

補助事業名 環境研究総合推進費補助金循環型社会形成推進研究事業（平成 25 年度～平成 27 年度）

所管 環境省

研究課題名 生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の確立と高度利用に関する研究

課題番号 3K133010

研究代表者名 鈴木 剛（国立研究開発法人国立環境研究所）

国庫補助金 34,166,000 円（うち平成 27 年度：11,111,000 円）

研究期間 平成 25 年 5 月 15 日～平成 28 年 3 月 31 日

本研究のキーワード 臭素化ダイオキシン類、DR-CALUX アッセイ、XDS-CALUX アッセイ、生物検定法、ダイオキシン、簡易測定法

研究分担者 中田俊芳（楸日吉）
半田洋士（楸日吉）

研究概要

1. はじめに（研究背景等）

本研究で評価対象とする PBDD/Fs（臭素化ダイオキシン類）は、国際的に規制されている塩素化ダイオキシン類と同様の毒性や性質を示すと考えられている。臭素化ダイオキシン類は、デカ BDE 等の臭素系難燃剤に含まれる不純物であり、臭素系難燃剤含有製品のライフサイクル（製造・使用・廃棄・リサイクル）を通じて生じる非意図的生成物である。難燃剤は、プラスチックや繊維等の燃えやすい材料を難燃化するために広く使用されている物質であり、火災の発生や延焼を防ぎ火災による死亡リスクを低下する有用性を持つ。難燃剤含有製品は一般生活に欠かせないものとなっており、身の回りの含有製品としては家電製品や防災カーテン、自動車の内装等が挙げられる。環境省の取りまとめによると、2013 年の国内における有機系難燃剤の使用量は、臭素系難燃剤で 42,830 トン／年、塩素系難燃剤で 4,600 トン／年、リン系難燃剤で 29,000 トン／年となっており、臭素系難燃剤の使用量が最も高い状況である。従って、臭素化ダイオキシン類の環境排出は、臭素系含有製品のライフサイクルを通じて今後も継続すると考えられる。2012 年 3 月、国連環境計画（UNEP）と世界保健機構（WHO）は、臭素化ダイオキシン類に毒性等価係数（WHO-TEF）を設定して、塩素化ダイオキシン類と同様に規制管理することを提言した。UNEP と WHO の見解を受けて、POPs 条約やダイオキシン対策特別措置法（特措法）の中で、臭素化ダイオキシン類が国内外で規制される場合、塩素化ダイオキシン類と共に WHO-TEQ（毒性等量）ベースで管理することになる。その場合、ガスクロマトグラフ-高分解能質量分析計（GC-HRMS）法による分析では、これまで以上に分析費用や時間がかかると推察される。GC-HRMS による塩素化ダイオキシン類分析は、1 検体あたり 15 万円程度であり、GC-HRMS による臭素化ダイオキシン類分析を単純に加えると、1 検体あたり 30 万円程度になる見込みである。臭素系難燃剤含有製品の製造や使用状況を考慮すると、費用対効果の良い塩素化／臭素化ダイオキシン類調査態勢の確立は必須と思われる。

2. 研究開発目的

本研究では、環境省が特措法に追加した生物検定法を応用して、費用対効果の良い塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の測定評価法の確立とその高度利用の可能性を検証することを目的として、次の 3 つの課題を実施した。

課題① 臭素化ダイオキシン類検出ツールとしての生物検定法の妥当性評価に関する研究

課題② 生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の確立に関する研究

課題③ 生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の高度利用に向けた研究

3. 研究方法

課題①：本研究では、塩素化ダイオキシン類の簡易測定法として環境省が特措法に追加した生物検定法のうち、Ah レセプターバインディングアッセイ法に分類される DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法を用いて、臭素化ダイオキシン類を含む臭素系ダイオキシン類の AhR を介したルシフェラーゼ活性を評価して、DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法の臭素化ダイオキシン類の検出ツールとしての妥当性を評価した。

課題②：本研究では、生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法を確立することを目的として、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類を分別して評価する簡易前処理法を開発し、生物検定法と簡易前処理法からなる塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の妥当性を確認した。

課題③：本研究では、由来や履歴の異なる小型焼却炉の排出ガス、廃棄物焼却炉のばいじん及び燃え殻、排水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストの計 339 試料を対象として、塩素化ダイオキシン類の WHO-TEQ による排出基準や環境基準を管理基準として、各種試料から調製した精製画分の CALUX-TEQ によって塩素化／臭素化ダイオキシン類汚染試料をスクリーニングした。次いで管理基準超過試料から調製した臭素化ダイオキシン類画分と塩素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ 比によって汚染主体を推定した。終局的には、当該測定評価法の高度利用のための活用方針を考察した。

4. 結果及び考察

課題①：臭素化ダイオキシン類 18 種 (PBDDs 7 異性体、PBDFs 9 異性体、Co-PBBs 2 異性体) と臭素化塩素化ダイオキシン類 14 種 (PXDDs 6 異性体、PXDFs 8 異性体) を評価したところ、WHO-TEF によるリスク管理が推奨されている 2, 3, 7, 8-位に臭素が置換している臭素化ダイオキシン類について顕著な用量反応が示され、得られた用量反応曲線の形状が 2, 3, 7, 8-TCDD と良く似ていた。また、2, 3, 7, 8-位に臭素や塩素が置換している臭素化塩素化ダイオキシン類も基本的に同様の傾向を示した。臭素化ダイオキシン類と臭素化塩素化ダイオキシン類の各種効果濃度 (EC) 及び 2, 3, 7, 8-TCDD 比活性 (REP) に基づくと、臭素化ダイオキシン類の PBDD/Fs については、2, 3, 7, 8-位に臭素が置換している異性体の反応性が強くなる傾向であり、4 臭素化体から 8 臭素化体へと臭素の数が증えるに応じて反応性が弱くなった。臭素化塩素化ダイオキシン類についても、2, 3, 7, 8-位に臭素や塩素が置換している異性体の反応性が強くなる傾向であり、2, 3, 7, 8-位のいずれかに臭素や塩素が置換していない異性体の反応性が低かった。臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類の REP については、PBB-77 を除くと、対応する WHO-TEF との差が 1 オーダー以内であり、WHO-TEF を良く反映していると考えられた。また、臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の混合物を用いて、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の混合物への相加性評価の適用性を確認した。本研究の実施によって、DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法の臭素化ダイオキシン類検出ツールとしての妥当性が確認された。

課題②：本研究では、精製カラムとして 55%硫酸シリカゲルカラムと分画カラムとして 10%硝酸銀シリカゲルカラムを用いる簡易前処理法を開発して、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の化学物質標準品の添加回収試験を実施して、WHO-TEQ に主要に寄与する異性体の高い回収率と繰り返し再現性を確認した。次いで、小型焼却炉の排出ガス、ばいじん及び燃え殻、排水・環境水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストについて塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の WHO-TEQ を把握して既知濃度試料を得た。既知濃度試料の粗抽出液を簡易前処理法に適用して生物検定法で CALUX-TEQ を測定した結果、粗抽出液を 55%硫酸シリカゲルカラム処理した精製画分の CALUX-TEQ は WHO-TEQ よりも高値を示すものの、両者に強い正の相関関係が示され、精製画分の CALUX-TEQ によって臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類で汚染されている試料をスクリーニングできることが示唆された。また、精製画分を 10%硝酸銀シリカゲルカラム分画して得られる塩素化ダイオキシン類画分と臭素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ 比は、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の WHO-TEQ 比と強い正の相関関係を示し、当該分画処理によって得られる CALUX-TEQ 比によって汚染の主体の把握が可能であることを示した。本研究の実施によって、塩素化／臭素化ダイオキシン類スクリーニング法としての生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の適用性が確認できた。本研究で開発し

た簡易前処理は、臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の回収率が良いという点だけでなく、汎用有機溶剤であるヘキサンやアセトンで使用可能であり、さらに省溶剤な方法であることから、汎用性の高い方法といえる。また、55%硫酸シリカゲルカラムと10%硝酸銀シリカゲルカラム共に、1本あたり1500円以下になる見込みであり、価格の面からも汎用性が高いと考えられる。

課題③：得られた結果は、臭素系難燃剤含有製品のライフサイクル（製造・使用・廃棄・リサイクル）において、臭素化ダイオキシン類の高濃度排出事例が存在することを示唆した。具体的には、製造時の排出事例として電子機器製造業の小型焼却炉の排出ガスや難燃製品加工工場の排水、使用時の排出事例としてハウスダスト、廃棄処理時の排出事例として廃棄物焼却炉の排出ガス、ばいじん及び燃え殻、リサイクル時の排出事例として廃電子機器のリサイクル施設集積地区で採取した土壌や底質が、それぞれ挙げられる。環境省は、「臭素系ダイオキシンに係る総括ワークショップ（2012年2月）」において2001年から実施している臭素系ダイオキシン類の排出実態等調査の取得結果と今後の調査方針をまとめている。ワークショップでは、調査結果に基づいて難燃製品加工工場及び難燃剤含有製品のリサイクル処理施設が臭素化ダイオキシン類の主要な発生源であると結論付け、アジア途上国での廃電子機器製品処理施設の作業環境における曝露実態把握やハウスダストを通じた曝露実態の把握等に焦点を絞った今後の調査方針が提案された。本研究で得られた結果は、環境省の結論と矛盾せず、また調査方針を支持するものとなっている。更に本研究は、臭素系難燃剤を使用する製造業の小型焼却炉の排出ガスや都市部の下水処理場の流入水、廃棄物焼却炉由来の排水等、これまでに調査例が少なかった試料媒体においても臭素化ダイオキシン類汚染事例が存在することを示唆した。これらは、本研究で開発した生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法が、臭素化ダイオキシン類及び塩素化ダイオキシン類による汚染実態調査に有用であることを示している。臭素化ダイオキシン類を不純物として含み、その非意図的生成の発生源となるデカ BDE は、2016年にPOPs条約上の廃絶対象物質として管理される見込みである。従ってデカ BDE 含有製品の廃棄量は、今後増加することが見込まれ、その適正管理と処分が求められる。その際、臭素化ダイオキシン類の排出実態調査において、生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の適用が見込める。

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

塩素化ダイオキシン類を検出する生物検定法として、世界的にも知名度の高い DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法における臭素化ダイオキシン類の検出特性を明らかにした。本研究は、購入可能な臭素化ダイオキシン類を全て入手しており、これまでになく網羅的に臭素化ダイオキシン類の活性を評価することができ、塩素化ダイオキシン類との差を明示した。更に、同じ化学物質標準品をラット肝がん細胞由来の DR-CALUX アッセイ法とマウス肝がん細胞由来の XDS-CALUX アッセイ法で評価することで、臭素化ダイオキシン類の毒性の種間差の一端を明らかにした。また、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の混合液による相加性評価では、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類が相加的に作用することを明らかにした。これは、臭素化ダイオキシン類への WHO-TEF 設定にむけて、重要な知見となる。

精製カラムとして55%硫酸シリカゲルカラムを、分画カラムとして10%硝酸銀シリカゲルカラムを、和光純薬工業の協力のもと、世界で初めて開発した。特に、10%硝酸銀シリカゲルカラムと汎用溶媒であるヘキサンとアセトンで塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類を分別することができる知見は、世界で初めて明らかにした知見であり、大きな成果といえる。両カラムにおいて塩素化ダイオキシン類及び臭素化ダイオキシン類の回収率を網羅的に明らかにするだけでなく、様々な試料媒体の供試料量も明示した。これらは、両カラムや本研究で開発した測定評価法の汎用に繋がる重要なポイントである。また、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の WHO-TEQ を明らかにした既知濃度試料を用いて、本研究で開発した測定評価法を評価することで科学的知見に基づいてその有用性と限界を提示した。結果に基づいて、当該測定評価法のスクリーニング法としての位置付け、GC-HRMS 法との併用は、科学的飛躍のない結論として、国際的に広く受け入れられるものである。

本研究で開発した測定評価法による多媒体多検体試料 ($n=339$) の評価結果は、臭素系難燃剤含有製品のライフサイクルにおける曝露・排出実態を明らかにし、臭素化ダイオキシン類の排出実態等を把握するための国内

外の重要フィールドや管理すべきプロセスを明らかにした。当該測定法を活用することによって、臭素化ダイオキシン類の人への曝露や環境負荷の低減を導出できる。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>
特になし。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究で開発した生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法は、ダイオキシン類特別措置法附則二条に基づき実施されている臭素系ダイオキシン類の排出実態等調査に適用可能であり、当該評価法とGC-HRMS法を併用することによって費用対効果と実態調査の充実度を高めることができる。臭素系難燃剤のうち、HBCDは2012年10月に残留性有機汚染物質（POPs）条約に追加され、建築用のビーズ法発泡ポリスチレン及び押出発泡ポリスチレンを除いて、その製造や使用が禁止されている。また、現在も臭素系難燃剤として使用されているデカ BDE についても、2016年にはPOPs条約に追加される見込みであり、自動車及び航空機用の特定の交換部品を適用除外として、その製造や使用が禁止される予定である。今後、既に販売されたHBCD含有製品やデカ BDE 製品は、引き続き使用されることになり、製品寿命を迎えた含有製品から徐々に処理処分されることになる。POPsに指定されたHBCDやデカ BDEについては、含有製品の使用や廃棄等を通じてそれ自体を適切に管理していく必要があるが、非意図的生成物或いは不純物として含有製品に付随する臭素化ダイオキシン類も適切に管理していく必要がある。従って、臭素化ダイオキシン類の排出実態調査は今後も必要と考えられ、本研究で開発した生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の高度利用による貢献が見込める。また、アジアやアフリカの途上国で臭素系難燃剤を含む廃電子機器や廃自動車の処理や不適切なリサイクルが大きな社会問題になっており、塩素化／臭素化ダイオキシン類による汚染実態把握において日本発の当該測定評価法のニーズがある。

6. 研究成果の主な発表状況

(1) 主な誌上発表

<査読付論文>

- 1) G. Suzuki, N.M. Tue, S. Takahashi, S. Tanabe, H. Takigami: Current Organic Chemistry, Vol. 18, 2231-2239 (2014)
“Effect-based hazard identification of house dust by in vitro assays detecting dioxin-like compounds, thyroid and reproductive toxicants”
- 2) 中村昌文：環境技術、44(7), 18-21 (2015)
「生物検定法の実際 (2) ダイオキシン類簡易測定法 ケイラックス®アッセイの実際」
- 3) G. Suzuki, M. Someya, H. Matsukami, N.M. Tue, N. Uchida, L.H. Tuyen, P.H. Viet, S. Takahashi, S. Tanabe, A. Brouwer, H. Takigami: Emerging Contaminants, in press
“Comprehensive evaluation of dioxins and dioxin-like compounds in surface soils and river sediments from e-waste-processing sites in a village in northern Vietnam: Heading towards the environmentally sound management of e-waste”

<査読付論文に準ずる成果発表>
特になし。

(2) 主な口頭発表（学会等）

- 1) 鈴木 剛、染矢雅之、松神秀徳、宇智田奈津代、Tue Nguyen M、藤森 崇、Tuyen Le H、阿草哲郎、Viet Pham H、高橋 真、田辺信介、滝上英孝：第22回環境化学討論会（2013）
「ベトナム北部における E-waste リサイクルに伴うダイオキシン類縁化合物の環境排出実態調査（第一報）」

- 2) G. Suzuki, M. Someya, H. Matsukami, N. Uchida-Noda, N.M. Tue, T. Fujimori, L.H. Tuyen, T. Agusa, P.H. Viet, S. Takahashi, S. Tanabe, H. Takigami: 33th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs. Daegu, Korea, 2013
 “Emissions of dioxin-like compounds from primitive E-waste recycling activities in the northern part of Vietnam -1st report-”
- 3) 鈴木 剛、染矢雅之、松神秀徳、宇智田奈津代、Tue Nguyen M、藤森 崇、Tuyen Le H、阿草哲郎、Viet Pham H、高橋 真、田辺信介、滝上英孝：第 23 回環境化学討論会（2014）
 「ベトナム北部の E-waste リサイクル施設におけるダイオキシン類縁化合物の環境排出実態調査(第二報)」
- 4) 中村 昌文、Tue Nguyen M、中田俊芳、半田洋士、鈴木 剛：第 23 回環境化学討論会（2014）
 「生物検定法による臭素系ダイオキシン類の検出特性評価」
- 5) G. Suzuki, M. Someya, H. Matsukami, N. Uchida-Noda, N.M. Tue, T. Fujimori, L.H. Tuyen, T. Agusa, P.H. Viet, S. Takahashi, S. Tanabe, H. Takigami: 1st Southeast Asian Workshop on the Integrated Exposure and Effects Analysis. Hanoi, Vietnam, 2014
 “Effect and Exposure Analysis of Dioxin-like Compounds in Soil and River Sediment Collected from E-waste Recycling Village in the Northern Part of Vietnam”
- 6) 鈴木 剛、中村昌文、中田俊芳、半田洋士、Nguyen Minh Tue、滝上英孝：第 24 回環境化学討論会（2015）
 「生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類の分別測定評価法の確立」

7. 研究者略歴

研究代表者：鈴木 剛

岩手大学大学院連合農学研究科修了、農学博士、現在、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 主任研究員／環境リスク・健康研究センター エコチル調査コアセンター 主任研究員（兼務）

研究分担者：

1) 中田 俊芳

摂南大学薬学部卒業、現在、株式会社日吉 技術部 研究課 食品衛生係

2) 半田 洋士

龍谷大学理工学部卒業、現在、株式会社日吉 技術部 研究課 ダイオキシン係

3K133010 生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の確立と高度利用に関する研究**[要旨]**

2011年3月、国連環境計画 (United Nations Environmental Programme, UNEP) と世界保健機構 (World Health Organization, WHO) は、臭素化ダイオキシン類に毒性等価係数 (Toxic Equivalency Factor, TEF) を設定して、塩素化ダイオキシン類と同様に規制管理することを提言した。UNEP と WHO の見解を受けて、ストックホルム条約やダイオキシン対策特別措置法 (特措法) の中で、臭素化ダイオキシン類が国内外で規制される場合、塩素化ダイオキシン類と共に毒性等量 (Toxic Equivalents, TEQ) ベースで管理することになる。その場合、ガスクロマトグラフ-高分解能質量分析計法による分析では、これまで以上に分析費用や時間がかかると推察される。本研究では、特措法に追加された塩素化ダイオキシン類を測定する生物検定法を応用して、費用対効果の良い塩素化／臭素化ダイオキシン類の測定評価法の確立とその高度利用の可能性を検証した。本研究では、生物検定法の臭素化ダイオキシン類検出ツールとしての妥当性を確認し、55%硫酸シリカゲルカラムと 10%硝酸銀シリカゲルカラムを用いる塩素化／臭素化ダイオキシン類の分別評価法を開発して、生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法 (測定評価法) を確立した。既知濃度試料について、測定評価法による 55%硫酸シリカゲルカラムで処理した精製画分で塩素化／臭素化ダイオキシン類のスクリーニングが、10%硝酸銀シリカゲルカラムで処理した分離画分で塩素化／臭素化ダイオキシン類の寄与把握が、それぞれ可能であった。測定評価法の高度利用可能性を評価するため、廃棄物焼却炉の排出ガス、ばいじん及び燃え殻、排水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストの計 339 試料を測定評価法に適用して、WHO-TEQ による環境基準・排出基準等の管理基準濃度を超過する試料をスクリーニングし、基準超過試料の塩素化／臭素化ダイオキシン類の寄与を把握した。測定評価の結果は、臭素系難燃剤関連試料で媒体問わず臭素化ダイオキシン類の存在割合が高くなることを示唆し、排出実態等を把握すべき国内外の重要フィールドを明らかにした。本研究の結果は、塩素化／臭素化ダイオキシン類の管理において測定評価法の高度利用が可能であることを示した。

1. はじめに

本研究で評価対象とする臭素化ダイオキシン類 (Polybrominated dibenzo-*p*-dioxins/dibenzofurans, PBDD/Fs) は、国際的に規制されている塩素化ダイオキシン類と同様の毒性や性質を示すと考えられている。臭素化ダイオキシン類は、デカ BDE 等の臭素系難燃剤に含まれる不純物であり¹⁾、臭素系難燃剤含有製品のライフサイクル (製造・使用・廃棄・リサイクル) を通じて生じる非意図的生成物である²⁻⁴⁾。難燃剤は、プラスチックや繊維等の燃えやすい材料を難燃化するために広く使用されている物質であり、火災の発生や延焼を防ぎ火災による死亡リスクを低下する有用性を持つ。難燃剤含有製品は一般生活に欠かせないものとなっており、身の回りの含有製品としては家電製品や防炎カーテン、自動車の内装等が挙げられる。環境省の取りまとめによると⁵⁾、2013 年の国内における有機系難燃剤の使用量は、臭素系難燃剤で 42,830 トン/年、塩素系難燃剤で 4,600 トン/年、リン系難燃剤で 29,000 トン/年となっており、臭素系難燃剤の使用量が最も高い状況である。従って、臭素化ダイオキシン類の環境排出は、臭素系含有製品のライフサイクルを通じて今後も継続すると考えられる。

臭素化ダイオキシン類に係る問題は、国内のみならず海外においても臭素系難燃剤含有製品の使用・廃棄・リサイクル時に顕在化しており、廃電子機器の不適切なリサイクルに伴う環境排出や人曝露⁶⁻¹⁰⁾、臭素系難燃剤含有製品からハウスダストへの移行と人曝露等^{9,12,13)}が問題となっている。このような状況の下、2012 年 3 月、UNEP と WHO は、塩素化ダイオキシン類の WHO-TEF を臭素化ダイオキシン類に適用して、塩素化ダイオキシン類だけでなく臭素化ダイオキシン類によるリスクを毒性等量 (WHO-TEQ: 個別異性体の実測濃度に WHO-TEF を乗じて算出) で管理することを提言した¹³⁾。国内では、ダイオキシン類対策特別措置法附則二条に基づいて環境省によって臭素系ダイオキシン類の排出実態等が調査されており、臭素系難燃剤を使用する難燃製品加工工場や含有製品のリサイクル処理施設が重要な臭素化ダイオキシン類の発生源であることが明らかにされている。このような状況を踏まえると、ダイオキシン類等の残留性有機汚染物質 (Persistent Organic Pollutants, POPs) を国際的に規制管理しているストックホルム条約やダイオキシン類特措法において、臭素化ダイオキシン類も規制対象となる可能性がある。臭素化ダイオキシン類が規制管理される場合、UNEP/WHO の提言に基づく塩素化ダイオキシン類と共に WHO-TEQ ベースで管理する可能性が高い。その場合、塩素化ダイオキシン類及び臭素化ダイオキシン類を測定するために、ガスクロマトグラフ-高分解能質量分析計 (Gas Chromatography-High-Resolution Mass Spectrometry, GC-HRMS) を用いることになり、これまで以上に分析費用がかかると推察される。GC-HRMS による塩素化ダイオキシン類分析は、1 検体あたり 15 万円程度であり、GC-HRMS による臭素化ダイオキシン類分析を単純に加えると、1 検体あたり 30 万円程度になる見込みである。臭素系難燃剤含有製品の製造や使用状況を考慮すると、費用対効果の良い塩素化/臭素化ダイオキシン類調査態勢の確立は必須と思われる。

環境省は、GC-HRMS による塩素化ダイオキシン類分析のこのような難点を補うために、2004 年 12 月にダイオキシン類対策特別措置法 (特措法) 施行規則の一部を改正して、廃棄物焼却炉からの排出ガス (焼却能力 2,000 kg/h 未満の小型焼却炉に限定) やばいじん及び燃え殻に含まれる塩素化ダイオキシン類の測定の一部に簡易測定法を追加するとともに、2005 年 9 月にダイオキシン類対策特別措置法施行規則第二条第一項第四号の規定に基づき環境大臣が定める方法 (平成 17 年環境省告示第 92 号) を定め、4 種類の生物検定法を指定した。2010 年 3 月に当該告示の一部を改正して、現在は 10 種類の生物検定法が塩素化ダイオキシン類の簡易測定法として指定されている。塩素化ダイオキシン類の毒性作用は、細胞質内に存在するアaryl hydrocarbon (Aryl hydrocarbon, Ah) レセプターを介した遺伝子発現に起因すると考えられている¹⁴⁾。環境省が特措法に追加した生物検定法 (Ah レセプターバインディングアッセイ法 6 種類、イムノアッセイ法 4 種類) のうち、塩素化ダイオキシン類の Ah レセプターへの結合に応じた遺伝子発現を評価する「Ah レセプターバインディングアッセイ法」は、測定原理を考慮すると臭素化ダイオキシン類の測定評価への応用が期待できる。しかしながら、現行の生物検定法では、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類を包括して評価しており、環境基準や排出基準等の管理基準を超過した試料について構成内訳 (塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の寄与割合等) を把握できない難点がある。また、臭素化ダイオキシン類に係る問題を考慮すると、小型焼却炉の排出ガス、ばいじん及び燃え殻への適用に限定されている生物検定法を、その他の環境試料で高度利用することが望ましい。

2. 本研究の目的

本研究では、特措法に追加された生物検定法を応用して、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の測定評価法の確立とその高度利用の可能性を検証することを目的として、次の3つの課題を実施した。

- 課題① 臭素化ダイオキシン類検出ツールとしての生物検定法の妥当性評価に関する研究
- 課題② 生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の確立に関する研究
- 課題③ 生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の高度利用に向けた研究

課題①では、生物検定法の DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法における臭素化ダイオキシン類の検出特性を評価してその検出ツールとしての妥当性を評価した。課題②では、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類を分別して評価する簡易前処理法の開発と、濃度既知試料を用いて生物検定法と簡易前処理法からなる塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法(測定評価法)の妥当性を評価した。課題③では、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類を測定していない小型焼却炉の排出ガス、廃棄物焼却炉のばいじん及び燃え殻、排水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストの多媒体多検体試料(n=339)を測定評価法に適用し、塩素化／臭素化ダイオキシン類汚染試料のスクリーニングを行い、臭素化ダイオキシン類及び塩素化ダイオキシン類の寄与を把握して、測定評価法の高度利用のための活用方針を考察した。

3. 臭素化ダイオキシン類検出ツールとしての生物検定法の妥当性評価に関する研究

(1) 研究目的

本研究では、塩素化ダイオキシン類の簡易測定法として環境省が特措法に追加した生物検定法のうち、Ah レセプターバインディングアッセイ法に分類される DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法の臭素化ダイオキシン類の検出ツールとしての妥当性を評価した。具体的には、DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法を用いて臭素化ダイオキシン類の Ah レセプターを介したルシフェラーゼ活性を評価して、用量反応曲線の形状や用量反応曲線から算出する各種評価指標を評価して検出特性を把握した。次いで、WHO-TEF との比較考察や WHO-TEQ によるリスク管理の基礎となっている用量相加性の評価を実施して、臭素化ダイオキシン類測定評価における DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法の適用性について考察した。

(2) 研究方法

1) 化学物質標準品

本研究で使用した化学物質標準品を表 1 に示す。

a. 個別評価

個別評価では、臭素化ダイオキシン類と臭素化塩素化ダイオキシン類を評価対象とした。臭素化ダイオキシン類については、WHO-TEF の設定が提案されている化学物質について、標準品として購入可能なものを全て入手した。臭素化塩素化ダイオキシン類については、2013 年 8 月時点で標準品として購入可能なものを全て入手した。購入した化学物質標準品は、粉末ではなく有機溶剤に溶解している状態のため、有機溶剤から DMSO に転溶して生物検定法による評価を実施した。生物検定法評価の基準物質として使用した 2,3,7,8-TCDD については、DMSO に溶解しているものを購入して使用した。

b. 混合物評価

塩素化ダイオキシン類のリスクは WHO-TEF を各異性体の量（濃度）に乗じた値の総和を求めて毒性等量（WHO-TEQ）を算出して評価（相加性評価）している。塩素化ダイオキシン類に加えて、臭素化ダイオキシン類のリスクも WHO-TEQ で管理していくことになると、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類が用量相加的に作用することが前提となる。しかし、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の混合物への相加性評価の適用性はこれまでに評価されていない。混合物評価では、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の混合物を用いて、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の混合物への相加性評価の適用性を評価した。塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の混合物は文献調査に基づいて調製しており、詳細は“結果と考察”に記述する。

2) 生物検定法

本研究では、環境省が特措法に追加した生物検定法のうち、「Ah レセプターバインディングアッセイ法」に分類される、ダイオキシン類応答性組換え細胞 HIL6.1c2（マウス肝がん細胞 Hepa1c1c7 由来）を用いるレポーター遺伝子アッセイ法の XDS-CALUX アッセイ法と、ダイオキシン類応答性組換え細胞 H4IIE-luc（ラット肝がん細胞 H4IIE 由来）を用いるレポーター遺伝子アッセイ法の DR-CALUX アッセイ法を使用した。これらの細胞は、ダイオキシン類等の Ah レセプターリガンドを曝露すると、細胞内に取り込まれたリガンドが Ah レセプターと結合して Arnt と複合体を形成し、エンハンサー領域に存在するダイオキシン類応答配列 DRE に結合して、レポーター遺伝子であるルシフェラーゼ遺伝子を含む下流遺伝子転写の結果、ルシフェラーゼを産出する。これにルシフェラーゼの基質であるルシフェリンを加えると、酸素存在下でルシフェリンが酸化され、オキシルシフェリンと二酸化炭素になる際に生物発光を生じる。DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法は、一連の曝露試験を通じて生じる生物発光をルシフェラーゼ活性として測定して、ダイオキシン類等の Ah レセプターリガンドの定量を行う測定法である。DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法における曝露試験の概要を以下に示す。

a. 細胞培養と播種

DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法で使用するダイオキシン類応答性組換え細胞は、培養用培地を用いて、37℃及び 5% CO₂ の条件で培養した。曝露試験を実施する際には、培養フラスコ中の細胞を、96well マイクロプレートに 70,000~100,000 cells/well の割合で播種して培養した。細胞は、約 24 時間培養することで、well 底面に対して 95%程度まで増殖する。この条件下で、化学物質標準品への曝露を

実施した。

b. 化学物質標準品への曝露

2,3,7,8-TCDD、臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類の化学物質標準品の細胞への曝露は、DMSOに溶解した化学物質標準品を培養用培地に添加して調製した曝露用培地を、well内で増殖した細胞に添加して実施した。曝露試験時の培地中DMSOの最終濃度は、0.8%になるように調製した。

c. ルシフェラーゼ活性の測定

曝露試験20～24時間後、96wellマイクロプレートから培地を取り除き、界面活性剤を含む緩衝液でwell内の細胞を溶解した。化学物質標準品によって誘導されたルシフェラーゼを含む細胞溶解液に、ルシフェリンを添加して、ルミノメーターを用いてルシフェラーゼによる発光を測定した。

3) データ解析

a. 用量反応曲線に基づく各種効果濃度

本研究では、2,3,7,8-TCDDと臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類の化学物質標準品の曝露試験で得られたルシフェラーゼ活性を対象として、下式①を組み込んだ曲線フィッティング (Sigma Plot version 13.0, Systat Software) によって用量反応曲線を描き、20%効果濃度 (20% effective concentration, EC₂₀) 及び50%効果濃度 (Median effective concentration, EC₅₀) を算出した。当該曲線フィッティングを用いることによって、試験最高濃度においてもプラトー (濃度に応じたルシフェラーゼ活性の増加が示されなくなる) に達した最大ルシフェラーゼ活性値が得られない化学物質標準品について用量反応曲線が得られる場合がある。このような化学物質標準品についても用量反応曲線からEC₂₀及びEC₅₀の算出を試みた。また、本研究では、曲線フィッティングによって用量反応曲線が得られない化学物質標準品が存在するため、活性評価の基準物質として使用している2,3,7,8-TCDDの5%効果濃度 (EC₅) に相当するルシフェラーゼ活性を示す濃度についてもEC_{5TCDD}として算出した。

$$y = \min + \frac{(\max - \min)}{(1 + 10^{(\log a_1 - x) \times a_2})} \quad \text{①}$$

y = 試験物質のルシフェラーゼ活性の測定値

x = 試験物質の曝露試験濃度

\min = DMSOのルシフェラーゼ活性の測定値

\max = 試験物質の曝露試験最高濃度におけるルシフェラーゼ活性の測定値

a_1 = 試験物質のEC₅₀

a_2 = Hillslope (中点における曲線の傾き)

b. 2,3,7,8-TCDDに対する比活性

本研究では、2,3,7,8-TCDDと臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類の化学物質標準品で算出したEC_{5TCDD}、EC₂₀及びEC₅₀の比較から (図1)、下式②によって2,3,7,8-TCDDに対する化学物質標準品の各比活性 (Relative potency, REP) をREP-EC_{5TCDD}、REP-EC₂₀及びREP-EC₅₀として算出した。また、REPは、毒性学的視点のモルベースだけでなく、TEQを算出する際に使用する重量ベースでも求めた。

$$\text{REP} - \text{EC}_x = \frac{\text{EC}_x \text{ for tested compound}}{\text{EC}_x \text{ for 2,3,7,8-TCDD}} \quad \text{②}$$

x = EC_{5TCDD}、EC₂₀ 及び EC₅₀

(3) 結果と考察

1) 用量反応曲線

本研究では、臭素化ダイオキシン類 18 種 (PBDDs 7 異性体、PBDFs 9 異性体、Co-PBBs 2 異性体) と臭素化塩素化ダイオキシン類 14 種 (PXDDs 6 異性体、PXDFs 8 異性体) のルシフェラーゼ活性誘導能を評価した。顕著な用量反応を示す臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類について、曲線フィッティングによって用量反応曲線を描いた (図 2 及び図 3)。

DR-CALUX アッセイ法では、2-MBDF、2,8-DiBDF、2,4,8-TriBDF 及び 8-B-2,3,-DiCDF を除く 28 異性体で顕著な用量反応が示された。XDS-CALUX アッセイ法では、2-MBDF 及び 2,8-DiBDF を除く 30 異性体で顕著な用量反応が示された。DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法共に、WHO-TEF によるリスク管理が推奨されている 2,3,7,8-位に臭素が置換している臭素化ダイオキシン類について顕著な容量反応が示された。また、XDS-CALUX アッセイ法では、非 2,3,7,8-位臭素置換体の 2,4,8-TriBDF についても用量反応が示された。臭素化塩素化ダイオキシン類については、2,3,7,8-位にハロゲン (臭素或いは塩素) が置換しているものに加えて、多くの非 2,3,7,8-位ハロゲン置換体 (DR-CALUX アッセイ法: 7-B-2,3-DiCDD、1,2-B-7,8-DiCDF、8-B-2,3,4-TriCDF; XDS-CALUX アッセイ法: 7-B-2,3-DiCDD、1,2-B-7,8-DiCDF、8-B-2,3,4-TriCDF、8-B-2,3-DiCDF) についても顕著な用量反応が示されている。XDS-CALUX アッセイ法は、DR-CALUX アッセイ法と比較して、非 2,3,7,8-位ハロゲン置換体を検出する傾向であった。

毒性の類似性の評価指標¹⁵⁾といわれている用量反応曲線の形状について、物質間及びアッセイ間で比較評価した。用量反応曲線の形状をみると、DR-CALUX アッセイ法では、試験最高濃度でプラトーに達している用量反応曲線の傾きや飽和ルシフェラーゼ活性が、2,3,7,8-TCDD、臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類で概ね類似する傾向であった。一方で、XDS-CALUX アッセイ法では、試験最高濃度でプラトーに達している用量反応曲線の傾きが、2,3,7,8-TCDD、臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類で概ね類似する傾向であるが、飽和ルシフェラーゼ活性が 2,3,7,8-TCDD と比較して PBDFs や PXDDs の一部異性体で高くなる傾向であった。DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法共に、PBB-77 の用量反応曲線は、2,3,7,8-TCDD と傾きが異なっていた。

これらの結果は、マウス由来細胞を用いる XDS-CALUX アッセイとラット由来細胞を用いる DR-CALUX 法で、臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類への反応性が若干異なり、マウスとラットの種間差を示している可能性がある。また、PBB-77 でみられる差は、物質構造に起因すると考えられ、ダイオキシン類と同じく扁平構造を有する Co-PBB であるが、ジベンゾ-パラ-ダイオキシン骨格やジベンゾフラン骨格の 2,3,7,8-位ハロゲン置換体とルシフェラーゼ誘導能が異なることに関連すると考えられた。

2) 効果濃度 (EC) と 2,3,7,8-TCDD に対する比活性 (REP)

DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法で得られた用量反応曲線から算出した 2,3,7,8-TCDD、臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類の各種 ECs (EC_{5TCDD} 、 EC_{20} 及び EC_{50}) と 2,3,7,8-TCDD に対する REPs ($REP-EC_{5TCDD}$ 、 $REP-EC_{20}$ 及び $REP-EC_{50}$) を表 2 及び表 3 に示す。

臭素化ダイオキシン類と臭素化塩素化ダイオキシン類の EC 及び REP に基づくと、DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法共に、臭素化ダイオキシン類の PBDD/Fs については、2,3,7,8-位に臭素が置換している異性体の反応性が強くなる傾向であり、4 臭素化体から 8 臭素化体へと臭素の数が増えるに応じて反応性が弱くなった。これは、WHO-TEF が設定されている塩素化ダイオキシン類と同様である。臭素化塩素化ダイオキシン類についても、2,3,7,8-位に臭素や塩素が置換している異性体の反応性が強くなる傾向であり、7-B-2,3-DiCDD、1,2-B-7,8-DiCDF 及び 8-B-2,3,4-TriCDF のように 2,3,7,8-位のいずれかに臭素や塩素が置換していない異性体の反応性が低かった。また、ハロゲンの置換位置と数が同じ臭素化ダイオキシン類と臭素化塩素化ダイオキシン類を比較すると、臭素化塩素化ダイオキシン類で反応性が強くなる傾向であった。これらの結果は、Ah レセプターへの結合性に起因すると考えられ、2,3,7,8-位ハロゲン置換体で原子サイズの大きい臭素置換数が多くなることで分子サイズが大きくなり Ah レセプターへの結合性が低下する傾向であることを示している。一方で、臭素化塩素化ダイオキシン類は、ハロゲン置換数が同じで臭素置換数の多い異性体が臭素置換数の少ない異性体よりも REP が高くなる場合があり (2,3-B-7,8-DiCDD > 2-B-3,7,8-TriCDD、2,3-B-7,8-DiCDF > 3-B-2,7,8-TriCDF)、分子サイズだけでなく臭素と塩素の置換位置や組み合わせによって Ah レセプターへの結合性が変化することも考えられた。

XDS-CALUX アッセイ法における 2,3,7,8-TCDD の EC は DR-CALUX アッセイ法の 4 倍程度であり、2,3,7,8-TCDD に対する反応性 (感度) は XDS-CALUX アッセイ法よりも DR-CALUX アッセイ法で 4 倍程度高いといえる。臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類の反応性についても、

XDS-CALUX 法よりも DR-CALUX アッセイ法で EC が低い傾向であったが、その差は 2,3,7,8-TCDD でみられる程ではなかった。実際に、臭素化ダイオキシン類と臭素化塩素化ダイオキシン類の REP は、OBDD や 3-B-2,7,8-TriCDF の一部異性体を除き、XDS-CALUX アッセイ法で高く、DR-CALUX アッセイ法と比較して EC_{5TCDD} -REP で 2.6 ± 1.9 倍（平均±標準偏差）、 EC_{20} -REP で 2.5 ± 1.6 倍、 EC_{50} -REP で 2.6 ± 1.7 倍高かった。2,3,7,8-TCDD を基準とすると、マウス由来細胞を用いる XDS-CALUX アッセイでは、ラット由来細胞を用いる DR-CALUX 法と比較して、臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類の相対的反応性が高いことが示唆された。

既報¹⁶⁻¹⁹⁾で得られている臭素化ダイオキシン類と臭素化塩素化ダイオキシン類の REP を表 4 に示す。DR-CALUX アッセイ法では、Behnisch ら¹⁶⁾によって 3 PBDDs、4 PBDFs、2 Co-PBBs、5 PXDDs 及び 1 PXDFs の REP- EC_{20} が、Olsman ら¹⁷⁾によって 2 PBDDs、1 PBDF 及び 3 PXDDs の REP- EC_{25} が、それぞれ報告されている。本研究の DR-CALUX アッセイ法で得られた REP- EC_{20} は、10 倍の差が示された PBB-77 を除くと、21 物質中 20 物質が既報と概ね同程度であった。XDS-CALUX アッセイ法では、Samara ら¹⁸⁾によって 2 PBDDs、4 PBDFs 及び 2 PXDDs の REP- EC_{20} が、Brown ら¹⁹⁾によって 1 PBDDs、1 PBDF 及び 1 PXDDs の REP- EC_{20} が、それぞれ報告されている。本研究の XDS-CALUX アッセイ法で得られた REP- EC_{20} は、38 倍程度の差が示された PBB-77¹⁸⁾を除くと、11 物質中 9 物質が既報と概ね同程度であった。これらの結果は、本研究で実施された DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法による評価結果の再現性と妥当性を示している。一方、PBB-77 でみられる大きな差の原因は不明である。

3) 臭素化ダイオキシン類の REP と WHO-TEF の比較評価

WHO-TEF は塩素化ダイオキシン類に設定されている毒性等価係数であるが¹⁵⁾、2011 年 11 月に開催された WHO/UNEP 専門家会合において臭素化ダイオキシン類にも適用することが推奨された¹³⁾。本研究では、これに準じて、臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類の REP- EC_{5TCDD} と WHO-TEF を比較した（図 4）。

臭素化ダイオキシン類の REP- EC_{5TCDD} については、PBB-77 を除くと、概ね対応する WHO-TEF と同程度であった。臭素化ダイオキシン類の WHO-TEF によるリスク管理に関して WHO/UNEP 専門家会合が取りまとめた総説¹³⁾では、哺乳類を用いた臭素化ダイオキシン類の毒性試験で得られた REP が、対応する塩素化ダイオキシン類の WHO-TEF と 1 オーダー以内の差であったと報告している。本研究の REP は、哺乳類細胞を使用するレポーター遺伝子アッセイ法、いわゆる *in vitro* 試験法で得られているものの、図 4 に示す通り、1 オーダー以内の差であり、WHO-TEF を良く反映していると考えられた。一方で PBB-77 については、REP- EC_{5TCDD} と対応する WHO-TEF に 2 オーダー以上の差が生じている。WHO-TEF は、動物実験に基づいて決定されており、Ah レセプターへの結合性と下流遺伝子発現だけでなく、代謝や体外排出も考慮されている。ダイオキシン類と同様に、臭素化ダイオキシン類についても、体内で代謝を受けにくく残留性が高いと考えられている¹³⁾が、本研究の結果は、PBB-77 がその他の臭素化ダイオキシン類と比較して代謝を受け易く残留性が低いことを示すのかもしれない。PBB-77 とハロゲン置換位置と数が同じ PCB-77 については、代謝や体外排出について種間差が大きいと言われており、PCB-77 の代謝能が高い哺乳類の WHO-TEF が 0.0001 であるのに対し¹³⁾、PCB-77 の代謝能が低い鳥類の WHO-TEF が 0.05 と設定されている¹⁴⁾。これらを考慮すると、PBB-77 の REP- EC_{5TCDD} は、代謝や体外排泄を動物実験のように考慮できないことに起因すると考えられた。

臭素化塩素化ダイオキシン類の REP- EC_{5TCDD} についても、概ね対応する WHO-TEF と同程度であった。臭素化ダイオキシン類と同様に、臭素化塩素化ダイオキシン類の REP についても、図 4 に示す通り、1 オーダー以内の差であり、WHO-TEF を良く反映していると考えられた。但し、PXDFs の REP- EC_{5TCDD} については、WHO-TEF よりも 1 オーダー程度高くなる傾向であった。中でも、2,3-B-7,8-DiCDF、3-B-2,7,8-TriCDF 及び 4-B-2,3,7,8-TCDF は、2,3,7,8-TCDD と同程度以上の REP- EC_{5TCDD} を有しており、最も毒性の強い 2,3,7,8-TCDD よりも毒性が強い可能性がある。これらの結果は、臭素化ダイオキシン類と同様に、TEQ による臭素化塩素化ダイオキシン類のリスク管理も重要であることを示唆している。但し、PXDDs は 1550 異性体が、PXDFs で 3050 異性体が、それぞれ理論上存在する可能性がある²⁰⁾。これらを考慮した塩素化ダイオキシン類、臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類の包括的なリスク管理法の開発が必要と考えられる。

4) 塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の混合物への相加性評価の適用評価

塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の混合物への相加性評価の適用性を評価するために、環境省が特措法の附則第二条に基づき実施している「臭素系ダイオキシン類排出等実態調査(平成 13 年度～)」

5.21-33)や既報^{9,12)}で、環境大気、環境水、底質、地下水、土壌、降下ばいじん、汚泥、焼却灰、排出ガス、排水、建屋内空気及びハウスダストを対象として得られている測定データに基づいて臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の混合物を調製した。具体的には、各種試料媒体毎に臭素化ダイオキシン類及び塩素化ダイオキシン類濃度データを取りまとめ、各異性体濃度に DR-CALUX アッセイ法の REP-EC_{5TCDD} を乗じて、生物検定法における反応性を考慮した個別異性体の TEQ (Theoretical CALUX-TEQ) を算出した。DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法の REP-EC_{5TCDD} は、図 4 に示す通り同程度であることを既に述べた。各種試料媒体の Theoretical CALUX-TEQ に対する各異性体の平均構成割合をみると (表 5 及び表 6)、臭素化ダイオキシン類では 2,3,7,8-TBDF、1,2,3,7,8-PeBDF、2,3,4,7,8-PeBDF、1,2,3,4,7,8-HxBDF 及び 1,2,3,4,6,7,8-HpBDF が、塩素化ダイオキシン類では 1,2,3,7,8-PeCDD、1,2,3,6,7,8-HxCDD、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD、2,3,7,8-TCDF、1,2,3,7,8-PeCDF、2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,4,7,8-HxCDF、2,3,4,6,7,8-HxCDF 及び PCB-126 が、それぞれ媒体問わず共通して高い傾向であった。これらの結果に基づいて、臭素化ダイオキシン類については主要 5 異性体から構成される混合物を、塩素化ダイオキシン類については主要 9 異性体から構成される混合物を、それぞれ調製した。文献調査に基づく各種試料媒体の Theoretical CALUX-TEQ に対する各異性体の平均構成割合と、実際に調製した混合物の構成割合を、臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類別に図 5 に示す。

臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の混合物を用いて、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の混合物への相加性評価の適用性評価を実施した。具体的には、臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の CALUX-TEQ の比率が、1 : 9、1 : 1、9 : 1 になるように調製した混合物について、DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法に供した。図 6 に示すように、DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法共に、得られた実験値は、用量相加性に基づいて計算される値と同程度の値を示した。塩素化ダイオキシン類については、各異性体の濃度に個別の WHO-TEF を乗じた値を総和して WHO-TEQ が算出されており、WHO-TEQ を用いてリスクが管理されている。これは、塩素化ダイオキシン類の毒性が用量相加性を示すことに基づいた評価法である^{14,35)}。臭素化ダイオキシン類については、データが限られているものの、幼魚を用いたバイオアッセイによって 2,3,7,8-TBDD と 1,2,3,7,8-PeBDD、2,3,7,8-TBDD と 1,2,3,7,8-PeBDF、1,2,3,7,8-PeBDD と 2,3,4,7,8-PeBDF、3,3',4,4'-TBB と 2,3,4,7,8-PeBDF のペアについて用量相加性が確認されている³⁵⁾。当該研究に基づき、WHO/UNEP 専門家会合は臭素化ダイオキシン類の毒性も用量相加性で評価できると結論付けている¹³⁾。塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の混合物への相加性評価の適用については、これまでに議論されてこなかったが、本研究によって実験的に評価され、その妥当性が示された。

(4) まとめ

本研究では、塩素化ダイオキシン類の簡易測定法として環境省が特措法に追加した生物検定法のうち、Ah レセプターバインディングアッセイ法に分類される DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法を用いて、臭素化ダイオキシン類を含む臭素系ダイオキシン類の Ah レセプターを介したルシフェラーゼ活性性能を評価し、DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法の臭素化ダイオキシン類の検出ツールとしての妥当性を評価した。臭素化ダイオキシン類 18 種 (PBDDs 7 異性体、PBDFs 9 異性体、Co-PBBs 2 異性体) と臭素化塩素化ダイオキシン類 14 種 (PXDDs 6 異性体、PXDFs 8 異性体) を評価したところ、WHO-TEF によるリスク管理が推奨されている 2,3,7,8-位に臭素が置換している臭素化ダイオキシン類について顕著な用量反応が示され、得られた用量反応曲線の形状が 2,3,7,8-TCDD と良く似ていた。また、2,3,7,8-位に臭素や塩素が置換している臭素化塩素化ダイオキシン類も基本的に同様の傾向を示した。臭素化ダイオキシン類と臭素化塩素化ダイオキシン類の EC 及び REP に基づくと、臭素化ダイオキシン類の PBDD/Fs については、2,3,7,8-位に臭素が置換している異性体の反応性が強くなる傾向であり、4 臭素化体から 8 臭素化体へと臭素の数が増えるに応じて反応性が弱くなった。臭素化塩素化ダイオキシン類についても、2,3,7,8-位に臭素や塩素が置換している異性体の反応性が強くなる傾向であり、2,3,7,8-位のいずれかに臭素や塩素が置換していない異性体の反応性が低かった。臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類の REP については、PBB-77 を除くと、対応する WHO-TEF との差が 1 オーダー以内であり、WHO-TEF を良く反映していると考えられた。また、臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の混合物を用いて、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の混合物への相加性評価の適用性を確認した。本研究の実施によって、DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法の臭素化ダイオキシン類検出ツールとしての妥当性が確認された。

表 1 臭素化ダイオキシン類検出ツールとしての生物検定法の妥当性評価で使用した化学物質標準品

Compounds	Abbreviation	Purity (%)	Manufacturer
Chlorinated dioxins			
PCDDs			
2,3,7,8-Tetrachloro dibenzo- <i>p</i> -dioxin	2,3,7,8-TCDD	>99	Cambridge Isotope Laboratories
1,2,3,7,8-Pentachloro dibenzo- <i>p</i> -dioxin	1,2,3,7,8-PeCDD	≥98	Wellington Laboratories
1,2,3,6,7,8-Hexachloro dibenzo- <i>p</i> -dioxin	1,2,3,6,7,8-HxCDD	≥98	Cambridge Isotope Laboratories
1,2,3,4,6,7,8-Heptachloro dibenzo- <i>p</i> -dioxin	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	≥98	Cambridge Isotope Laboratories
PCDFs			
2,3,7,8-Tetrachloro dibenzofuran	2,3,7,8-TCDF	≥98	Cambridge Isotope Laboratories
1,2,3,7,8-Pentachloro dibenzofuran	1,2,3,7,8-PeCDF	≥98	Cambridge Isotope Laboratories
2,3,4,7,8-Pentachloro dibenzofuran	2,3,4,7,8-PeCDF	≥98	Wellington Laboratories
1,2,3,4,7,8-Hexachloro dibenzofuran	1,2,3,4,7,8-HxCDF	≥98	Cambridge Isotope Laboratories
2,3,4,6,7,8-Hexachloro debenzofuran	2,3,4,6,7,8-HxCDF	≥98	Cambridge Isotope Laboratories
Co-PCBs			
3,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl	PCB-126	>99	AccuStandard
Brominated dioxins			
PBDDs			
2,3,7,8-Tetrabromo dibenzo- <i>p</i> -dioxin	2,3,7,8-TBDD	>99	Cambridge Isotope Laboratories
1,2,3,7,8-Pentabromo dibenzo- <i>p</i> -dioxin	1,2,3,7,8-PeBDD	>99	Cambridge Isotope Laboratories
1,2,3,6,7,8-Hexabromo dibenzo- <i>p</i> -dioxin	1,2,3,6,7,8-HxBDD	>97	Cambridge Isotope Laboratories
1,2,3,7,8,9-Hexabromo dibenzo- <i>p</i> -dioxin	1,2,3,7,8,9-HxBDD	>99	Cambridge Isotope Laboratories
1,2,3,4,7,8-Hexabromo dibenzo- <i>p</i> -dioxin	1,2,3,4,7,8-HxBDD	>97	Cambridge Isotope Laboratories
1,2,3,4,6,7,8-Heptabromo dibenzo- <i>p</i> -dioxin	1,2,3,4,6,7,8-HpBDD	>99	Cambridge Isotope Laboratories
Octabromo dibenzo- <i>p</i> -dioxin	OBDD	>99	Cambridge Isotope Laboratories
PBDFs			
2-Monobromo dibenzofuran	2-MBDF	>99	Cambridge Isotope Laboratories
2,8-Dibromo dibenzofuran	2,8-DiBDF	>99	Cambridge Isotope Laboratories
2,4,8-Tribromo dibenzofuran	2,4,8-TriBDF	>99	Cambridge Isotope Laboratories
2,3,7,8-Tetrabromo dibenzofuran	2,3,7,8-TBDF	>99	Cambridge Isotope Laboratories
2,3,4,7,8-Pentabromo dibenzofuran	2,3,4,7,8-PeBDF	>99	Cambridge Isotope Laboratories
1,2,3,7,8-Pentabromo dibenzofuran	1,2,3,7,8-PeBDF	>99	Cambridge Isotope Laboratories
1,2,3,4,7,8-Hexabromo dibenzofuran	1,2,3,4,7,8-HxBDF	>99	Cambridge Isotope Laboratories
1,2,3,4,6,7,8-Heptabromo dibenzofuran	1,2,3,4,6,7,8-HpBDF	>96	Cambridge Isotope Laboratories
Octabromo dibenzofuran	OBDF	>98	Cambridge Isotope Laboratories
Co-PBBs			
3,3',4,4'-Tetrabromo biphenyl	PBB-77	≥98	Cambridge Isotope Laboratories
3,3',4,4',5-Pebromo biphenyl	PBB-126	≥98	Cambridge Isotope Laboratories
Mixed halogenated dioxins (X=Br, Cl)			
PXDDs			
7-Bromo-2,3-Dichloro dibenzo- <i>p</i> -dioxin	7-B-2,3-DiCDD	>96	Wellington Laboratories
2,3-Bromo-7,8-Dichloro dibenzo- <i>p</i> -dioxin	2,3-B-7,8-DiCDD	≥98	Wellington Laboratories
2-Bromo-3,7,8-Trichloro dibenzo- <i>p</i> -dioxin	2-B-3,7,8-TriCDD	>96	Wellington Laboratories
2-Bromo-1,3,7,8-Tetrachloro dibenzo- <i>p</i> -dioxin	2-B-1,3,7,8-TCDD	>96	Wellington Laboratories
1-Bromo-2,3,7,8-Tetrachloro dibenzo- <i>p</i> -dioxin	1-B-2,3,7,8-TCDD	≥98	Cambridge Isotope Laboratories
2-Bromo-3,6,7,8,9-Pentachloro dibenzo- <i>p</i> -dioxin	2-B-3,6,7,8,9-PeCDD	≥98	Cambridge Isotope Laboratories
PXDFs			
8-Bromo-2,3-Dichloro dibenzofuran	8-B-2,3-DiCDF	≥98	Wellington Laboratories
2,3-Bromo-7,8-Dichloro dibenzofuran	2,3-B-7,8-DiCDF	≥98	Wellington Laboratories
1,2-Bromo-7,8-Dichloro dibenzofuran	1,2-B-7,8-DiCDF	≥98	Wellington Laboratories
3-Bromo-2,7,8-Trichloro dibenzofuran	3-B-2,7,8-TriCDF	≥99	Cambridge Isotope Laboratories
8-Bromo-2,3,4-Trichloro dibenzofuran	8-B-2,3,4-TriCDF	≥98	Wellington Laboratories
1,3-Bromo-2,7,8-Trichloro dibenzofuran	1,3-B-2,7,8-TriCDF	≥98	Wellington Laboratories
1-Bromo-2,3,7,8-Tetrachloro dibenzofuran	1-B-2,3,7,8-TCDF	≥99	Cambridge Isotope Laboratories
4-Bromo-2,3,7,8-Tetrachloro dibenzofuran	4-B-2,3,7,8-TCDF	≥98	Wellington Laboratories

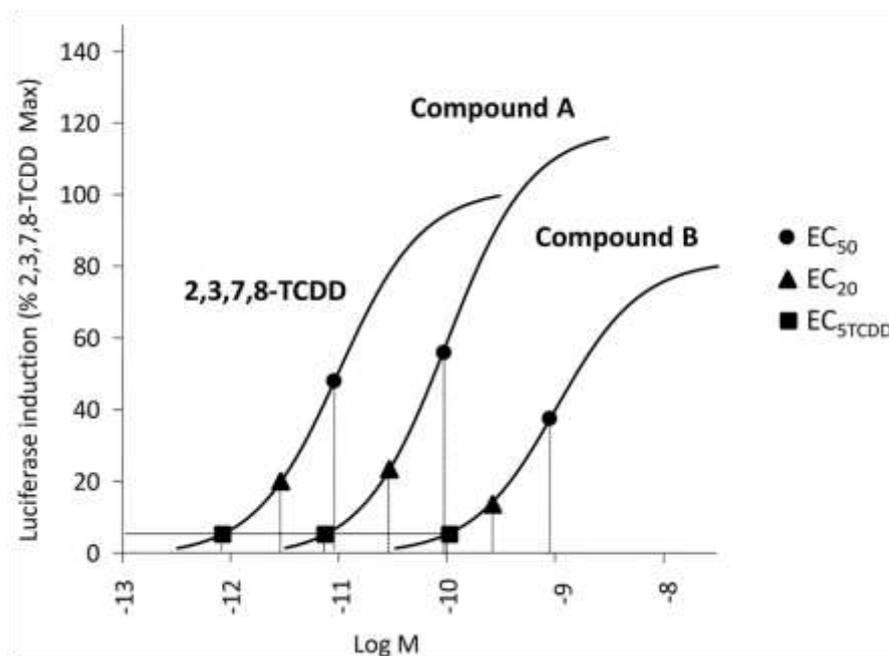


図1 化学物質標準品で得られる用量反応曲線の EC_{5TCDD}、EC₂₀ 及び EC₅₀

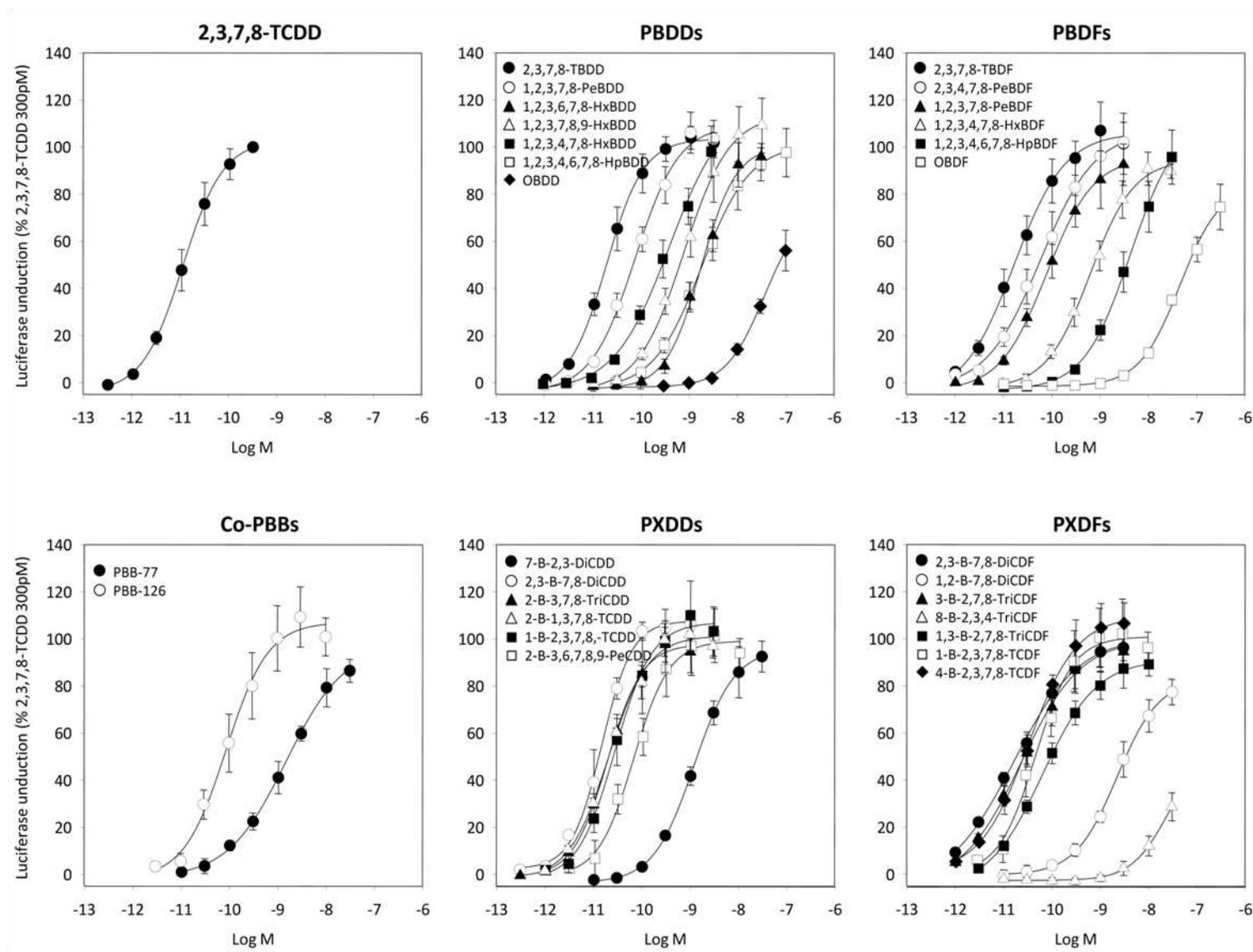


図2 DR-CALUX アッセイ法における 2,3,7,8-TCDD、臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類の用量反応曲線

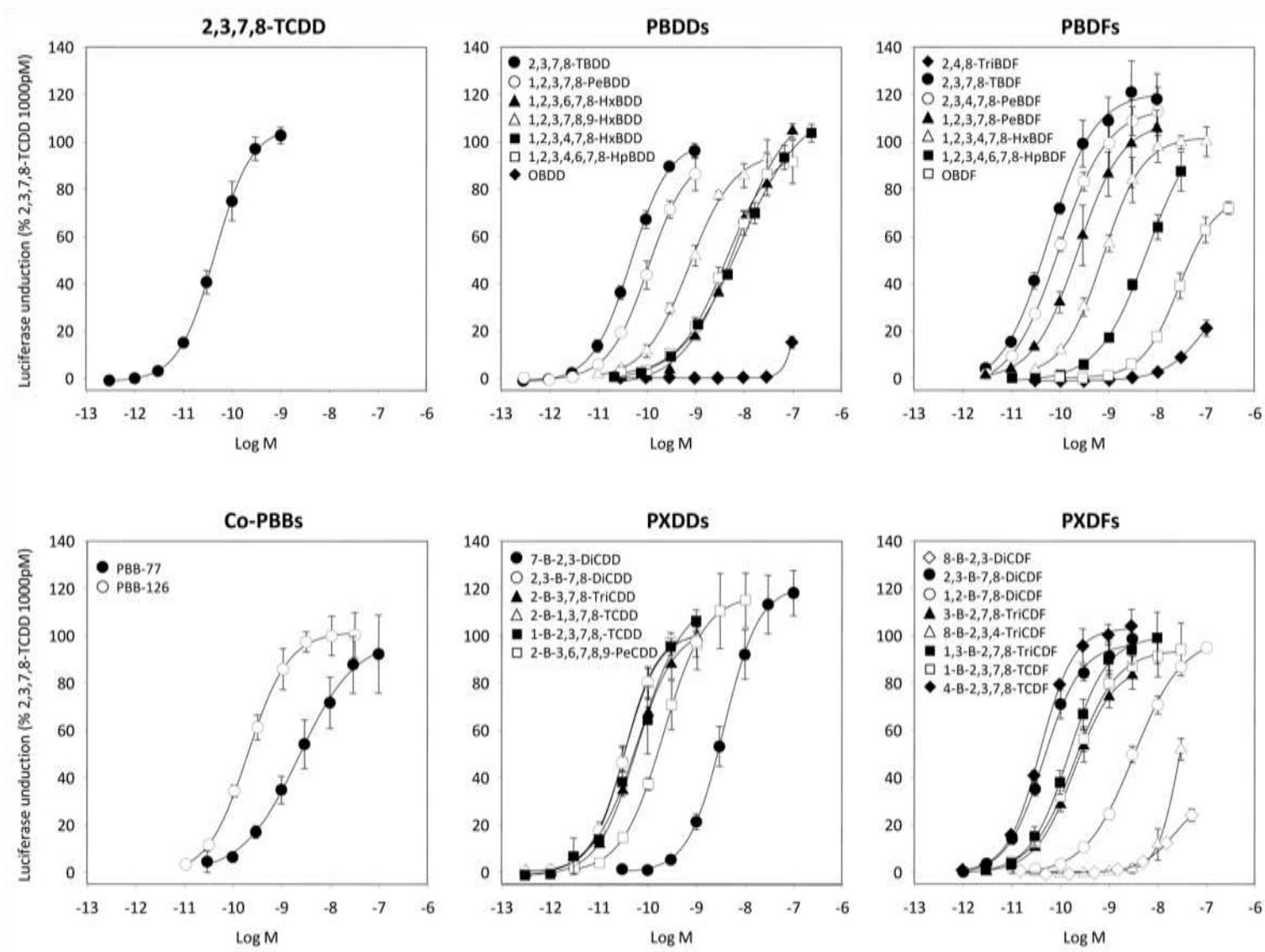


図3 XDS-CALUX アッセイ法における 2,3,7,8-TCDD、臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類の用量反応曲線

表2 DR-CALUX アッセイ法における臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類の用量反応曲線の各種効果濃度と2,3,7,8-TCDDに対する比活性

Compounds	DR-CALUX assay									
	MW	M			Mole-basis			Mass-basis		
		EC _{5TCDD}	EC ₂₀	EC ₅₀	REP-EC _{5TCDD}	REP-EC ₂₀	REP-EC ₅₀	REP-EC _{5TCDD}	REP-EC ₂₀	REP-EC ₅₀
Chlorinated dioxins										
PCDD										
2,3,7,8-TCDD	321.97	9.5E-13	3.0E-12	1.0E-11	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Brominated dioxins										
PBDDs										
2,3,7,8-TBDD	499.78	2.1E-12	6.2E-12	2.0E-11	0.45	0.48	0.50	0.29	0.31	0.32
1,2,3,7,8-PeBDD	578.68	5.9E-12	2.2E-11	9.4E-11	0.16	0.14	0.11	0.090	0.076	0.059
1,2,3,6,7,8-HxBDD	657.58	2.0E-10	5.9E-10	1.8E-09	0.0048	0.0051	0.0056	0.0023	0.0025	0.0027
1,2,3,7,8,9-HxBDD	657.58	5.0E-11	2.2E-10	1.0E-09	0.019	0.014	0.010	0.0093	0.0067	0.0049
1,2,3,4,7,8-HxBDD	657.58	1.5E-11	1.0E-10	7.3E-10	0.063	0.030	0.014	0.031	0.015	0.0067
1,2,3,4,6,7,8-HpBDD	736.48	1.0E-10	4.3E-10	2.0E-09	0.010	0.0070	0.0050	0.0042	0.0031	0.0022
OBDD	815.38	3.5E-09	8.4E-09	2.4E-08	0.00027	0.00036	0.00042	0.00011	0.00014	0.00016
PBDFs										
2-MBDF	247.08	>3.0E-07	>3.0E-07	>3.0E-07	—	—	—	—	—	—
2,8-DiBDF	325.98	>3.0E-07	>3.0E-07	>3.0E-07	—	—	—	—	—	—
2,4,8-TriBDF	404.88	>3.0E-08	>3.0E-08	>3.0E-08	—	—	—	—	—	—
2,3,7,8-TBDF	483.78	1.1E-12	4.5E-12	2.2E-11	0.86	0.67	0.45	0.57	0.44	0.30
2,3,4,7,8-PeBDF	562.68	2.2E-12	1.2E-11	7.4E-11	0.43	0.25	0.14	0.25	0.14	0.077
1,2,3,7,8-PeBDF	562.68	5.2E-12	1.9E-11	7.6E-11	0.18	0.16	0.13	0.10	0.090	0.075
1,2,3,4,7,8-HxBDF	641.57	4.5E-11	1.6E-10	6.1E-10	0.021	0.019	0.016	0.011	0.0094	0.0082
1,2,3,4,6,7,8-HpBDF	720.47	2.6E-10	1.2E-09	5.7E-09	0.0037	0.0025	0.0018	0.0016	0.0011	0.00078
OBDF	799.36	3.4E-09	1.0E-08	3.4E-08	0.00028	0.00030	0.00029	0.00011	0.00012	0.00012
Co-PBBs										
3,3',4,4'-TBB (PBB-77)	469.80	3.6E-11	2.3E-10	1.4E-09	0.026	0.013	0.0071	0.018	0.0089	0.0049
3,3',4,4',5-PeBB (PBB-126)	548.69	6.0E-12	2.5E-11	1.0E-10	0.16	0.12	0.10	0.093	0.070	0.059
Mixed halogenated dioxins (X=Br, Cl)										
PXDDs										
7-B-2,3-DiCDD	331.98	1.1E-10	3.4E-10	1.2E-09	0.0086	0.0088	0.0083	0.0084	0.0086	0.0081
2,3-B-7,8-DiCDD	410.88	1.1E-12	5.3E-12	1.6E-11	0.86	0.57	0.63	0.68	0.44	0.49
2-B-3,7,8-TriCDD	366.43	1.9E-12	6.2E-12	1.9E-11	0.50	0.48	0.53	0.44	0.43	0.46
2-B-1,3,7,8-TCDD	400.87	1.7E-12	6.2E-12	2.2E-11	0.56	0.48	0.45	0.45	0.39	0.37
1-B-2,3,7,8-TCDD	400.87	2.7E-12	9.4E-12	3.2E-11	0.35	0.32	0.31	0.28	0.26	0.25
2-B-3,6,7,8,9-PeCDD	435.32	5.8E-12	2.0E-11	6.4E-11	0.16	0.15	0.16	0.12	0.11	0.12
PXDFs										
8-B-2,3-DiCDF	315.99	>1.5E-08	>1.5E-08	>1.5E-08	—	—	—	—	—	—
2,3-B-7,8-DiCDF	394.89	4.9E-13	2.7E-12	1.9E-11	1.9	1.1	0.53	1.58	0.91	0.43
1,2-B-7,8-DiCDF	394.89	1.2E-10	4.4E-10	1.6E-09	0.0079	0.0068	0.0063	0.0065	0.0056	0.0051
3-B-2,7,8-TriCDF	350.43	9.4E-13	4.4E-12	2.7E-11	1.0	0.68	0.37	0.93	0.63	0.34
8-B-2,3,4-TriCDF	350.43	3.4E-09	5.5E-09	2.0E-08	0.00028	0.00055	0.00050	0.00026	0.00050	0.00046
1,3-B-2,7,8-TriCDF	429.33	4.1E-12	1.4E-11	9.3E-11	0.23	0.21	0.11	0.17	0.16	0.081
1-B-2,3,7,8-TCDF	384.88	3.5E-12	1.4E-11	4.7E-11	0.27	0.21	0.21	0.23	0.18	0.18
4-B-2,3,7,8-TCDF	384.88	8.3E-13	6.9E-12	2.5E-11	1.1	0.43	0.40	0.96	0.36	0.33

REP: Relative potency

表3 XDS-CALUX アッセイ法における臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類の用量反応曲線の各種効果濃度と2,3,7,8-TCDDに対する比活性

Compounds	MW	XDS-CALUX assay								
		M			Mole-basis			Mass-basis		
		EC _{5TCDD}	EC ₂₀	EC ₅₀	REP-EC _{5TCDD}	REP-EC ₂₀	REP-EC ₅₀	REP-EC _{5TCDD}	REP-EC ₂₀	REP-EC ₅₀
Chlorinated dioxins										
PCDD										
2,3,7,8-TCDD	321.97	4.1E-12	1.4E-11	4.6E-11	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Brominated dioxins										
PBDDs										
2,3,7,8-TBDD	499.78	4.4E-12	1.5E-11	5.1E-11	0.93	0.93	0.90	0.60	0.60	0.58
1,2,3,7,8-PeBDD	578.68	8.1E-12	2.9E-11	1.0E-10	0.51	0.48	0.46	0.28	0.27	0.26
1,2,3,6,7,8-HxBDD	657.58	3.0E-10	1.8E-09	1.2E-08	0.014	0.0078	0.0038	0.0067	0.0038	0.0019
1,2,3,7,8,9-HxBDD	657.58	3.5E-11	1.6E-10	6.9E-10	0.12	0.088	0.067	0.057	0.043	0.033
1,2,3,4,7,8-HxBDD	657.58	5.7E-11	4.0E-10	2.4E-09	0.072	0.035	0.019	0.035	0.017	0.0094
1,2,3,4,6,7,8-HpBDD	736.48	5.7E-11	4.0E-10	2.4E-09	0.072	0.035	0.019	0.031	0.015	0.0084
OBDD	815.38	6.6E-08	NC	NC	0.000062	—	—	0.000025	—	—
PBDFs										
2-MBDF	247.08	>3.0E-07	>3.0E-07	>3.0E-07	—	—	—	—	—	—
2,8-DiBDF	325.98	>3.0E-07	>3.0E-07	>3.0E-07	—	—	—	—	—	—
2,4,8-TriBDF	404.88	7.8E-09	1.3E-08	3.6E-08	0.00053	0.0011	0.0013	0.00042	0.00086	0.0010
2,3,7,8-TBDF	483.78	4.0E-12	1.9E-11	1.0E-10	1.0	0.74	0.46	0.68	0.49	0.31
2,3,4,7,8-PeBDF	562.68	6.2E-12	2.8E-11	1.4E-10	0.66	0.50	0.33	0.38	0.29	0.19
1,2,3,7,8-PeBDF	562.68	1.2E-11	6.3E-11	2.9E-10	0.34	0.22	0.16	0.20	0.13	0.091
1,2,3,4,7,8-HxBDF	641.57	3.8E-11	2.0E-10	7.7E-10	0.11	0.070	0.060	0.054	0.035	0.030
1,2,3,4,6,7,8-HpBDF	720.47	2.4E-10	1.5E-09	7.9E-09	0.017	0.0093	0.0058	0.0076	0.0042	0.0026
OBDF	799.36	2.2E-09	6.5E-09	1.9E-08	0.0019	0.0022	0.0024	0.00075	0.00087	0.0010
Co-PBBs										
3,3',4,4'-TBB (PBB-77)	469.80	5.2E-11	3.7E-10	2.3E-09	0.079	0.038	0.020	0.054	0.026	0.014
3,3',4,4',5-PeBB (PBB-126)	548.69	1.3E-11	5.4E-11	2.0E-10	0.32	0.26	0.23	0.19	0.15	0.13
Mixed halogenated dioxins (X=Br, Cl)										
PXDDs										
7-B-2,3-DiCDD	331.98	3.2E-10	1.4E-09	5.3E-09	0.013	0.010	0.0087	0.012	0.0097	0.0084
2,3-B-7,8-DiCDD	410.88	3.5E-12	1.2E-11	3.4E-11	1.2	1.2	1.4	0.92	0.91	1.1
2-B-3,7,8-TriCDD	366.43	4.5E-12	1.7E-11	6.0E-11	0.91	0.82	0.77	0.80	0.72	0.67
2-B-1,3,7,8-TCDD	400.87	3.1E-12	1.1E-11	3.4E-11	1.3	1.3	1.4	1.1	1.0	1.1
1-B-2,3,7,8-TCDD	400.87	3.6E-12	2.0E-11	1.0E-10	1.1	0.70	0.46	0.91	0.56	0.37
2-B-3,6,7,8,9-PeCDD	435.32	1.2E-11	6.5E-11	2.9E-10	0.34	0.22	0.16	0.25	0.16	0.12
PXDFs										
8-B-2,3-DiCDF	315.99	2.1E-09	2.8E-09	6.5E-09	0.0020	0.0050	0.0071	0.0020	0.0051	0.0072
2,3-B-7,8-DiCDF	394.89	4.0E-12	1.4E-11	4.3E-11	1.0	1.0	1.1	0.84	0.82	0.87
1,2-B-7,8-DiCDF	394.89	1.3E-10	6.7E-10	3.2E-09	0.032	0.021	0.014	0.026	0.017	0.012
3-B-2,7,8-TriCDF	350.43	1.3E-11	4.6E-11	1.6E-10	0.32	0.30	0.29	0.29	0.28	0.26
8-B-2,3,4-TriCDF	350.43	5.8E-09	1.3E-08	2.5E-08	0.00071	0.0011	0.0018	0.00065	0.00099	0.0017
1,3-B-2,7,8-TriCDF	429.33	1.1E-11	4.3E-11	1.5E-10	0.37	0.33	0.31	0.28	0.24	0.23
1-B-2,3,7,8-TCDF	384.88	9.1E-12	4.4E-11	1.7E-10	0.45	0.32	0.27	0.38	0.27	0.23
4-B-2,3,7,8-TCDF	384.88	3.9E-12	1.4E-11	4.3E-11	1.1	1.0	1.1	0.88	0.84	0.89

REP: Relative potency, NC: Not calculated because of no full dose-response curve

表4 既報研究における DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法における臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類の比活性

Compounds	DR-CALUX assay		XDS-CALUX assay	
	Mole-basis		Mole-basis	
	Behnisch et al. 2003 ¹⁶⁾ REP-EC ₂₀	Olsman et al. 2007 ¹⁷⁾ REP-EC ₂₅	Samara et al. 2009 ¹⁸⁾ REP-EC ₂₀	Brown et al. 2004 ¹⁹⁾ REP-EC ₂₀
Brominated dioxins				
PBDDs				
2,3,7,8-TBDD	0.87	0.42	0.78	0.49
1,2,3,7,8-PeBDD	0.25	0.30	1.4	
1,2,3,6,7,8-HxBDD	0.017			
PBDFs				
2,3,7,8-TBDF	0.86		0.45	0.11
2,3,4,7,8-PeBDF	0.19		0.62	
1,2,3,7,8-PeBDF	0.14	0.10	0.14	
1,2,3,4,7,8-HxBDF	0.022		0.070	
Co-PBBs				
3,3',4,4'-TBB (PBB-77)	0.13			0.0010
3,3',4,4',5-PeBB (PBB-126)	0.21			
Mixed halogenated dioxins (X=Br,Cl)				
PXDds				
7-B-2,3-DiCDD				
2,3-B-7,8-DiCDD	1.2	1.0	0.43	
2-B-3,7,8-TriCDD	0.44	1.9	0.72	
2-B-1,3,7,8-TCDD	0.47	1.5		
1-B-2,3,7,8-TCDD	0.35			
2-B-3,6,7,8,9-PeCDD	0.28			
PXDFs				
3-B-2,7,8-TriCDF	1.1			

REP: Relative potency

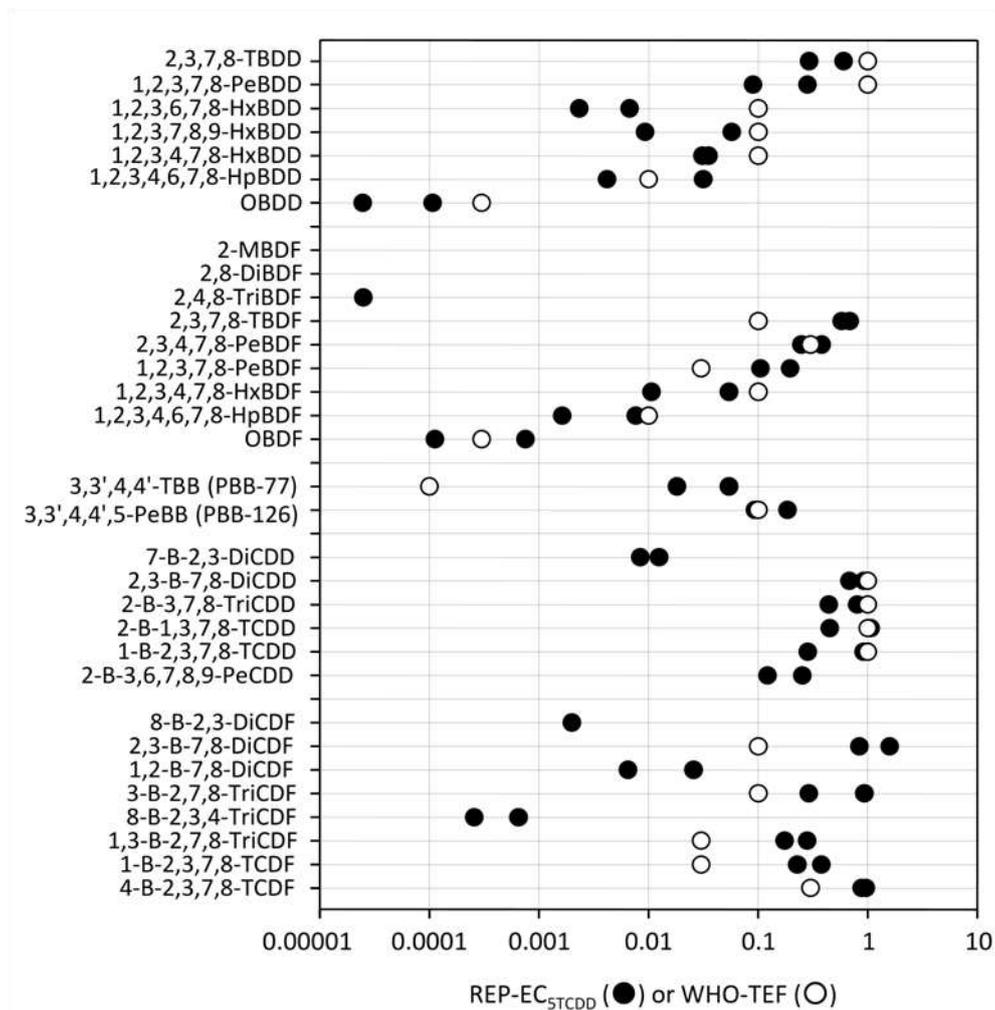


図4 臭素化ダイオキシン類及び臭素化塩素化ダイオキシン類のREP-EC_{5TCDD}と対応するWHO-TEF.

WHO-TEFは、ハロゲン置換位置と数が同じものを“対応するWHO-TEF”とした。臭素化ダイオキシン類については、WHO/UNEP 専門家会合によって、対応するWHO-TEFによるリスク管理が推奨されている。

表 5 各種試料媒体中の臭素化ダイオキシン類の theoretical CALUX-TEQ に対する各異性体の平均構成割合

Compounds	The average of % theoretical CALUX-TEQ											
	Environmental air <i>n</i> =93	Environmental water <i>n</i> =88	Sediment <i>n</i> =94	Ground water <i>n</i> =14	Soil <i>n</i> =50	Dust fall <i>n</i> =59	Sewage sludge <i>n</i> =3	Incinerator ash <i>n</i> =3	Flue gas <i>n</i> =72	Effluent <i>n</i> =175	Indoor air <i>n</i> =33	Indoor dust <i>n</i> =36
Brominated dioxins												
PBDDs												
2,3,7,8-TBDD	0.44	<0.1	3.6	<0.1	2.0	0.47	<0.1	<0.1	0.73	<0.1	2.5	<0.1
1,2,3,7,8-PeBDD	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	1.2	<0.1	0.84	<0.1
1,2,3,6,7,8-HxBDD	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
1,2,3,7,8,9-HxBDD	<0.1	<0.1	0.24	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.14	<0.1	<0.1	<0.1
1,2,3,4,7,8-HxBDD	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.51	<0.1	0.26	<0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpBDD	<0.1	<0.1	0.24	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
OBDD	<0.1	0.10	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.56	<0.1	<0.1
PBDFs												
2,3,7,8-TBDF	41	34	40	100	51	42	6.4	46	30	46	21	64
1,2,3,7,8-PeBDF	6.2	4.0	7.5	<0.1	0.10	6.0	2.7	8.1	11	5.7	5.8	4.3
2,3,4,7,8-PeBDF	28	21	14	<0.1	23	27	10	44	20	18	23	11
1,2,3,4,7,8-HxBDF	5.7	12	16	<0.1	6.3	5.8	3.2	<0.1	7.9	2.7	6.3	3.7
1,2,3,4,6,7,8-HpBDF	16	21	17	<0.1	16	18	54	1.4	24	21	31	13
OBDF	2.3	7.2	1.5	<0.1	1.9	0.91	23	<0.1	3.6	5.5	8.9	4.4

^a Theoretical CALUX-TEQs were calculated using the concentrations of PBDD/Fs and their DR-CALUX REP-EC_{5TCDD} for various samples.

^b Data were cited from Ministry of the Environment^{5,20-33)} and Suzuki et al^{9,12)}.

表6 各種試料媒体中の塩素化ダイオキシン類の theoretical CALUX-TEQ に対する各異性体の平均構成割合

Sample ^b	The average of % theoretical CALUX-TEQ ^a											
	Environmental air <i>n</i> =93	Environmental water <i>n</i> =88	Sediment <i>n</i> =94	Ground water <i>n</i> =14	Soil <i>n</i> =50	Dust fall <i>n</i> =59	Sewage sludge <i>n</i> =3	Incinerator ash <i>n</i> =3	Flue gas <i>n</i> =72	Effluent <i>n</i> =175	Indoor air <i>n</i> =33	Indoor dust <i>n</i> =36
Chlorinated dioxins												
PCDDs												
2,3,7,8-TCDD	1.3	0.56	0.13	4.1	0.69	1.3	2.4	2.1	2.4	0.67	1.4	0.52
1,2,3,7,8-PeCDD	4.8	2.8	0.26	<0.1	2.8	5.0	7.8	15	16	1.9	3.9	2.9
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.3	1.9	0.28	3.9	1.5	3.3	5.1	3.0	9.3	2.7	2.2	2.2
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2.9	2.9	1.7	1.6	1.9	3.5	4.2	5.4	9.4	5.0	2.0	3.6
1,2,3,7,8,9-HxCDD	1.4	1.4	0.20	2.3	1.3	1.6	2.2	1.3	4.4	1.7	0.87	1.5
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	15	43	72	58	16	19	34	23	28	41	8.8	38
OCDD	0.70	6.3	6.7	2.7	1.5	0.63	7.8	4.4	0.50	3.7	0.28	2.2
PCDFs												
2,3,7,8-TCDF	7.5	6.6	0.43	3.4	7.8	8.7	6.1	2.0	4.1	1.8	7.5	4.0
1,2,3,7,8-PeCDF	12	5.5	0.52	5.3	17	10	3.3	4.0	3.5	1.7	13	4.3
2,3,4,7,8-PeCDF	14	4.6	0.30	2.7	11	12	8.4	16	6.6	2.4	15	6.6
1,2,3,4,7,8-HxCDF	7.1	2.9	1.2	5.0	8.9	5.6	1.8	2.4	4.2	2.2	7.9	4.0
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.6	0.47	0.10	0.87	2.0	1.3	0.38	0.55	0.37	0.79	1.7	1.0
2,3,4,6,7,8-HxCDF	10	8.2	0.45	1.5	6.9	9.8	6.7	5.8	4.4	27	11	8.2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.85	0.53	0.14	<0.1	1.5	0.64	0.28	1.5	0.31	0.30	0.68	0.16
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	3.9	3.3	5.4	2.7	3.8	3.3	1.4	0.94	0.59	1.2	4.6	5.3
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.76	0.58	0.77	0.10	1.0	0.80	0.23	0.49	0.73	0.42	0.82	0.59
OCDF	0.93	2.5	8.7	0.33	1.0	1.1	1.0	0.51	0.19	0.61	1.3	1.3
Co-PCBs												
3,4,4',5'-TCB (#81)	0.10	<0.1	<0.1	0.06	0.63	0.10	<0.1	<0.1	0.14	0.13	0.12	0.25
3,3',4,4'-TCB (#77)	0.31	1.0	0.10	0.73	0.11	0.55	0.69	0.21	0.80	1.0	0.62	1.8
3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	1.9	1.0	0.16	2.4	3.2	2.4	<0.1	<0.1	0.80	1.1	2.6	4.9
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
2',3,4,4',5'-PeCB (#123)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
2,3',4,4',5'-PeCB (#118)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

^a Theoretical CALUX-TEQs were calculated using the concentrations of PBDD/Fs and their DR-CALUX REP-EC_{5TCDD} for various samples.

^b Data were cited from Ministry of the Environment^{5,20-33)} and Suzuki et al.^{9,12)}.

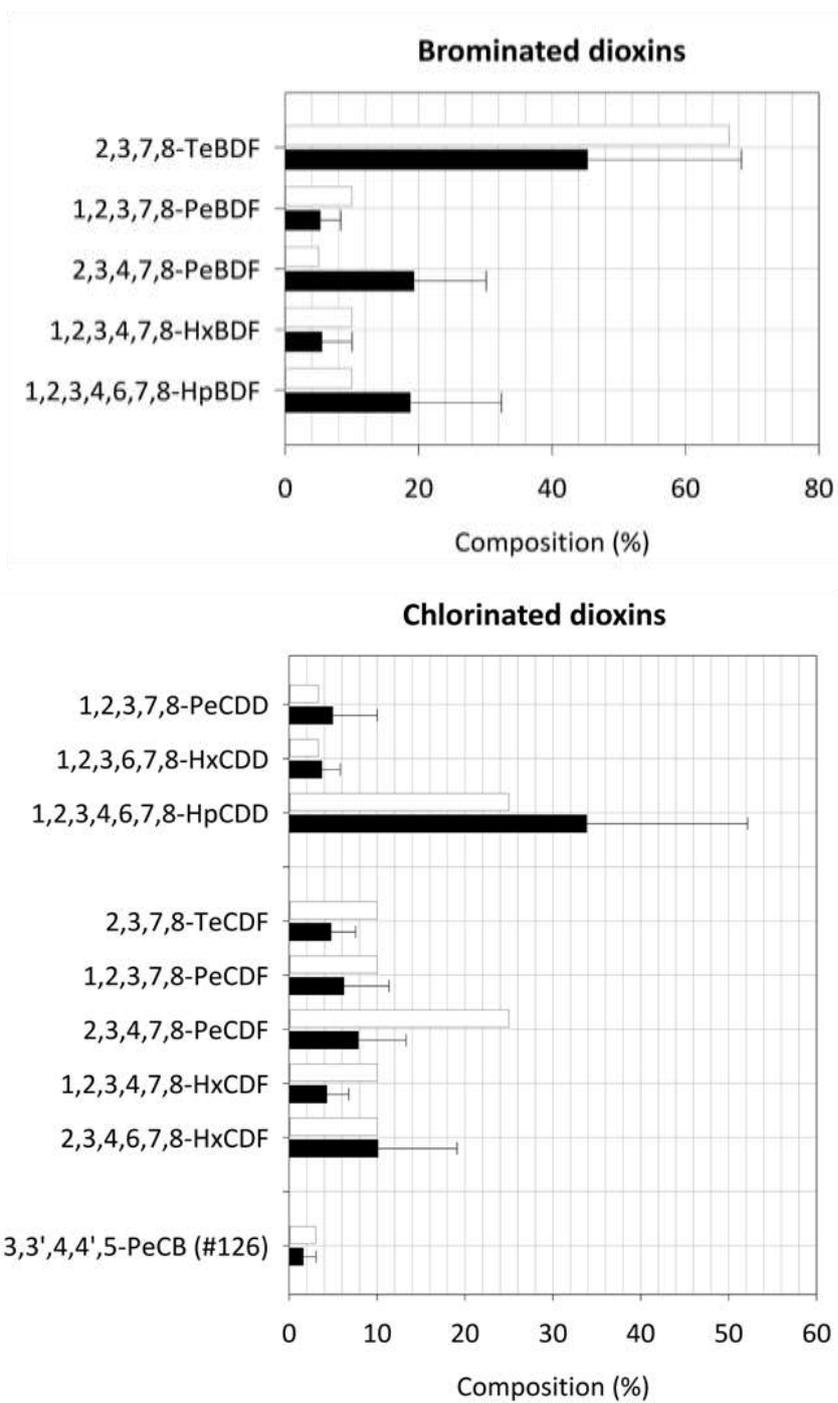


図5 臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類別の、文献調査に基づく各種試料媒体の Theoretical CALUX-TEQ に対する各異性体の平均構成割合 (■) と実際に調製した混合物の構成割合 (□)

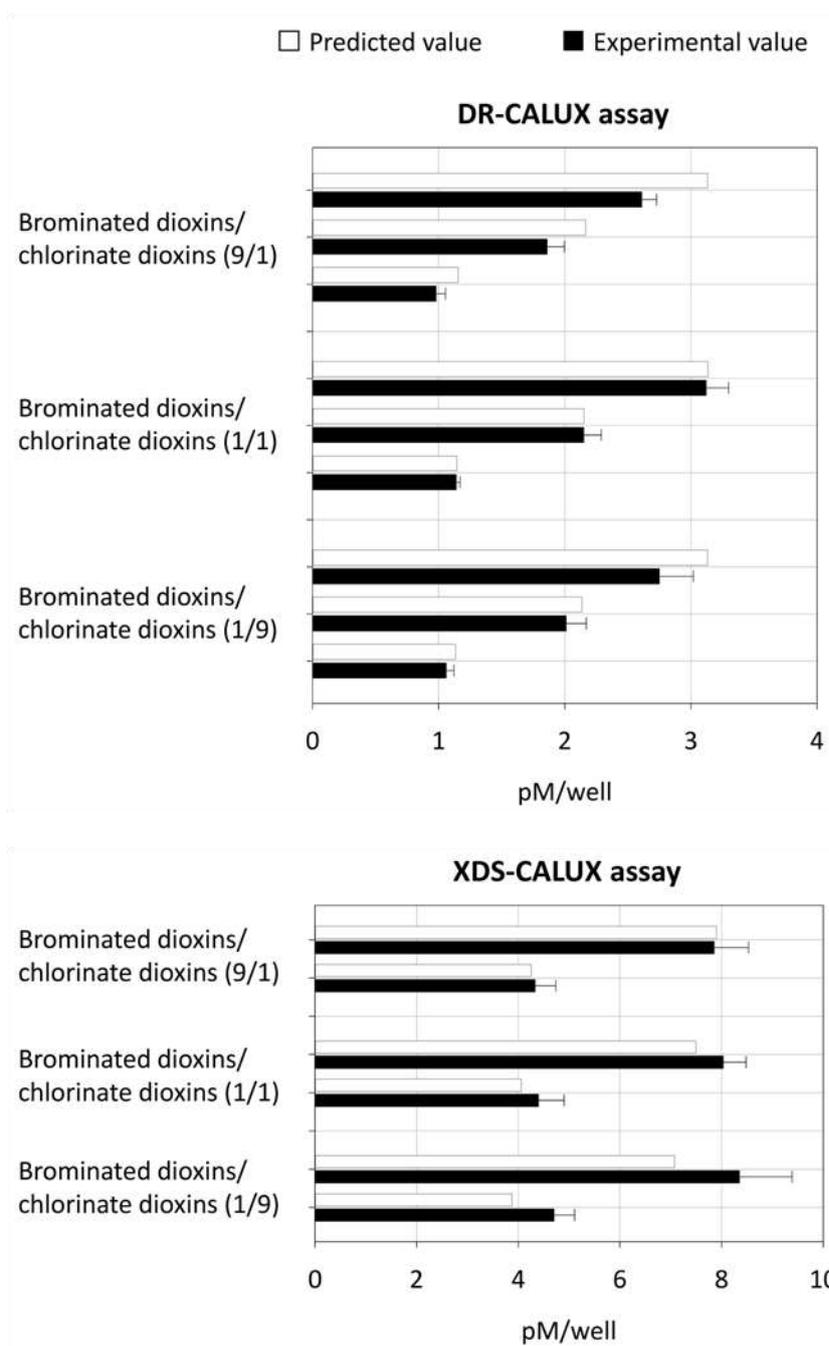


図6 臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の混合物による臭素化ダイオキシン類の用量相加性の評価

4. 生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の確立に関する研究

(1) 研究目的

本研究では、生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法を確立することを目的として、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類を分別して評価する簡易前処理法の開発と、生物検定法と簡易前処理法からなる塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法（測定評価法）の妥当性を評価した。簡易前処理法には、精製カラムと分画カラムを用いた。精製カラムは、粗抽出液中の測定妨害成分となる有機成分等を除去してダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類を精製することを目的として開発した。精製カラムによる塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の化学物質標準品を用いた添加回収試験と各種試料媒体の粗抽出液を用いた破過試験を実施して使用条件を確定した。分画カラムは、精製抽出液中の塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類を分別することを目的として開発した。分画カラムについても化学物質標準品を用いた添加回収試験を実施して使用条件を確定した。測定評価法の適用性評価については、はじめに、小型焼却炉の排出ガス、ばいじん及び燃え殻、排水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストについて塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類のGC-HRMS法による化学分析を行い、WHO-TEQを把握して既知濃度試料を得た。次いで、既知濃度試料を測定評価法に適用して、CALUX-TEQ（CALUXアッセイにおける2,3,7,8-TCDD等量）とWHO-TEQの比較考察を行い、塩素化／臭素化ダイオキシン類スクリーニング法としての測定評価法の適用性を評価した。

(2) 研究方法

1) 簡易前処理法の開発

a. 精製カラム

i. 塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の化学物質標準品を用いた添加回収試験

精製カラムとしてプレセップタイプ型（図7）の55%硫酸シリカゲルカラム（10.6 mm i.d.×150 mm）を開発した（図8）。55%硫酸シリカゲルカラムは、ガラス製カラム管の底部に円筒状の脱脂綿を詰め、シリカゲル 0.5 g、55%硫酸シリカゲル 3.0 g、シリカゲル 0.5 gを順次充填して、最後に円筒状の脱脂綿を上部に詰めたものである。当該カラムについて、塩素化ダイオキシン類（PCDDs 7異性体、PCDFs 10異性体及びCo-PCBs 12異性体：100 pg～200 pg）と臭素化ダイオキシン類（PBDDs 5異性体及びPBDFs 6異性体：50 ng）の化学物質標準品による添加回収試験を実施した。はじめに、ヘキサン 20 mlを流下して、当該カラムを洗浄した。ヘキサンに溶解した化学物質標準品の混合液 1 mlをカラムに添加した。ヘキサン 19 mlを分取して、混合液の容器を少量のヘキサンで洗浄し、洗液をカラム内壁を洗いながらカラムに流下して、液面をカラム上端まで下げた。この洗浄操作を3回繰り返した。残りのヘキサンを流下して、溶出液を回収した。窒素パージを用いて溶出液を濃縮して、塩素化ダイオキシン類は50 µlに定容してGC-HRMS法に、臭素化ダイオキシン類は1 mlに定容してGC-ECD（電子捕獲型検出器）法に、それぞれ供した。

ii. 各種試料媒体の粗抽出液を用いた破過試験

小型焼却炉の排出ガス、ばいじん、燃え殻、排水・環境水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストの粗抽出液を用いて破過試験を実施した。破過試験は、試料濃度を変えた粗抽出液 1 mlを55%硫酸シリカゲルカラムに添加してヘキサン 19 mlを流下することで実施した。粗抽出液中の有機成分は、当該カラムの硫酸によって分解されシリカゲルに吸着する。破過試験では、有機成分分解物のシリカゲルの着色状況によって破過を確認して、当該カラムで精製可能な試料量を把握した。各種試料媒体の抽出液は、塩素化ダイオキシン類の公定法やそれと同等の方法で調製した。抽出の詳細は、2) ii. 抽出に記述した。

b. 分画カラム

i. 塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の化学物質標準品を用いた添加回収試験

分画カラムとしてプレセップタイプ型の10%硝酸銀シリカゲルカラム（10 mm i.d.×150 mm）を開発した（図8）。10%硝酸銀シリカゲルカラムは、ガラス製カラム管の底部に円筒状の脱脂綿を詰め、10%硝酸銀シリカゲル 0.75 gを充填して、円筒状の脱脂綿を上部に詰めたものである。当該カラムについて、塩素化ダイオキシン類（PCDDs 7異性体、PCDFs 10異性体及びCo-PCBs 12異性体：100 pg～200 pg）と臭素化ダイオキシン類（PBDDs 6異性体及びPBDFs 6異性体：50 ng）の化学物質標準品による添加回収試験を実施した。はじめに、4%アセトン／ヘキサン 10 mlを流下して、当該カラムを洗浄した。カラム内の有機溶媒をN₂パージで除去後、105℃で2時間乾燥した。ヘキサンに溶解した化学物質標準品の混合液 1 mlをカラムに添加した。ヘキサン 7 mlを分取して、混合液の容器を少量のヘキサンで洗浄し、洗液をカラム内壁を洗いながらカラムに流下して、液面をカラム上端まで下げた。この洗浄操作を3回繰り返した。残りのヘ

キサンを流下して、溶出液を塩素化ダイオキシン類画分として回収した。次いで、ヘキサン 2 ml を流下して、溶出液を回収した。最後に、4%アセトン／ヘキサン 10 ml を流下して、溶出液を臭素化ダイオキシン類画分として回収した。窒素パーズを用いて溶出液を濃縮して、塩素化ダイオキシン類は 50 μ l に定容して GC-HRMS 法に、臭素化ダイオキシン類は 1 ml に定容して GC-ECD 法に、それぞれ供した。

ii. 臭素化ダイオキシン類の化学物質標準品を用いた脱臭素化評価試験

分画カラムの検討では、臭素化ダイオキシン類の脱臭素化現象の有無を確認するため、2,3,7,8-TeBDD、1,2,3,7,8-PeBDD、1,2,3,4,7,8-HxBDD、1,2,3,4,6,7,8-HpBDD、OBDD、2,3,7,8-TeBDF、2,3,4,7,8-PeBDF、1,2,3,4,7,8-HxBDF、1,2,3,4,6,7,8-HpBDF、OBDF の化学物質標準品 (50 ng/ml) について 1 異性体ずつ $n=2$ で 10%硝酸銀シリカゲルカラムによる分画処理を行った。

c. 機器分析法

塩素化ダイオキシン類は、GC-HRMS を用いて分解能 10,000 以上の条件で測定した。GC 分離カラムには、2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,7,8,9-HxCDF、2,3,6,7,8-HxCDF を除く TCDD/Fs から OCDD/Fs について BPX Dioxin I キャピラリーカラムを、上記 3 異性体及び Co-PCBs について BPX Dioxin II キャピラリーカラムを用いた。臭素化ダイオキシン類は、選択イオン検出法 (SIM 法) で検出、保持時間及びイオン強度比に基づいて同定、同位体希釈法で定量した。臭素化ダイオキシン類は、GC-ECD を用いて測定した。GC 分離カラムには、DB-1HT キャピラリーカラムを用いた。臭素化ダイオキシン類は、絶対検量線法で定量した。

2) 既知濃度試料による測定評価法の適用性評価

a. 試料の採取と抽出

本研究では、小型焼却炉の排出ガス、焼却炉のばいじん及び燃え殻、排水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストを各 3 試料の計 24 試料を用いた。土壌と底質は 2012 年に、それ以外の試料は 2014 年に採取した。各種試料媒体の採取と抽出方法を次に示す。抽出液は、ヘキサンに転溶後、精製と分画に供した。

i. 排出ガス、ばいじん及び燃え殻

リサイクル業や製造業の小型焼却炉の排出ガスの試料採取と抽出は、JIS K 0311:2005/AMENDMENT 1:2008「排ガス中のダイオキシン類の測定方法 (追補 1)」に準じて実施した。産業廃棄物焼却炉、一般廃棄物焼却炉や樹脂製造業等のばいじん及び燃え殻の試料採取と抽出は、平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第一 (第一号関係) (1) に準じて実施した。

ii. 排水・環境水

一般廃棄物焼却炉のスクラバー廃液と、一般廃棄物埋立処分場の廃水原水と周辺地下水の試料採取と抽出は、JIS K 0312:2005/AMENDMENT 1:2008「排ガス中のダイオキシン類の測定方法 (追補 1)」に準じて実施した。一般廃棄物埋立処分場の周辺地下水の抽出は、ダイオフロックを用いたトルエンソーックスレーで実施した。

iii. 土壌及び底質

土壌及び底質は、ベトナム北部の廃電子機器リサイクル村の処理施設周辺から採取した。風乾した 2 mm ふるい下試料について、高速加熱流下抽出装置 (SE-100) を用いて、50%ヘキサン／アセトン (35°C、1 時間、6 ml/min)、トルエン (80°C、1 時間、6 ml/min) で抽出した⁷⁾。

iv. 建屋内空気

一般廃棄物焼却炉の建屋内空気の採取と抽出は、「廃棄物焼却施設内作業におけるダイオキシン類ばく露防止対策要綱」(平成 13 年 4 月 25 日 基発第 401 号の 2) に準じて実施した。

v. ハウスダスト

ハウスダストは、一般家庭で使用されている掃除機のクリーナーバッグから採取した。250 μ m ふるい下試料について、土壌及び底質と同様の方法で抽出した。

b. 精製と分画

i. 機器分析法

分取したヘキサン抽出液に内部標準物質として ^{13}C ラベル化体を添加して、基本的には、多層シリカゲルカラム処理と活性炭分散シリカゲルカラム処理を行った。汚い試料については、濃硫酸処理と DMSO カラム処理を行った後に多層シリカゲルカラム処理と活性炭分散シリカゲルカラム処理を行った。得られた抽出液を GC-HRMS 法に供して、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類を測定した。

ii. 生物検定法

分取したヘキサン粗抽出液について、先述した手順で 55%硫酸シリカゲルカラム処理と 10%硝酸銀シリカゲルカラム処理を実施した。55%硫酸シリカゲルカラム処理した抽出液を精製画分として、さらに 10%硝酸銀シリカゲルカラム処理して分別した抽出液を塩素化ダイオキシン類画分と臭素化ダイオキシン類画分として、それぞれ生物検定法に供した。精製画分、塩素化ダイオキシン類画分及び臭素化ダイオキシン類画分を調製する際には、先述の相加性評価の際に調製した塩素化ダイオキシン類混合液と臭素化ダイオキシン類混合液を回収率確認用の標準物質として用いた。即ち、試料粗抽出液だけでなく、塩素化ダイオキシン類混合液と臭素化ダイオキシン類混合液についても、精製画分、塩素化ダイオキシン類画分及び臭素化ダイオキシン類画分を調製して生物検定法に供した。

c. 機器分析法

塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類は、GC-HRMS を用いて分解能 10,000 以上の条件で測定した。GC 分離カラムには、2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,7,8,9-HxCDF、2,3,6,7,8-HxCDF を除く TCDD/Fs から OCDD/Fs について BPX Dioxin I キャピラリーカラムを、上記 3 異性体及び Co-PCBs について BPX Dioxin II キャピラリーカラムを、TBDD/Fs から HxBDD/Fs について ENV-5MS キャピラリーカラムを、HpBDD/Fs から OBDD/F について DB-1HT キャピラリーカラムを用いた。塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類は、選択イオン検出法 (SIM 法) で検出、保持時間及びイオン強度比に基づいて同定、同位体希釈法で定量した。本研究では、異性体濃度に WHO-TEF を乗じて WHO-TEQ を算出した。

d. 生物検定法

精製画分、塩素化ダイオキシン類画分及び臭素化ダイオキシン類画分のルシフェラーゼ活性は、先述の通り、生物検定法の DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法を用いて測定した。本研究では、得られたルシフェラーゼ活性を、DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法における 2,3,7,8-TCDD 等量 (CALUX-TEQ) として算出した。CALUX-TEQ は、先述の式①から作成した 2,3,7,8-TCDD の検量線に各画分のルシフェラーゼ活性を内挿することにより算出した。2,3,7,8-TCDD 検量線の濃度範囲は、DR-CALUX アッセイ法で 0.3、1.0、3.0、10、30、100、300 pM/マイクロプレート well、XDS-CALUX アッセイ法で 1.4、2.9、5.7、11、23、46、91、183、370 pM/マイクロプレート well とした。CALUX-TEQ を算出する際の各画分のルシフェラーゼ活性値は、2,3,7,8-TCDD 検量線において、DR-CALUX アッセイ法で 1~3 pM/マイクロプレート well、XDS-CALUX アッセイ法で 5.7~91 pM/マイクロプレート well の各濃度範囲に相当するルシフェラーゼ活性値を採用した。

e. 測定データの品質管理/品質保証 (QA/QC)

i. 機器分析

塩素化ダイオキシン類の内部標準物質 (13C ラベル化 2,3,7,8-TCDD、1,2,3,7,8-PeCDD、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD、1,2,3,4,7,8-HxCDD、1,2,3,6,7,8-HxCDD、1,2,3,7,8,9-HxCDD、OCDD、2,3,7,8-TCDF、1,2,3,7,8-PeCDF、2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,4,7,8-HxCDF、1,2,3,6,7,8-HxCDF、1,2,3,7,8,9-HxCDF、2,3,4,6,7,8-HxCDF、1,2,3,4,6,7,8-HpCDF、1,2,3,4,7,8,9-HpCDF、OCDF、PCB#77、PCB#81、PCB#126、PCB#169、PCB#105、PCB#114、PCB#118、PCB#123、PCB#156、PCB#157、PCB#167 及び PCB#180) の回収率は、50%~120% ($n=26$) の範囲であった。臭素化ダイオキシン類の内部標準物質 (13C ラベル化 2,3,7,8-TBDD、1,2,3,7,8-PeBDD、1,2,3,4,7,8-HxBDD、OBDD、2,3,7,8-TBDF、2,3,4,7,8-PeBDF、1,2,3,4,7,8-HxBDF、1,2,3,4,6,7,8-HpBDF 及び OBDF) の回収率は、51%~146% ($n=26$) の範囲であり、ばいじんを除くと 51%~120% ($n=23$) の範囲であった。測定対象とした異性体のうち、定量下限以上の異性体については、操作ブランクの定量値を差し引いて、試料の定量値を算出した。

ii. 生物検定法

DR-CALUX アッセイ法では、2,3,7,8-TCDD 検量線の EC_{50} が 9.8 ± 2.2 pM ($n=34$) であり、2,3,7,8-TCDD 検量線の最高濃度のルシフェラーゼ活性を DMSO 溶媒コントロールのルシフェラーゼ活性で除して得られ

るインダクションが 9.4 ± 2.7 ($n=34$) であった。XDS-CALUX アッセイ法では、2,3,7,8-TCDD 検量線の EC_{50} が 36 ± 5.2 pM ($n=33$) であり、インダクションは 22 ± 7.4 ($n=33$) であった。 EC_{50} の結果は繰り返し再現性が良い状況であることを示し、インダクションの結果は細胞応答性が良い状況であることを示している。塩素化ダイオキシン類混合液と臭素化ダイオキシン類混合液の回収率は、精製画分の塩素化ダイオキシン類混合液と臭素化ダイオキシン類混合液で $98 \pm 18\%$ ($n=24$) と $99 \pm 18\%$ ($n=24$)、塩素化ダイオキシン類画分の塩素化ダイオキシン類混合液で $83 \pm 6.8\%$ ($n=24$)、臭素化ダイオキシン類画分の臭素化ダイオキシン類混合液で $78 \pm 5.8\%$ ($n=24$) であった。

(3) 結果と考察

1) 簡易前処理法の開発

a. 精製カラム

本研究では、精製カラムとして開発した 55%硫酸シリカゲルカラムを対象として、臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の化学物質標準品による添加回収試験を実施した。添加回収試験の結果を表 7 に示す。塩素化ダイオキシン類及び臭素化ダイオキシン類の回収率は、66%~102% ($n=3$) 及び 81%~98% ($n=3$) であった。塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類は、55%硫酸シリカゲルカラムに添加後に、ヘキサン 20 ml で十分に回収できた。図 5 に示している TEQ に寄与する主要異性体に着目すると、塩素化ダイオキシン類 (1,2,3,7,8-PeCDD、1,2,3,6,7,8-HxCDD、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD、2,3,7,8-TeCDF、1,2,3,7,8-PeCDF、2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,4,7,8-HxCDF、2,3,4,6,7,8-HxCDF 及び PCB#126) では平均 92%、臭素化ダイオキシン類 (2,3,7,8-TeBDF、2,3,4,7,8-PeBDF、1,2,3,4,7,8-HxBDF 及び 1,2,3,4,6,7,8-HpBDF) では平均 90% であり、それぞれ高い回収率であった。また、精製カラムでは、焼却炉の排出ガス、ばいじん、燃え殻、排水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストの粗抽出液を用いて破過試験を実施して、供試可能な粗抽出液の濃度 (ヘキサン 1 ml あたりの試料量) を把握した (図 9)。供試可能な試料量に基づき、排水とハウスダストを除いて、各種試料媒体のダイオキシン類の排出基準や環境基準の 10% 程度以下を検出可能な供試料量と最終検液量を設定した (表 8)。排水については、破過試験によって、精製カラム 1 本で処理できる処理量に限界があり、排出基準や環境基準の 30% 程度を検出可能な供試料量と最終検液量を設定した。ハウスダストについては、環境基準が設定されていないため、直接摂取を想定して基準が決められている土壌の環境基準を参考として、供試料量と最終検液量を設定した。

本研究では、粗抽出液に含まれる測定妨害成分の有機物を除去するため、55%硫酸シリカゲルカラムを使用する。55%硫酸シリカゲルカラムによる有機物の除去原理として、硫酸による有機物のスルホン化とスルホン化物のシリカゲル吸着が想定される。臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類については、硫酸によるスルホン化を受けずに非極性であるため、非極性溶媒のヘキサンと共溶出すると考えられる。測定妨害成分としては、脂質やタンパク質等の様々な種類の有機物質が挙げられる。これらの中でも、生物検定法において Ah レセプターに結合してルシフェラーゼを誘導する多環芳香族炭化水素 (PAHs)³⁶⁻³⁸⁾ は、直接的に測定値に影響を与えるため、55%硫酸シリカゲルカラムを用いて除去する必要がある。PAHs は、発がん物質として分類される有機汚染物質であるが、環境中で残留し難く食物連鎖を通じて生物濃縮しないことから、Ah レセプターに結合して下流遺伝子を発現しても、ダイオキシン類縁化合物 (ダイオキシン類と同様の毒性を示す化学物質の総称) に分類されない¹⁴⁾。そのため本研究では、臭素化ダイオキシン類や塩素化ダイオキシン類のようなダイオキシン類化合物の評価を目的とするため、55%硫酸シリカゲルカラムによって PAHs 等の有機物質を除去した精製画分を生物検定法で評価した。

b. 分画カラム

本研究では、分画カラムとして開発した 10%硝酸銀シリカゲルカラムを対象として、臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の化学物質標準品による添加回収試験を実施した。添加回収試験の結果を表 9 に示す。塩素化ダイオキシン類及び臭素化ダイオキシン類の回収率は、65%~102% ($n=3$) 及び 71%~96% ($n=3$) であり、ヘキサン 8 ml で塩素化ダイオキシン類を、4%アセトン/ヘキサン 10 ml で臭素化ダイオキシン類を、それぞれ十分に回収することができた。図 5 に示している TEQ に寄与する主要異性体に着目すると、塩素化ダイオキシン類 (1,2,3,7,8-PeCDD、1,2,3,6,7,8-HxCDD、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD、2,3,7,8-TeCDF、1,2,3,7,8-PeCDF、2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,4,7,8-HxCDF、2,3,4,6,7,8-HxCDF 及び PCB#126) では平均 85%、臭素化ダイオキシン類 (2,3,7,8-TeBDF、2,3,4,7,8-PeBDF、1,2,3,4,7,8-HxBDF 及び 1,2,3,4,6,7,8-HpBDF) では平均 88% であり、それぞれ高い回収率であった。また、臭素化ダイオキシン類の脱臭素化の可能性を考察するために、2,3,7,8-TeBDD、1,2,3,7,8-PeBDD、1,2,3,4,7,8-HxBDD、1,2,3,4,6,7,8-HpBDD、OBDD、2,3,7,8-TeBDF、2,3,4,7,8-PeBDF、1,2,3,4,7,8-HxBDF、1,2,3,4,6,7,8-HpBDF、OBDF について 10%硝酸銀シリカゲルカラム処

理前後のクロマトグラムを比較したところ、すべての異性体について添加量に対して1%以上の脱臭素化がみられないことを確認した。添加量の1%未満で脱臭素化が起きるかどうかは、GC-ECD法の検出下限による限界もあり、確認できていない。

本研究では、精製画分に含まれる塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類を分別するために、10%硝酸銀シリカゲルカラムを使用する。10%硝酸銀シリカゲルカラムによる分画の原理としては、銀イオンと対象物質との相互作用が考えられる。一般的に、銀イオンは、有機物質の不飽和結合と錯体を形成するとされている³⁹⁾。従って、塩素化ダイオキシン類及び臭素化ダイオキシン類についても、ジベンゾ-パラ-ダイオキシンやジベンゾフランの不飽和結合と銀イオンが相互作用すると考えられたが、本研究の結果からは、不飽和結合ではなく、置換しているハロゲンの種類が溶出挙動と関連していると考えられた。塩素化ダイオキシン類は銀イオンと相互作用を示さずヘキサンで容易に溶出するのに対し、臭素化ダイオキシン類は銀イオンと相互作用することでヘキサンで溶出しないと考えられる。一方で4%アセトン/ヘキサンを流下することで、10%硝酸銀シリカゲルカラムから臭素化ダイオキシン類を容易に回収できる。ヘキサンは非極性溶媒であり、4%アセトン/ヘキサンはアセトンが両親媒性の有機溶剤であるので微極性溶媒といえる。従って、臭素化ダイオキシン類は、微極性溶媒と共溶出する性質を持っているといえる。塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の違いは、置換しているハロゲンが塩素か臭素の違いである。塩素と臭素の違いとしては、電気陰性度が塩素(3.16)より臭素(2.96)が低いこと、van der Waals半径が塩素(175 pm)より臭素(185 pm)が大きいこと、結合距離が炭素と塩素(1.8Å)より炭素と臭素(1.9Å)で長いこと、などが挙げられる。従って、有機臭素化合物は、有機塩素化合物よりも、電気陰性度が低いため分子内の電子を引き付ける力が弱い、臭素の原子半径が大きく炭素との結合距離が長くなるため、分子内の電子分布に偏りが生じやすいと考えられる。臭素化ダイオキシン類は、塩素化ダイオキシン類と比較して分子内の電子に偏りがあり、銀イオンと相互作用すると考えられる。

本研究では、臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類を分別する55%硫酸シリカゲルカラムと10%硝酸銀シリカゲルカラムを用いる簡易前処理法を開発した。簡易前処理法のフローを図10に示す。本研究で開発した簡易前処理は、臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の回収率が良いという点だけでなく、汎用有機溶剤であるヘキサンやアセトンで使用可能であり、さらに省溶剤な方法であることから、汎用性の高い方法といえる。また、55%硫酸シリカゲルカラムと10%硝酸銀シリカゲルカラム共に、1本あたり1500円以下になる見込みであり、価格の面からも汎用性が高いと考えられる。

2) 既知濃度試料による測定評価法の適用性評価

a. 臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類のWHO-TEQ

本研究では、既知濃度試料を得るために、小型焼却炉の排出ガス、ばいじん、燃え殻、排水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストの計24試料について、GC-HRMS法で臭素化ダイオキシン類及び塩素化ダイオキシン類を測定した。各種試料媒体の臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の実測濃度とWHO-TEQを表10に示す。

小型焼却炉の排出ガス、ばいじん、燃え殻、排水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストのWHO-TEQ濃度範囲は、臭素化ダイオキシン類で検出下限以下～450 ppt ($n=24$)、塩素化ダイオキシン類で0.10～180 ppt ($n=24$)であった。小型焼却炉の排出ガスのWHO-TEQは、測定した3試料のうち、2試料が塩素化ダイオキシン類の排出基準を5倍程度超過していた。3試料共に、臭素化ダイオキシン類のWHO-TEQは低く、総WHO-TEQの3%以下であった。ばいじんのWHO-TEQは、測定した3試料のうち、1試料が塩素化ダイオキシン類の排出基準を5倍程度超過していた。臭素化ダイオキシン類のWHO-TEQは3試料共に塩素化ダイオキシン類と比較してかなり低いものの、精錬炉排気塔で採取した試料については総WHO-TEQの16%程度とやや高かった。燃え殻のWHO-TEQは、測定した3試料のうち、2試料が塩素化ダイオキシン類の排出基準を2～5倍程度超過していた。3試料共に、臭素化ダイオキシン類のWHO-TEQは低く、総WHO-TEQの1%以下であった。土壌と底質のWHO-TEQは、いずれの試料も塩素化ダイオキシン類の環境基準以下であった。臭素化ダイオキシン類のWHO-TEQは、いずれの試料も相対的に高く、総WHO-TEQの90%以上を占める試料が2試料あった。土壌と底質は、アジア途上国の廃電子機器リサイクル施設集積地区の野焼き地点や処理施設近傍で採取して分析したものであり、既報で詳細を報告している⁷⁾。排水のWHO-TEQは、測定した3試料のうち、2試料が塩素化ダイオキシン類の排出基準を5～18倍程度超過していた。3試料共に、臭素化ダイオキシン類のWHO-TEQは低く、総WHO-TEQの1%以下であった。建屋内空気のWHO-TEQは、1試料が作業環境基準を2倍程度超過していた。臭素化ダイオキシン類のWHO-TEQはいずれも低く、総WHO-TEQの1%以下であった。ハウスダストについては、環境基準が設定されておら

ず、基準との比較ができないが、1 試料で WHO-TEQ が 450 pg/g と非常に高く検出されている。臭素化ダイオキシン類の WHO-TEQ は、塩素化ダイオキシン類の WHO-TEQ よりも高く、3 試料共に総 WHO-TEQ の 80% を超えていた。今回測定した試料の結果は、我々の既報の結果と矛盾せず¹²⁾、ハウスダストにおける臭素化ダイオキシン類の重要度を改めて示している。

既知濃度試料の WHO-TEQ の検出傾向をまとめると、臭素化ダイオキシン類は、臭素系難燃剤を含む製品が使用或いは処理されている環境で比較的高い濃度で検出される傾向である。また、塩素化ダイオキシン類の WHO-TEQ は媒体問わず焼却関連試料で高い傾向であった。これらの傾向は、これまでに報告されている臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の検出特性とよく一致しており、特異的でない試料セットであることを示している。また、塩素化ダイオキシン類の排出基準や環境基準付近の試料を選定できており、WHO-TEQ レベルの面からも生物検定法による測定評価法の適用性評価に妥当な試料セットであると考えられた。

b. 精製画分の CALUX-TEQ

本研究では、小型焼却炉の排出ガス、ばいじん、燃え殻、排水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストについて、図 10 のフローに基づいて精製画分を調製し、DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法で CALUX-TEQ を測定した。各種試料媒体の精製画分の CALUX-TEQ を表 11 に示す。小型焼却炉の排出ガス、ばいじん、燃え殻、排水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストから調製した精製画分の CALUX-TEQ 濃度範囲は、DR-CALUX アッセイ法で 0.0019~600 ppt ($n=23$)、XDS-CALUX アッセイ法で 0.12~530 ppt ($n=22$) であった。DR-CALUX アッセイ法では底質 1 試料が、XDS-CALUX アッセイ法では底質 1 試料と排水 1 試料が、それぞれ定量下限値以下であった。精製画分は、表 8 に示されている通り、供試料量を少なくして破過することのない状況で調製した。結果として、定量下限値以下の試料が出ている。これら試料媒体の定量下限値は、底質について塩素化ダイオキシン類の環境基準の 16% 程度、排水について排出基準の 28% 程度である。これらを考慮すると、定量下限値以下の試料については、汚染程度が低いものであり、臭素化ダイオキシン類の寄与を把握する必要がないといえる。

精製画分の CALUX-TEQ と臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の WHO-TEQ の相関性を評価すると (図 11 と図 12)、DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法共に、強い正の相関関係が示された ($R=0.980\sim 0.985$, $P<0.001$)。試料媒体別に CALUX-TEQ/WHO-TEQ 比をみると、DR-CALUX 法では、排出ガスで 2.0~3.7、ばいじん で 2.8~7.6、燃え殻で 2.8~4.9、排水で 1.7~13、土壌で 1.9~4.3、堆積物で 3.6~4.7、建屋内空気 で 2.7~5.4、ハウスダストで 0.42~3.6 であり、XDS-CALUX 法では、排出ガスで 1.9~3.9、ばいじん で 2.4~4.2、燃え殻で 3.0~4.5、排水で 2.3~9.3、土壌で 1.7~12、堆積物で 7.1~12、建屋内空気 で 3.1~7.1、ハウスダストで 0.62~9.0 であった。ハウスダスト 1 試料を除く全ての試料で、WHO-TEQ と比較して CALUX-TEQ が高値を示す傾向であった。これは、既報研究によって指摘されている次の 2 点が考えられる^{7,10,12)}。1 点目としては、「3. 臭素化ダイオキシン類検出ツールとしての生物検定法の妥当性評価に関する研究」で述べている生物検定法の REP と WHO-TEF の差が挙げられる。今回評価した既知濃度試料は、先述の通り、臭素化ダイオキシン類が濃度高く検出される試料媒体 (土壌、底質及びハウスダスト) と検出されない試料媒体 (排出ガス、ばいじん、燃え殻、排水及び建屋内空気) が存在する。これらグループ別にみると、土壌、底質及びハウスダストの WHO-TEQ には PBDFs が高く寄与していた (表 10)。DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法における PBDFs の REP/WHO-TEF 比は、異性体によって大きく変化しており、2,3,7,8-TBDF で 3.1 と 5.7 であるの対して 1,2,3,4,6,7,8-HpBDF で 0.16 と 0.26 である (表 12)。これは、PBDFs の WHO-TEQ 寄与が高い試料については異性体組成によって CALUX-TEQ と WHO-TEQ の関係性が変化することを意味している。例えば、ハウスダスト (HD-01) は、REP/WHO-TEF 比の低い 1,2,3,4,6,7,8-HpBDF 濃度が他の異性体と比較して極めて高いため、精製画分の CALUX-TEQ が WHO-TEQ より唯一低くなっていた (表 10)。排出ガス、ばいじん、燃え殻、排水及び建屋内空気の WHO-TEQ には PCDFs、次いで PCDDs が順に高く寄与していた (表 10)。PCDFs の REP/WHO-TEF 比は高い傾向であり、PCDFs の WHO-TEQs 寄与が高い試料については CALUX-TEQ が WHO-TEQ よりも高くなることを示している。PCDDs の REP/WHO-TEF 比は、DR-CALUX アッセイ法でやや高く、XDS-CALUX 法でやや低くなる傾向であるが、PCDDs の WHO-TEQ に高く寄与する 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD については、DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法共に REP/WHO-TEF 比が高かった。PCDDs の WHO-TEQs についても CALUX-TEQ が WHO-TEQ と同等以上になることを示しているのかもしれない。2 点目には、本研究で対象としている臭素化ダイオキシン類及び塩素化ダイオキシン類以外のダイオキシン類縁化合物の存在が挙げられる。標準品が製造されておらず毒性評価のされていない臭素化ダイオキシン

類と塩素化ダイオキシン類、本研究でも評価した臭素化塩素化ダイオキシン類¹⁶⁻¹⁹、塩素化或いは臭素化した PAHs^{40,41})等はその原因物質となりえる。

本研究の結果は、精製画分の CALUX-TEQ が WHO-TEQ よりも高値を示すものの、両者に強い正の相関関係が示されることを明らかにした。これは、精製画分の CALUX-TEQ によって臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類で汚染されている試料をスクリーニングできることを示唆する。一方で、PBDFs のうち 1,2,3,4,6,7,8-HpBDF の濃度が極めて高く、WHO-TEQ への寄与も高い試料については、精製画分の CALUX-TEQ が WHO-TEQ よりも低くなる可能性がある。1,2,3,4,6,7,8-HpBDF が特異的に高くなる試料としては、臭素系難燃剤のデカ BDE¹⁾や当該物質を使用して難燃製品を製造している工場の排水等^{23,25,33})が挙げられ、このような試料について臭素化ダイオキシン類の汚染をスクリーニングする際は CALUX-TEQ によるスクリーニング基準を厳しくする等の対応が必要と思われる。

c. 臭素化ダイオキシン類画分と塩素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ

本研究では、小型焼却炉の排出ガス、ばいじん、燃え殻、排水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストについて、図 10 のフローに基づき 10%硝酸銀シリカゲルカラムで分画操作を行い塩素化ダイオキシン類画分及び臭素化ダイオキシン類画分を調製して、DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法で CALUX-TEQ を測定した。塩素化ダイオキシン類画分と臭素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ 比と、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の WHO-TEQ 比を、それぞれ図 13 と図 14 に示す。

DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法で得られた塩素化ダイオキシン類画分と臭素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ 比は、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の WHO-TEQ 比を概ね反映していた。CALUX-TEQ 比と WHO-TEQ 比の相関性を評価すると、DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法共に、強い正の相関関係が示された ($R=0.843$ 及び 0.911 , $P<0.001$)。これらの結果は、10%硝酸銀シリカゲルカラムによる精製画分の分画処理によって、WHO-TEQ に寄与する主要なダイオキシン類縁化合物を把握できることを示している。

一方で、塩素化ダイオキシン類画分と臭素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ 比と、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の WHO-TEQ 比は、厳密に一致するわけではない。例えば、臭素化ダイオキシン類の WHO-TEQ が得られない場合でも、臭素化ダイオキシン類画分で CALUX-TEQ が得られる場合がある (図 13 と図 14)。これは、先述の通り、本研究で対象としている臭素化ダイオキシン類及び塩素化ダイオキシン類以外のダイオキシン類縁化合物の存在が挙げられる。例えば、本研究でも評価した臭素化塩素化ダイオキシン類について 10%硝酸銀シリカゲルカラムで分画処理すると、ヘキサン画分と 4%アセトン/ヘキサン画分にまたがって溶出する (表 13)。このように、精製画分の CALUX-TEQ と WHO-TEQ の比較だけでなく、臭素化ダイオキシン類画分と塩素化ダイオキシン類の CALUX-TEQ 比と WHO-TEQ 比の結果からも、本研究の GC-HRMS 測定で対象とする塩素化ダイオキシン類及び臭素化ダイオキシン類以外のダイオキシン類縁化合物の存在が示唆された。

本研究の結果は、塩素化ダイオキシン類画分と臭素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ 比と、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の WHO-TEQ 比の強い正の相関関係を示し、CALUX-TEQ 比を求めることで汚染の主体の把握が可能であることを示した。

(4) まとめ

本研究では、生物検定法による塩素化/臭素化ダイオキシン類測定評価法を確立することを目的として、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類を分別して評価する簡易前処理法を開発し、生物検定法と簡易前処理法からなる塩素化/臭素化ダイオキシン類測定評価法の妥当性を確認した。本研究では、精製カラムとして 55%硫酸シリカゲルカラムと分画カラムとして 10%硝酸銀シリカゲルカラムを用いる簡易前処理法を開発して、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の化学物質標準品の添加回収試験を実施して、WHO-TEQ に主に寄与する異性体の高い回収率と繰り返し再現性を確認した。次いで、小型焼却炉の排出ガス、ばいじん、燃え殻、排水・環境水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストについて塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の WHO-TEQ を把握して既知濃度試料を得た。既知濃度試料の粗抽出液を簡易前処理法に適用して生物検定法で CALUX-TEQ を測定した結果、精製画分の CALUX-TEQ は WHO-TEQ よりも高値を示すものの、両者に強い正の相関関係が示され、精製画分の CALUX-TEQ によって臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類で汚染されている試料をスクリーニングできることが示唆された。また、精製画分を 10%硝酸銀シリカゲルカラム分画して得られる塩素化ダイオキシン類画分と臭素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ 比は、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の WHO-TEQ 比と強い正の相関関係を示し、当該分画処理によって得られる CALUX-TEQ 比に

よって汚染の主体の把握が可能であることを示した。本研究の実施によって、塩素化／臭素化ダイオキシン類スクリーニング法としての生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の適用性が確認できた。本研究で開発した簡易前処理は、臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の回収率が良いという点だけでなく、汎用有機溶剤であるヘキサンやアセトンで使用可能であり、さらに省溶剤な方法であることから、汎用性の高い方法といえる。また、55%硫酸シリカゲルカラムと10%硝酸銀シリカゲルカラム共に、1本あたり1500円以下になる見込みであり、価格の面からも汎用性が高いと考えられる。

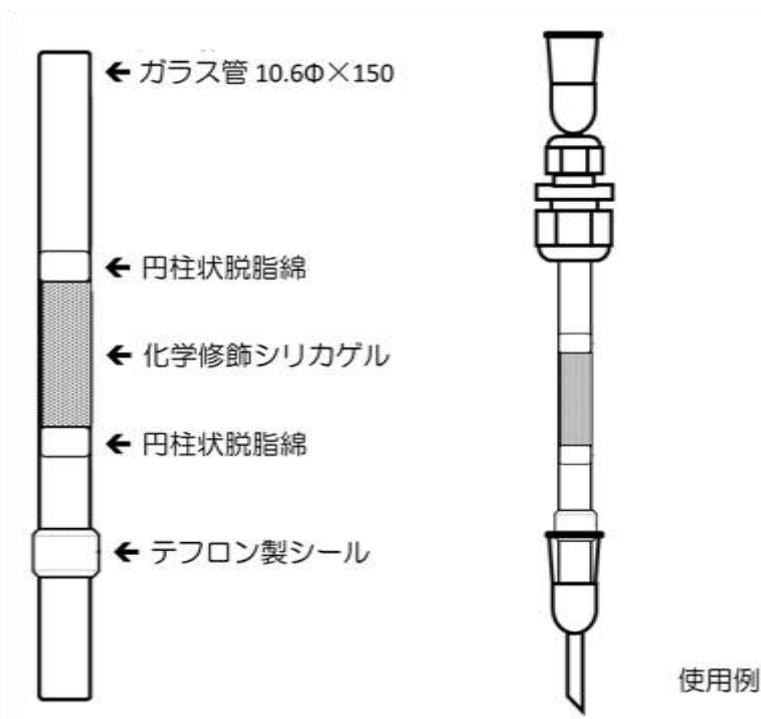


図7 プレセップ型のガラス製カラム

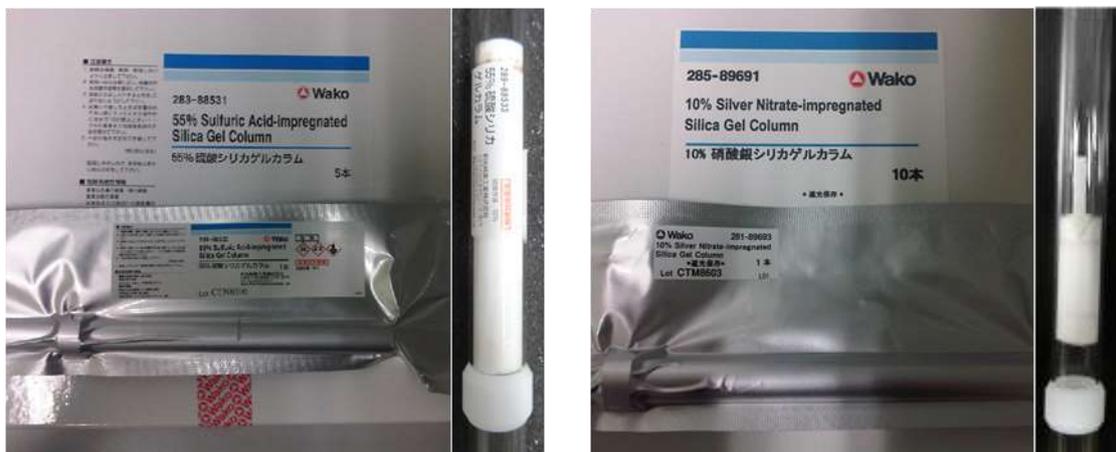


図8 本研究で開発したプレセップ型の55%硫酸シリカゲルカラムと10%硝酸銀シリカゲルカラム

表7 55%硫酸シリカゲルカラムにおける臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の回収率

Compounds	Recovery (%)	
	55% sulfuric acid-impreganted silica gel column (n=3)	
	Average	stdev
Brominated dioxins		
PBDDs		
2,3,7,8-TBDD	98	2.5
1,2,3,7,8-PeBDD	97	1.9
1,2,3,6,7,8-HxBDD	90	0.86
1,2,3,4,6,7,8-HpBDD	89	3.1
OBDD	81	9.1
PBDFs		
2,4,8-TriBDF	90	2.3
2,3,7,8-TBDF	94	2.7
2,3,4,7,8-PeBDF	90	2.6
1,2,4,6,7,8-HxBDF	89	2.3
1,2,3,4,6,7,8-HpBDF	88	2.0
OBDF	95	2.0
PCDDs		
2,3,7,8-TCDD	80	4.5
1,2,3,7,8-PeCDD	95	4.8
1,2,3,4,7,8-HxCDD	93	6.3
1,2,3,6,7,8-HxCDD	100	7.4
1,2,3,7,8,9-HxCDD	96	8.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	86	6.8
OCDD	88	8.8
Chlorinated dioxins		
PCDFs		
2,3,7,8-TeCDF	86	2.0
1,2,3,7,8-PeCDF	95	6.0
2,3,4,7,8-PeCDF	66	3.8
1,2,3,4,7,8-HxCDF	93	5.7
1,2,3,6,7,8-HxCDF	102	8.7
1,2,3,7,8,9-HxCDF	79	7.8
2,3,4,6,7,8-HxCDF	75	8.3
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	82	5.2
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	101	5.8
OCDF	91	4.2
Co-PCBs		
3,4,4',5'-TCB (#81)	69	2.9
3,3',4,4'-TCB (#77)	74	2.1
3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	79	2.9
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	91	6.4
2',3,4,4',5'-PeCB (#123)	71	1.6
2,3',4,4',5'-PeCB (#118)	70	2.4
2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	77	4.4
2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	72	1.8
2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	78	4.4
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	79	3.0
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	84	6.7
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	87	5.9

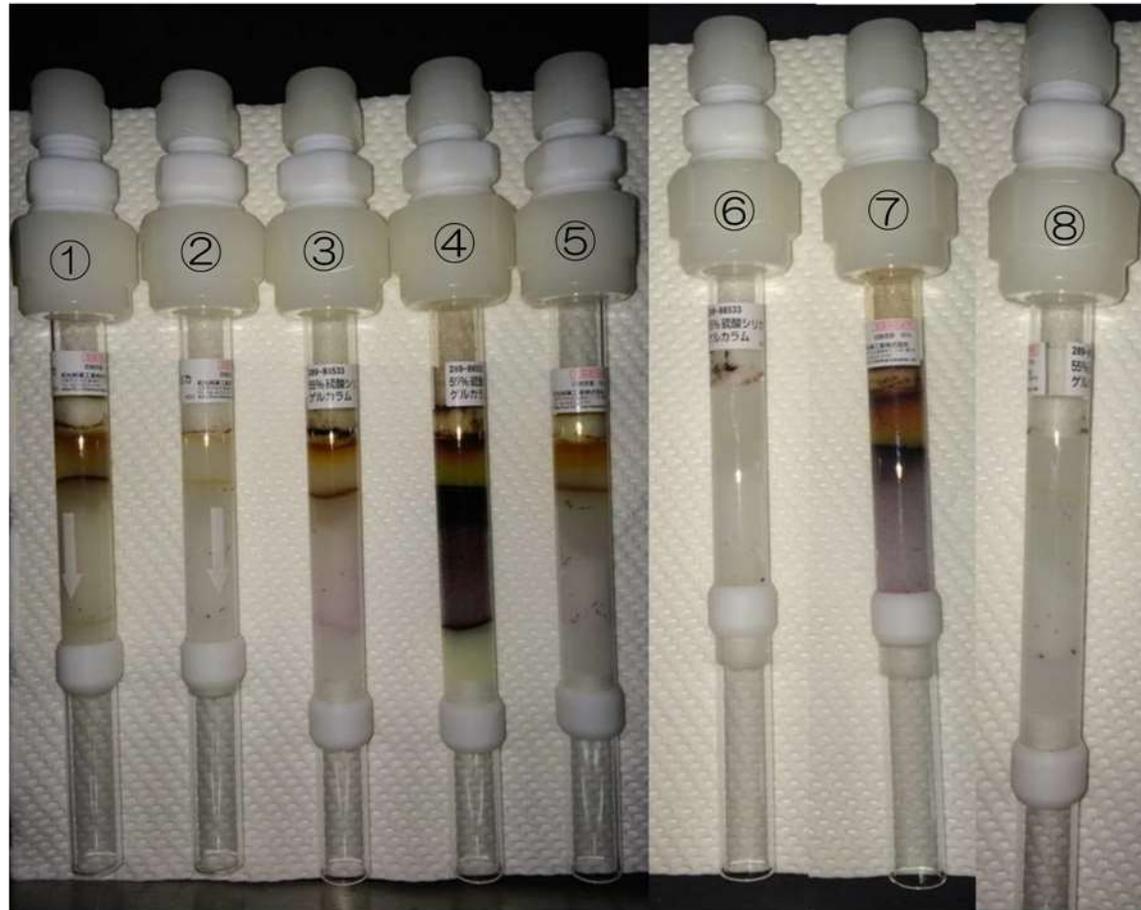


図9 各種試料の粗抽出液による破過試験の一例

①排水試料 (3.6 L 相当量)、②建屋内空気試料 (100 m³ 相当量)、③ばいじん試料 (10 g 相当量)、
④燃え殻試料 (10 g 相当量)、⑤排出ガス試料 (3.5 m³N 相当量)、⑥排水試料 (①の2回目)、⑦
燃え殻試料 (10 g 相当量)、⑧燃え殻試料 (⑦の2回目)

表 8 55%硫酸シリカゲルカラムで処理する各種試料媒体の粗抽出液中試料量と最終 DMSO 量、それに対応する生物検定法における定量下限値と塩素化ダイオキシン類の環境基準と排出基準

Sample	Sample amount	DMSO amount	DR-CALUX assay	XDS-CALUX assay	Environmental quality standards
			Limit of quantification ^a	Limit of quantification ^b	or emission standards for dioxins in Japan
Flue gas	0.45 m ³	50 µl	4.5 pg TEQ/m ³	5.6 pg TEQ/m ³	100 - 5,000 pg WHO-TEQ/m ³ N
Fly ash	0.10 g	50 µl	20 pg TEQ/g	24 pg TEQ/g	3,000 pg WHO-TEQ/g
Bottom ash	0.10 g	50 µl	20 pg TEQ/g	24 pg TEQ/g	3,000 pg WHO-TEQ/g
Waste water	0.90 L	50 µl	2.2 pg TEQ/L	2.8 pg TEQ/L	10 pg WHO-TEQ/g
Soil	0.10 g	50 µl	20 pg TEQ/g	24 pg TEQ/g	1,000 pg WHO-TEQ/g
Sediment	0.10 g	50 µl	20 pg TEQ/g	24 pg TEQ/g	150 pg WHO-TEQ/g
Work environment	12.5 m ³	50 µl	0.16 pg TEQ/m ³	0.20 pg TEQ/m ³	2.5 pg WHO-TEQ/m ³
House dust	0.10 g	50 µl	20 pg TEQ/g	24 pg TEQ/g	-

^a Limit of quantification for DR-CALUX assay was calculated using “sample amount” and “DMSO amount” indicated in Table.

^b Limit of quantification for XDS-CALUX assay was calculated using “sample amount” and “DMSO amount” indicated in Table.

表9 10%硝酸銀シリカゲルカラムにおける臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の回収率

Compounds	Recovery (%)					
	10% silver nitrate-impregnated silica gel column (n=3)					
	8 ml of <i>n</i> -hexane		2 ml of <i>n</i> -hexane		10 ml of 4% acetone/ <i>n</i> -hexane	
	Average	stdev	Average	stdev	Average	stdev
Brominated dioxins						
PBDDs						
2,3,7,8-TBDD					96	1.8
1,2,3,7,8-PeBDD					92	3.4
1,2,3,6,7,8-HxBDD					85	4.9
1,2,3,4,6,7,8-HpBDD					96	1.9
OBDD					85	6.5
PBDFs						
2,4,8-TriBDF	11	4.5	10	4.2	68	3.2
2,3,7,8-TBDF					96	1.9
2,3,4,7,8-PeBDF					91	1.5
1,2,4,6,7,8-HxBDF					71	1.7
1,2,3,4,6,7,8-HpBDF					94	0.97
OBDF					85	9.5
PCDDs						
2,3,7,8-TCDD	90	25				
1,2,3,7,8-PeCDD	91	25	0.84	1.1		
1,2,3,4,7,8-HxCDD	90	28	0.54	0.93		
1,2,3,6,7,8-HxCDD	80	24	0.63	0.75		
1,2,3,7,8,9-HxCDD	87	24	1.1	1.3		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	85	24	1.5	1.9		
OCDD	86	22	1.9	1.6		
Chlorinated dioxins						
PCDFs						
2,3,7,8-TeCDF	86	25	0.65	0.15		
1,2,3,7,8-PeCDF	87	26	0.61	1.1		
2,3,4,7,8-PeCDF	65	13				
1,2,3,4,7,8-HxCDF	92	25	1.0	1.4		
1,2,3,6,7,8-HxCDF	90	26	1.1	1.3		
1,2,3,7,8,9-HxCDF	84	19	0.33	0.58		
2,3,4,6,7,8-HxCDF	83	23	0.26	0.45		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	84	22	0.92	1.6		
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	93	17	1.3	2.3		
OCDF	98	21	2.3	1.7		
Co-PCBs						
3,4,4',5'-TCB (#81)	88	11				
3,3',4,4'-TCB (#77)	92	16				
3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	97	18				
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	92	18				
2',3,4,4',5'-PeCB (#123)	86	15				
2,3',4,4',5'-PeCB (#118)	90	20	0.090	0.16		
2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	95	22	0.060	0.10		
2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	89	17				
2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	92	20				
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	88	21				
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	99	15				
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	102	14				

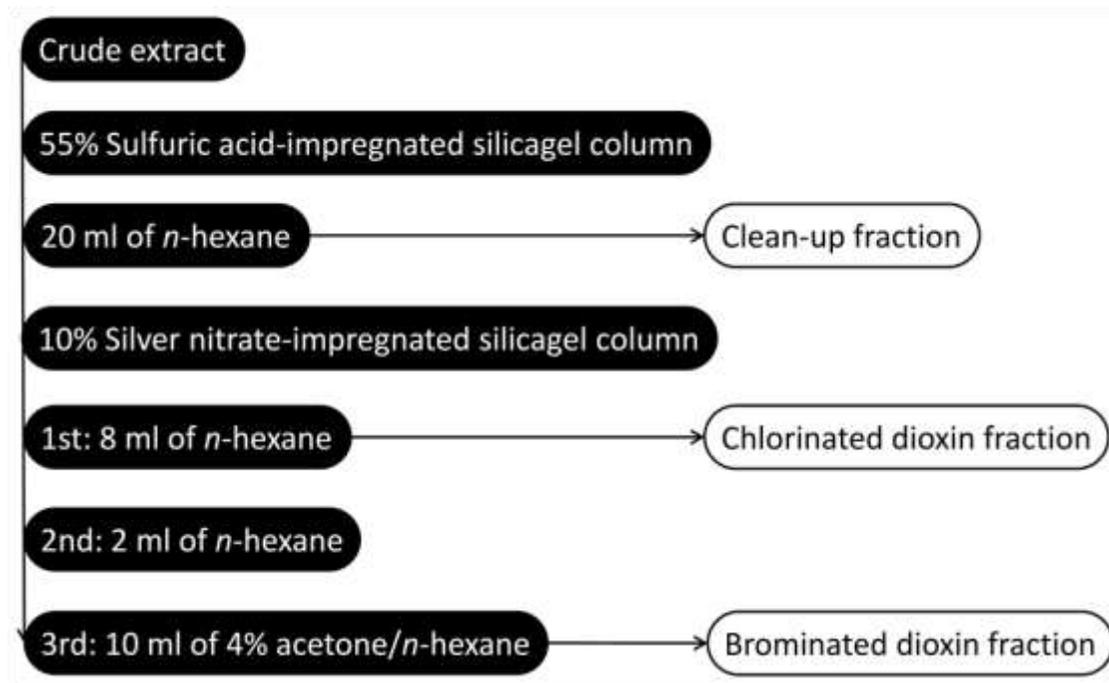


図 10 本研究で開発した簡易前処理フロー

表 10 小型焼却炉の排出ガス、ばいじん、燃え殻、排水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストの臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の実測濃度と WHO-TEQ (その1)

Compounds	WHO-TEF ^a	Flue gas (ng/m ³ N)			Fly ash (ng/g)			Bottom ash (ng/g)		
		FG-01 Recycle plant	FG-02 Small incinerator	FG-03 Small incinerator	FA-01 Industrial waste	FA-02 Smelting furnace	FA-03 Industrial waste	BA-01 Industrial waste	BA-02 Industrial waste	BA-03 Municipal waste
Brominated dioxins										
PBDDs										
2,3,7,8-TBDD	1	0.14	<0.0020	<0.0020	0.069	<0.0040	<0.0040	<0.0040	<0.0040	<0.0040
1,2,3,7,8-PeBDD	1	<0.0075	<0.0075	<0.0075	<0.015	<0.015	<0.015	<0.015	<0.015	<0.015
1,2,3,4,7,8-HxBDD	0.1	<0.010	<0.010	<0.010	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
1,2,3,4,6,7,8-HpBDD	0.01	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
OBDD	0.0003	<0.050	<0.050	<0.050	<0.10	0.13	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10
PBDFs										
2,3,7,8-TBDF	0.1	0.53	0.10	0.0049	0.080	0.24	<0.0040	<0.0040	0.0063	0.0058
1,2,3,7,8-PeBDF	0.03	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
2,3,4,7,8-PeBDF	0.3	0.024	<0.0020	<0.0020	0.0057	0.40	<0.0040	<0.0040	0.0069	0.0044
1,2,3,4,7,8-HxBDF	0.1	0.068	0.036	0.030	0.016	1.8	<0.0080	<0.0080	0.021	<0.0080
1,2,3,4,6,7,8-HpBDF	0.01	0.61	0.33	0.44	0.0088	6.6	<0.0080	<0.0080	0.087	0.0089
OBDF	0.0003	0.68	0.36	0.29	<0.040	1.0	<0.040	<0.040	<0.040	<0.040
Chlorinated dioxins										
PCDDs										
2,3,7,8-TCDD	1	1.0	1.7	0.057	0.80	0.068	0.19	0.37	0.16	0.017
1,2,3,7,8-PeCDD	1	1.2	3.6	0.044	5.7	0.38	0.56	2.3	1.0	0.089
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	0.45	1.0	0.039	5.0	0.36	0.48	3.4	1.1	0.10
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	0.56	1.3	0.038	14	0.58	0.73	7.3	2.4	0.16
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	0.33	1.1	<0.01	8.2	0.49	0.75	5.1	1.9	0.15
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01	0.87	1.4	0.17	44	3.4	9.1	54	13	1.8
OCDD	0.0003	0.63	0.66	0.14	41	3.7	29	120	21	7.4
PCDFs										
2,3,7,8-TCDF	0.1	38	16	0.55	4.4	0.63	0.19	2.0	1.2	0.29
1,2,3,7,8-PeCDF	0.03	19	14	0.22	6.1	0.92	0.41	4.1	2.5	0.40
2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	7.7	16	0.22	11	1.5	0.51	8.3	3.5	0.73
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	6.9	7.1	0.089	8.5	2.3	0.92	16	4.6	0.87
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	5.4	7.5	0.10	10	2.1	1.0	14	4.6	0.94
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	0.35	0.35	0.0039	1.1	0.16	0.056	0.66	0.44	0.046
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	2.6	4.3	0.069	10	2.4	1.2	19	5.2	1.9
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01	6.9	5.7	0.091	20	8.1	6.9	76	17	6.9
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01	0.75	0.50	0.014	4.3	1.1	0.51	5.4	2.5	0.50
OCDF	0.0003	1.7	0.49	0.031	9.3	4.2	3.4	34	8.1	4.1
Co-PCBs										
3,4,4',5'-TCB (#81)	0.0003	35	4.0	0.059	2.5	0.26	0.070	4.7	0.97	0.21
3,3',4,4'-TCB (#77)	0.0001	53	12	0.40	7.3	1.7	0.17	8.2	2.0	1.2
3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	0.1	46	8.2	0.10	4.6	1.1	0.19	12	2.4	1.2
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	0.03	11	1.8	0.0068	0.91	0.59	0.084	5.5	0.94	0.35
2',3,4,4',5'-PeCB (#123)	0.00003	7	1.3	0.023	0.9	0.2	0.013	1.3	0.3	0.05
2,3',4,4',5'-PeCB (#118)	0.00003	18	2.7	0.090	3.7	6.40	0.059	2.4	0.71	0.180
2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	0.00003	21	3.9	0.082	3.3	4.4	0.062	4.0	1.10	0.39
2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	0.00003	19	1.3	0.015	1.20	0.31	0.013	2.0	0.46	0.055
2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	0.00003	16	1.6	0.025	1.0	1.1	0.045	2.2	0.5	0.12
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	0.00003	32	3.1	0.051	2.6	3.00	0.084	6.1	1.50	0.42
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	0.00003	13	1.8	0.024	1.20	0.8	0.049	3.9	0.87	0.25
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	0.00003	17	1.5	0.014	1.1	0.70	0.10	<0.004	1.3	0.31
PCDDs WHO-TEQ		2.3	5.7	0.11	9.7	0.63	1.0	4.8	1.8	0.17
PCDFs WHO-TEQ		8.3	8.8	0.15	7.1	1.3	0.58	8.6	2.9	0.71
Co-PCBs WHO-TEQ		5.0	0.88	0.010	0.49	0.13	0.022	1.4	0.27	0.13
PBDDs WHO-TEQ		0.14	0	0	0.069	0	0	0	0	0
PBDFs WHO-TEQ		0.073	0.017	0.0080	0.011	0.39	0	0	0.0050	0.0014
PCDD/Fs+Co-PCBs WHO-TEQ		16	15	0.28	17	2.1	1.6	15	5.0	1.0
PBDD/Fs WHO-TEQ		0.21	0.017	0.0080	0.081	0.39	0	0	0.0050	0.0014

表 10 小型焼却炉の排出ガス、ばいじん、燃え殻、土壌、底質、排水、建屋内空気及びハウスダストの臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の実測濃度と WHO-TEQ (その2)

Compounds	WHO-TEF ^a	Waste water (pg/L)			Soil (pg/g)			Sediment (pg/g)		
		WW-1 Municipal waste	WW-2 Landfill	WW-3 Landfill	SS-01 Open- burning	SS-02 E-waste- processing	SS-03 E-waste- processing	RS-01 E-waste- processing	RS-02 E-waste- processing	RS-03 Downstrea m area
Brominated dioxins										
PBDDs										
2,3,7,8-TBDD	1	<1.5	<1.5	<1.5	3.2	<0.5	15	<0.5	<0.5	<0.5
1,2,3,7,8-PeBDD	1	<80	<80	<80	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
1,2,3,4,7,8-HxBDD	0.1	<15	<15	<15	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
1,2,3,4,6,7,8-HpBDD	0.01	NA	NA	NA	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
OBDD	0.0003	<50	<50	<50	<5.0	<5.0	280	15	21	<5.0
PBDFs										
2,3,7,8-TBDF	0.1	3.4	<1.5	<1.5	20	5.1	89	1.0	1.6	<0.5
1,2,3,7,8-PeBDF	0.03	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
2,3,4,7,8-PeBDF	0.3	<1.5	<1.5	<1.5	14	4.0	130	<0.5	2.2	<0.5
1,2,3,4,7,8-HxBDF	0.1	<15	<15	<15	61	20	900	7.7	12	<1.0
1,2,3,4,6,7,8-HpBDF	0.01	15	48	<15	160	200	13000	120	210	62
OBDF	0.0003	<50	<50	<50	12	230	21000	270	750	140
Chlorinated dioxins										
PCDDs										
2,3,7,8-TCDD	1	2.4	1.0	0	1.1	<0.5	<0.5	1.0	<0.5	<0.5
1,2,3,7,8-PeCDD	1	10	7.6	0.20	7.0	<1.0	3.0	4.2	<0.5	<0.5
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	9.7	14	0.40	7.6	<1.0	2.7	5.2	<1.0	<1.0
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	17	48	1.1	16	1.9	5.2	11	2.0	<1.0
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	17	35	0.70	13	3.2	4.1	10	3.2	1.2
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01	81	570	12	110	35	35	120	38	18
OCDD	0.0003	87	1700	45	440	440	130	530	450	290
PCDFs										
2,3,7,8-TCDF	0.1	190	8.5	1.3	35	2.3	8.1	18	2.7	<0.5
1,2,3,7,8-PeCDF	0.03	360	9.0	0.40	140	7.3	28	84	12	0.92
2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	46	18	1.1	63	4.3	13	41	6.4	<0.5
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	720	24	0.60	160	7.6	27	88	12	<1.0
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	180	32	1.0	110	6.4	25	72	12	<1.0
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	120	3.6	0.10	29	3.2	6.3	27	4.0	<1.0
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	65	75	2.3	36	3.1	8.2	30	4.9	<1.0
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01	500	210	5.7	340	19	46	280	33	1.5
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01	620	50	0.50	68	3.7	13	62	11	<1.0
OCDF	0.0003	1600	300	2.4	340	11	26	150	27	<1.5
Co-PCBs										
3,4,4',5'-TCB (#81)	0.0003	0.30	34	1.3	40	41	410	300	150	4.0
3,3',4,4'-TCB (#77)	0.0001	2.8	870	21	22	3.5	21	16	6.3	<1.0
3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	0.1	2.1	44	4.3	58	7.2	51	42	8.3	<1.0
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	0.03	2.1	26	0.70	26	2.2	<1.0	19	<1.0	<1.0
2',3,4,4',5'-PeCB (#123)	0.00003	0.60	100	16	12	13	81	17	8.1	<1.0
2,3',4,4',5'-PeCB (#118)	0.00003	8.0	4500	860	54	180	3200	520	300	32
2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	0.00003	4.7	3500	410	33	82	1500	300	170	12
2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	0.00003	0.80	190	33	14	4.0	84	16	10	<1.0
2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	0.00003	5.4	610	58	21	10	150	23	9.9	1.9
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	0.00003	6.9	1700	160	58	25	390	67	26	5.2
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	0.00003	2.4	430	37	29	8.3	110	29	7.7	<1.0
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	0.00003	5.4	58	5.2	48	3.9	28	23	3.7	0.65
PCDDs WHO-TEQ		18	25	0.55	13	1.0	4.6	9.2	1.0	0.39
PCDFs WHO-TEQ		164	23	0.93	64	4.0	13	42	6.3	0.043
Co-PCBs WHO-TEQ		0.27	5.6	0.50	6.6	0.81	5.4	4.9	0.89	0.0028
PBDDs WHO-TEQ		0	0	0	3.2	0	15	0.0045	0.0063	0
PBDFs WHO-TEQ		0.49	0.48	0	14	5.8	274	2.2	4.3	0.66
PCDD/Fs+Co-PCBs WHO-TEQ		182	53	2.0	84	5.8	23	56	8.2	0.43
PBDD/Fs WHO-TEQ		0.49	0.48	0	17	5.8	289	2.2	4.4	0.66

表 10 小型焼却炉の排出ガス、ばいじん、燃え殻、土壌、底質、排水、建屋内空気及びハウスダストの臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の実測濃度と WHO-TEQ (その3)

Compounds	WHO-TEF ^a	Work environment (pg/m ³)			House dust (pg/g)		
		WE-01 Municipal waste	WE-02 Municipal waste	WE-03 Municipal waste	HD-01 Household waste	HD-02 Household waste	HD-03 Household waste
Brominated dioxins							
PBDDs							
2,3,7,8-TBDD	1	<0.16	<0.16	<0.16	<5.0	<5.0	<5.0
1,2,3,7,8-PeBDD	1	<0.60	<0.60	<0.60	<20	<20	<20
1,2,3,4,7,8-HxBDD	0.1	<0.80	<0.80	<0.80	<25	<25	<25
1,2,3,4,6,7,8-HpBDD	0.01	NA	NA	NA	NA	NA	NA
OBDD	0.0003	<4.0	<4.0	<4.0	340	<125	<125
PBDFs							
2,3,7,8-TBDF	0.1	<0.16	<0.16	<0.16	24	35	20
1,2,3,7,8-PeBDF	0.03	NA	NA	NA	NA	NA	NA
2,3,4,7,8-PeBDF	0.3	<0.16	<0.16	<0.16	100	<25	<25
1,2,3,4,7,8-HxBDF	0.1	<0.80	<0.80	<0.80	860	82	36
1,2,3,4,6,7,8-HpBDF	0.01	1.2	<0.80	<0.80	29000	2500	1000
OBDF	0.0003	<4.0	<4.0	<4.0	140000	9200	2400
Chlorinated dioxins							
PCDDs							
2,3,7,8-TCDD	1	0.10	<0.04	<0.04	<2.0	<2.0	<2.0
1,2,3,7,8-PeCDD	1	0.20	0.10	0.10	<2.0	<2.0	<2.0
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	0.20	0.10	0.10	<3.0	<3.0	<3.0
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	0.30	0.10	0.20	<3.0	22	<3.0
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	0.20	0.10	0.10	<3.0	22	<3.0
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01	4.3	2.2	0.90	24	99	32
OCDD	0.0003	45	17	1.9	150	120	180
PCDFs							
2,3,7,8-TCDF	0.1	1.6	0.40	0.20	<2.0	<2.0	<2.0
1,2,3,7,8-PeCDF	0.03	1.9	0.50	0.40	<3.0	<3.0	<3.0
2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	4.8	1.1	0.60	<2.0	3.0	<2.0
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	3.0	0.90	0.80	<2.0	5.0	<2.0
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	3.2	1.0	0.80	<3.0	4.0	<3.0
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	0.10	<0.2	<0.06	<6.0	<6.0	<6.0
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	7.6	1.8	0.90	<5.0	<5.0	<5.0
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01	22	6.9	3.1	<2.0	<2.0	<2.0
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01	1.5	0.70	0.30	<5.0	<5.0	<5.0
OCDF	0.0003	23	8.6	1.5	27	<8.0	<8.0
Co-PCBs							
3,4,4',5'-TCB (#81)	0.0003	6.4	1.6	0.70	<4.0	<4.0	<4.0
3,3',4,4'-TCB (#77)	0.0001	24	5.7	2.5	59	32	40
3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	0.1	21	4.6	1.9	<4.0	5.0	<4.0
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	0.03	4.0	0.80	0.40	<4.0	<4.0	<4.0
2',3,4,4',5'-PeCB (#123)	0.00003	2	0.5	0.3	8.0	45	5.1
2,3',4,4',5'-PeCB (#118)	0.00003	8.0	2.90	1.50	230	130	260
2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	0.00003	13.0	3.3	1.4	120	47	120
2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	0.00003	2.4	0.60	0.30	17	8.0	9.0
2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	0.00003	3	0.8	0.4	19	77	15
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	0.00003	11.0	2.4	1.00	30	15	25
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	0.00003	5.6	1.30	0.50	7.0	<2.0	6.0
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	0.00003	4.9	1.1	0.50	3.0	10	3.0
PCDDs WHO-TEQ		0.43	0.16	0.15	0.29	5.4	0.37
PCDFs WHO-TEQ		3.3	0	0	0.0081	1.8	0
Co-PCBs WHO-TEQ		2.2	0.49	0.20	0.019	0.51	0.017
PBDDs WHO-TEQ		0	0	0	0.10	0	0
PBDFs WHO-TEQ		0.012	0	0	450	39	16
PCDD/Fs+Co-PCBs WHO-TEQ		5.9	0.64	0.35	0.31	7.7	0.39
PBDD/Fs WHO-TEQ		0.012	0	0	451	39	16

表 11 DR-CALUX アッセイ法及び XDS-CALUX アッセイ法における小型焼却炉の排出ガス、ばいじん、燃え殻、土壌、底質、排水、建屋内空気及びハウスダストから調製した精製画分の CALUX-TEQ

Sample	ID	Note	Clean-up fraction		Unit
			DR-CALUX	XDS-CALUX	
Flue gas	FG-01	Recycle plant exhaust tower	33	58	ng CALUX-TEQ/m ³ N
	FG-02	Small incinerator	55	59	ng CALUX-TEQ/m ³ N
	FG-03	Small incinerator	0.75	0.55	ng CALUX-TEQ/m ³ N
Fly ash	FA-01	Industrial waste incinerator	130	71	ng CALUX-TEQ/g
	FA-02	Smelting furnace	16	8.2	ng CALUX-TEQ/g
	FA-03	Industrial waste incinerator	4.5	3.9	ng CALUX-TEQ/g
Bottom ash	BA-01	Industrial waste incinerator	58	47	ng CALUX-TEQ/g
	BA-02	Industrial waste incinerator	14	15	ng CALUX-TEQ/g
	BA-03	Municipal waste incinerator	4.9	4.5	ng CALUX-TEQ/g
Waste water	WW-1	Municipal waste incinerator	2300	1700	pg CALUX-TEQ/L
	WW-2	Landfill	93	120	pg CALUX-TEQ/L
	WW-3	Landfill	1.9	<2.8	pg CALUX-TEQ/L
Surface soil	SS-01	Open-burning area	190	480	pg CALUX-TEQ/g
	SS-02	Open-burning area	50	140	pg CALUX-TEQ/g
	SS-03	E-waste-processing area	600	530	pg CALUX-TEQ/g
River sediment	RS-01	E-waste-processing area	210	410	pg CALUX-TEQ/g
	RS-02	E-waste-processing area	59	150	pg CALUX-TEQ/g
	RS-03	Downstream area	<20	<24	pg CALUX-TEQ/g
Work environment	WE-01	Municipal waste incinerator	16	19	pg CALUX-TEQ/m ³
	WE-02	Municipal waste incinerator	3.5	3.9	pg CALUX-TEQ/m ³
	WE-03	Municipal waste incinerator	1.4	2.5	pg CALUX-TEQ/m ³
House dust	HD-01	Household	190	280	pg CALUX-TEQ/g
	HD-02	Household	170	230	pg CALUX-TEQ/g
	HD-03	Household	44	150	pg CALUX-TEQ/g

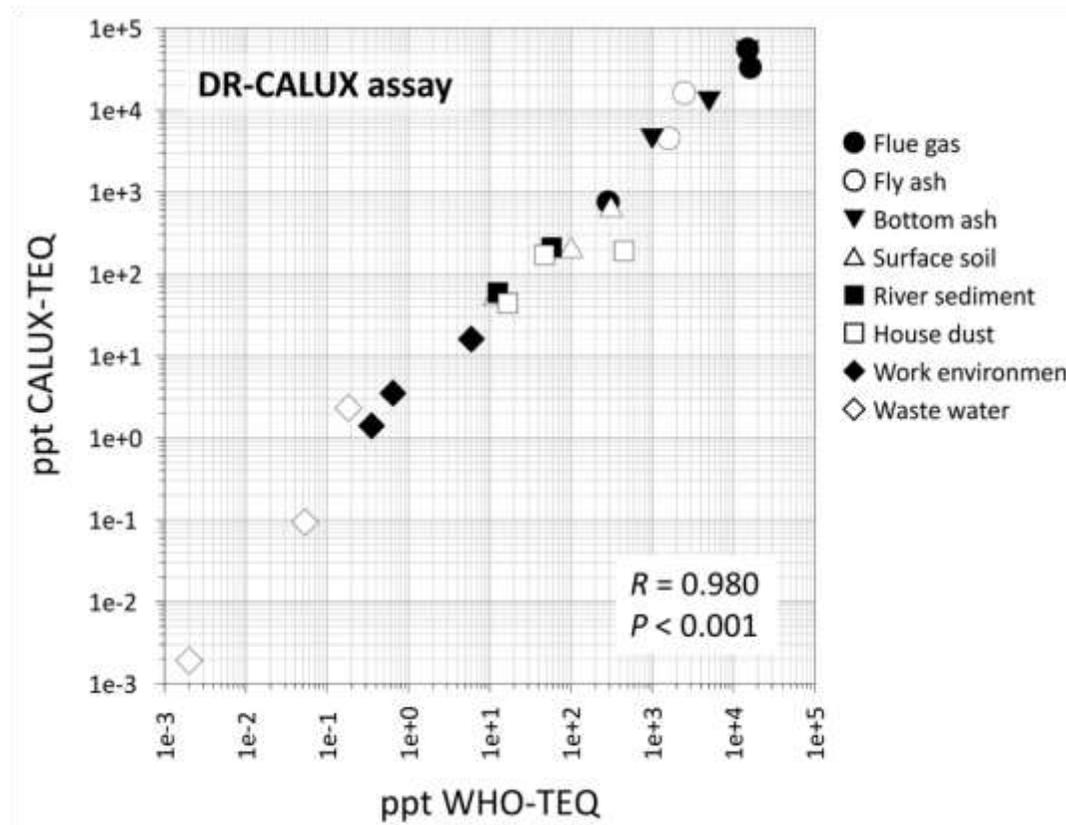


図11 DR-CALUX アッセイ法による精製画分の CALUX-TEQ と臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の WHO-TEQ の相関関係

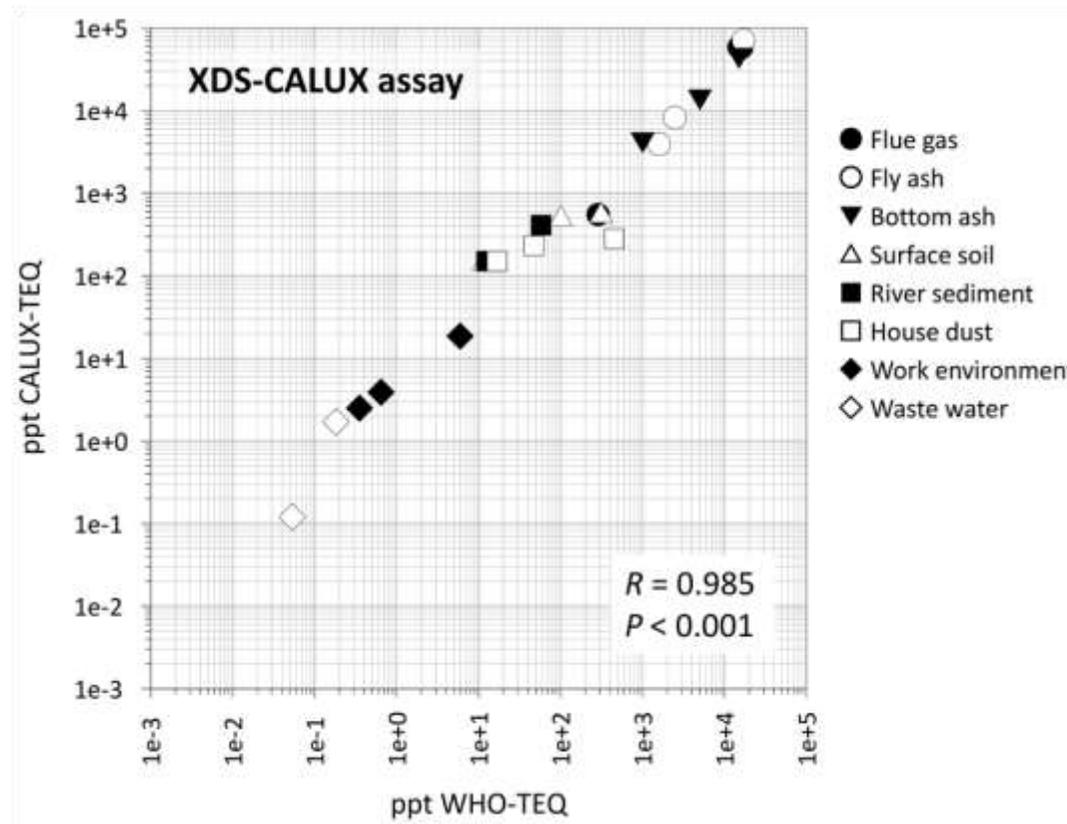


図12 XDS-CALUX アッセイ法による精製画分の CALUX-TEQ と臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の WHO-TEQ の相関関係

表 12 臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の REP と WHO-TEF の比較

Compounds	WHO-TEF ^a	DR-CALUX		XDS-CALUX	
		Mass-basis		Mass-basis	
		REP-EC _{5TCDD} ^b	REP-EC _{5TCDD} /WHO-TEF	REP-EC ₅₀ ^c	REP-EC ₅₀ /WHO-TEF
Brominated dioxins					
PBDDs					
2,3,7,8-TBDD	1	0.29	0.29	0.58	0.58
1,2,3,7,8-PeBDD	1	0.090	0.090	0.26	0.26
1,2,3,4,7,8-HxBDD	0.1	0.031	0.31	0.0094	0.094
1,2,3,4,6,7,8-HpBDD	0.01	0.0042	0.42	0.0084	0.84
OBDD	0.0003	0.00011	0.36		
PBDFs					
2,3,7,8-TBDF	0.1	0.57	5.7	0.31	3.1
1,2,3,7,8-PeBDF	0.03	0.10	3.3	0.091	3.0
2,3,4,7,8-PeBDF	0.3	0.25	0.83	0.19	0.63
1,2,3,4,7,8-HxBDF	0.1	0.011	0.11	0.030	0.30
1,2,3,4,6,7,8-HpBDF	0.01	0.0016	0.16	0.0026	0.26
OBDF	0.0003	0.00030	1.0	0.00098	3.3
Chlorinated dioxins					
PCDDs					
2,3,7,8-TCDD	1	1.0	1.0	1.0	1.0
1,2,3,7,8-PeCDD	1	0.68	0.68	0.66	0.66
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	0.35	3.5	0.062	0.62
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	0.19	1.9	0.081	0.81
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	0.12	1.2	0.050	0.50
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01	0.11	11	0.023	2.3
OCDD	0.0003	0.00091	3.0	0.00024	0.79
PCDFs					
2,3,7,8-TCDF	0.1	0.52	5.2	0.071	0.71
1,2,3,7,8-PeCDF	0.03	0.38	13	0.13	4.4
2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	0.88	2.9	0.55	1.8
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	0.19	1.9	0.11	1.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	0.051	0.51	0.12	1.2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	0.28	2.8	0.094	0.94
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	0.15	1.5	0.27	2.7
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01	0.031	3.1	0.019	1.9
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01	0.038	3.8	0.035	3.5
OCDF	0.0003	0.0080	27	0.0012	3.9
Co-PCBs					
3,4,4',5'-TCB (#81)	0.0003	0.0047	16	0.0050	17
3,3',4,4'-TCB (#77)	0.0001	0.0017	17	0.0015	15
3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	0.1	0.078	0.78	0.037	0.37
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	0.03	0.0022	0.073	0.0010	0.033
2',3,4,4',5'-PeCB (#123)	0.00003	0.000085	2.8		
2,3',4,4',5'-PeCB (#118)	0.00003	0.0000072	0.24		
2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	0.00003	0.000025	0.83		
2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	0.00003	0.00011	3.7	0.00014	4.6
2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	0.00003	0.0000048	0.16		
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	0.00003	0.00013	4.3	0.00012	4.2
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	0.00003	0.000069	2.3		
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	0.00003	0.0000026	0.09		

^a Data was cited from van den Berg et al³⁴.

^b Mass-based REP-EC_{5TCDD} for PCDD/Fs and Co-PCBs was calculated using mol-based REP-EC_{5TCDD} cited from Behnisch et al¹⁶. In this study, CALUX-TEQ was calculated with DR-CALUX assay by using luciferase activity that exhibited a response around EC_{5TCDD}.

^c Mass-based REP-EC_{5TCDD} for PCDD/Fs and Co-PCBs was calculated using mol-based REP-EC_{5TCDD} cited from Brown et al¹⁷. In this study, CALUX-TEQ was calculated with XDS-CALUX assay by using luciferase activity that exhibited a response around EC₅₀ of 2,3,7,8-TCDD.

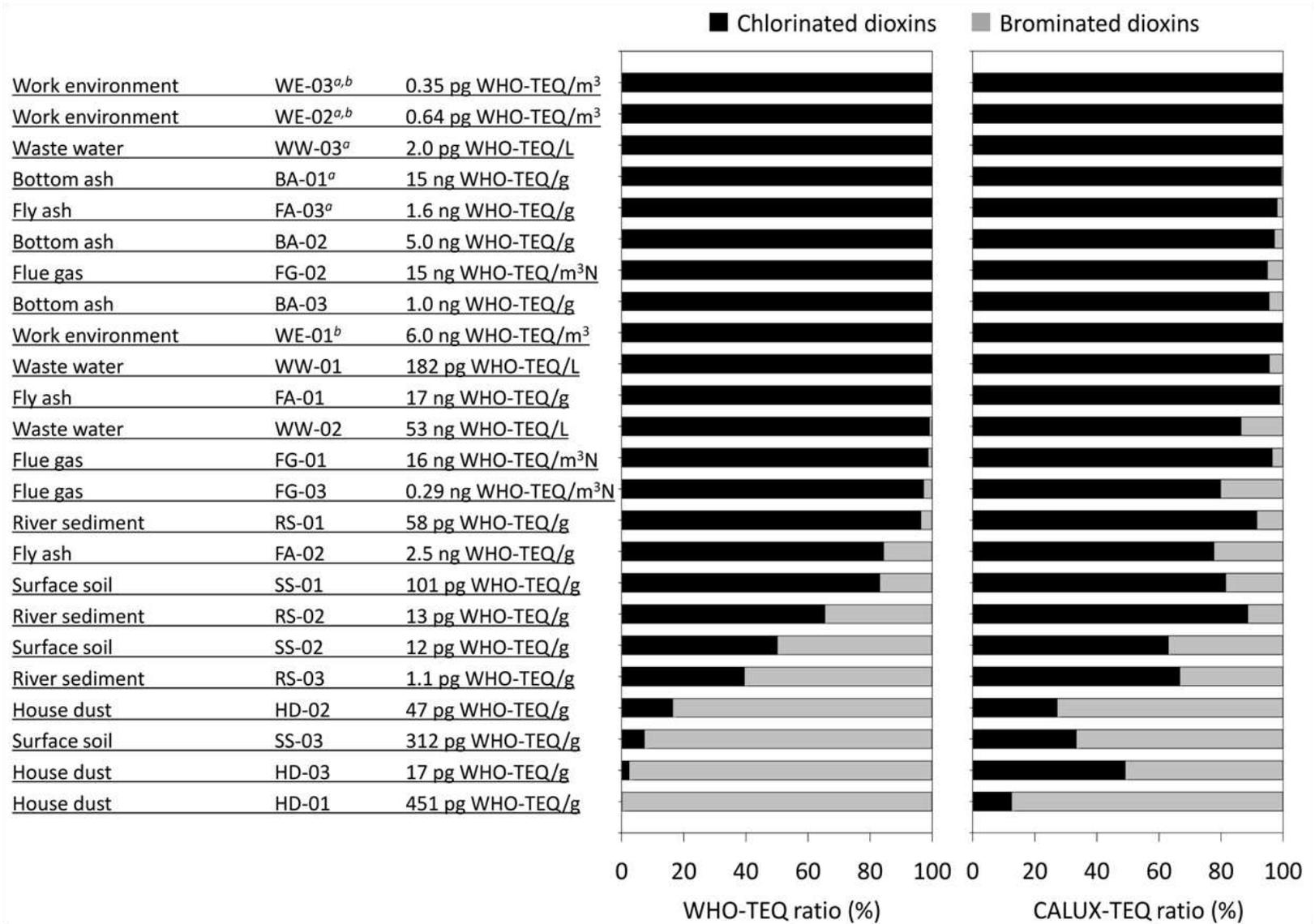


図 13 DR-CALUX アッセイ法による 10%硝酸銀シリカゲルカラムで調製した塩素化ダイオキシン類画分と臭素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ 比と、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の WHO-TEQ 比

^a WHO-TEQ for PBDD/Fs was less than detection limit., ^b CALUX-TEQ for brominated dioxin fraction was less than detection limit.

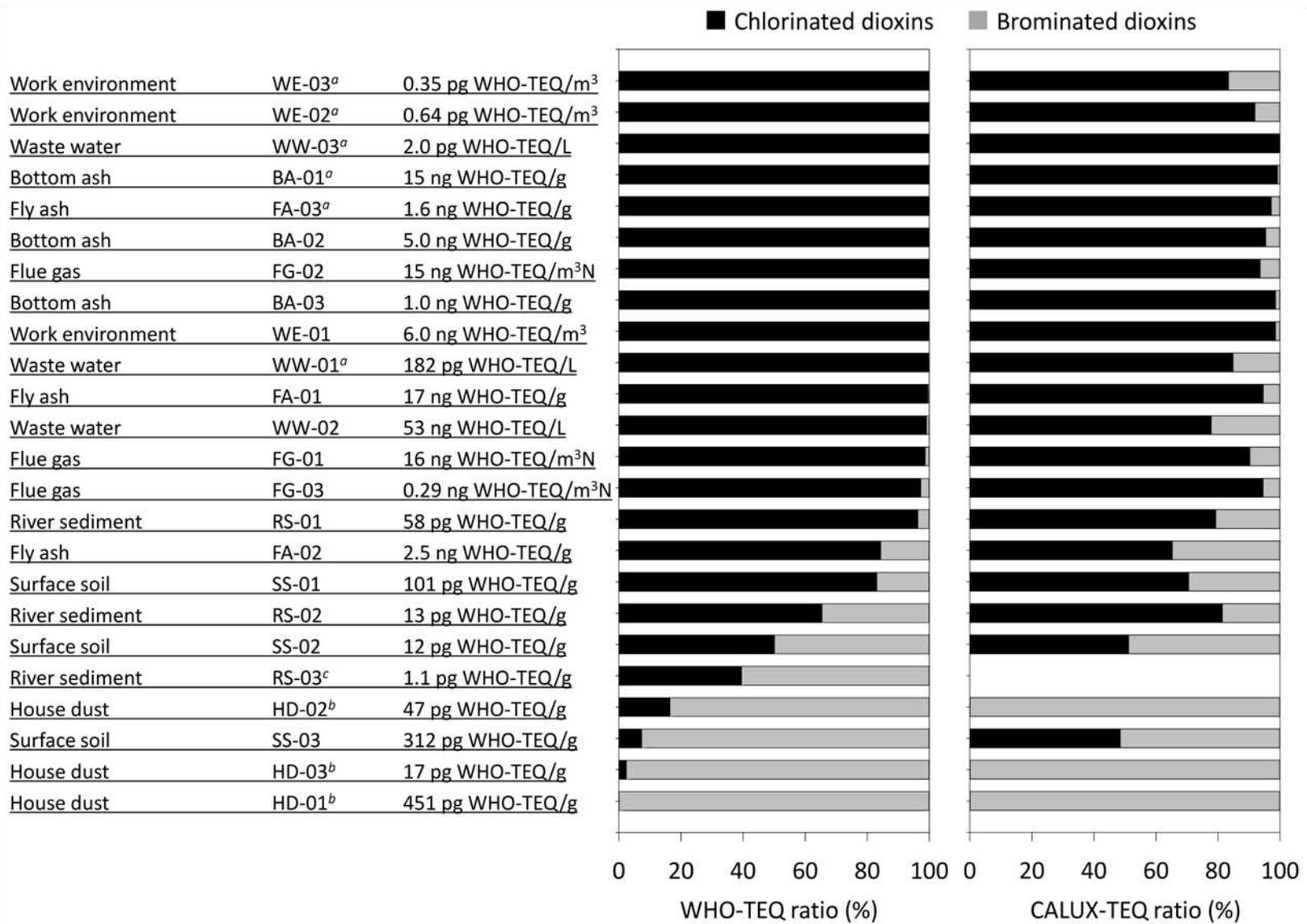


図 14 XDS-CALUX アッセイ法による 10%硝酸銀シリカゲルカラムで調製した塩素化ダイオキシン類画分と臭素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ 比と、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の WHO-TEQ 比

^a WHO-TEQ for PBDD/Fs was less than detection limit., ^{b or c} CALUX-TEQ for brominated dioxin fraction or clean-up fraction was less than detection limit.

表 13 10%硝酸銀シリカゲルカラムにおける臭素化塩素化ダイオキシン類の溶出パターン

Compounds	Recovery (%) ^a			
	10% silver nitrate-impregnated silica gel column (n=3)			
	10 ml of <i>n</i> -hexane		10 ml of 4% acetone/ <i>n</i> -hexane	
	0 - 5 ml	5 - 10 ml	0 - 5 ml	5 - 10 ml
Mixed bromo/chloro dioxins				
7-B-2,3-DiCDD	27	55	19	
2-B-3,7,8-TriCDD	44	43	13	
3-B-2,7,8-TriCDF	15	57	22	
2-B-1,3,7,8-TeCDD	52	48		
1-B-2,3,7,8-TeCDD	23	64	13	
1-B-2,3,7,8-TeCDF	50	42	8	
4-B-2,3,7,8-TeCDF	46	49	5	
2-B-3,6,7,8,9-PeCDD	63	37		
2,3-B-7,8-DiCDD	14	43	28	15
2,3-B-7,8-DiCDF		49	40	11
1,2-B-7,8-DiCDF	10	69	21	
1,3-B-2,7,8-TriCDF	53	47		

^a Recoveries of PXDD/Fs were calculated with DR-CALUX assay.

5. 生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の高度利用に向けた研究

(1) 研究目的

本研究では、生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の高度利用の可能性を評価することを目的として、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類を測定していない多検体多媒体試料 ($n=339$) を対象として管理基準を超える塩素化／臭素化ダイオキシン類汚染試料のスクリーニングを行い管理基準超過試料における臭素化ダイオキシン類及び塩素化ダイオキシン類の寄与を把握した。多検体多媒体試料には、由来や履歴の異なる試料を広く対象として当該評価法の高度利用の可能性を評価するだけでなく、臭素化ダイオキシン類の検出可能性が高い試料も対象として当該測定評価法の適用性を評価した。臭素化ダイオキシン類の検出可能性が高い試料としては、環境省の調査結果^{23,25,33)}を参考として、臭素化ダイオキシン類を不純物として含有するデカ BDE¹⁾を使用して難燃製品を製造している工場の排水を対象とした。

(2) 研究方法

1) 本研究の評価スキーム

多媒体多検体試料を対象とした生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価は、塩素化／臭素化ダイオキシン類汚染試料のスクリーニングと、臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の寄与把握の2段階に分けられる。塩素化／臭素化ダイオキシン類汚染試料のスクリーニングでは、精製画分の CALUX-TEQ が塩素化ダイオキシン類の WHO-TEQ による排出基準や環境基準を超えたものを管理基準超過試料とした。精製画分の CALUX-TEQ は、先述の通り既知濃度試料の評価において、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の WHO-TEQ と強い正の相関を示し、WHO-TEQ と比較して高値を示す傾向である。臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の寄与把握では、管理基準超過試料について、塩素化ダイオキシン類画分と臭素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ 比を求め、構成主体を明示した。

2) 試料の採取と抽出

本研究では、排出ガス 50 試料、ばいじん 22 試料、燃え殻 19 試料、排水 23 試料、土壌 128 試料、底質 35 試料、建屋内空気 18 試料及びハウスダスト 44 試料の計 339 試料を用いた。各種試料媒体の由来、採取方法及び抽出方法を次に示す。抽出液は、ヘキサンに転溶後、精製と分画に供した。

a. 排出ガス、ばいじん及び燃え殻

排出ガスは、解体業 ($n=1$)、建設業 ($n=18$)、樹脂加工業 ($n=12$)、電子機器製造業 ($n=2$)、一般廃棄物処理業 ($n=6$) 及び産業廃棄物処理業 ($n=11$) の小型焼却炉から採取した。ばいじんは、解体業 ($n=1$)、建設業 ($n=18$)、製材業 ($n=1$)、製紙業 ($n=1$)、一般廃棄物処理業 ($n=3$) 及び産業廃棄物処理業 ($n=9$) 由来の廃棄物焼却炉から採取した。燃え殻は、解体業 ($n=1$)、建材事業 ($n=1$)、建設業 ($n=10$)、樹脂加工業 ($n=2$)、造船業 ($n=1$)、一般廃棄物処理業 ($n=3$) 及び産業廃棄物処理業 ($n=1$) 由来の廃棄物焼却炉から採取した。試料採取は 2014 年から 2015 年にかけて実施した。試料採取と抽出について、排出ガスは JIS K 0311:2005/AMENDMENT 1:2008「排ガス中のダイオキシン類の測定方法 (追補 1)」に準じて、ばいじん及び燃え殻は「平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第一 (第一号関係) (1)」に準じて、それぞれ実施した。

b. 排水

排水として、下水処理場の流入水 ($n=3$) と放流水 ($n=7$)、製紙工場の排水 ($n=1$)、廃棄物焼却炉の排水 ($n=5$)、難燃製品加工工場の排水 ($n=6$) と処理水 ($n=1$) を 2014 年から 2015 年にかけて採取した。全ての排水の試料採取と抽出は、JIS K 0312:2008「工業用水・工業排水中のダイオキシン類の測定方法」に準じて実施した。

c. 土壌及び底質

土壌は、ベトナム北部の廃電子機器リサイクル村のリサイクル施設近傍 ($n=41$)、廃電子機器の野焼き地点近傍 ($n=30$) 及びこれらに該当しない非汚染地域 ($n=57$) の表層から採取した。底質は、当該リサイクル村に流れる河川のリサイクル施設近傍 ($n=9$)、リサイクル施設の上流 ($n=3$) 及び下流 ($n=12$) の表層から採取した。試料採取は 2012 年から 2014 年にかけて実施した。また、東京湾、市原港、横浜港、名古屋港、大阪湾、呉港、宇部港、佐世保港、ベトナム・ハイフォン港、カンボジア・シアヌークビル港及びフィリピン・スービック港において、2004 年から 2005 年にかけて採取した都市港湾の表層底質 ($n=11$) も対

象とした。風乾した 2 mm ふるい下試料について、高速加熱流下抽出装置 (SE-100) を用いて、50%ヘキサン/アセトン (35°C、1 時間、6 ml/min)、トルエン (80°C、1 時間、6 ml/min) で抽出した⁷⁾。

d. 建屋内空気

建屋内空気は、廃棄物焼却炉 (n=18) で 2014 年から 2015 年にかけて採取した。試料採取と抽出は、「廃棄物焼却施設内作業におけるダイオキシン類ばく露防止対策要綱」(平成 13 年 4 月 25 日 基発第 401 号の 2) に準じて実施した。

e. ハウスダスト

ハウスダストは、一般家庭 (n=4)、飲食店 (n=2)、家電量販店 (n=1)、クリーニング店 (n=2)、事務所 (n=13)、ビジネスホテル (n=9)、病院 (n=2)、保育園 (n=9) 及び老人ホーム (n=2) で使用されている掃除機のクリーナーバックから 2007 年から 2008 年にかけて採取した。250 μm ふるい下試料について、土壌及び底質と同様の方法で抽出した。

3) 精製と分画

各種試料の粗抽出液を表 8 に基づいて一定量分取してヘキサンに転溶した。ヘキサン粗抽出液について、図 10 のフローに従って、55%硫酸シリカゲルカラム処理と 10%硝酸銀シリカゲルカラム処理を実施した。55%硫酸シリカゲルカラム処理した抽出液を精製画分として、さらに 10%硝酸銀シリカゲルカラム処理して分別した抽出液を塩素化ダイオキシン類画分と臭素化ダイオキシン類画分として、それぞれ生物検定法に供した。本研究では、塩素化ダイオキシン類の排出基準と環境基準を本研究の管理基準として、精製画分の CALUX-TEQ を用いて塩素化/臭素化ダイオキシン類汚染試料のスクリーニングを実施した。従って、本研究では、管理基準超過試料を対象として、10%硝酸銀シリカゲルカラム処理による分画を実施した。精製画分、塩素化ダイオキシン類画分及び臭素化ダイオキシン類画分を調製する際には、既知濃度試料の評価と同様、相加性評価の際に調製した塩素化ダイオキシン類混合液と臭素化ダイオキシン類混合液を回収率確認用の標準物質として用いた。即ち、試料粗抽出液だけでなく、塩素化ダイオキシン類混合液と臭素化ダイオキシン類混合液についても、精製画分、塩素化ダイオキシン類画分及び臭素化ダイオキシン類画分を調製して生物検定法に供した。

4) 生物検定法

精製画分、塩素化ダイオキシン類画分及び臭素化ダイオキシン類画分のルシフェラーゼ活性は、土壌、底質及びハウスダスト由来試料を DR-CALUX アッセイ法で、排出ガス、ばいじん、燃え殻、排水及び建屋内空気由来試料を XDS-CALUX アッセイ法で測定した。本研究では、得られたルシフェラーゼ活性を、DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法における 2,3,7,8-TCDD 等量 (CALUX-TEQ) として算出した。CALUX-TEQ は、先述の式①から作成した 2,3,7,8-TCDD の検量線に各画分のルシフェラーゼ活性を内挿することにより算出した。2,3,7,8-TCDD 検量線の濃度範囲は、DR-CALUX アッセイ法で 0.3、1.0、3.0、10、30、100、300 pM/マイクロプレート well、XDS-CALUX アッセイ法で 1.4、2.9、5.7、11、23、46、91、183、370 pM/マイクロプレート well とした。CALUX-TEQ を算出する際の各画分のルシフェラーゼ活性値は、2,3,7,8-TCDD 検量線において、DR-CALUX アッセイ法で 1~3 pM/マイクロプレート well、XDS-CALUX アッセイ法で 5.7~91 pM/マイクロプレート well の各濃度範囲に相当するルシフェラーゼ活性値を採用した。

5) 測定データの品質管理/品質保証 (QA/QC)

DR-CALUX アッセイ法では、2,3,7,8-TCDD 検量線の EC₅₀ が 13 ± 3.1 pM (n=376) であり、2,3,7,8-TCDD 検量線の最高濃度のルシフェラーゼ活性を DMSO 溶媒コントロールのルシフェラーゼ活性で除して得られるインダクションが 10 ± 2.3 (n=376) であった。XDS-CALUX アッセイ法では、2,3,7,8-TCDD 検量線の EC₅₀ が 32 ± 9.0 pM (n=79) であり、インダクションは 35 ± 9.6 (n=79) であった。EC₅₀ の結果は繰り返し再現性が良い状況であることを示し、インダクションの結果は細胞応答性が良い状況であることを示している。塩素化ダイオキシン類混合液と臭素化ダイオキシン類混合液の回収率は、国立環境研究所で実施した精製画分の塩素化ダイオキシン類混合液と臭素化ダイオキシン類混合液で 76 ± 7.3% (n=27) と 83 ± 15% (n=27)、日吉で実施した精製画分の塩素化ダイオキシン類混合液と臭素化ダイオキシン類混合液で 94 ± 7.7% (n=31) と 89 ± 6.4% (n=31)、国立環境研究所の塩素化ダイオキシン類画分の塩素化ダイオキシン類混合液で 95 ± 16% (n=22) 及び臭素化ダイオキシン類画分の臭素化ダイオキシン類混合液で 100 ± 22% (n=22)、日吉の

塩素化ダイオキシン類画分の塩素化ダイオキシン類混合液で $90 \pm 11\%$ ($n=18$) 及び臭素化ダイオキシン類画分の臭素化ダイオキシン類混合液で $96 \pm 10\%$ ($n=18$) であった。

(3) 結果と考察

1) 精製画分による塩素化／臭素化ダイオキシン類汚染試料のスクリーニング

ここでは、小型焼却炉の排出ガス、廃棄物焼却炉のばいじん及び燃え殻、排水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストの計 339 試料から塩素化／臭素化ダイオキシン類で汚染された試料をスクリーニングするために、これら試料から精製画分を調製して CALUX-TEQ を算出した。本研究では、由来や履歴の異なる多媒体多検体試料を幅広く選択している。評価対象の試料については、過去の調査例から塩素化ダイオキシン類や臭素化ダイオキシン類が比較的高い濃度で検出される可能性が高いものも選択している。従って、塩素化／臭素化ダイオキシン類汚染試料としてスクリーニングされた試料の検出率は、一般化できるものではない。しかしながら、その検出傾向は、塩素化／臭素化ダイオキシン類が比較的高い濃度で検出される試料を把握する上で有用な知見になると考えられる。

本研究で得られた各種試料の精製画分の CALUX-TEQ を図 15 に示す。精製画分の CALUX-TEQ の濃度範囲は、小型焼却炉の排出ガスで $0.25 \sim 560$ ng CALUX-TEQ/m³N ($n=50$)、ばいじんでは $<0.024 \sim 33$ ng CALUX-TEQ/g ($n=22$)、燃え殻で $<0.024 \sim 22$ ng CALUX-TEQ/g ($n=23$)、排水で $<2.8 \sim 15,000$ pg CALUX-TEQ/L ($n=23$)、土壌で $<20 \sim 12,000$ pg CALUX-TEQ/g ($n=128$)、底質で $<20 \sim 17,000$ pg CALUX-TEQ/g ($n=37$)、建屋内空気では $<0.20 \sim 77$ pg CALUX-TEQ/m³ ($n=18$)、ハウスダストで $<20 \sim 1,000$ pg CALUX-TEQ/g ($n=44$) であった。各種試料媒体の管理基準濃度、管理基準超過試料数とその内訳を表 14 に示す。本研究の管理基準濃度は、基本的に塩素化ダイオキシン類の環境基準及び排出基準としているが、ハウスダストについては、環境基準が設定されていないため、直接摂取を想定して設定されている土壌の環境基準 (1,000 pg WHO-TEQ/g) を参考として、滞在時間のより長い室内で採取されていることを考慮して、100 pg WHO-TEQ/g を管理基準とした。小型焼却炉の排出ガスでは、50 試料のうち 27 試料が管理基準を超過した。解体業 (1/1 試料)、建設業 (10/18 試料)、電子機器製造業 (2/2 試料)、一般廃棄物処理業 (5/6 試料) 及び産業廃棄物処理業 (9/9 試料) から採取した試料が管理基準を超過していた。ばいじんでは、22 試料のうち 5 試料が管理基準を超過した。一般廃棄物処理業 (2/3 試料) 及び産業廃棄物処理業 (3/9 試料) から採取した試料が管理基準を超過していた。燃え殻では、19 試料のうち 3 試料が管理基準を超過した。建設業 (1/11 試料)、一般廃棄物処理業 (1/3 試料) 及び産業廃棄物処理業 (1/1 試料) から採取した試料が管理基準を超過していた。排出ガス、ばいじん及び燃え殻では、建設業、一般廃棄物処理業及び産業廃棄物処理業由来の試料が管理基準を超過する傾向であった。排水では、25 試料のうち 13 試料が管理基準を超過した。下水処理場の流入水 (2/3 試料)、難燃製品加工工場の排水 (5/6 試料) と処理水 (1/1 試料)、廃棄物焼却炉の排水 (5/5 試料) で管理基準を超過していた。土壌では、128 試料のうち 8 試料が管理基準を超過していた。廃電子機器を野焼きしている地点周辺で採取した試料 (8/30 試料) が管理基準を超過していた。底質では、35 試料のうち 9 試料が管理基準を超過しており、廃電子機器を解体している施設近傍で採取した試料 (7/9 試料)、市原港及び大阪湾で採取した底質 (2/11 試料) で管理基準を超過していた。廃棄物焼却炉で採取した建屋内空気では、19 試料のうち 2 試料が管理基準を超過していた。ハウスダストでは、44 試料のうち 23 試料が管理基準を超過しており、一般家庭 (2/4 試料)、家電量販店 (1/1 試料)、クリーニング店 (1/2 試料)、事務所 (12/13 試料)、ビジネスホテル (3/9 試料)、病院 (1/2 試料)、保育園 (3/9 試料) で基準超過が見られ、採取場所に依存せず管理基準を超過していた。結果として、多媒体多検体試料 339 試料から、管理基準を超過した 91 試料がスクリーニングされた。

2) 管理基準超過試料における臭素化ダイオキシン類及び塩素化ダイオキシン類の寄与把握

管理基準超過試料としてスクリーニングされた小型焼却炉の排出ガス 27 試料、廃棄物焼却炉のばいじん 5 試料及び燃え殻 3 試料、排水 13 試料、土壌 8 試料、底質 9 試料、建屋内空気 3 試料及びハウスダスト 23 試料の精製画分を、さらに 10% 硝酸銀シリカゲルカラム処理を行って臭素化ダイオキシン類画分と塩素化ダイオキシン類画分を調製して CALUX-TEQ を算出した。管理基準超過試料の塩素化ダイオキシン類画分と臭素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ 比を図 16 に示す。

小型焼却炉の排出ガスでは、解体業、建設業、電子機器製造業、一般廃棄物処理業及び産業廃棄物処理業由来の試料で管理基準を超過しており、電子機器製造業由来の試料で臭素化ダイオキシン類の寄与が 90% 以上と高いことが示された。その他の試料では、塩素化ダイオキシン類の寄与が 90% 以上であり、臭素化ダイオキシン類の寄与が低かった。廃棄物焼却炉のばいじん及び燃え殻では、建設業、一般廃棄物処理業及び産業廃棄物処理業由来の試料が管理基準を超過しており、いずれの試料においても臭素化ダイオ

キシン類の寄与は20%程度以下であった。廃棄物焼却炉関連の試料の結果は、基本的に塩素化ダイオキシン類の寄与が高い傾向であるが、電子機器製造業の小型焼却炉といった特定の重要な排出源が存在することを示した。電子機器には臭素系難燃剤が使用されるケースがあるため、電子機器製造業の小型焼却炉で臭素系難燃剤含有廃棄物が焼却処理されることは十分に考えられる。また、本結果は、臭素系難燃剤関連製品や廃棄物が混入してくる焼却炉等で、臭素化ダイオキシン類の寄与が高くなることを示唆している。排水では、下水処理場の流入水、難燃製品加工工場の排水及び廃棄物焼却炉の排水で管理基準を超過しており、難燃製品加工工場（平均73%、 $n=6$ ）、下水処理場の流入水（平均69%、 $n=2$ ）、廃棄物焼却炉の排水（平均28%、 $n=5$ ）の順で臭素化ダイオキシン類の寄与が高かった。本研究で調査した難燃製品加工工場では、臭素化ダイオキシン類を不純物として含むデカBDE製剤¹⁾が使用されている。その結果として、関連排水については臭素化ダイオキシン類の寄与が非常に高くなっていった。下水処理場の流入水についても、比較的高い割合で臭素化ダイオキシン類が検出されており、下水処理場の上流に難燃製品加工工場等の臭素化ダイオキシン類の発生源があるのかもしれない。廃棄物焼却炉の排水は、排出ガス、ばいじん及び燃え殻と比較して臭素化ダイオキシン類の寄与割合が高い傾向であった。土壌では、ベトナム北部の廃電子機器リサイクル施設集積地区において廃電子機器部品を野焼きして含有金属類を回収している地点周辺の土壌で管理基準超過がみられ、当該試料において臭素化ダイオキシン類の寄与が高いケースもみられた。臭素系難燃剤を含む廃電子機器部品の野焼きによって臭素化ダイオキシン類や塩素化臭素化ダイオキシン類が生成していると考えられる⁴²⁾。ベトナム北部の調査では当該野焼き関連試料と共に廃電子機器処理施設近傍でも土壌を採取しており、一部試料については臭素化ダイオキシン類が比較的高い濃度で検出されることを既報で明らかにしている⁷⁾。本研究ではその際に採取した試料も評価対象としているが、廃電子機器処理施設近傍の土壌については管理基準を超過する程でなかった。底質では、土壌と同様に、ベトナム北部の廃電子機器リサイクル施設集積地区で採取した試料が管理基準を超過している。当該試料は廃電子機器処理施設近傍で採取しており、臭素化ダイオキシン類の寄与が高い試料は施設由来の排水の影響を受けている可能性がある⁷⁾。都市港湾底質では、市原で採取したもので塩素化ダイオキシン類の寄与が高いのに対して、大阪湾で採取したもので臭素化ダイオキシン類の寄与が高い。市原港では2001年に採取した底質において塩素化ダイオキシン類の高濃度汚染（最高値15,000 pg WHO-TEQ/g）が報告されており⁴³⁾、本研究ではこの結果を反映していると考えられた。大阪湾底質の臭素化ダイオキシン類については、2001年に採取した試料で検出事例が報告されているが⁴⁴⁾、それ以降調査事例がない。本研究の建屋内空気は、一般廃棄物及び産業廃棄物処理業の廃棄物焼却炉の建屋内で採取したものであり、18試料のうち3試料が管理基準を超過した。基準超過試料は90%程度以上が塩素化ダイオキシン類に由来しており、この結果は排出ガス、ばいじんや燃え殻で得られた結果と矛盾しない。ハウスダストは、一般家庭だけでなく様々な業種の室内環境から採取しており、43試料のうち23試料が本研究で設定した管理基準（100 pg CALUX-TEQ/g）を超過した。基準超過試料ではいずれの試料でも臭素化ダイオキシン類の寄与が比較的高く、この結果は既報研究¹²⁾や環境省の調査結果^{25,26)}と矛盾していない。

3) 生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の高度利用方針について

本研究では、由来や履歴の異なる小型焼却炉の排出ガス、廃棄物焼却炉のばいじん及び燃え殻、排水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストの計339試料を対象として、塩素化ダイオキシン類のWHO-TEQによる排出基準や環境基準を管理基準として、各種試料から調製した精製画分のCALUX-TEQによって塩素化／臭素化ダイオキシン類汚染試料をスクリーニングした。次いで管理基準超過試料から調製した臭素化ダイオキシン類画分と塩素化ダイオキシン類画分のCALUX-TEQ比によって汚染主体を推定した。得られた結果は、臭素系難燃剤含有製品のライフサイクル（製造・使用・廃棄・リサイクル）において、臭素化ダイオキシン類の高濃度排出事例が存在することを示唆した。具体的には、製造時の排出事例として電子機器製造業の小型焼却炉の排出ガスや難燃製品加工工場の排水、使用時の排出事例としてハウスダスト、廃棄処理時の排出事例として廃棄物焼却炉の排出ガス、ばいじん及び燃え殻、リサイクル時の排出事例として廃電子機器のリサイクル施設集積地区で採取した土壌や底質が、それぞれ挙げられる。環境省は、「臭素系ダイオキシンに係る総括ワークショップ（2012年2月）」において2001年から実施している臭素系ダイオキシン類の排出実態等調査の取得結果と今後の調査方針をまとめている。ワークショップでは、調査結果に基づいて難燃製品加工工場及び難燃剤含有製品のリサイクル処理施設が臭素化ダイオキシン類の主要な発生源であると結論付け、アジア途上国での廃電子機器製品処理施設等の作業環境やハウスダスト等からの曝露実態等の人・環境曝露状況の把握に焦点を絞った今後の調査方針が提案された。本研究で得られた結果は、環境省の結論と矛盾せず、また調査方針を支持するものとなっている。更に本研究は、臭素

系難燃剤を使用する製造業の小型焼却炉の排出ガスや都市部の下水処理場の流入水、廃棄物焼却炉由来の排水等、これまでに調査例が少なかった試料媒体においても臭素化ダイオキシン類汚染事例が存在することを示唆した。これらは、本研究で開発した生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法が、臭素化ダイオキシン類及び塩素化ダイオキシン類による汚染実態調査に有用であることを示している。

一方で、生物検定法による臭素化ダイオキシン類の検出特性評価では、臭素化ダイオキシン類に適用されている塩素化ダイオキシン類の WHO-TEF と臭素化ダイオキシン類の REP に、検出傾向に類似性が見られるものの差が生じている。WHO-TEQ への寄与割合が比較的高い異性体については WHO-TEF よりも REP が高い傾向である。更に、本研究で調製する精製画分には、臭素化ダイオキシン類及び塩素化ダイオキシン類だけでなく、Ah レセプター結合活性を有する塩素化臭素化ダイオキシン類¹⁶⁻¹⁹⁾や塩素化ナフタレン¹⁶⁾、塩素化或いは臭素化した PAHs^{40,41)}等も混在する。従って、得られる CALUX-TEQ は、WHO-TEQ と比較して高い傾向である。調査結果に基づいて行政判断を行う際は評価対象とする物質に絞って WHO-TEQ を明らかにする必要があるため、GC-HRMS 法による測定は必須である。しかしながら、塩素化ダイオキシン類と同様の毒性や性質を示すダイオキシン類縁化合物による環境汚染を未然に防ぐ意味では、生物検定法による包括評価が有用である。これらを考慮すると、本研究で開発した生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法によって管理基準超過試料のスクリーニングと臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類の寄与把握に加えて、取得結果に基づいて GC-HRMS による WHO-TEQ 確定評価を実施することが妥当と考えられる。生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法は 1 検体あたり 3 万円で実施できるのに対し、GC-HRMS 法による塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類測定は 1 検体あたり 30 万円程度かかる。平成 25 年度の環境省による臭素系ダイオキシン類排出実態等調査では、排出ガス、排水、建屋内空気、環境大気、公共用水域水質及び底質の計 26 試料を評価している。GC-HRMS 法で臭素化ダイオキシン類と塩素化ダイオキシン類を測定しているため、単純計算すると測定費用は 26 試料で 780 万円である。例えばこの場合、GC-HRMS 法による測定試料数を 13 試料にすると、生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法で 130 試料の測定が可能となり、採取地点や試料媒体の種類を増やして調査の充実度を高めることができる。費用対効果を上げて汚染実態の把握を効率的に進めるためには、生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法と GC-HRMS 法の併用が妥当と考えられる。臭素化ダイオキシン類を不純物として含み、その非意図的生成の発生源となるデカ BDE は、2016 年に POPs 条約上の廃絶対象物質として管理される見込みである。従ってデカ BDE 含有製品の廃棄量は、今後増加することが見込まれ、その適正管理と処分が求められる。その際、臭素化ダイオキシン類の排出実態調査において、生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の適用が見込める。

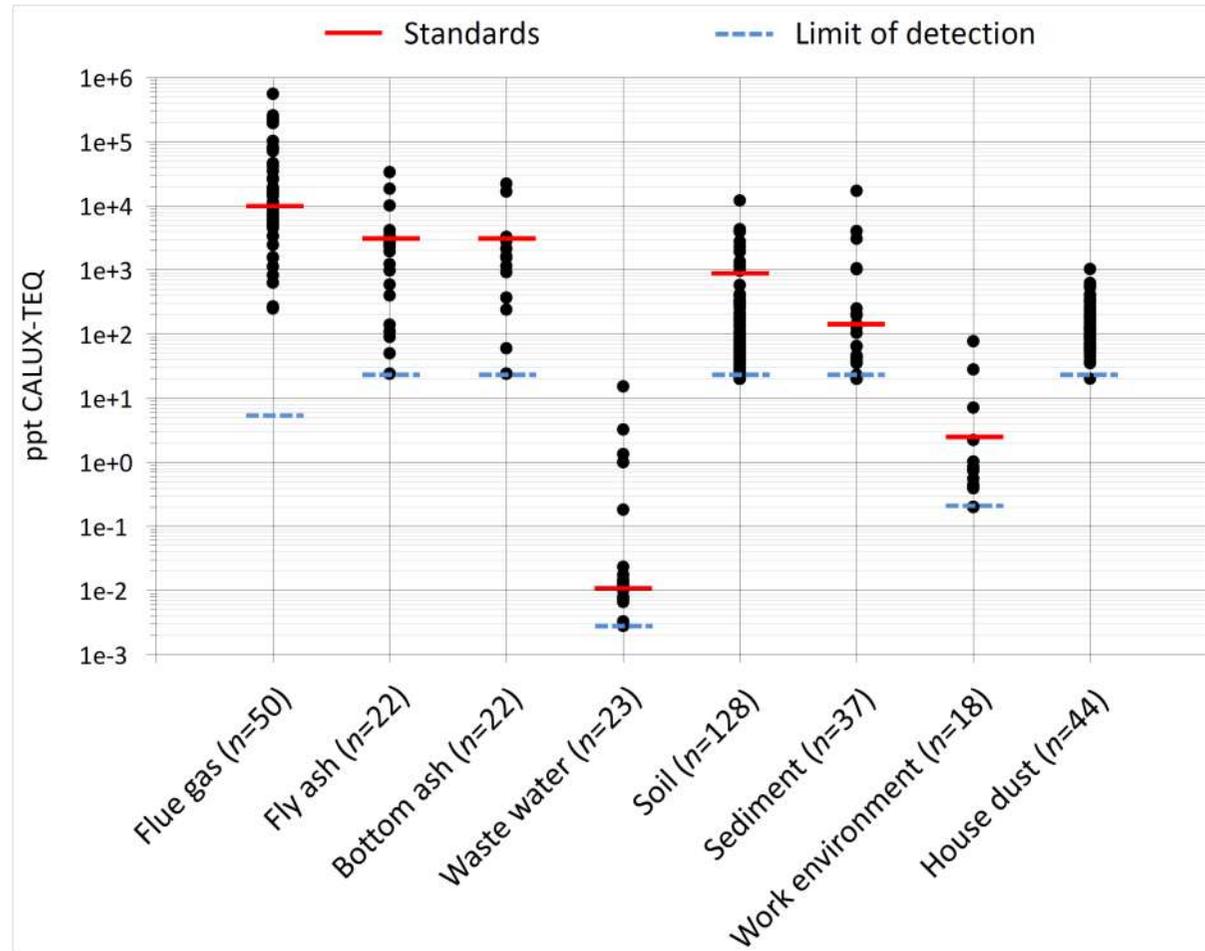


図 15 小型焼却炉の排出ガス、廃棄物焼却炉のばいじん及び燃え殻、排水、土壌、底質、建屋内空気及びハウスダストから調製した精製画分の CALUX-TEQ (●)、管理基準濃度 (—) 及び検出下限値 (…)

表 14 精製画分の CALUX-TEQ が管理基準濃度を超過した試料について

Sample	Control standards	Samples exceeding the control standard	
		<i>n</i>	Sampling location
Flue gas	10 ng WHO-TEQ/m ³ N	1	Architectural wrecker
		10	Construction industry
		2	Electronic manufacture
		5	Domestic waste disposal business
		9	Industrial waste disposal business
Fly ash	3 ng WHO-TEQ/g	2	Domestic waste disposal business
		3	Industrial waste disposal business
Bottom ash	3 ng WHO-TEQ/g	1	Construction industry
		1	Domestic waste disposal business
		1	Industrial waste disposal business
Waste water	10 pg WHO-TEQ/L	2	Sewage treatment plants (influent)
		6	Flame-retarded textile factory
		5	Waste incinerator
Surface soil	1,000 pg WHO-TEQ/g	8	E-waste open burning area
River sediment	150 pg WHO-TEQ/g	7	E-waste-processing area
		2	Urban port
Work environment	2.5 pg WHO-TEQ/m ³	3	Waste incinerator
House dust	100 pg WHO-TEQ/g ^a	2	Household
		1	Consumer-electronics retailer
		1	Laundry
		12	Office
		3	Hotel
		1	Hospital
		3	Day-care center for children

^aThere is no standard for dioxins contained in house dust. In this study, 100 pg WHO-TEQ was set for house dust as control standard.

■ Chlorinated dioxins ■ Brominated dioxins

Flue gas

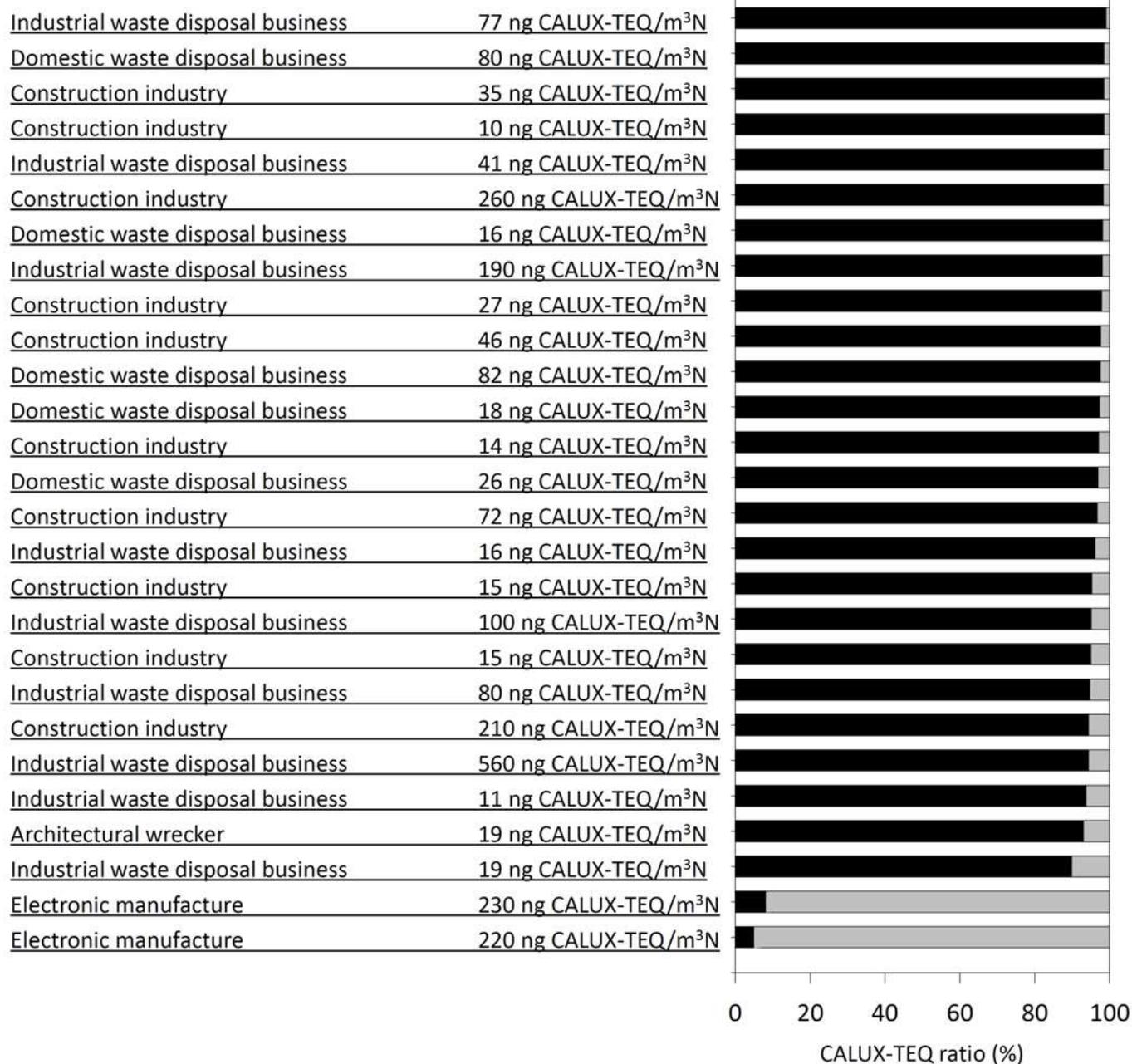


図 16 管理基準超過試料の臭素化ダイオキシン類画分と塩素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ 比 (その 1)

■ Chlorinated dioxins ■ Brominated dioxins

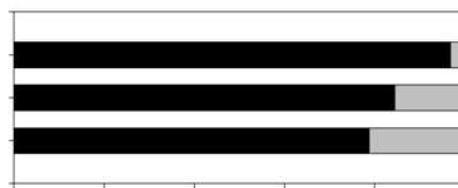
Fly ash

Domestic waste disposal business	18 ng CALUX-TEQ/g
Industrial waste disposal business	3.5 ng CALUX-TEQ/g
Industrial waste disposal business	33 ng CALUX-TEQ/g
Industrial waste disposal business	10 ng CALUX-TEQ/g
Domestic waste disposal business	4.2 ng CALUX-TEQ/g



Bottom ash

Industrial waste disposal business	17 ng CALUX-TEQ/g
Construction industry	3.3 ng CALUX-TEQ/g
Domestic waste disposal business	22 ng CALUX-TEQ/g



Waste water

Waste incinerator	1,000 pg CALUX-TEQ/L
Waste incinerator	3,200 pg CALUX-TEQ/L
Waste incinerator	15,000 pg CALUX-TEQ/L
Waste incinerator	1,300 pg CALUX-TEQ/L
Waste incinerator	180 pg CALUX-TEQ/L
Flame-retarded textile factory	12 pg CALUX-TEQ/L
Sewage treatment plans (influent)	13 pg CALUX-TEQ/L
Flame-retarded textile factory	14 pg CALUX-TEQ/L
Flame-retarded textile factory	11 pg CALUX-TEQ/L
Sewage treatment plans (influent)	17 pg CALUX-TEQ/L
Flame-retarded textile factory	13 pg CALUX-TEQ/L
Flame-retarded textile factory	10 pg CALUX-TEQ/L
Flame-retarded textile factory	23 pg CALUX-TEQ/L

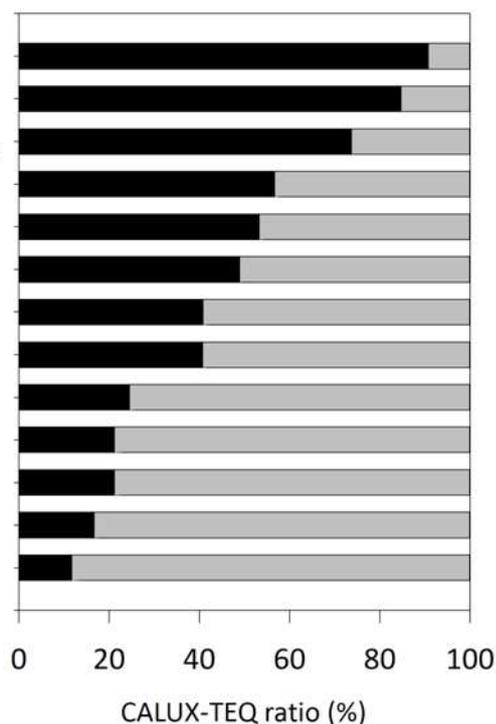
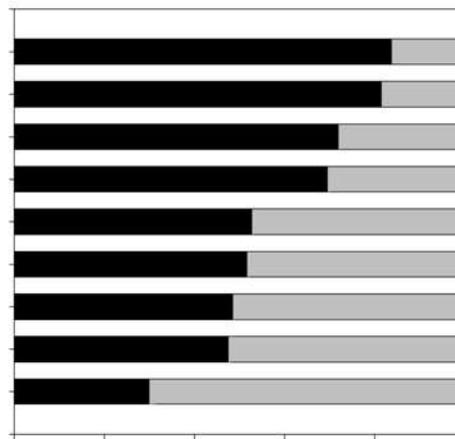


図 16 管理基準超過試料の臭素化ダイオキシン類画分と塩素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ 比 (その 2)

■ Chlorinated dioxins ■ Brominated dioxins

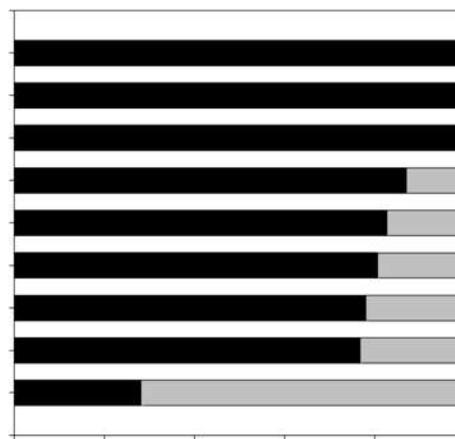
Soil

E-waste open burning area	2,800 pg CALUX-TEQ/g
E-waste open burning area	1,200 pg CALUX-TEQ/g
E-waste open burning area	1,200 pg CALUX-TEQ/g
E-waste open burning area	4,300 pg CALUX-TEQ/g
E-waste open burning area	1,400 pg CALUX-TEQ/g
E-waste open burning area	1,900 pg CALUX-TEQ/g
E-waste open burning area	2,300 pg CALUX-TEQ/g
E-waste open burning area	3,900 pg CALUX-TEQ/g
E-waste open burning area	12,000 pg CALUX-TEQ/g



Sediment

Urban port	17,000 pg CALUX-TEQ/g
E-waste-processing area	250 pg CALUX-TEQ/g
E-waste-processing area	200 pg CALUX-TEQ/g
E-waste-processing area	200 pg CALUX-TEQ/g
E-waste-processing area	2,800 pg CALUX-TEQ/g
E-waste-processing area	4,000 pg CALUX-TEQ/g
E-waste-processing area	200 pg CALUX-TEQ/g
E-waste-processing area	1,100 pg CALUX-TEQ/g
Urban port	3,000 pg CALUX-TEQ/g



Work environment

Waste incinerator	77 pg CALUX-TEQ/m ³
Waste incinerator	28 pg CALUX-TEQ/m ³
Waste incinerator	7.1 pg CALUX-TEQ/m ³

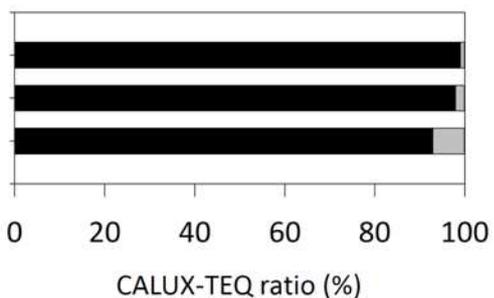


図 16 管理基準超過試料の臭素化ダイオキシン類画分と塩素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ 比 (その 3)

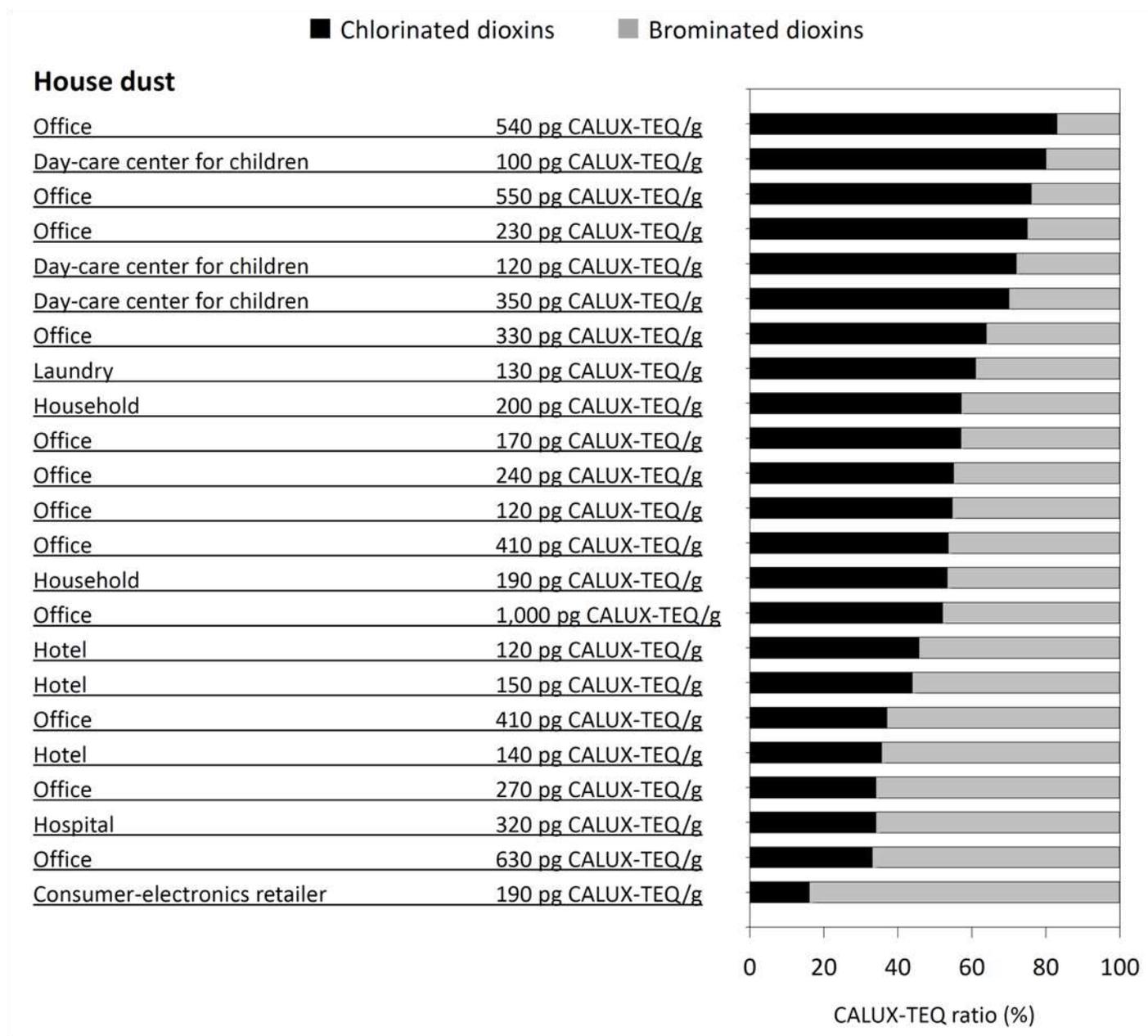


図 16 管理基準超過試料の臭素化ダイオキシン類画分と塩素化ダイオキシン類画分の CALUX-TEQ 比 (その 4)

6. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

本研究で得られた知見の科学的意義を、実施課題順に以下に示す。

塩素化ダイオキシン類を検出する生物検定法として、世界的にも知名度の高い DR-CALUX アッセイ法と XDS-CALUX アッセイ法における臭素化ダイオキシン類の検出特性を明らかにした。本研究は、購入可能な臭素化ダイオキシン類を全て入手しており、これまでにない網羅的に臭素化ダイオキシン類の活性を評価することができ、塩素化ダイオキシン類との差を明示した。更に、同じ化学物質標準品をラット肝がん細胞由来の DR-CALUX アッセイ法とマウス肝がん細胞由来の XDS-CALUX アッセイ法で評価することで、臭素化ダイオキシン類の毒性の種間差の一端を明らかにした。また、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の混合液による相加性評価では、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類が相加的に作用することを明らかにした。これは、臭素化ダイオキシン類への WHO-TEF 設定にむけて、重要な知見となる。

精製カラムとして 55%硫酸シリカゲルカラムを、分画カラムとして 10%硝酸銀シリカゲルカラムを、和光純薬工業の協力のもと、世界で初めて開発した。特に、10%硝酸銀シリカゲルカラムと汎用溶媒であるヘキサンとアセトンで塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類を分別することができる知見は、世界で初めて明らかにした知見であり、大きな成果といえる。両カラムにおいて塩素化ダイオキシン類及び臭素化ダイオキシン類の回収率を網羅的に明らかにするだけでなく、様々な試料媒体の供試料量も明示した。これらは、両カラムや本研究で開発した測定評価法の汎用に繋がる重要なポイントである。また、塩素化ダイオキシン類と臭素化ダイオキシン類の WHO-TEQ を明らかにした既知濃度試料を用いて、本研究で開発した測定評価法を評価することで科学的知見に基づいてその有用性と限界を提示した。結果に基づいて、当該測定評価法をスクリーニング法として位置付け、GC-HRMS 法と併用していくとの提案は、科学的飛躍のない結論として、国際的に広く受け入れられるものである。

本研究で開発した測定評価法による多媒体多検体試料 ($n=339$) の評価結果は、臭素系難燃剤含有製品のライフサイクルにおける曝露・排出実態を明らかにし、臭素化ダイオキシン類の排出実態等を把握するための国内外の重要フィールドや管理すべきプロセスを明らかにした。当該測定法を活用することによって、臭素化ダイオキシン類の人への曝露や環境負荷の低減を導出できる。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特になし。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究で開発した生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法は、ダイオキシン類特別措置法附則二条に基づき実施されている臭素系ダイオキシン類の排出実態等調査に適用可能であり、当該評価法と GC-HRMS 法を併用することによって費用対効果と実態調査の充実度を高めることができる。臭素系難燃剤のうち、HBCD は 2012 年 10 月に残留性有機汚染物質 (POPs) 条約に追加され、建築用のビーズ法発泡ポリスチレン及び押出發泡ポリスチレンを除いて、その製造や使用が禁止されている。また、現在も臭素系難燃剤として使用されているデカ BDE についても、2016 年には POPs 条約に追加される見込みであり、自動車及び航空機用の特定の交換部品を適用除外として、その製造や使用が禁止される予定である。今後、既に販売された HBCD 含有製品やデカ BDE 製品は、引き続き使用されることになり、製品寿命を迎えた含有製品から徐々に処理処分されることになる。POPs に指定された HBCD やデカ BDE については、含有製品の使用や廃棄等を通じてそれ自体を適切に管理していく必要があるが、非意図的生成物或いは不純物として含有製品に付随する臭素化ダイオキシン類も適切に管理していく必要がある。従って、臭素化ダイオキシン類の排出実態調査は今後も必要と考えられ、本研究で開発した生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の高度利用による貢献が見込める。また、アジアやアフリカの途上国で臭素系難燃剤を含む廃電子機器や廃自動車の処理や不適切なリサイクルが大きな社会問題になっており、塩素化／臭素化ダイオキシン類による汚染実態把握において日本発の当該測定評価法のニーズがある。

7. 国際共同研究等の状況

研究代表者は、2011 年 1 月から 2014 年 12 月にかけて、EU 国際共同研究「Synergising INTERNATIONAL Studies

of Environmental Contamination with Organic FLAME Retardant Chemicals (INTERFLAME) : 代表 Stuart Harrad (バーミンガム大教授) に参画した。共同研究では、当該分野における著名な研究者が所属する、バーミンガム大学 (英国)、アントワープ大学 (ベルギー)、ストックホルム大学 (スウェーデン)、アムステルダム自由大学 (オランダ)、アシュート大学 (エジプト)、清華大学 (中国)、クイーンズランド大学 (オーストラリア)、トロント大学・カナダ環境省 (カナダ) が参画し、臭素系難燃剤の挙動や動態に関する科学的知見を集積するための研究課題が実施された。研究課題は、人的交流のもと推進され、国立環境研究所でも計 5 名の EU の若手研究者を最大 6 ヶ月受け入れた。ストックホルム大学から来た Dr. Fiona Wong ポスドク研究員は、本研究で開発した測定評価法を、スウェーデン、英国、カナダ、オーストラリア及び中国で採取したハウスダストに適用して、臭素化ダイオキシン類が集積するハウスダストの CALUX-TEQ を把握して、これまでの調査と同様に検出レベルが高いことを明らかにしており、当該測定評価法の国際的展開の礎となる成果を得ている。

8. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文 (査読あり)>

- 1) G. Suzuki, N.M. Tue, S. Takahashi, S. Tanabe, H. Takigami: Current Organic Chemistry, Vol. 18, 2231-2239 (2014)
“Effect-based hazard identification of house dust by in vitro assays detecting dioxin-like compounds, thyroid and reproductive toxicants”
- 2) 中村昌文 : 環境技術、44(7), 18-21 (2015)
「生物検定法の実際 (2) ダイオキシン類簡易測定法 ケイラックス®アッセイの実際」
- 3) G. Suzuki, M. Someya, H. Matsukami, N.M. Tue, N. Uchida, L.H. Tuyen, P.H. Viet, S. Takahashi, S.Tanabe, A. Brouwer, H. Takigami: Emerging Contaminants, in press
“Comprehensive evaluation of dioxins and dioxin-like compounds in surface soils and river sediments from e-waste-processing sites in a village in northern Vietnam: Heading towards the environmentally sound management of e-waste”

<査読付論文に準ずる成果発表>

特になし。

<その他誌上発表 (査読なし)>

- 1) G. Suzuki, M. Someya, H. Matsukami, N. Uchida-Noda, N.M. Tue, T. Fujimori, L.H. Tuyen, T. Agusa, P.H. Viet, S. Takahashi, S. Tanabe, H. Takigami: Organohalogen Compounds, Vol. 75, 1273-1277 (2013)
“Emissions of dioxin-like compounds from primitive e-waste recycling activities in the northern part of Vietnam -1st report-”
- 2) 鈴木 剛 : 生物化学的測定研究会年報、第 20 号、25-54 (2016)
「ダイオキシン類を測定する生物検定法と臭素化ダイオキシン類の測定評価への応用」

(2) 口頭発表 (学会等)

- 1) 鈴木 剛、染矢雅之、松神秀徳、宇智田奈津代、Tue Nguyen M、藤森 崇、Tuyen Le H、阿草哲郎、Viet Pham H、高橋 真、田辺信介、滝上英孝 : 第 22 回環境化学討論会 (2013)
「ベトナム北部における E-waste リサイクルに伴うダイオキシン類縁化合物の環境排出実態調査 (第一報)」
- 2) G. Suzuki, M. Someya, H. Matsukami, N. Uchida-Noda, N.M. Tue, T. Fujimori, L.H. Tuyen, T. Agusa, P.H. Viet, S. Takahashi, S. Tanabe, H. Takigami: 33th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs. Daegu, Korea, 2013
“Emissions of dioxin-like compounds from primitive E-waste recycling activities in the northern part of Vietnam -1st report-”
- 3) 鈴木 剛、染矢雅之、松神秀徳、宇智田奈津代、Tue Nguyen M、藤森 崇、Tuyen Le H、阿草哲郎、Viet

- Pham H、高橋 真、田辺信介、滝上英孝：第 23 回環境化学討論会（2014）
「ベトナム北部の E-waste リサイクル施設におけるダイオキシン類縁化合物の環境排出実態調査（第二報）」
- 4) 中村 昌文、Tue Nguyen M、中田俊芳、半田洋士、鈴木 剛：第 23 回環境化学討論会（2014）
「生物検定法による臭素系ダイオキシン類の検出特性評価」
- 5) G. Suzuki, M. Someya, H. Matsukami, N. Uchida-Noda, N.M. Tue, T. Fujimori, L.H. Tuyen, T. Agusa, P.H. Viet, S. Takahashi, S. Tanabe, H. Takigami: 1st Southeast Asian Workshop on the Integrated Exposure and Effects Analysis. Hanoi, Vietnam, 2014
“Effect and Exposure Analysis of Dioxin-like Compounds in Soil and River Sediment Collected from E-waste Recycling Village in the Northern Part of Vietnam”
- 6) 鈴木 剛、中村昌文、中田俊芳、半田洋士、Nguyen Minh Tue、滝上英孝：第 24 回環境化学討論会（2015）
「生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類の分別測定評価法の確立」

（3）出願特許

特になし。

（4）「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) Seminar on Bioassay for the Management of Persistent Organic Pollutants (POPs)（主催：モンクット王工科大学・京都大学、2015 年 4 月 23 日、Grand Millennium Hotel, Bangkok, Thailand、観客約 50 名）にて、「In vitro bioassay for the detection of dioxins as a method approved by Japanese Ministry of the Environment (MOE)」と題して日本における生物検定法の運用状況と推進費成果の紹介
- 2) 第 20 回（2015 年）学術集会「国際標準化を目指すバイオ分析法」（主催：生物化学的測定研究会、2015 年 6 月 12 日、東京工業大学田町キャンパス・イノベーションセンター、聴講者約 60 名）にて、「ダイオキシン類を測定する生物検定法と臭素化ダイオキシン類の測定評価への応用」と題して生物検定法の運用状況と推進費成果の紹介

（5）マスコミ等への公表・報道等

特になし。

（6）その他

特になし。

9. 引用文献

- 1) N. Hanari, K. Kannan, Y. Miyake, T. Okazawa, P.R. Kodavanti, K.M. Aldous, N. Yamashita: Environmental Science and Technology, Vol. 40, 4400-4405 (2006)
“Occurrence of polybrominated biphenyls, polybrominated dibenzo-p-dioxins, and polybrominated dibenzofurans as impurities in commercial polybrominated diphenyl ether mixtures”
- 2) N. Kajiwara, Y. Noma, H. Takigami: Environmental Science and Technology, Vol. 42, 4404-4409 (2008)
“Photolysis studies of technical decabromodiphenyl ether (DecaBDE) and ethane (DeBDethane) in plastics under natural sunlight”
- 3) G. Söderstrom, U. Sellström, C.A. de Wit, M. Tysklind: Environmental Science and Technology, Vol. 38, 127-132 (2004)
“Photolytic debromination of decabromodiphenyl ether (BDE 209)”
- 4) I. Watanabe, R. Tatsukawa: Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, Vol. 39, 953-959 (1987)
“Formation of brominated dibenzofurans from the photolysis of flame retardant decabromodiphenyl ether in hexane solution by UV and sunlight”

- 5) Ministry of the Environment: Report on Results of Survey of Current Brominated Dioxins Emissions (2015)
- 6) J. Ma, R. Addink, S. Yun, J. Cheng, W. Wang, K. Kannan: Environmental Science and Technology, Vol. 43, 7350-7356 (2009)
“Polybrominated dibenzo-p-dioxins/ dibenzofurans and polybrominated diphenyl ethers in soil, vegetation, workshop-floor dust, and electronic shredder residue from an electronic waste recycling facility and in soils from a chemical industrial complex in eastern China”
- 7) G. Suzuki, M. Someya, H. Matsukami, N.M. Tue, N. Uchida, L.H. Tuyen, P.H. Viet, S. Takahashi, S. Tanabe, A. Brouwer, H. Takigami: Emerging Contaminants, (2016)
“Comprehensive evaluation of dioxins and dioxin-like compounds in surface soils and river sediments from e-waste-processing sites in a village in northern Vietnam: Heading towards the environmentally sound management of e-waste”
- 8) J. Ma, R. Addink, S. Yun, J. Cheng, W. Wang, K. Kannan: Environmental Science and Technology, Vol. 43, 7350-7356 (2009)
“Polybrominated dibenzo-p-dioxins/ dibenzofurans and polybrominated diphenyl ethers in soil, vegetation, workshop-floor dust, and electronic shredder residue from an electronic waste recycling facility and in soils from a chemical industrial complex in eastern China”
- 9) N.M. Tue, G. Suzuki, S. Takahashi, T. Isobe, P.T. Trang, P.H. Viet, S. Tanabe: Environmental Science and Technology, Vol. 44, 9195-9200 (2010)
“Evaluation of dioxin-like activities in settled house dust from Vietnamese E-waste recycling sites: relevance of polychlorinated/brominated dibenzo-p-dioxin/furans and dioxin-like PCBs”
- 10) N.M. Tue, K. Katsura, G. Suzuki, L.H. Tuyen, T. Takasuga, S. Takahashi, P.H. Viet, S. Tanabe: Ecotoxicology and Environmental Safety, Vol. 106, 220-225 (2014)
“Dioxin-related compounds in breast milk of women from Vietnamese e-waste recycling sites: levels, toxic equivalents and relevance of non-dietary exposure”
- 11) N.M. Tue, A. Goto, S. Takahashi, T. Itai, K.A. Asante, T. Kunisue, S. Tanabe: Journal of Hazardous Materials, Vol. 302, 151-157 (2016)
“Release of chlorinated, brominated and mixed halogenated dioxin-related compounds to soils from open burning of e-waste in Agbogbloshie (Accra, Ghana)”
- 12) G. Suzuki, M. Someya, S. Takahashi, S. Tanabe, S. Sakai, H. Takigami: Environmental Science and Technology, Vol. 44, 8330-8336 (2010)
“Dioxin-like activity in Japanese indoor dusts evaluated by means of in vitro bioassay and instrumental analysis: brominated dibenzofurans are an important contributor”
- 13) M. van den Berg, M.S. Denison, L.S. Birnbaum, M.J. Devito, H. Fiedler, J. Falandysz, M. Rose, D. Schrenk, S. Safe, C. Tohyama, A. Tritscher, M. Tysklind, P.E. Peterson: Toxicological Science, Vol. 133, 197-208 (2013)
“Polybrominated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls: inclusion in the toxicity equivalency factor concept for dioxin-like compounds”
- 14) M. van den Berg, L. Birnbaum, A.T. Bosveld, B. Brunström, P. Cook, M. Feeley, J.P. Giesy, A. Hanberg, R. Hasegawa, S.W. Kennedy, T. Kubiak, J.C. Larsen, F.X. van Leeuwen, A.K. Liem, C. Nolt, R.E. Peterson, L. Poellinger, S. Safe, D. Schrenk, D. Tillitt, M. Tysklind, M. Younes, F. Waern, T. Zacharewski: Environmental Health Perspectives, Vol. 106, 775-792 (1998)
“Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife”
- 15) J.J. Whyte, C.J. Schmitt, D.E. Tillitt: Critical Reviews in Toxicology, Vol. 34, 1-83 (2004)
“The H4IIE cell bioassay as an indicator of dioxin-like chemicals in wildlife and the environment”
- 16) Behnisch PA, Hosoe K, Sakai S.: Environmental International, Vol. 29, 861-877 (2003)
“Brominated dioxin-like compounds: in vitro assessment in comparison to classical dioxin-like compounds and other polyaromatic compounds”

- 17) H. Olsman, M. Engwall, U. Kamman, M. Klempt, J. Otte, Bv. Bavel, H. Hollert: *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 26, 2448-2454 (2007)
“Relative differences in aryl hydrocarbon receptor-mediated response for 18 polybrominated and mixed halogenated dibenzo-p-dioxins and -furans in cell lines from four different species”
- 18) F. Samara, B.K. Gullett, R.O. Harrison, A. Chu, G.C. Clark: *Environment International*, Vol. 35, 588-593 (2009)
“Determination of relative assay response factors for toxic chlorinated and brominated dioxins/furans using an enzyme immunoassay (EIA) and a chemically-activated luciferase gene expression cell bioassay (CALUX)”
- 19) D.J. Brown, I. Van Overmeire, L. Goeyens, M.S. Denison, M.J. De Vito, G.C. Clark: *Chemosphere*, Vol. 55, 1509-1518 (2004)
“Analysis of Ah receptor pathway activation by brominated flame retardants”
- 20) M. Rose, A. Fernandes: *Proceedings of the 5th international symposium on brominated flame retardants* (2010).
“Are BFRs responsible for brominated dioxins and furans (PBDD/Fs) in food?”
- 21) Ministry of the Environment: *Report on Results of Survey of Current Brominated Dioxins Emissions* (2002)
- 22) Ministry of the Environment: *Report on Results of Survey of Current Brominated Dioxins Emissions* (2003)
- 23) Ministry of the Environment: *Report on Results of Survey of Current Brominated Dioxins Emissions* (2004)
- 24) Ministry of the Environment: *Report on Results of Survey of Current Brominated Dioxins Emissions* (2005)
- 25) Ministry of the Environment: *Report on Results of Survey of Current Brominated Dioxins Emissions* (2006)
- 26) Ministry of the Environment: *Report on Results of Survey of Current Brominated Dioxins Emissions* (2007)
- 27) Ministry of the Environment: *Report on Results of Survey of Current Brominated Dioxins Emissions* (2008)
- 28) Ministry of the Environment: *Report on Results of Survey of Current Brominated Dioxins Emissions* (2009)
- 29) Ministry of the Environment: *Report on Results of Survey of Current Brominated Dioxins Emissions* (2010)
- 30) Ministry of the Environment: *Report on Results of Survey of Current Brominated Dioxins Emissions* (2011)
- 31) Ministry of the Environment: *Report on Results of Survey of Current Brominated Dioxins Emissions* (2012)
- 32) Ministry of the Environment: *Report on Results of Survey of Current Brominated Dioxins Emissions* (2013)
- 33) Ministry of the Environment: *Report on Results of Survey of Current Brominated Dioxins Emissions* (2014)
- 34) M. Van den Berg, L.S. Birnbaum, M. Denison, M. De Vito, W. Farland, M. Feeley, H. Fiedler, H. Hakansson, A. Hanberg, L. Haws, M. Rose, S. Safe, D. Schrenk, C. Tohyama, A. Tritscher, J. Tuomisto, M. Tysklind, N. Walker, R.E. Peterson: *Toxicological Science*, Vol. 93, 223-241 (2006)
“The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds”
- 35) M.W. Hornung, E.W. Zabel, R.E. Peterson: *Toxicological and Applied Pharmacology*, Vol. 140, 345-355 (1996)
“Additive Interactions between Pairs of Polybrominated Dibenzop-dioxin, Dibenzofuran, and Biphenyl Congeners in a Rainbow Trout Early Life Stage Mortality Bioassay”
- 36) 戸次可奈江、滝上英孝、鈴木 剛、唐 寧、鳥羽 陽、亀田貴之、早川和一：環境化学, Vol. 21, 27-33 (2011)
「中国・北京及び日本・金沢の大気が示す AhR 活性化作用への PAH 類及びダイオキシン類の寄与」
- 37) B. Pieterse, E. Felzel, R. Winter, B. van der Burg, A. Brouwer: *Environmental Science and Technology*, Vol. 47, 11651-11659 (2013)
“PAH-CALUX, an optimized bioassay for AhR-mediated hazard identification of polycyclic aromatic

hydrocarbons (PAHs) as individual compounds and in complex mixtures”

- 38) L.H. Tuyen, N.M. Tue, G. Suzuki, K. Misaki, P.H. Viet, S. Takahashi, S. Tanabe: *Science of the Total Environment*, Vol. 491-492, 246-254 (2014)
“Aryl hydrocarbon receptor mediated activities in road dust from a metropolitan area, Hanoi-Vietnam: contribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and human risk assessment”
- 39) 大滝伸之 : *The Chemical Times*, Vol. 3, 17-21 (2009)
「新しい銀イオンクロマトグラフィー用 HPLC カラム“Silver column KANTO”の開発 (1)」
- 40) T. Ohura, K. Sawada, T. Amagai, M. Shinomiya: *Environmental Science and Technology*, Vol. 43, 2269-2275 (2009)
“Discovery of novel halogenated polycyclic aromatic hydrocarbons in urban particulate matters: occurrence, photostability, and AhR activity”
- 41) Y. Horii, J.S. Khim, E.B. Higley, J.P. Giesy, T. Ohura, K. Kannan: *Environmental Science and Technology*, Vol. 43, 2159-2165 (2009)
“Relative potencies of individual chlorinated and brominated polycyclic aromatic hydrocarbons for induction of aryl hydrocarbon receptor-mediated responses”
- 42) M. Zhang, A. Buekens, L. Xiaodong: *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 304, 26-39 (2016)
“Brominated flame retardants and the formation of dioxins and furans in fires and combustion”
- 43) 吉澤 正、強口英行、石渡康尊、半野勝正、田中 崇、依田彦太郎、木村満男、原 雄 : *全国環境研会誌*, Vol. 29, 211-218 (2004)
「市原港におけるダイオキシン類汚染調査Ⅱ(鉛直分布)」
- 44) H. Takigami, S. Sakai, A. Brouwer: *Environmental Technology*, Vol. 26, 459-470 (2005)
“Bio/chemical analysis of dioxin-like compounds in sediment samples from Osaka Bay, Japan”

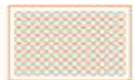
[研究概要図]

3K133010 生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法の確立と高度利用に関する研究
 研究代表者：鈴木 剛 国立環境研究所 資源循環・廃棄物研究センター

背景と目的

国内では、ダイオキシン類対策特別措置法（特措法）の附則第二条に基づき、環境省によって臭素系ダイオキシン類の排出実態等がH13年度から調査されている。今後、塩素化／臭素化ダイオキシン類のリスク管理が毒性等量（TEQ）で実施される可能性があり、費用対効果の観点からの汎用性を考慮した測定評価手法が必要と考えられる。本研究では、生物検定法による塩素化／臭素化ダイオキシン類測定評価法を確立し、その高度利用の可能性を検証した。

課題① 臭素化ダイオキシン類検出ツールとしての生物検定法の妥当性評価



生物検定法
 DR-CALUX法
 XDS-CALUX法

- 臭素化ダイオキシン類のTCDD比活性（REP）を算出
- REPIはWHO-TEFと類似（やや高め）
- WHO-TEF対象異性体を妥当な活性順位で検出可能

課題② 塩素化／臭素化ダイオキシン類を分別する簡易前処理法の開発と評価



簡易前処理法

精製カラム：
 55%硫酸シカガカラム
 分画カラム：
 10%硝酸銀シカガカラム

- 精製カラムと分画カラムを用いる簡易前処理法を開発
- 当該手法と生物検定法で塩素化／臭素化ダイオキシン類のスクリーニングと分別評価が可能
- 既知濃度試料で妥当性を確認

課題③ 測定評価法（生物検定法＋簡易前処理法）の有用性評価

- 多媒体多検体の未知濃度試料339検体対象
 焼却炉の排ガス・ばいじん・燃え殻、排水、土壌、河川・港湾底質、建屋内空気、ハウスダスト
- ダイオキシン類の排出・環境基準等を管理基準として、塩素化／臭素化ダイオキシン類汚染試料のスクリーニングを行い、管理基準超過試料の臭素化ダイオキシン類の構成比を把握
- 評価結果：媒体・由来等・超過試料の臭素化ダイオキシン類の構成比
 - ・小型焼却炉の排出ガス（rf2）・電子機器製造業・90%
 - ・焼却炉の燃え殻（rf1）・産業廃棄物処理業・21%
 - ・排水（rf6）・難燃製品製造工場・67%
 - ・流入水（rf2）・都市下水処理場・60%
 - ・土壌（rf8）・e-waste野焼き周辺・39%
 - ・ハウスダスト（rf12）・事務所・43% など
- 難燃剤含有製品のライフサイクルに関連する試料で臭素化ダイオキシン類の高濃度汚染を検出
- GC-HRMS法の併用で開発測定評価法の高度利用が可能



→コスト 開発測定評価法（汚染把握）3万円／検体 GC-HRMS法（詳細評価）15万円×2／検体

行政ニーズ・環境政策への貢献

- 特措法附則二条に基づき実施中の臭素化ダイオキシン類の排出実態等調査に活用可能
- POPs条約上の廃絶対象のHBCD及びデカBDE含有製品に付随する臭素化ダイオキシン類問題の実態調査に活用可能

Study on establishment of measurement method for chlorinated and brominated dioxins by using *in vitro* bioassay for advanced use as screening tool

Principal Investigator: Go Suzuki
Institution: National Institute for Environmental Studies
Center for Material Cycles and Waste Management Research
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506, JAPAN
Tel: +81-29-850-2205 / Fax: +81-29-850-2269
E-mail: g-suzuki@nies.go.jp
Cooperated by: Hiyoshi Corporation

[Abstract]

Key Words: Brominated dioxins, DR-CALUX assay, XDS-CALUX assay, Screening

In 2011, a joint World Health Organization (WHO) and United Nations Environment Programme (UNEP) expert recommended the use of the WHO Toxicity Equivalency Factor (TEF) scheme for brominated dioxins for human risk assessment. WHO-TEQ for not only chlorinated dioxins but also brominated dioxins should be analyzed by using gas chromatography high-resolution mass spectrometry (GC- HRMS) if brominated dioxins are regulated under the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants and the act on Special Measures concerning Countermeasures against Dioxins according to the recommendation by WHO/UNEP expert. However, GC-HRMS is expensive and time-consuming although it is precise and accurate analysis. In this study, we used DR-CALUX assay and XDS-CALUX assay allowed by Japanese Government as official method for measuring dioxins to develop the cost-effective measurement method of not only chlorinated dioxins but also brominated dioxins.

Relative potencies of brominated dioxins on CALUX assays closely follow WHO-TEF of chlorinated analogues within one order of magnitude, indicating the appropriateness of CALUX assays as the detection method for brominated dioxins. Clean-up and fractionation method for chlorinated and brominated dioxins with 55% sulfuric acid-impregnated silica gel column and 10% silver nitrate-impregnated silica gel column was developed and applied to various samples with WHO-TEQ. Obtained results indicated that the clean-up fraction prepared with 55% sulfuric acid-impregnated silica gel column is a useful way to detect not only chlorinated and brominated dioxins and the fractions prepared with 10% silver nitrate-impregnated silica gel column is a useful for estimating the TEQ contribution of chlorinated dioxins and brominated dioxins. The results obtained by the developed measurement method for total 339 samples such as flue gas from small scale waste incinerators, incineration ash, waste water, soil, sediment, work environment and house dust suggested that brominated dioxins tend to be detected in samples related with brominated flame retardants (BFRs), indicating important field of research for environmentally sound management of brominated dioxins during BFR-containing product life cycle. It is concluded that the findings of the present study demonstrate the validity and usability of the developed cost-effective measurement method for detection of not only chlorinated dioxins but also brominated dioxins.