40,000 / 1試料



生物検定法について

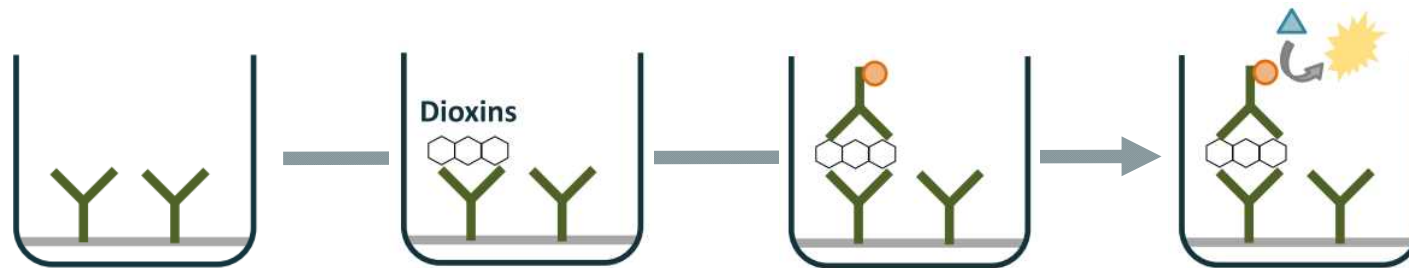
1. AhRバインディングアッセイ法



→ レポーター遺伝ンアッセイ法

→ 抗AhR複合体を用いたイムノアッセイ法

2. 抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法



ダイオキシン類特措法で告示された生物検定法

1. AhRバインディングアッセイ法

告示番号	分類	前処理法	検出系
1-1	レポータージーンアッセイ法	硫酸シリカゲルカラム＋活性炭カラム	マウスH1L6.1c2細胞を用いるケイラックスアッセイ
1-2		硫酸シリカゲルカラム＋活性炭カラム	ヒト101L細胞を用いるP450 HRGS アッセイ
1-3		多層シリカゲルカラム	マウスHeB5細胞を用いるAh-ルシフェラーゼアッセイ
1-4		硫酸シリカゲル加熱還流	ラットH4IIE-luc細胞を用いるDR-CALUXアッセイ
1-5		多層シリカゲルカラム＋アルミナカラム	マウス肝がん細胞を用いるDR-EcoScreenアッセイ
1-6	イムノアッセイ法	硫酸酸処理＋多層シリカゲルカラム	抗AhR複合体を検出するAhイムノアッセイ

ダイオキシン類特措法で告示された生物検定法

2. 抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法

告示番号	分類	前処理法	検出系
2-1	イムノアッセイ法	多層シリカゲルカラム＋ 活性炭カラム	抗ダイオキシン類抗体を使用 (PeCDFs) ダイオクイッカー
2-2		多層シリカゲルカラム＋ 活性炭カラム	抗ダイオキシン類抗体を使用 (Pe&HxCDD/Fs) EA-テスト ダイオキシン類
2-3		多層シリカゲルカラム＋ アルミナカラム	抗ダイオキシン類抗体を使用 (PeCDFs) ダイオキシンエライザキットTK
2-4		多層シリカゲルカラム＋ アルミナカラム	抗ダイオキシン類抗体を使用 (2,3,4,7,8-PeCDF) KinExA

特措法における生物検定法の測定対象試料



小型廃棄物焼却炉
排出ガス
(2トン/h未満)



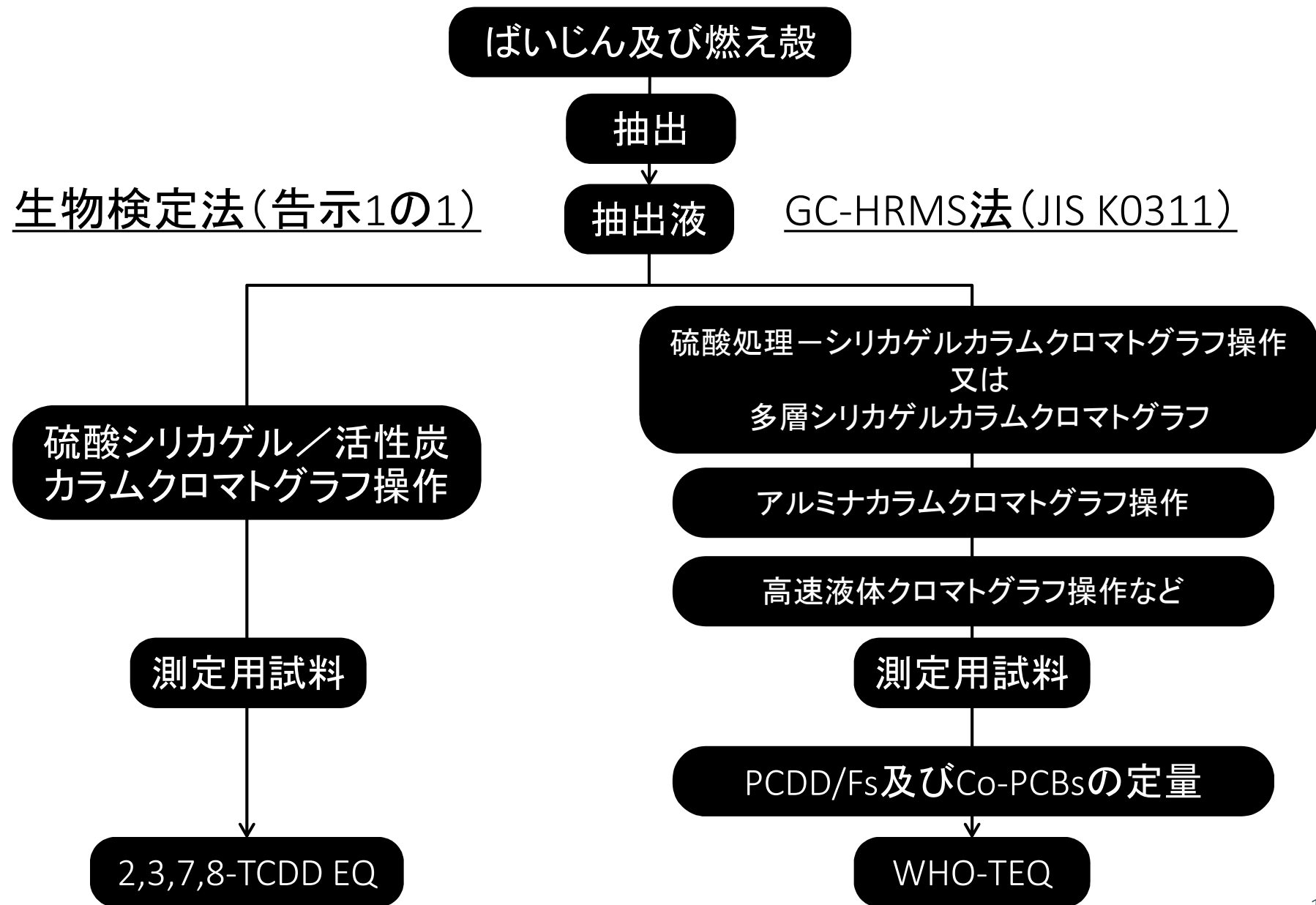
ばいじん



燃え殻

生物検定法によるダイオキシン類測定 ～ばいじん及び焼却灰を対象として～

生物検定法とGC-HRMS法のダイオキシン測定フロー



生物検定法の特徴: 迅速性と低廉性

生物検定法(告示1の1)

抽出液

GC-HRMS法(JIS K0311)

硫酸シリカゲル／活性炭
カラムクロマトグラフ操作

測定用試料

硫酸処理－シリカゲルカラムクロマトグラフ操作
又は
多層シリカゲルカラムクロマトグラフ

アルミナカラムクロマトグラフ操作

高速液体クロマトグラフ操作など

測定用試料

前処理法の簡略化→前処理時間の短縮→同時多検体処理へ
1検体あたりの人件費や前処理資材費を下げることに繋がる

生物検定法の特徴: 迅速性と低廉性

生物検定法(告示1の1)

GC-HRMS法(JIS K0311)

測定用試料



2,3,7,8-TCDD EQ

包括定量

測定用試料



PCDD/Fs及びCo-PCBsの定量



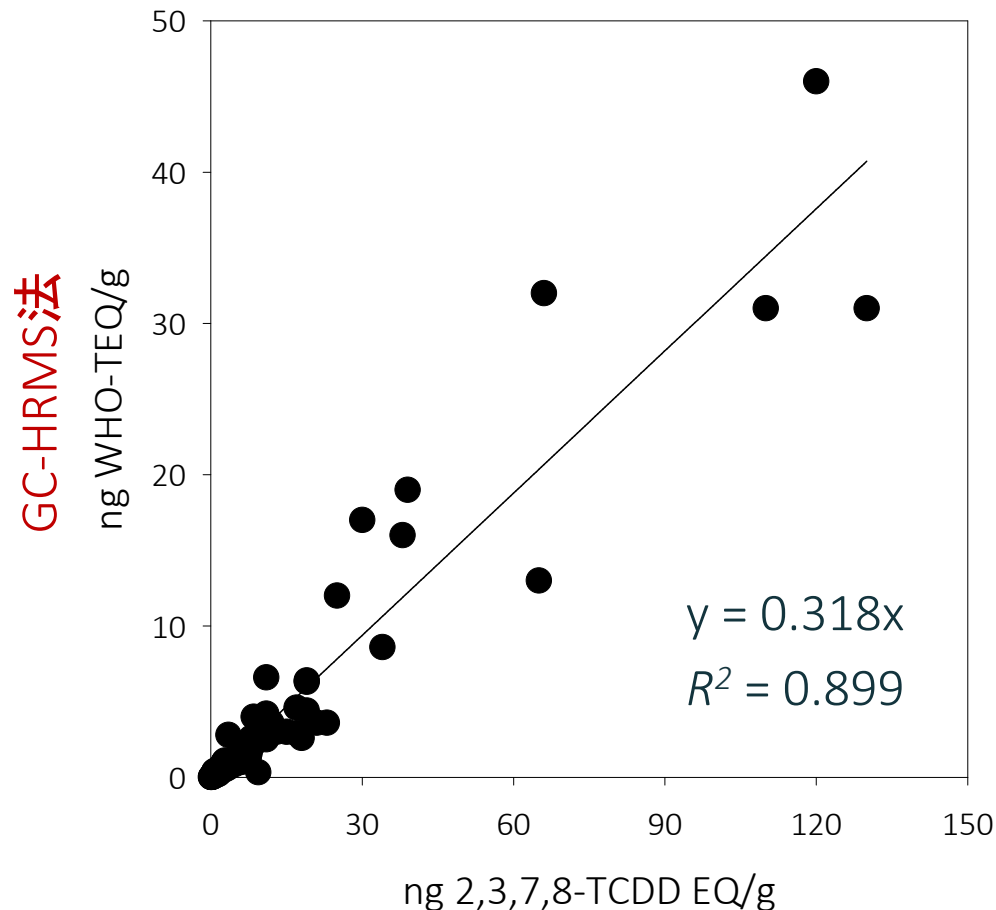
WHO-TEQ

29異性体 個別定量

シンプルな定量法→データ解析時間の短縮→同時多検体処理へ
1検体あたりの人件費を下げることに繋がる

生物検定法の特徴: TCDD等量をWHO-TEQに換算

ばいじん及び燃え殻 ($n=94$)



TCDD等量 × 換算係数 (0.318)
= WHO-TEQ

換算係数の適用は、小型焼却炉の排出ガス、ばいじん及び燃え殻のダイオキシン類の異性体組成が、一般的に施設に寄らず類似する傾向であり、TCDD等量とWHO-TEQが良く相関することに基づく。

生物検定法 (告示番号1の1)

生物検定法の特徴: TCDD等量 > WHO-TEQ

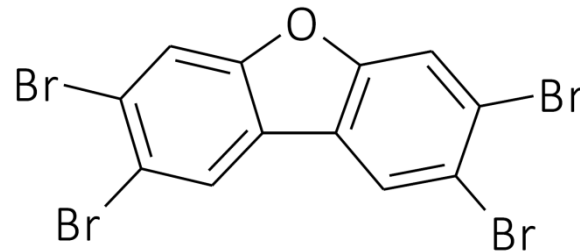
ばいじん及び燃え殻 (n=94)

WHO-TEQが高い異性体 (寄与率)	WHO-TEF*	応答性 (REP)**	REP/TEF
1,2,3,7,8-PeCDD (24%)	1	0.73	0.73
2,3,4,7,8-PeCDF (17%)	0.3	0.58	1.9
1,2,3,6,7,8-HxCDD (7.3%)	0.1	0.098	0.98
2,3,4,6,7,8-HxCDF (6.7%)	0.1	0.31	3.1
2,3,7,8-TCDD (6.3%)	1	1	1
1,2,3,4,7,8-HxCDF (5.9%)	0.1	0.13	1.3
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD (5.5%)	0.01	0.031	3.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF (5.5%)	0.1	0.14	1.4
2,3,7,8-TCDF (5.3%)	0.1	0.067	0.67
1,2,3,7,8,9-HxCDD (5.2%)	0.1	0.061	0.61

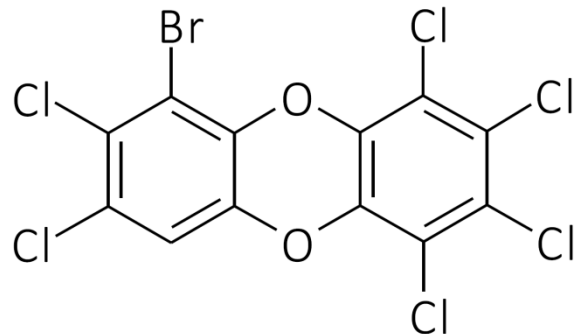
* Van den Berg et al. *Toxicol Sci* (2006), ** Brown et al. *Organohalogen Comp* (2001)

生物検定法の特徴: TCDD等量 > WHO-TEQ

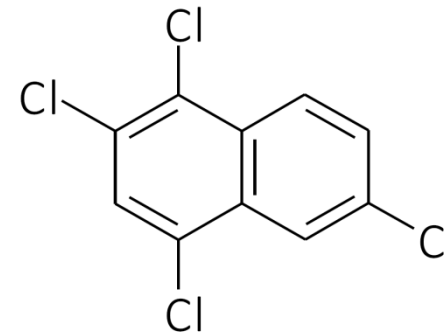
臭素化ダイオキシン類



臭素化塩素化ダイオキシン類



塩素化ナフタレン



ダイオキシン類以外のダイオキシン類縁化合物

生物検定法のQA/QC項目

- 1) LOD及びLOQの確認
- 2) 操作ブランク
- 3) 二重測定
- 4) 既知濃度試料の測定
- 5) 前処理を通じたダイオキシン類の回収率の確認
- 6) 換算係数の確認
- 7) 検量線の精度評価
- 8) 管理図における検出感度の確認



まとめ

- 現状の生物検定法は、GC-HRMS代替法としての意味合いが強い。
- 生物検定法で得られる2,3,7,8-TCDD等量が法規制上の意味を持つ指標となるため、内標準物質による補正ができない中での測定精度の管理や適切な換算係数の設定が重要となる。
- 一方、生物検定法は、ダイオキシン類以外のダイオキシン類縁化合物が検出できる手法であり、スクリーニング法としてダイオキシン類縁化合物の包括的なリスク管理にも適用可能と考えられる。