

ダイオキシン類簡易測定法検討会報告書

平成16年5月

ダイオキシン類簡易測定法検討会

目 次

1. はじめに	1
2. 生物検定法によるダイオキシン類簡易測定技術の検討	1
2 - 1 検討方法	1
2 - 1 - 1 対象技術の公募	1
2 - 1 - 2 分析試験の実施方法	2
2 - 2 検討結果	6
2 - 2 - 1 検討対象技術の分類	6
2 - 2 - 2 各技術分類の概要	6
(1)測定原理及び交差反応性	6
(2)前処理方法	10
(3)標準物質及び検量線作成方法	12
(4)検出下限値及び定量範囲の設定方法	14
(5)毒性等量相当値への換算方法	16
2 - 2 - 3 分析試験結果	18
(1)測定結果	18
(2)適用可能性の検討	26
(3)中立機関における検証	44
2 - 2 - 4 簡易性	52
(1)分析時間	52
(2)分析費用	55
2 - 3 まとめ	57
3. 低分解能ガスクロマトグラフ質量分析計によるダイオキシン類簡易測定技術の検討	59
3 - 1 分析機器	59
3 - 2 検出下限値及び毒性等量値	59
3 - 3 測定値のばらつき	61
3 - 4 簡易性	62
(1)分析操作	62
(2)分析費用	62
3 - 5 まとめ	63
4. おわりに	64
< 参考資料 >	
ダイオキシン類簡易測定法検討会検討員名簿	65
ダイオキシン類簡易測定法検討会における検討経過	65
参考表1 分析試験に供した共通試料の組成	66
参考表2 各技術の交差反応率	74
参考表3 低分解能 MS 及び高分解能 MS の測定結果	76

< 略語一覧 >

Ah: Aryl Hydrocarbon (アリール炭化水素)
ARNT: Aryl hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator (Protein) (Ah レセプター核運搬タンパク質)
Co-PCB: Coplanar- Polychlorinated Biphenyl (コプラナーポリ塩化ビフェニル)
CV: Correlation Variability (変動係数)
DMSO: Dimethyl sulfoxide (ジメチルスルホキシド)
DRE: Dioxin Response Element (ダイオキシン応答配列)
DXN: Dioxins (ダイオキシン類)
ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (酵素免疫測定)
HpCDD: Heptachlorinated dibenzo-p-dioxin (七塩化ジベンゾーパラージオキシン)
HpCDF: Heptachlorinated dibenzofuran (七塩化ジベンゾフラン)
HxCDD: Hexachlorinated dibenzo-p-dioxin (六塩化ジベンゾーパラージオキシン)
HxCDF: Hexachlorinated dibenzofuran (六塩化ジベンゾフラン)
MS: Mass Spectrometer (質量分析計)
OCDD: Octachlorinated dibenzo-p-dioxin (八塩化ジベンゾーパラージオキシン)
OCDF: Octachlorinated dibenzofuran (八塩化ジベンゾフラン)
PCDD: Polychlorinated dibenzo-p-dioxin (ポリ塩化ジベンゾーパラージオキシン)
PCDF: Polychlorinated dibenzofuran (ポリ塩化ジベンゾフラン)
PCDD/DF: PCDD + PCDF
PCR: Polymerase Chain Reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)
PeCDD: Pentachlorinated dibenzo-p-dioxin (五塩化ジベンゾーパラージオキシン)
PeCDF: Pentachlorinated dibenzofuran (五塩化ジベンゾフラン)
TeCDD: Tetrachlorinated dibenzo-p-dioxin (四塩化ジベンゾーパラージオキシン)
TeCDF: Tetrachlorinated dibenzofuran (四塩化ジベンゾフラン)
TEF: Toxic Equivalency Factor (毒性等価係数)
TEQ: Toxic Equivalent (毒性等量)
WHO-TEF: 1997 年に WHO (世界保健機関) より提案され、1998 年に専門誌に掲載された毒性等価係数
XRE: Xenobiotic Response Element (異物応答配列)

1. はじめに

ダイオキシン類には、塩素の数や付く位置により数多くの異性体が存在し、異性体により毒性の強さが異なるため、ダイオキシン類としての全体の毒性の評価においては、各異性体の濃度や量に、最も毒性が強い2,3,7,8-TeCDDの毒性を1として他の異性体の毒性の強さを換算した係数である毒性等価係数(TEF)を掛けて、それらを足しあわせた値である毒性等量(TEQ)が用いられている。

我が国では、ダイオキシン類対策特別措置法(平成11年法律第105号)により、ダイオキシン類に係る各種規制基準値が定められているが、いずれも毒性等量により表されている。現行の各種規制項目の測定に係る公定法は、この毒性等量の値を求めるため、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計により異性体の1つ1つを測定する超微量かつ高度な分析法となっており、分析に多大な時間や費用がかかることなどから、簡易で迅速な測定方法の開発・適用が大きな課題となっている。

このため、環境省では、平成15年5月に「ダイオキシン類簡易測定法検討会」(座長:森田昌敏 国立環境研究所統括研究官)を設置し、生物検定法を中心に現在開発されている各種簡易測定法について、廃棄物焼却炉における排出ガス、ばいじん及び燃え殻の測定における公定法を補完する方法としての適用可能性に関する技術的検討を行ってきた。

本報告書は、これら簡易測定法の技術的検討結果を取りまとめたものである。

2. 生物検定法によるダイオキシン類簡易測定技術の検討

2-1 検討方法

2-1-1 対象技術の公募

生物検定法は、小型の生物、細胞、あるいはその構成物質等の生物材料を用いて、生物応答を測定することにより、物質の活性あるいは量を測定する方法であり、近年、民間企業等において様々な手法が開発され、一部で利用がはじめられている。このため、本検討における対象技術については、以下の要件を満たすものを広く公募により募集することとした。

なお、対象技術の公募は、平成15年5月30日(金)から6月27日(金)までの間実施した。

(1) 応募対象技術の要件

- ・排出ガス、ばいじん、燃え殻中のダイオキシン類を簡易に測定することができる生物検定法(小型の生物、細胞、あるいはその構成物質等を用いて、物質の活性あるいは量を測定する方法)による測定技術。
- ・実用化されていること。
- ・公定法に比べ、分析時間が短く、分析費用がかからないこと。
- ・中立機関による実証試験の実施が可能であること。

(2) 応募機関の要件

- ・生物検定法による測定技術の開発者／機関又は当該開発者／機関から依頼を受けた機関。ただし、ダイオキシン類の検出・測定技術のみの開発者／機関については、前処理技術開発／実施機関と共同で応募のこと。(なお、当該開発者／機関において、技術情報を提供／説明できる前処理を前処理実施機関に依頼して実施する場合に限り、当該開発者／機関だけで応募することができる。)
- ・1つの生物検定法による測定技術*につき、1機関又は1グループの応募に限る。

*:細胞の種類、株等が異なる場合は別の方法と見なす。

2 - 1 - 2 分析試験の実施方法

分析試験は、各技術の基本的評価を行う第一次分析試験及び様々な廃棄物焼却炉への適用性を評価する第二次分析試験の二段階で実施した。分析試験の実施に当たっては、各応募機関に共通試料を配布し、各機関において通常行う方法で実施した分析結果について環境省に報告することとした。第二次分析試験では、各技術分類毎に一部の技術について、中立機関における検証を併せて実施した。また、第二次分析試験を実施した技術に対しては、検討会において各技術及び分析試験結果についてのヒアリングを行った。

各分析試験の実施方法の概要は以下のとおりである。

(1) 第一次分析試験

< 標準試料分析 >

目 的: 技術の基本的評価

分 析 者: 各応募機関

分析方法: 各応募機関における通常の方法

(測定回数は3～10回程度で適当と思われる回数)

試 料: ダイオキシン類の試薬を調製したもの

試 料 数: ポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン(PCDD)及びポリ塩化ジベンゾフラン

(PCDF) 試料: 高濃度試料、低濃度試料 各1検体

上記高濃度試料にコプラナーポリ塩化ビフェニル(Co-PCB)を加えた試料:
1検体

試料配布: 平成15年8月7日(木)

結果報告: 平成15年9月1日(月)

< 実試料分析1 >

目 的: 前処理技術を含めた技術の基本的評価

分 析 者: 各応募機関

分析方法:各応募機関における通常の分析方法。

前処理方法が複数ある場合は、その中で最良と考えられる方法。

(測定回数は3～10回程度で適当と思われる回数)

試料:一般廃棄物焼却炉から採取した排出ガス、ばいじん及び焼却灰について粗抽出したものと及びばいじん

試料数:排出ガス、ばいじん及び焼却灰の抽出液 各1検体、ばいじん(有姿) 1検体

試料配布:平成15年8月7日(木)

結果報告:平成15年9月1日(月)

(2) 第二次分析試験

< 実試料分析2 >

目的:様々な廃棄物焼却炉への技術的適用性評価

分析者:各応募機関

分析方法:各応募機関における通常の分析方法。

前処理方法が複数ある場合は、その中で最良と考えられる方法。

(測定回数は3～10回程度で適当と思われる回数)

試料:異なる種類の廃棄物を焼却する産業廃棄物焼却炉から採取した排出ガス、ばいじん及び焼却灰について粗抽出したもの

試料数:排出ガス、ばいじん及び焼却灰の抽出液 各3検体

試料配布:平成16年1月6日(火)

結果報告:平成16年1月27日(火)

< 中立機関による検証 >

目的:応募機関による分析の妥当性の検証

分析者:中立機関

分析方法:各応募機関で実施した実試料分析2と同じ方法。

試料:実試料分析2における試料と同じ試料

試料数:排出ガス、ばいじん及び焼却灰の抽出液 各3検体

試料配布:平成16年1月6日(火)～

結果報告:平成16年3月2日(火)

各分析試験に供した共通試料の概要を表1、異性体別構成割合を図1に示す。

(共通試料の詳細な異性体組成は参考表1を参照。)

第一次分析試験では、各技術の基本的性能を評価するため、廃棄物焼却炉の排出ガス等における平均的な異性体組成となるようダイオキシン類の試薬を調製した標準試料3検体、及び一般廃棄物焼却施設の焼却炉から採取した排出ガス、ばいじん、燃え殻の粗抽出液各1検体、抽出操作を評価するためのばいじん(有姿)1検体の実試料計4検体を分析に供した。

また、第二次分析試験では、様々な廃棄物焼却炉への技術的適用性を評価するため、焼却物の異なる3種類の産業廃棄物焼却施設の焼却炉から採取した排出ガス、ばいじん、燃え殻の粗抽出液各3検体、計9検体を分析に供した。

なお、第二次分析試験に供した産業廃棄物焼却施設の焼却炉から採取した燃え殻試料(試料2G)及び産業廃棄物焼却施設の焼却炉から採取したばいじん、燃え殻試料(試料2E、2H)はダイオキシン類濃度が極めて低く、公定法による測定においても定量下限値未満の異性体が多く見られたため、毒性等量値の確度が十分でないと判断し、これら試料の測定値は原則として各技術分類の評価対象から外すこととした。

表1 分析試験に供した共通試料の概要

【第一次分析試験試料】

試料番号	内容	試料中の 実試料量	ダイオキシン類濃度 (配布試料へ-入)	ダイオキシン類濃度 (実試料へ-入)
試料1A	排出ガス抽出液	2.88m ³ N/ml	8.1ng-TEQ/ml	2.8ng-TEQ/m ³ N
試料1B	ばいじん抽出液	8g/ml	16ng-TEQ/ml	1.9ng-TEQ/g
試料1C	燃え殻抽出液	16g/ml	0.29ng-TEQ/ml	0.018ng-TEQ/g
試料1D	ばいじん有姿	-	-	2.3ng-TEQ/g
試料1E	標準溶液(PCDD/DF)	-	20ng-TEQ/ml	-
試料1F	標準溶液(PCDD/DF)	-	2ng-TEQ/ml	-
試料1G	標準溶液 (PCDD/DF+Co-PCB)	-	20.56ng-TEQ/ml	-

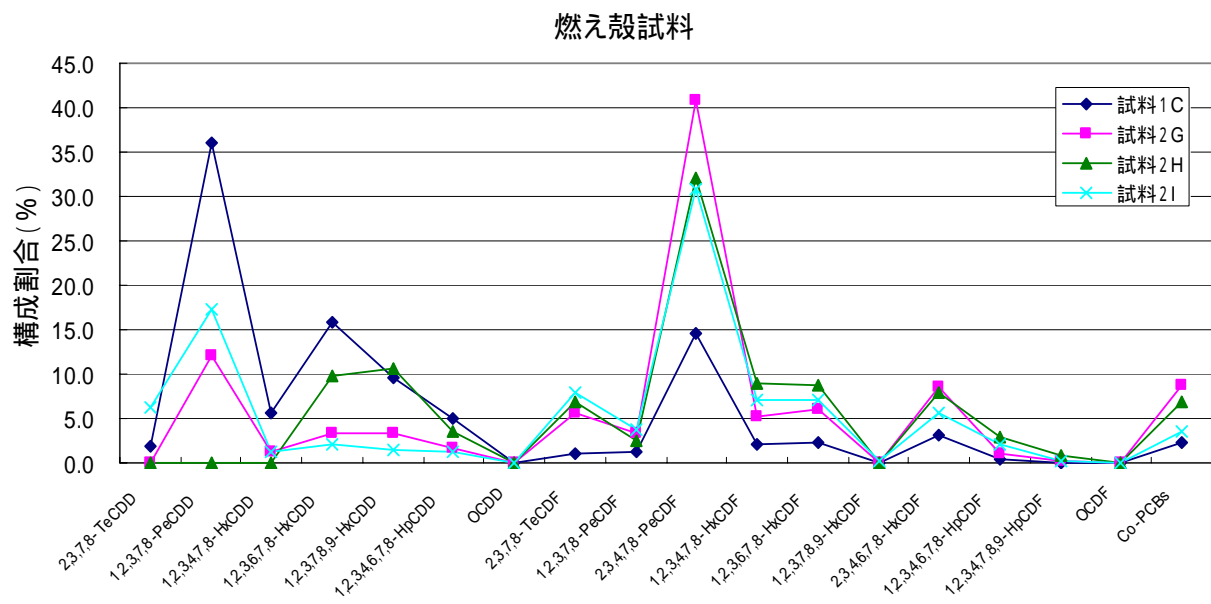
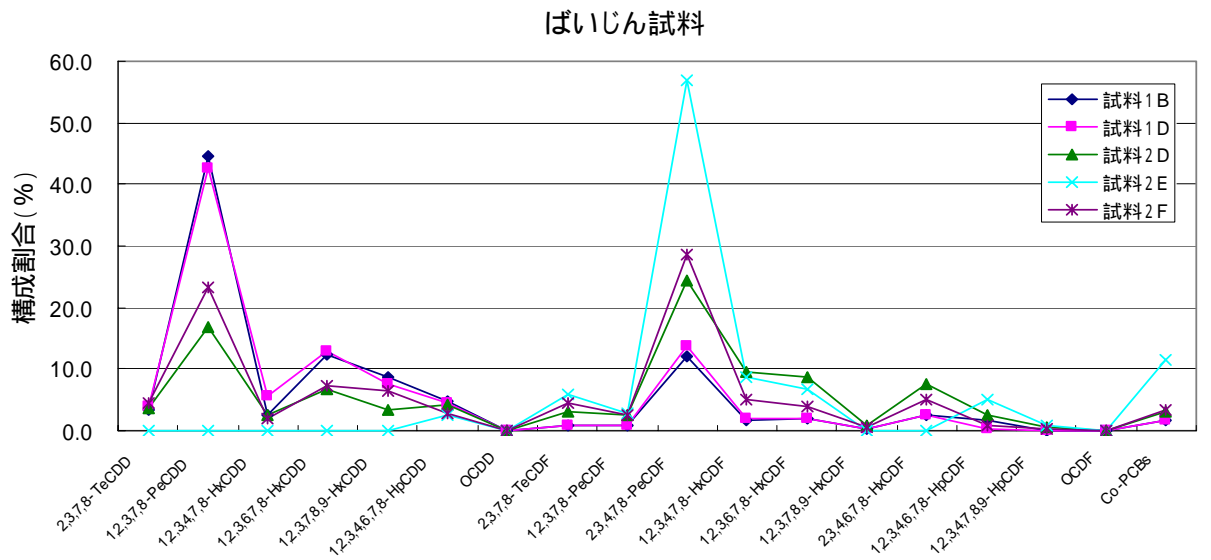
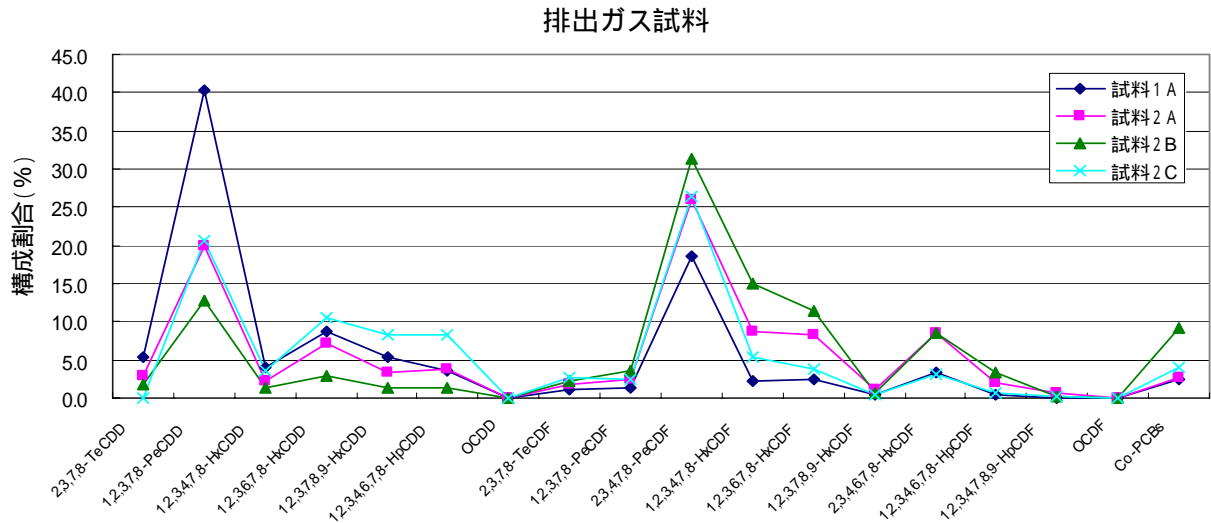
(注) 試料1A-1C:一般廃棄物焼却施設の焼却炉(規模分類:焼却能力2t/h-4t/h)から採取した試料

【第二次分析試験試料】

試料番号	内容	試料中の 実試料量	ダイオキシン類濃度 (配布試料へ-入)	ダイオキシン類濃度 (実試料へ-入)
試料2A	排出ガス抽出液	0.9759m ³ N/ml	0.10ng-TEQ/ml	0.10ng-TEQ/m ³ N
試料2B	"	1.2398m ³ N/ml	0.14ng-TEQ/ml	0.12ng-TEQ/m ³ N
試料2C	"	1.1200m ³ N/ml	0.017ng-TEQ/ml	0.015ng-TEQ/m ³ N
試料2D	ばいじん抽出液	8g/ml	0.037ng-TEQ/ml	0.0046ng-TEQ/g
試料2E	"	8g/ml	0.00044ng-TEQ/ml	0.000056ng-TEQ/g
試料2F	"	8g/ml	3.5ng-TEQ/ml	0.44ng-TEQ/g
試料2G	燃え殻抽出液	16g/ml	0.0054ng-TEQ/ml	0.00034ng-TEQ/g
試料2H	"	16g/ml	0.00056ng-TEQ/ml	0.000035ng-TEQ/g
試料2I	"	16g/ml	0.11ng-TEQ/ml	0.0067ng-TEQ/g

(注) 試料2A、2D、2G:産業廃棄物焼却施設の焼却炉(規模分類:焼却能力200kg/h-2t/h)から採取した試料
 試料2B、2E、2H:産業廃棄物焼却施設の焼却炉(規模分類:焼却能力2t/h-4t/h)から採取した試料
 試料2C、2F、2I:産業廃棄物焼却施設の焼却炉(規模分類:焼却能力200kg/h-2t/h)から採取した試料

図1 分析試験に供した共通試料の異性体別構成割合



2 - 2 検討結果

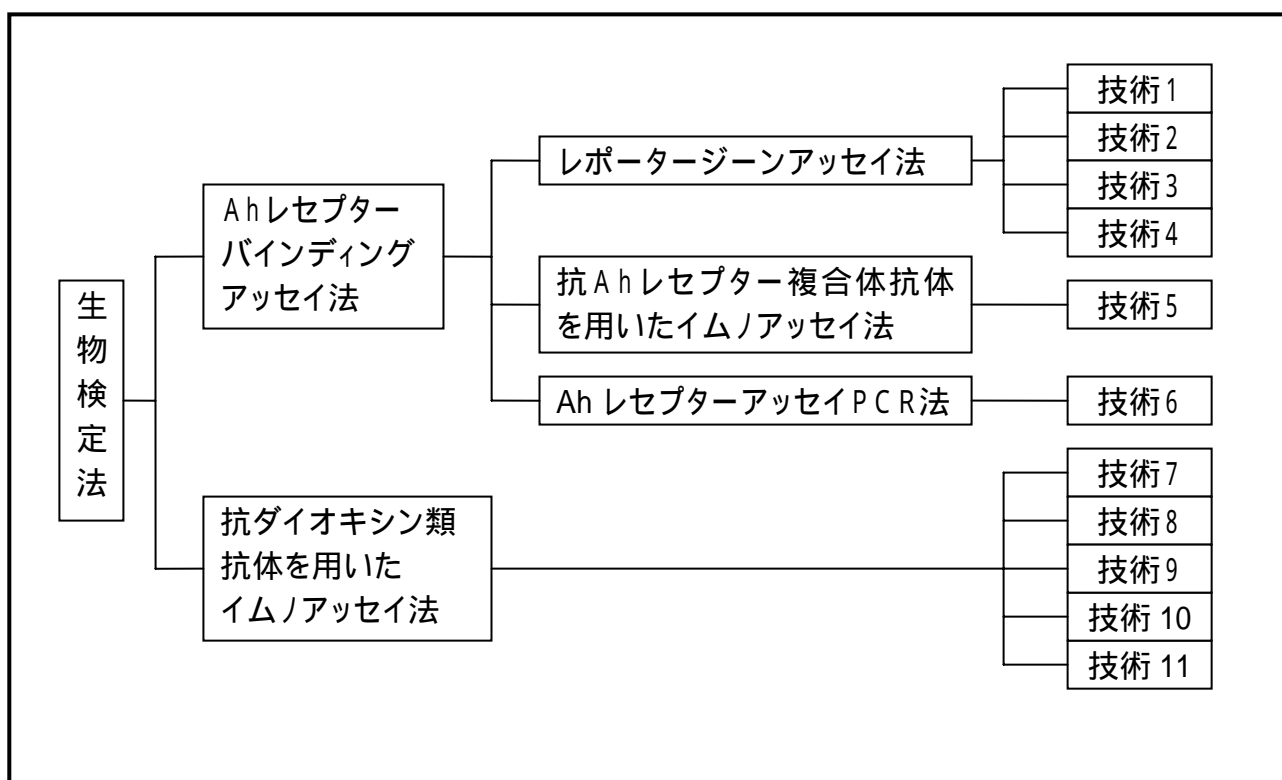
2 - 2 - 1 検討対象技術の分類

応募のあった12機関13技術について、書類審査を行い、応募技術及び応募機関の要件を満たしている10機関11技術を本検討の対象とした。なお、技術11は技術11と同様の抗体を用いて高感度化を図った技術であるが、応募時に含まれていなかったため参考扱いとした。

今回検討対象とした技術は、大きく分けるとダイオキシン類のAhレセプター(アリール炭化水素受容体)への結合性を利用したAhレセプターバインディングアッセイ法とダイオキシン類に特異的に反応する抗体による抗原抗体反応を利用した抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法に分けられる。このうち、Ahレセプターバインディングアッセイ法は、さらに、レポータージーンアッセイ法、抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法及びAhレセプターアッセイPCR法に分けられる。(図2)

本検討においては、これら4つの技術分類毎に技術的適用性に係る検討・評価を行った。

図2 検討対象技術の分類



2 - 2 - 2 各技術分類の概要

(1) 測定原理及び交差反応性

各技術分類の測定原理と交差反応性の特徴を以下に示す。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

<測定原理>

ダイオキシン類を細胞に暴露すると、ダイオキシン類は細胞内のAhレセプターに結合して核内に移行する。ダイオキシン類と結合したAhレセプターは、更にARNT(Ahレセプター核運搬タンパク質)と複合体を形成し、DNA上のXRE(異物応答配列)又はDRE(ダイオキシン応答配列)と呼ばれる部位に結合して薬物代謝酵素であるチトクロムP450酵素(CYP1A1)などを誘導し、毒性を発現する。

レポータージーンアッセイ法は、このダイオキシン類による生体内での遺伝子発現誘導メカニズムを活用し、ホタル等の発光酵素であるルシフェラーゼ等を発現させるレポーター遺伝子を導入した組換え細胞を用いて、試料中のダイオキシン類に応答した遺伝子により生成されるルシフェラーゼ等の活性(発光量)をルミノメーターで測定することにより、ダイオキシン類の量を定量する方法である。

レポーター遺伝子としては、いずれの技術もホタルのルシフェラーゼ遺伝子を、また、レポーター遺伝子を導入した細胞としては、技術1はヒト肝がん細胞由来の細胞、技術2及び技術4はマウス肝がん細胞由来の細胞、技術3はラット肝がん細胞由来の細胞を用いている。(表2)

表2 レポータージーンアッセイ法の比較

技術	レポーター遺伝子導入細胞	レポーター遺伝子
技術1	101L細胞(ヒト肝がん細胞(HepG2)由来)	ホタルルシフェラーゼ遺伝子
技術2	Hepa-1L1.6細胞(マウス肝がん細胞由来)	ホタルルシフェラーゼ遺伝子
技術3	H4IIE-Luc細胞(ラット肝がん細胞由来)	ホタルルシフェラーゼ遺伝子
技術4	Hepa-1-2H9-1G4細胞(マウス肝がん細胞由来)	ホタルルシフェラーゼ遺伝子

<交差反応性>

各技術とも、PCDD、PCDFは、毒性等価係数(WHO-TEF)と比べやや高めではあるが、よく一致した交差反応性を示す。Co-PCBについては、一部の異性体を除きWHO-TEFと比べてやや低めであるが、比較的よく一致した交差反応性を示す。

また、塩素化ダイオキシン類の塩素の一部を臭素で置換した臭素系ダイオキシン類とも高い交差反応性を示す。多環芳香族炭化水素類については、2,3,7,8-TeCDDに比べて数桁程度活性が弱いものが見受けられる。(表3、図3。各技術の交差反応率は参考表2を参照。)

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

<測定原理>

抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法は、ダイオキシン類が生体内で毒性発現する際にAhレセプターに結合してダイオキシン類 - Ahレセプター - ARNT複合体を形成することに着目し、生きた細胞を使用せず、この複合体の構成要素であるAhレセプター、ARNT、DREを主要試薬として、形成した複合体に対して特異的に反応する抗体による抗原抗体反応を利用して、試料中のダイオキシン類の量を標識酵素の発色度等により定量する方法である。

技術5では、Ahレセプターには、モルモット由来の細胞質液(サイトソル)、ARNTにはバキュロウィルスの発現系を用いて昆虫培養細胞で生産したヒト由来のもの、DREは化学合成されたものをそれぞれ用いており、1次抗体には、Ahレセプター複合体のARNT部分を認識する抗ARNTポリクローナル抗体を用いている。(表4)

< 交差反応性 >

6塩素化、7塩素化のPCDD、PCDF及びCo-PCBと高い交差反応性を示し、WHO-TEFと比べて高めではあるが、比較的似た傾向の交差反応性を示す。また、臭素系ダイオキシン類、多環芳香族炭化水素類とも高い交差反応性を示す。(表3、図3)

() AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

< 測定原理 >

ダイオキシン類がAhレセプターと結合するとAhレセプターがARNTと結合して活性化され、特定のDNA配列であるDREと結合するようになる。

AhレセプターアッセイPCR法は、このダイオキシン類 - Ahレセプター - ARNT複合体とDREとの結合性を活用して、Ahレセプターと結合したDREプローブ(DREを含んだDNA断片)の量をリアルタイムPCR法で定量することにより、ダイオキシン類の量を測定する方法である。

(注) リアルタイムPCR法:測定対象のDNAをPCR(ポリメラーゼ連鎖反応)法で増幅し、増幅速度を蛍光でモニタリングしながら定量する方法で、微量のDNA量を精度良く定量することができる。

< 交差反応性 >

PCDD、PCDFはWHO-TEFとよく一致した交差反応性を示すが、Co-PCBはWHO-TEFと比べて低く、1/10程度の交差反応性を示す。(表3、図3)

図3 各技術の交差反応性

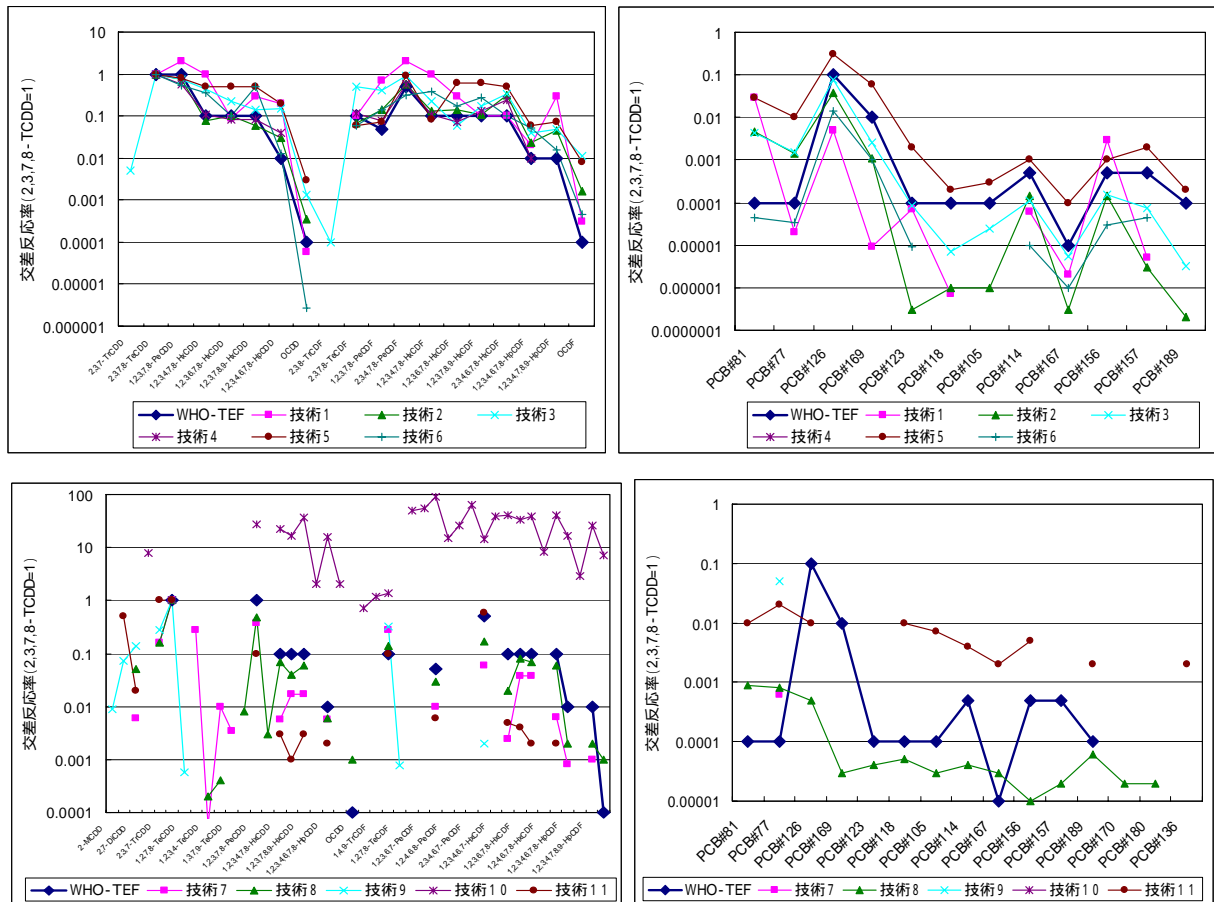


表3 各技術の交差反応性の特徴

技術	交差反応性の特徴
技術1	PCDD/DFはWHO-TEFよりやや高め、Co-PCBはやや低めであるが、よく一致した交差反応性を示す。
技術2	PCDD/DFはWHO-TEFとよく一致した交差反応性を示す。Co-PCBはWHO-TEFよりやや低めである。臭素系ダイオキシン類も塩素化ダイオキシン類と類似の交差反応性を示す。
技術3	PCDD/DFはWHO-TEFよりやや高め、Co-PCBはやや低めであるが、よく一致した交差反応性を示す。臭素系ダイオキシン類も塩素化ダイオキシン類と類似の交差反応性を示す。一部の多環芳香族炭化水素類も交差反応性がある。
技術4	PCDD/DFはWHO-TEFとよく一致した交差反応性を示す。(Co-PCBの交差反応性に関するデータなし。)
技術5	6塩素化、7塩素化のPCDD/DF、Co-PCBと高い交差反応性を示し、WHO-TEFより高めであるが、比較的似た傾向の交差反応性を示す。臭素化ダイオキシン類や一部の多環芳香族炭化水素類とも高い交差反応性を示す。
技術6	PCDD/DFはWHO-TEFとよく一致した交差反応性を示すが、Co-PCBは、WHO-TEFより低めである。
技術7	PCDD/DFはWHO-TEFよりやや低めであるが、よく一致した交差反応性を示す。 8塩素化のPCDD/DF、OCDF、Co-PCB、多環芳香族炭化水素類とはほとんど反応しない。
技術8	8塩素化のPCDD/DFはWHO-TEFよりも10倍程度高い交差反応性を示す。 それ以外のPCDD/DFはWHO-TEFよりも低めであるが、比較的一致した交差反応性を示す。 PCBとの交差反応性は低い、臭素系ダイオキシン類と交差反応性を示す。
技術9	2,3,7,8-TeCDDと最も高い交差反応性を示し、4塩素以下の低塩素化のPCDD/DFとも交差反応性を示すが、5塩素化以上のPCDD/DF、Co-PCBとはほとんど反応性がない。
技術10	5塩素化及び6塩素化のPCDFと高い交差反応性を示す。2,3,7,8-TeCDDの交差反応性は低く、Co-PCB,多環芳香族炭化水素類とはほとんど反応性がない。
技術11	PCDD/DFはWHO-TEFよりも低めの交差反応性を示すが、Co-PCBは、WHO-TEFよりも高めの交差反応性を示す。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

<測定原理>

抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法は、ダイオキシン類に特異的に反応する抗体による抗原抗体反応を利用して、試料中のダイオキシン類の量を標識物質の反応により定量する方法である。標識物質により、酵素を用いる酵素免疫測定法(ELISA法)や蛍光物質を用いる蛍光免疫測定法などがあり、また、支持体に抗体を固定させる直接競合法と抗原を固定させる間接競合法などに分類される。(表4)

<交差反応性>

特定のダイオキシン類の異性体と高い交差反応性を示し、それ以外の異性体や他の化学物質はほとんど交差反応性を示さない抗体を用いる技術が多い。技術7及び技術8で用いている抗体は、PCDD、PCDFに対してWHO-TEFと比較的一致した交差反応性を示す。(表3、図3)

表4 イムノアッセイ法の比較

技術	測定方法	測定対象物質	抗体	標識物質	測定波長
技術5	間接競合 酵素免疫測定法	PCDD、PCDF、Co-PCB	ヤギ抗ARNT ポリクローナル抗体	ALP (アルカリフォスファターゼ)	405nm
技術7	間接競合 酵素免疫測定法	PCDD、PCDF	ウサギ抗DXN ポリクローナル抗体	HRP(西洋ワサビ ペルオキシターゼ)	450nm
技術8	直接競合 酵素免疫測定法	PCDD、PCDF	マウス抗DXN モノクローナル抗体	HRP(西洋ワサビ ペルオキシターゼ)	450nm (450/650nm)
技術9	時間分解 蛍光免疫測定法	TeCDD	マウス抗DXN モノクローナル抗体	Eu(ユーロビウム)	615nm (励起340nm)
技術10	直接競合 酵素免疫測定法	PeCDF、HxCDF	マウス抗DXN モノクローナル抗体	HRP(西洋ワサビ ペルオキシターゼ)	450nm
技術11	直接競合 酵素免疫測定法	PCDD、PCDF、Co-PCB	ウサギ抗DXN ポリクローナル抗体	HRP(西洋ワサビ ペルオキシターゼ)	450nm (450/650nm)

(2) 前処理方法

各技術の前処理方法の概要を表5に示す。

抽出は、公定法と同様に塩酸処理後、ソックスレー抽出及びジクロロメタン液-液振とう抽出を行っている技術と高速溶媒抽出を行っている技術とがある。

また、クリーンアップは、通常、1種類又は2種類のカラム等を組み合わせて行っている。

公定法では、一般に、試料からの抽出後、内標準物質の添加し、硫酸処理 - シリカゲルカラム又は多層シリカゲルカラムで処理した後、PCDD/DF 画分と Co-PCB 画分に分画して更にアルミナカラムや必要に応じて高速液体カラムにかけるなど多段階のクリーンアップを行うため前処理操作が煩雑であるのに対し、生物検定法の各技術では、内標準物質の添加や分画操作がなく、クリーンアップ方法も簡略化されており、公定法に比べて操作の簡便化・迅速化が図られている。その反面、ダイオキシン類の(絶対)回収率に留意する必要がある。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

抽出は、塩酸処理後、技術2、技術3及び技術4では、ソックスレー抽出及びジクロロメタン液-液振とう抽出を行っているのに対し、技術1では、高速溶媒抽出を行っている。

クリーンアップは、技術1及び技術2は硫酸シリカゲルカラムと活性炭(シリカゲル)カラムの2段階の処理を行っているのに対し、技術3は硫酸シリカゲル加熱還流、技術4は変則多層シリカゲルカラムの各1段階の処理である。

なお、今回の分析試験では、技術4の試料 2D、2F、2G、2I は、着色物質の除去のため、多層シリカゲルカラム処理を2回行っている。

表5 各技術の前処理方法

技術	抽出(試料1D)	クリーンアップ
技術1	塩酸処理 (残渣)高速溶媒抽出	硫酸シリカゲルカラム 活性炭シリカゲルカラム
技術2	塩酸処理 (残渣)ソックスレー抽出 (液部)ジクロロメタン液-液振とう抽出	33%硫酸シリカゲルカラム 活性炭カラム
技術3	塩酸処理 (残渣)ソックスレー抽出 (液部)ジクロロメタン液-液振とう抽出	44%硫酸シリカゲル加熱還流
技術4	塩酸処理 (残渣)ソックスレー抽出 (液部)ジクロロメタン液-液振とう抽出	変則多層シリカゲルカラム(試料2D、2F、2G、2I: 2回)
技術5	高速溶媒抽出	硫酸処理(試料1A-C、2D-2I) 多層シリカゲルカラム + アルミナカラム(試料2I) + 硫酸シリカゲルカラム(試料2I)
技術6	高速溶媒抽出	多層シリカゲルカラム アルミナカラム
技術7	塩酸処理 (残渣)ソックスレー抽出 (液部)ジクロロメタン液-液振とう抽出	多層シリカゲルカラム + 活性炭カラム(2C、2D、2E、2G、2H、2I)
技術8	塩酸処理 (残渣)ソックスレー抽出	硫酸処理(試料1A-C) 多層シリカゲルカラム 固相抽出(プレセップフタロシアニン固定化シリカゲル)
技術9	高速溶媒抽出	多層シリカゲルカラム アルミナカラム
技術10	塩酸処理 (残渣)ソックスレー抽出 (液部)ジクロロメタン液-液振とう抽出	硫酸処理2回(試料2F: 4回) 多層シリカゲルカラム + リバーシブルカーボンカラム(試料2A-2I)
技術11	塩酸処理 (残渣)高速溶媒抽出 (液部)ジクロロメタン液-液振とう抽出	硫酸処理 多層シリカゲルカラム + 活性炭シリカゲルカラム(試料2A-2I) + 44%硫酸シリカゲルカラム(試料2A-2I))
技術11 (参考)	塩酸処理 (残渣)高速溶媒抽出 (液部)ジクロロメタン液-液振とう抽出	硫酸処理 多層シリカゲルカラム 活性炭シリカゲルカラム 44%硫酸シリカゲルカラム2回

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

抽出は高速溶媒抽出で行い、クリーンアップは、一般に硫酸処理のあと多層シリカゲルカラムのみであり、前処理の簡素化が図られている。

なお、今回の分析試験では、試料 2A-2C は簡便化を図るため硫酸処理の省略、試料 2I は夾雑物除去のためアルミナカラムと硫酸シリカゲルカラム処理を追加している。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

抽出は高速溶媒抽出で行い、クリーンアップは、多層シリカゲルカラムとアルミナカラムのみであり、前処理の簡素化が図られている。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

抽出は、技術9が高速溶媒抽出、技術11が塩酸処理後高速溶媒抽出及びジクロロメタン液-液振とう抽出を行っている以外は、公定法同様、塩酸処理後ソックスレー抽出及びジクロロメタン液-液振とう抽出を行っている。

クリーンアップは、いずれの技術も多層シリカゲルカラム処理を行っており、これに加えて、技術10、技術11は硫酸処理、技術9はアルミナカラム処理、技術8は硫酸処理及び固相抽出を行っている。

なお、今回の分析試験では、第二次分析試験において、夾雑物除去のため、技術7は活性炭カラム処理、技術10はリバーシブルカーボンカラム処理、技術11は活性炭シリカゲルカラム及び硫酸シリカゲルカラム処理をそれぞれ追加している。一方、技術8では、試料量が少ないため、第二次分析試験で硫酸処理を省略している。

(3)標準物質及び検量線作成方法

各技術の標準物質及び検量線作成方法を表6に示す。

標準物質は、技術1～6、9では 2,3,7,8-TeCDD を使用しているが、技術7、8、10、11 では、2,3,7,8-TeCDD の代替物質が使われている。

検量線は、各技術の反応の特性に応じた式を用いて作成している。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

標準物質は、いずれの技術も 2,3,7,8-TeCDD を用いている。

検量線は、技術1及び技術4は一次回帰式、技術2はHillの式、技術3は、シグモイド曲線の回帰式により作成している。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

標準物質は、2,3,7,8-TeCDD を用い、検量線は三次多項式の回帰式により作成している。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

標準物質は、2,3,7,8-TeCDDを用い、検量線は各標準ポイントを直線で結んで作成している。

表6 各技術の標準物質及び検量線作成方法

技術	標準物質	検量線
技術1	2,3,7,8-TeCDD	$Y=aX + b$ Y: 試料の濃度(ng-TEQ _{HRGS} /ml)、 X: Fold Induction(試料の発光量/ブランクの発光量)
技術2	2,3,7,8-TeCDD	$V = V_{max} \cdot [S]^n / (K_m^n + [S]^n) + b$ V: ルシフェラーゼ生成濃度(発光強度(RLU))、 V_{max} : ルシフェラーゼ最大生成量、 [S]: 基質濃度(DXN類濃度)の自然対数値、 K_m : $V=1/2V_{max}$ 時の基質濃度の自然対数値、n: Hill's係数(傾き)、b: 切片 (プレート毎に V_{max} 、 K_m 、n、bの最適化を図る)
技術3	2,3,7,8-TeCDD	$Y = a0 / (1 + (X / a1)^{a2})$ Y: 発光量(DMSOブランク補正済み)、X: TeCDD-TEQ濃度(pM/well)、 a0: 最大発光量、a1: 曲線のEC ₅₀ (pM/well)、a2: 曲線のスローク (プレート毎にa0、a1、a2の最適化を図る)
技術4	2,3,7,8-TeCDD	$Y=aX - b$ Y: 発光量(Net-RLU値)、X: 2,3,7,8-TeCDD濃度(pg-TEQ/ μ IDMSO/well)
技術5	2,3,7,8-TeCDD	$Y=m_1X^3+m_2X^2+m_3X+b$ Y: 試料中の値(pgDEQ)、X: 吸光度(mOD)、 $m_1 \sim m_3$ 、b: 係数
技術6	2,3,7,8-TeCDD	各測定ポイントを直線で結ぶ
技術7	TMDD (2,3,7-トリクロロ-8-メチルジベンゾ-p-ジオキシン)	$Y=((A-D)/(1+(X/C)^B))+D$ A: 0濃度の吸光度、B: 曲線部分の傾き、C: 50%阻害濃度(IC ₅₀)、 D: 最小吸光度(バックグラウンド値) Y: 吸光度(Abs.450nm)、X: 試料中の量(pg/well)
技術8	2,7,8-TriCDA (3-(2,7,8-トリクロロジベンゾ[1,4]ジオキシン-1-イル)アクリル酸)	$Y=D+((A-D)/(1+(X/C)^B))$ A: 0濃度の吸光度、B: 曲線部分の傾き、C: 50%阻害濃度(IC ₅₀)、 D: 最小吸光度(バックグラウンド値) Y: 吸光度(ODat450nm)、X: 試料の濃度(pg/ml)
技術9	2,3,7,8-TeCDD	各測定ポイントを直線で結ぶ
技術10	TCP-Glygly (2,4,5-トリクロロフェノール-グリシルグリシン)	$Y=((A-D)/(1+(X/C)^B))+D$ A: 0濃度の吸光度、B: 曲線部分の傾き、C: 50%阻害濃度(IC ₅₀)、 D: 最小吸光度(バックグラウンド値) Y: 吸光度(Abs.450nm)、X: 試料の濃度(ng-TCP/ml)
技術11	2,3,7-TrCDD	$Y=((A-D)/(1+(X/C)^B))+D$ A: 0濃度の吸光度、B: 曲線部分の傾き、C: 50%阻害濃度(IC ₅₀)、 D: 最小吸光度(バックグラウンド値) Y: 吸光度(Abs.450nm)、X: 試料中の量(pg/well)

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

標準物質は、技術9は2,3,7,8-TeCDDを用いているが、それ以外の技術は代替物質を用いており、技術7はTMDD、技術8は2,7,8-TricDA、技術10はPeCDFよりも100倍ほど感度が低い2,3,7,8-TeCDDと同様の反応性を示すクロロフェノール誘導体であるTCP-グリシルグリシン、技術11は2,3,7,8-TeCDDと同程度の交差反応性を示す2,3,7-TricDDをそれぞれ用いている。

また、検量線は、技術9は各標準ポイントを直線で結んで作成しているが、それ以外の酵素免疫測定法の各技術は、4-Parameterの式を用いて作成している。

(4)検出下限値及び定量範囲の設定方法

各技術の検出下限値及び定量範囲の設定方法を表7に示す。

各試料の検出下限値及び定量範囲については、レポータージーンアッセイ法では、検出下限値及び定量下限値は溶媒ブランク値の標準偏差、定量上限値はアッセイの定量上限値(検量範囲の上限値)により設定している。イムノアッセイ法である技術7、技術8及び技術10では、検量線の%吸光度、それ以外の技術は、アッセイの検出下限値、定量下限値、定量上限値により設定している。

なお、いずれの方法も試料を希釈して測定することができるため、希釈による誤差が無視できる範囲内では相当高濃度の試料まで測定することができる。表9～12及び表25～29の測定結果において、平均値が定量上限値を超えているものがあるが、これらは試料を希釈して測定を行っている。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

検出下限値は、技術4以外の技術において、溶媒ブランク値の標準偏差の3倍の濃度により設定している。

定量下限値は、技術1及び技術3は溶媒ブランク値の標準偏差の10倍、技術2は6倍、技術4は5倍の濃度によりそれぞれ設定している。

定量上限値は、アッセイの定量上限値(技術1:8pg/well、技術2:3pg/well、技術3:約0.7pg/well、技術4:5pg/well)により設定している。なお、定量上限値は、通常、希釈による最適範囲設定で対処するものである。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

検出下限値は、アッセイの検出下限値(1pg/well)、定量下限値は、検出下限値の4倍、定量上限値は、アッセイの定量上限値(64pg/well)によりそれぞれ設定している。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

定量下限値は、アッセイの定量下限値(63pg/ml)、定量上限値は、アッセイの定量上限値(2,000pg/ml)により設定している。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

検出下限値は、技術7及び技術9以外の技術において設定しており、技術8は、阻害率10%を示す濃度、技術10は最大吸光度の90%相当濃度、技術11はアッセイの検出下限値(80pg/well)により設定している。

定量下限値は、技術7は阻害率10%を示す濃度、技術8は阻害率20%を示す濃度、技術10は最大吸光度の80%相当濃度によりそれぞれ設定している。また、技術9及び技術11は、アッ

セイの定量下限値(技術9:1ng/ml、技術11:206pg/well)により設定している。

定量上限値は、技術7は阻害率90%を示す濃度、技術8は阻害率80%を示す濃度、技術10は最大吸光度の20%相当濃度によりそれぞれ設定している。また、技術9及び技術11は、アッセイの定量上限値(技術9:32ng/ml、技術11:50,000pg/well)により設定している。

表7 各技術の検出下限値及び定量範囲の設定方法

技 術	検出下限値	定量下限値	定量上限値
技術1	ブランク値の標準偏差の3倍を超える標準物質の最低濃度(0.15pg/well)を分取割合等で補正。	ブランク値の標準偏差の10倍を超える標準物質の最低濃度(0.25pg/well)を分取割合等で補正。	標準物質濃度と発光量の間直線性が得られる標準物質の上限濃度(8pg/well)を分取割合等で補正。
技術2	ブランク値の標準偏差の3倍の濃度(0.1pg/well)を分取割合等で設定。	ブランク値の標準偏差の6倍の濃度(0.2pg/well)を分取割合等で設定。	アッセイの定量上限値(3pg/well)を分取割合等で補正。
技術3	ブランク値の標準偏差の3倍の濃度(約0.02pg/well)を分取割合等で補正。	ブランク値の標準偏差の10倍の濃度(約0.06pg/well)を分取割合等で補正。	アッセイの定量上限値(約0.7pg/well)を分取割合等で補正。
技術4	設定せず。	ブランク値の標準偏差の5倍を超える標準溶液の最低濃度を分取割合等で補正。	アッセイの定量上限値(5pg/well)を分取割合等で補正。
技術5	アッセイの検出下限値(1pg/well)を分取割合等で補正。	検出下限値の4倍の濃度。	アッセイの定量上限値(64pg/well)を分取割合等で補正。
技術6	設定せず。	アッセイの定量下限値(63pg/ml)を分取割合等で補正。	アッセイの定量上限値(2000pg/ml)を分取割合等で補正。
技術7	設定せず。	阻害率10%を示す濃度(IC10)を分取割合等で補正。	阻害率90%を示す濃度(IC90)を分取割合等で補正。
技術8	阻害率10%を示す濃度(IC10)を分取割合等で補正。	阻害率20%を示す濃度(IC20)を分取割合等で補正。	阻害率80%を示す濃度(IC80)を分取割合等で補正。
技術9	設定せず。	アッセイの定量下限値(1ng/ml)を分取割合等で補正。	アッセイの定量上限値(32ng/ml)を分取割合等で補正。
技術10	最大吸光度(ブランク値)の90%相当濃度を分取割合等で補正。	最大吸光度(ブランク値)の80%相当濃度を分取割合等で補正。	最大吸光度(ブランク値)の20%相当濃度を分取割合等で補正。
技術11	アッセイの検出下限値(80pg/well)を分取割合等で補正。	アッセイの定量下限値(206pg/well)を分取割合等で補正。	アッセイの定量上限値(50,000pg/well)を分取割合等で補正。
技術11 (参考)	アッセイの検出下限値(2.6pg/well)を分取割合等で補正。	アッセイの定量下限値(10pg/well)を分取割合等で補正。	アッセイの定量上限値(750pg/well)を分取割合等で補正。

(5) 毒性等量相当値への換算方法

各技術の毒性等量相当値への換算方法を表8に示す。

今回の検討の対象媒体である排出ガス、ばいじん、燃え殻は、他の媒体に比べて比較的異性体組成の変動が小さいため、公定法による毒性等量 (TEQ) 値と生物検定法による測定値の間に良い相関関係がある。しかし、各生物検定法の特性により、各異性体との反応性の違いやダイオキシン類以外の物質との反応性などから、毒性等量に相当する値を求めるためには、何らかの換算を行う必要がある技術が少なくない。

今回の検討対象である 11 技術のうち、技術7及び技術8を除く9技術において、公定法による TEQ 値との各種比較データに基づく換算が行われている。

() レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

標準試料については、換算を行っているのは技術1及び技術2だけであり、これら技術では、試薬調製試料の自社測定データから得られた換算係数を用いて換算を行っている。また、排出ガス試料、ばいじん試料、燃え殻試料については、技術1～4の各技術とも、媒体毎に(技術1及び技術4はばいじんと燃え殻を一緒に扱っている)これまでの自社測定データから得られた換算係数又は換算式を用いて換算を行っている。

なお、各技術とも実測値は公定法による TEQ 値よりも高い値となるため、換算係数は1より小さい値となっている。

() 抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

自社及び他機関の測定データをもとに、標準物質は 0.25、排出ガス、ばいじん・燃え殻は 0.05 と換算係数を設定している。実測値は公定法による TEQ 値よりもかなり高い値となるため、換算係数は1よりかなり小さい値となっている。

() AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

自社のばいじん・燃え殻の測定データをもとに、各媒体同一の換算式を設定している。実測値は公定法による TEQ 値よりもかなり高い値となるため、換算式の傾きは1より小さい値となっている。

() 抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

技術7及び技術8は、実測値が比較的公定法による TEQ 値に近い値とされるため、換算を行っていない。

技術9は、自社及び他機関のばいじん・燃え殻の測定データをもとに各媒体同一の換算式を設定している。実測値は公定法による TEQ 値よりも低い値となるため、換算式の傾きは1より大きい値となっている。

技術10は、自社の排出ガス、ばいじん・燃え殻の測定データをもとに標準試料・排出ガス、ばいじん・燃え殻の換算式を設定している。実測値が公定法による TEQ 値よりも数桁大きいため、換算式の傾きは1よりかなり小さい値となっている。

技術11は、自社及び他機関の排出ガス、ばいじん、燃え殻の各種測定データをもとにした5つの相関式の傾きの平均値である 0.5 を実試料の換算係数として設定している。

表8 各技術の毒性等量相当値への換算方法

技術	標準試料	排出ガス	ばいじん	燃え殻
技術1*	換算係数:1/4.1	換算係数:1/6	換算係数:1/8.1	
技術2*	換算係数: 1E、1F:0.642 1G:0.534	換算係数:0.253	換算係数:0.351	換算係数:0.336
技術3**		推定係数:1/2.36	推定係数:1/2.15	推定係数:1/1.81
技術4*		換算値(ng-TEQ/m ³ N) = (プレート間補正值(ng-TcEQ/m ³ N)+0.0177) / 2.23	換算値(ng-TEQ/g) = (プレート間補正值(ng-TcEQ/g)+0.00113) / 1.70	
技術5*	換算係数:0.25	換算係数:0.05		
技術6*	換算値(ng-TEQ/ml) = 0.1943 × 実測値(ng/ml) ^{0.9498} × A A (アッペイ間補正係数=基準値/今回測定値) = 0.63			
技術7				
技術8				
技術9*	換算値(ng-TEQ/ml) = 17.7 × 実測値(ng/ml) ^{1.06}			
技術10*	換算値(ng-TEQ/ml) = 0.3494 × 実測値(μg-TCP/ml) × 希釈倍率	換算値(ng-TEQ/ml) = 0.0744 × (実測値(μg-TCP/ml)) ^{0.835} × 希釈倍率 × 最終定容量 / 分取量	換算値(ng-TEQ/ml) = 0.0038 × (実測値(μg-TCP/ml)) ^{0.9779} × 希釈倍率 × 最終定容量 / 分取量 1D: 換算値(ng-TEQ/ml) = 0.0070 × (実測値(μg-TCP/ml)) ^{0.8905} × 希釈倍率 × 最終定容量 / 分取量	
技術11*		換算係数:0.5		

*:換算を行っている技術。

** :通常換算を行っていないが、今回毒性等量推定に当たって使用した係数を記載。

(本報告書では、以降、換算を行っている技術として取り扱っている。)

各技術で用いている実測値の単位:(技術4) ng-TcEQ/m³N(or g) <TcEQ:2,3,7,8-TeCDD等量>

(技術10) μg-TCP/ml <TCP:TCP-グリルグリソを標準物質として使用>

2 - 2 - 3 分析試験結果

(1)測定結果

【標準試料】

標準試料の測定結果を表9に示す。

抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法の一部の技術において、試料1F(2ng-TEQ/ml)の測定値が定量下限値未満であったが、それ以外の試料、技術はすべて定量下限値以上であった。

また、1～10ng-TEQ/ml オーダーの定量性は、各技術とも概ね保たれており、Co-PCBにも各技術とも反応性を示した。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

いずれの技術も測定値はすべて定量下限値以上であった。

試料1E(20ng-TEQ/ml)は試料1Fの10倍となるよう調製しているが、試料1E/試料1Fは実測値で9.3～1.2であり、1～10ng-TEQ/ml オーダーの定量性は保たれている。

また、試料1G(20.56 ng-TEQ/ml)は試料1EにCo-PCBを加えて調製したものであるが、各技術ともCo-PCBに反応しており、試料1G/試料1E(TEQ換算調製比:1.03)は実測値で1.06～1.25、換算値で0.94～1.25であった。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

測定値はすべて定量下限値以上であった。

また、試料1E/試料1Fは11であり、試料1G/試料1Eは0.95であった。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

測定値はすべて定量下限値以上であった。

また、試料1E/試料1Fは9.7であり、試料1G/試料1Eは1.10であった。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

試料1E及び1Gの測定値は各技術とも定量下限値以上であったが、試料1Fの測定値は、技術9及び技術11が検出下限値以上定量下限値未満、技術8が検出下限値未満であった。

また、試料1E/試料1Fは7.8～13であり、試料1G/試料1Eは1.05～1.30であった。

表9 標準試料の測定結果

<Ahレセプター・ハインディングアッセイ法>

技術		技術1		技術2		技術3		技術4		技術5		技術6	
単位		実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値
		ng/ml	ng-TEQ/ml	ng/ml	ng-TEQ/ml	ng/ml	ng-TEQ/ml	ng/ml	ng-TEQ/ml	ng/ml	ng-TEQ/ml	ng/ml	ng-TEQ/ml
試料1 E (PCDD/DF) 高濃度	平均値	94	23	56	36	28		35		96	24	72	7.1
	n	5	5	3	3	6		5		8	8	3	3
	標準偏差	6.5	1.6	6.1	4.0	1.6		1.5		9.1	2.3	1.7	0.16
	CV%	6.9	6.9	11	11	5.8		4.2		9.6	9.5	2.9	2.1
	定量上限値	16	3.9	6.2	4.0	98		5.0		1,300	320	120	14
	定量下限値	0.50	0.12	0.39	0.25	0.043		0.59		10	2.5	0.063	0.0063
	検出下限値	0.30	0.073	0.20	0.13	0.017		*		2.5	0.63	*	*
試料1 F (PCDD/DF) 低濃度	平均値	10	2.5	4.7	3.0	3.0		3.4		8.4	2.1	7.4	0.81
	n	5	5	3	3	6		5		8	8	3	3
	標準偏差	1.3	0.32	0.47	0.30	0.32		0.15		1.5	0.38	0.27	0.029
	CV%	13	13	9.9	9.9	11		4.3		18	18	4.1	3.7
	定量上限値	16	3.9	6.2	4.0	9.5		5.0		260	64	12	1.4
	定量下限値	0.50	0.12	0.39	0.25	0.057		0.59		2.0	0.50	0.063	0.0063
	検出下限値	0.30	0.073	0.20	0.13	0.022		*		0.50	0.13	*	*
試料1 G (PCDD/DF + Co-PCB)	平均値	100	25	63	34	35		37		91	23	79	7.7
	n	5	5	3	3	6		5		8	8	3	3
	標準偏差	1.8	0.43	7.0	3.7	1.5		2.2		6.3	1.6	3.0	0.28
	CV%	1.8	1.8	11	11	4.3		5.8		7.0	7.0	3.9	4.0
	定量上限値	16	3.9	6.2	3.4	100		5.0		1,300	320	120	14
	定量下限値	0.50	0.12	0.39	0.21	0.041		0.59		10	2.5	0.063	0.0063
	検出下限値	0.30	0.073	0.20	0.10	0.015		*		2.5	0.63	*	*

<抗ダイオキシン類抗体を用いたIL/Aッセイ法>

技術		技術7		技術8		技術9		技術10		技術11	
単位		実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値
		ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng-TEQ/ml	ng/ml	ng-TEQ/ml	ng/ml	ng-TEQ/ml	ng/ml	換算値
試料1 E (PCDD/DF) 高濃度	平均値	12		11		7.8	160	46,000	16	14	
	n	5		3		3	3	9	9	6	
	標準偏差	0.23		0.58		0.12	2.5	4,400	1.5	1.4	
	CV%	1.9		5.4		1.5	1.5	9.5	9.5	10	
	定量上限値	1.9		31		38	850	27,000	9.4	600	
	定量下限値	0.016		2.8		1.0	18	1,900	0.66	2.5	
	検出下限値	*		1.5		*	*	800	0.28	0.60	
試料1 F (PCDD/DF) 低濃度	平均値	1.6		nd		0.59	10	5,200	1.8	1.3	
	n	5		3		3	3	9	9	6	
	標準偏差	0.055		*		0.13	2.4	580	0.20	0.35	
	CV%	3.5		*		23	24	11	11	27	
	定量上限値	1.7		31		38	850	17,000	6.1	600	
	定量下限値	0.022		2.8		1.0	18	150	0.052	2.5	
	検出下限値	*		1.5		*	*	80	0.028	0.60	
試料1 G (PCDD/DF + Co-PCB)	平均値	16		12		8.2	170	49,000	17	15	
	n	5		3		3	3	9	9	6	
	標準偏差	1.0		0.58		0.53	11	2,800	0.99	0.65	
	CV%	6.1		4.7		6.5	6.8	5.7	5.7	4.4	
	定量上限値	2.1		31		38	850	120,000	42	600	
	定量下限値	0.030		2.8		1.0	18	1,100	0.37	2.5	
	検出下限値	*		1.5		*	*	500	0.17	0.60	

(注) 数値: 測定値が検出下限値以上定量下限値未満の試料のデータ。
 nd: 測定値が検出下限値未満であることを示す。
 *: 測定値が検出下限値未満のためデータが得られなかったことを示す。
 *: 検出下限値又は定量上限値が設定されていないことを示す。

各技術で用いている実測値の単位
 (技術1) ng-TEQ_{HRGS}/ml < TEQ_{HRGS}: P450HRGSで測定した毒性等量 >
 (技術5) ng-DEQ/ml < DEQ: dioxins equivalent >
 (技術8) ng2378-TCDDeq./ml < 2378-TCDDeq.: 2,3,7,8-TCDD等量(eq) >
 (技術10) ng-TCP/ml < TCP: TCP-グリルグリンを標準物質として使用 >
 (技術11) ng-DEQ/ml < DEQ: 2,3,7,8-TCDD equivalent >

【排出ガス試料】

排出ガス試料の測定結果を表10に示す。

試料 1A(公定法によるTEQ値 2.8ng-TEQ/m³N、以下同じ。)の測定値はすべての技術で定量下限値以上であったが、試料 2A(0.10ng-TEQ/m³N)及び試料 2B(0.12ng-TEQ/m³N)の測定値については、抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法の一部の技術で定量下限値未満であった。また、試料 2C(0.015ng-TEQ/m³N)の測定値については、レポータージーンアッセイ法の一部及び抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法の一部の技術で定量下限値未満であった。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

技術1の試料 2C の測定値が検出下限値未満であった。

それ以外の試料及び技術の測定値については、すべて定量下限値以上であった。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

すべての試料の測定値が定量下限値以上であった。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

すべての試料の測定値が定量下限値以上であった。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

技術7は、すべての試料の測定値が定量下限値以上であった。

技術8は、試料 2C の測定値が検出下限値未満であり、それ以外の試料の測定値は定量下限値以上であった。

技術9は、試料 2A 及び 2B の測定値が検出下限値以上定量下限値未満であり、それ以外の試料の測定値は定量下限値以上とされているが、試料 2C の測定値については、試料 2A 及び 2B よりも1桁程度低濃度の試料であるため、異常値と考えられる。

技術 10 は、試料 2C の測定値が検出下限値以上定量下限値未満であり、それ以外の試料の測定値は定量下限値以上であった。

技術 11 は、試料 1A の測定値のみ定量下限値以上であり、それ以外の試料の測定値は検出下限値未満であった。なお、より高感度の試料 11 では、試料 2C の測定値のみ検出下限値未満であった。

表10 排出ガス試料の測定結果

<Ahlepter-バイオゲル法>

技術	技術1		技術2		技術3		技術4		技術5		技術6		
	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値(推定値)	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	
単位	ng/m ³ N	ng-TEQ/m ³ N	ng/m ³ N	ng-TEQ/m ³ N	ng/m ³ N	ng-TEQ/m ³ N	ng/m ³ N	ng-TEQ/m ³ N	ng/m ³ N	ng-TEQ/m ³ N	ng/m ³ N	ng-TEQ/m ³ N	
試料1A	平均値	17	2.9	11	2.9	5.2	2.2	4.5	2.0	38	1.9	25	2.4
	n	5	5	3	3	3	6	3	3	8	8	3	3
	標準偏差	0.27	0.045	1.8	0.47	0.14	0.059	0.14	0.06	5.1	0.26	1.2	0.10
	CV%	1.6	1.5	17	16	2.8	2.7	3.1	3.1	13	13	4.9	4.1
	定量上限値	22	3.7	0.18	0.045	23	9.8	0.24	0.12	510	26	56	6.6
	定量下限値	0.72	0.12	0.011	0.0028	0.00083	0.00035	0.029	0.021	4.0	0.20	0.017	0.0025
	検出下限値	0.41	0.069	0.0055	0.0014	0.00031	0.00013	*	*	1.0	0.050	*	*
試料2A	平均値	0.50	0.083	0.43	0.11	0.57	0.24	0.39	0.18	2.9	0.14	1.5	0.18
	n	5	5	3	3	5	5	3	3	5	5	3	3
	標準偏差	0.016	0.0027	0.090	0.023	0.019	0.0081	0.0043	0.0019	0.65	0.032	0.17	0.017
	CV%	3.3	3.3	21	21	3.3	3.4	1.1	1.1	23	23	11	10
	定量上限値	6.6	1.1	0.13	0.032	2.8	1.2	0.67	0.31	130	6.6	5.1	0.63
	定量下限値	0.20	0.034	0.0079	0.0020	0.0017	0.00072	0.026	0.020	1.0	0.050	0.013	0.0020
	検出下限値	0.12	0.020	0.0040	0.0010	0.00067	0.00028	*	*	0.26	0.010	*	*
試料2B	平均値	0.37	0.062	0.44	0.11	0.47	0.20	0.36	0.17	2.3	0.10	2.0	0.23
	n	5	5	3	3	5	5	3	3	5	5	3	3
	標準偏差	0.0069	0.0012	0.038	0.010	0.025	0.011	0.010	0.0045	0.36	0.013	0.26	0.029
	CV%	1.9	1.9	8.5	9.1	5.3	5.3	2.8	2.6	16	13	13	12
	定量上限値	5.2	0.86	0.10	0.026	2.2	0.95	0.53	0.25	100	5.2	12	1.5
	定量下限値	0.16	0.027	0.0063	0.0016	0.0014	0.00059	0.020	0.017	0.81	0.040	0.010	0.0015
	検出下限値	0.10	0.016	0.0032	0.00080	0.00053	0.00022	*	*	0.20	0.010	*	*
試料2C	平均値	nd	nd	0.064	0.016	0.087	0.037	0.075	0.042	0.19	0.010	0.46	0.058
	n	5	5	3	3	5	5	3	3	3	3	3	3
	標準偏差	*	*	0.0071	0.0018	0.0046	0.0019	0.0052	0.0023	0.062	0.0029	0.032	0.0042
	CV%	*	*	11	11	5.3	5.3	6.9	5.6	28	29	7.1	7.2
	定量上限値	5.7	0.95	0.11	0.029	0.37	0.15	0.59	0.27	23	1.1	4.5	0.57
	定量下限値	0.18	0.030	0.0071	0.0018	0.0027	0.0011	0.023	0.018	0.18	0.0090	0.011	0.0017
	検出下限値	0.11	0.018	0.0035	0.00088	0.0011	0.00047	*	*	0.045	0.0020	*	*

<抗ダイキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法>

技術	技術7		技術8		技術9		技術10		技術11		技術11(参考)	
	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値
単位	ng/m ³ N	ng/m ³ N	ng/m ³ N	ng/m ³ N	ng/m ³ N	ng-TEQ/m ³ N	ng/m ³ N	ng-TEQ/m ³ N	ng/m ³ N	ng-TEQ/m ³ N	ng/m ³ N	ng/m ³ N
試料1A	平均値	2.3	0.69	0.66	12	28,000	1.5	6.0	3.0			
	n	5	3	3	3	9	9	3	3			
	標準偏差	0.044	0.034	0.042	0.60	1,800	0.081	0.47	0.23			
	CV%	2.0	4.9	6.3	5.1	6.4	5.3	7.8	7.6			
	定量上限値	0.48	1.5	1.7	32	10,000	0.66	90	45			
	定量下限値	0.0046	0.096	0.052	0.83	770	0.075	0.36	0.18			
	検出下限値	*	0.056	*	*	350	0.038	0.15	0.073			
試料2A	平均値	0.14	0.076	0.011	0.15	2,700	0.17	nd	nd	0.57		
	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3		
	標準偏差	0.027	*	0.0044	0.062	390	0.021	*	*	0.012		
	CV%	20	*	39	41	15	12	*	*	2.0		
	定量上限値	1.1	1.9	4.8	94	8,700	0.46	550	270	16		
	定量下限値	0.011	0.071	0.15	2.4	460	0.039	2.3	1.1	0.22		
	検出下限値	*	0.029	*	*	190	0.019	1.7	0.87	0.055		
試料2B	平均値	0.11	0.065	0.033	0.49	2,600	0.16	nd	nd	0.44		
	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3		
	標準偏差	0.028	0.0078	0.015	0.23	390	0.020	*	*	0.010		
	CV%	26	12	46	48	15	12	*	*	2.3		
	定量上限値	0.87	1.5	3.8	75	6,900	0.37	430	220	13		
	定量下限値	0.0085	0.056	0.12	1.9	360	0.031	1.8	0.89	0.17		
	検出下限値	*	0.024	*	*	150	0.015	1.4	0.69	0.044		
試料2C	平均値	0.052	nd	0.19	3.1	300	0.027	nd	nd	nd		
	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3		
	標準偏差	0.013	*	0.0052	0.12	47	0.0036	*	*	*		
	CV%	25	*	2.8	3.8	16	13	*	*	*		
	定量上限値	0.96	1.6	4.2	82	7,600	0.40	480	240	14		
	定量下限値	0.0094	0.062	0.13	2.1	400	0.034	2.0	0.98	0.19		
	検出下限値	*	0.026	*	*	170	0.017	1.5	0.76	0.048		

(注) 数値: 測定値が検出下限値以上定量下限値未満の試料のデータ。

nd: 測定値が検出下限値未満であることを示す。

*: 測定値が検出下限値未満のためデータが得られなかったことを示す。

*: 検出下限値、定量上限値が設定されていないこと又はデータが得られていないことを示す。

各技術で用いている実測値の単位

(技術1) ng-TEQ_{HRGS}/m³N < TEQ_{HRGS}: P450HRGSで測定した毒性等量 >

(技術4) ng-TcEQ/m³N < TcEQ: 2,3,7,8-TCDD等量 >

(技術5) ng-DEQ/m³N < DEQ: dioxins equivalents >

(技術8) ng2378-TCDDeq./m³N < 2378-TCDDeq.: 2,3,7,8-TCDD等量(eq) >

(技術10) ng-TCP/m³N < TCP: TCP-ケリルケリルを標準物質として使用 >

(技術11) ng-DEQ/m³N < DEQ: 2,3,7,8-TCDD equivalent >

【ばいじん試料】

ばいじん試料の測定結果を表11に示す。

試料 1B(1.9ng-TEQ/g)、試料 1D(2.3ng-TEQ/g)及び試料 2F(0.44ng-TEQ/g)の測定値はすべての技術で定量下限値以上であったが、試料 2D(0.0046ng-TEQ/g)の測定値については、レポータージーンアッセイ法の一部及び抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法の一部の技術で検出下限値未満であった。試料 2E(0.000056ng-TEQ/g)の測定値については、レポータージーンアッセイ法の一部及びイムノアッセイ法の一部の技術で定量下限値未満であった。

また、試料 1D の測定値は、試料 1B と同じばいじん試料について有姿試料から分析した結果であり、大部分の技術では、試料 1B と同程度の値が得られた。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

技術1の試料 2D 及び 2E の測定値が検出下限値未満であった。

それ以外の試料及び技術の測定値については、すべて定量下限値以上であった。

試料 1D/試料 1B は、技術1が 2.2、技術2が 1.2、技術3が 0.92、技術4が 1.3 であった。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

試料 2E の測定値が検出下限値以上定量下限値未満であり、それ以外の試料の測定値は定量下限値以上であった。試料 1D/試料 1B は、1.2 であった。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

すべての試料の測定値が定量下限値以上であった。

試料 1D/試料 1B は、0.85 であった。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

技術7は、すべての試料の測定値が定量下限値以上であった。

技術8は、試料 2D 及び 2E の測定値が検出下限値未満であり、それ以外の試料の測定値は定量下限値以上であった。

技術9は、試料 2D の測定値が検出下限値以上定量下限値未満であり、それ以外の試料の測定値は定量下限値以上であったが、試料 2E の測定値については、試料 2D よりも2桁程度低濃度の試料であるため、異常値と考えられる。

技術 10 は、試料 2E の測定値が検出下限値以上定量下限値未満であり、それ以外の試料の測定値は定量下限値以上であった。

技術 11 は、試料 2D 及び 2E の測定値が検出下限値未満であり、それ以外の試料の測定値は定量下限値以上であった。

試料 1D/試料 1B は、技術7が 2.2、技術8が 0.36、技術9が 1.0、技術10が 2.4、技術11が 0.68 であった。

表11 ばいじん試料の測定結果

<Ahleフター-バインディングアッセイ法>

技術	技術1		技術2		技術3		技術4		技術5		技術6		
	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値(推定値)	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	
単位	ng/g	ng-TEQ/g	ng/g	ng-TEQ/g	ng/g	ng-TEQ/g	ng/g	ng-TEQ/g	ng/g	ng-TEQ/g	ng/g	ng-TEQ/g	
試料1B	平均値	9.0	1.1	6.3	2.2	5.3	2.5	2.5	1.4	52	2.6	39	3.6
	n	5	5	3	3	6	6	3	3	8	8	3	3
	標準偏差	0.28	0.033	0.69	0.24	0.31	0.14	0.089	0.052	7.5	0.38	2.2	0.14
	CV%	3.1	3.0	11	11	5.9	5.6	3.6	3.6	15	15	5.6	4.0
	定量上限値	8.0	0.99	0.062	0.022	26	12	0.088	0.052	510	26	50	5.7
	定量下限値	0.25	0.031	0.0039	0.0014	0.00030	0.00014	0.010	0.0067	4.0	0.20	0.016	0.0021
検出下限値	0.15	0.019	0.0020	0.00069	0.00011	0.000051	*	*	1.0	0.050	*	*	
試料1D	平均値	20	2.4	7.2	2.5	4.9	2.3	3.2	1.9	62	3.1	33	3.4
	n	5	5	3	3	6	6	3	3	8	8	3	3
	標準偏差	1.2	0.14	0.36	0.12	0.041	0.00	0.25	0.15	7.6	0.41	0.81	0.079
	CV%	5.8	5.8	5.0	4.8	0.82	0.0	8.0	8.0	12	13	2.5	2.3
	定量上限値	3.3	0.41	0.050	0.018	18	8.3	0.070	0.042	510	26	40	5.0
	定量下限値	0.10	0.013	0.0031	0.0011	0.00019	0.000088	0.0083	0.0055	4.0	0.20	0.0032	0.00052
検出下限値	0.062	0.0077	0.0016	0.00055	0.000068	0.000033	*	*	1.0	0.050	*	*	
試料2D	平均値	nd	nd	0.019	0.0067	0.011	0.0053	0.015	0.0093	0.083	0.0040	0.070	0.0089
	n	5	5	3	3	5	5	3	3	6	6	3	3
	標準偏差	*	*	0.0012	0.00040	0.0013	0.00060	0.00069	0.00040	0.019	0.00092	0.0050	0.00055
	CV%	*	*	6.1	6.0	11	11	4.7	4.4	23	23	7.1	6.2
	定量上限値	0.80	0.099	0.016	0.0054	0.051	0.024	0.082	0.049	10	0.51	1.0	0.12
	定量下限値	0.025	0.0031	0.00098	0.00034	0.00037	0.00017	0.0032	0.0025	0.080	0.0040	0.0016	0.00024
検出下限値	0.015	0.0019	0.00049	0.00017	0.00015	0.000070	*	*	0.020	0.0010	*	*	
試料2E	平均値	nd	nd	0.0019	0.00066	0.00045	0.00021	0.0053	0.0038	0.017	0.00085	0.11	0.014
	n	5	5	3	3	5	5	3	3	6	6	3	3
	標準偏差	*	*	0.00043	0.00015	0.00015	0.000070	0.00075	0.00044	0.0095	0.00047	0.0015	0.0
	CV%	*	*	23	23	34	33	14	12	56	53	1.3	0.0
	定量上限値	0.80	0.099	0.016	0.0054	0.015	0.0072	0.082	0.049	5.1	0.26	3.0	0.37
	定量下限値	0.025	0.0031	0.00098	0.00034	0.00039	0.00018	0.0032	0.0025	0.040	0.0020	0.0016	0.00024
検出下限値	0.015	0.0019	0.00049	0.00017	0.00015	0.000070	*	*	0.010	0.00050	*	*	
試料2F	平均値	1.8	0.22	1.4	0.49	2.0	0.93	0.56	0.33	12	0.60	11	1.0
	n	5	5	3	3	5	5	3	3	8	8	3	3
	標準偏差	0.043	0.0052	0.041	0.015	0.18	0.084	0.011	0.0065	2.1	0.10	0.073	0.0
	CV%	2.4	2.4	3.0	3.1	8.8	9.0	2.0	2.0	18	17	0.69	0.0
	定量上限値	0.80	0.099	0.016	0.0054	11	5.0	0.082	0.049	330	16	30	3.7
	定量下限値	0.025	0.0031	0.00098	0.00034	0.00039	0.00018	0.0032	0.0025	2.6	0.13	0.0016	0.00024
検出下限値	0.015	0.0019	0.00049	0.00017	0.00015	0.000070	*	*	0.64	0.032	*	*	

<抗ダイオキシン類抗体を用いたIMアッセイ法>

技術	技術7		技術8		技術9		技術10		技術11		技術11(参考)	
	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値
単位	ng/g	ng/g	ng/g	ng-TEQ/g	ng/g	ng-TEQ/g	ng/g	ng-TEQ/g	ng/g	ng-TEQ/g	ng/g	ng/g
試料1B	平均値	3.1	0.89	0.25	4.5	130.000	0.45	7.3	3.7			
	n	5	3	3	3	9	9	6	6			
	標準偏差	0.33	0.014	0.0	0.0	16,000	0.054	0.32	0.17			
	CV%	11	1.6	0.0	0.0	12	12	4.5	4.6			
	定量上限値	0.15	1.6	0.60	12	49,000	0.17	56	28			
	定量下限値	0.0020	0.10	0.019	0.30	3,800	0.014	0.24	0.12			
検出下限値	*	0.060	*	*	1,800	0.0069	0.090	0.045				
試料1D	平均値	6.9	0.32	0.25	4.1	310.000	1.1	5.0	2.5			
	n	5	3	3	3	9	9	6	6			
	標準偏差	0.79	0.0	0.0088	0.15	19,000	0.062	0.68	0.35			
	CV%	11	0.0	3.5	3.7	6.1	5.9	14	14			
	定量上限値	0.16	0.43	0.48	9.3	64,000	0.23	45	22			
	定量下限値	0.0015	0.027	0.015	0.21	4,900	0.019	0.18	0.090			
検出下限値	*	0.0170	*	*	2,100	0.0081	0.044	0.022				
試料2D	平均値	0.027	nd	0.0030	0.043	520	0.0019	nd	nd	nd	nd	nd
	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	標準偏差	0.0042	*	0.0014	0.021	65	0.00023	*	*	*	*	*
	CV%	15	*	46	48	12	12	*	*	*	*	*
	定量上限値	0.13	0.19	0.59	12	6,800	0.024	67	33	2.0		
	定量下限値	0.0013	0.012	0.018	0.29	400	0.0015	0.28	0.14	0.026		
検出下限値	*	0.0055	*	*	170	0.00065	0.22	0.11	0.0068			
試料2E	平均値	0.0044	nd	0.020	0.31	180	0.00066	nd	nd	nd	nd	nd
	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	標準偏差	0.00073	*	0.00073	0.017	46	0.00017	*	*	*	*	*
	CV%	17	*	3.6	5.6	26	26	*	*	*	*	*
	定量上限値	0.13	0.19	0.59	12	6,800	0.024	67	33	2.0		
	定量下限値	0.0013	0.012	0.019	0.29	400	0.0015	0.28	0.14	0.026		
検出下限値	*	0.0055	*	*	170	0.00065	0.22	0.11	0.0068			
試料2F	平均値	1.2	0.17	0.12	2.1	120,000	0.40	1.3	0.66	0.42		
	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3		
	標準偏差	0.083	0.030	0.0021	0.0	4,700	0.016	0.049	0.026	0.026		
	CV%	7.0	18	1.8	0.0	4.0	4.0	3.7	4.0	6.3		
	定量上限値	0.13	0.19	0.59	12	34,000	0.12	67	33	2.0		
	定量下限値	0.0013	0.012	0.019	0.29	2,000	0.0073	0.28	0.14	0.026		
検出下限値	*	0.0055	*	*	860	0.0033	0.22	0.11	0.0068			

(注) 数値:測定値が検出下限値以上定量下限値未満の試料のデータ。

nd:測定値が検出下限値未満であることを示す。

*:測定値が検出下限値未満のためデータが得られなかったことを示す。

*:検出下限値又は定量上限値が設定されていないことを示す。

各技術で用いている実測値の単位

(技術1) ng-TEQ_{HRS}/g < TEQ_{HRS}: P450HRSで測定した毒性等量 >

(技術4) ng-TcEQ/g < TcEQ: 2,3,7,8-TCDD等量 >

(技術5) ng-DEQ/g < DEQ: dioxins equivalent >

(技術8) ng2378-TCDDeq/g < 2378-TCDDeq: 2,3,7,8-TCDD等量(eq) >

(技術10) ng-TCP/g < TCP: TCP-グリルグリンを標準物質として使用 >

(技術11) ng-DEQ/g < DEQ: 2,3,7,8-TCDD equivalent >

【燃え殻試料】

燃え殻試料の測定結果を表12に示す。

試料 1C(0.018ng-TEQ/g)の測定値は、抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法の一部の技術を除き、定量下限値以上であった。試料 2G(0.00034ng-TEQ/g)及び試料 2H(0.000035ng-TEQ/g)の測定値については、レポータージーンアッセイ法の一部及びイムノアッセイ法の一部の技術で定量下限値未満であった。試料 2I(0.0067ng-TEQ/g)の測定値については、抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法の一部の技術で定量下限値未満であった。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

技術1の試料 2G 及び 2H の測定値が検出下限値未満であった。

それ以外の試料及び技術の測定値については、すべて定量下限値以上であった。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

試料 2G の測定値が検出下限値以上定量下限値未満で、試料 2H の測定値が検出下限値未満であった。それ以外の試料の測定値は定量下限値以上であった。

なお、試料 2I については、通常のクリーンアップ方法での測定値の CV 値が 30%を超えたため、アルミナカラム及び硫酸シリカゲルカラム処理で更に夾雑物を除去した測定値(試料 2I)も併せて示した。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

すべての試料の測定値が定量下限値以上であった。ただし、試料 2G 及び 2H の測定値については定量性に問題があるものと考えられる。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

技術7は、すべての試料の測定値が定量下限値以上であった。ただし、試料 2G 及び 2H の測定値については定量性に問題があるものと考えられる。

技術8は、試料 1C の測定値は定量下限値以上であったが、試料 2I の測定値は検出下限値以上定量下限値未満、試料 2G 及び 2H の測定値は検出下限値未満であった。

技術9は、試料 2H の測定値が定量下限値以上で、それ以外の試料の測定値は検出下限値以上定量下限値未満であったが、試料 2H の測定値については、他の試料よりも1～3桁程度低濃度の試料であるため、異常値と考えられる。

技術10は、試料 2H の測定値が検出下限値以上定量下限値未満で、試料 2G が検出下限値未満であり、それ以外の試料の測定値は定量下限値以上であった。

技術11は、試料 1C の測定値が定量下限値以上であったが、それ以外の試料の測定値は検出下限値未満であった。

表12 燃え殻試料の測定結果

<Ahレポター-ハインディングアッセイ法>

技術	技術1		技術2		技術3		技術4		技術5		技術6	
	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値(推定値)	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値
試料1C	0.16	0.019	0.054	0.018	0.031	0.017	0.026	0.016	0.39	0.019	0.24	0.027
標準偏差	0.0043	0.00053	0.0024	0.00078	0.0017	0.00094	0.0028	0.0017	0.092	0.0046	0.0072	0.00036
CV%	2.7	2.8	4.4	4.3	5.5	5.5	11	11	24	24	3.0	1.3
定量上限値	0.80	0.099	0.031	0.011	0.14	0.077	0.044	0.026	10	0.51	1.0	0.12
定量下限値	0.025	0.0031	0.0020	0.00066	0.00015	0.000083	0.0052	0.0037	0.080	0.0040	0.0031	0.00045
検出下限値	0.015	0.0019	0.00098	0.00033	0.000054	0.000030	*	*	0.020	0.0010	*	*
試料2G	nd	nd	0.00088	0.00028	0.00060	0.00033	0.0026	0.0022	0.0091	0.00045	0.43	0.049
標準偏差	*	*	0.000094	0.000031	0.000088	0.000049	0.00012	0.000071	0.0025	0.00012	0.013	0.0015
CV%	*	*	11	11	15	15	4.7	3.3	28	27	3.0	3.1
定量上限値	0.40	0.049	0.0039	0.0013	0.0092	0.0051	0.041	0.025	2.6	0.13	0.94	0.12
定量下限値	0.012	0.0015	0.00024	0.000082	0.00014	0.000077	0.0016	0.0016	0.020	0.0010	0.00079	0.00012
検出下限値	0.0075	0.00093	0.00012	0.000041	0.000051	0.000028	*	*	0.0050	0.00025	*	*
試料2H	nd	nd	0.00049	0.00016	0.00058	0.00032	0.0021	0.0019	nd	nd	0.017	0.0022
標準偏差	*	*	0.000094	0.000032	0.00021	0.00012	0.00016	0.000093	*	*	0.00096	0.00015
CV%	*	*	19	20	36	36	7.6	4.9	*	*	5.6	6.8
定量上限値	0.40	0.049	0.0039	0.0013	0.0092	0.0051	0.041	0.025	2.6	0.13	0.31	0.040
定量下限値	0.012	0.0015	0.00024	0.000082	0.00021	0.00012	0.0016	0.0016	0.020	0.0010	0.00079	0.00012
検出下限値	0.0075	0.00093	0.00012	0.000041	0.000081	0.000045	*	*	0.0050	0.00025	*	*
試料2I	0.033	0.0041	0.022	0.0073	0.019	0.011	0.019	0.012	0.061	0.0030	0.083	0.010
標準偏差	0.0011	0.00013	0.0017	0.00058	0.0024	0.0013	0.0011	0.00066	0.020	0.0010	0.0036	0.00058
CV%	3.3	3.3	7.7	7.9	12	12	6.1	5.7	33	33	4.3	5.6
定量上限値	0.40	0.049	0.0039	0.0013	0.093	0.052	0.041	0.025	5.1	0.26	0.94	0.12
定量下限値	0.012	0.0015	0.00024	0.000082	0.00015	0.000083	0.0016	0.0016	0.040	0.0020	0.00079	0.00012
検出下限値	0.0075	0.00093	0.00012	0.000041	0.000056	0.000031	*	*	0.010	0.00050	*	*
試料2J									0.084	0.0042		
標準偏差									0.0034	0.00017		
CV%									4.0	4.0		
定量上限値									5.1	0.26		
定量下限値									0.040	0.0020		
検出下限値									0.010	0.00050		

<抗ダイキシン類抗体を用いた仏/Aアッセイ法>

技術	技術7		技術8		技術9		技術10		技術11		技術11(参考)	
	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値	実測値	換算値
試料1C	0.028		0.025		0.0069	0.11	330	0.0012	0.16	0.078		
標準偏差	0.011		*		0.00019	0.0036	41	0.00015	0.014	0.0069		
CV%	39		*		2.7	3.3	12	12	8.9	8.9		
定量上限値	0.078		0.27		0.30	5.8	1,700	0.0059	28	14		
定量下限値	0.00091		0.021		0.0094	0.15	120	0.00044	0.12	0.058		
検出下限値	*		0.0084		*	*	54	0.00021	0.046	0.023		
試料2G	0.018		nd		0.000073	0.00093	nd	nd	nd	nd	nd	nd
標準偏差	0.00054		*		0.00013	0.0016	*	*	*	*	*	*
CV%	3.1		*		170	170	*	*	*	*	*	*
定量上限値	0.082		0.13		0.30	5.7	4,000	0.014	33	17	0.98	
定量下限値	0.00091		0.0082		0.0092	0.15	240	0.00088	0.14	0.069	0.013	
検出下限値	*		0.0036		*	*	110	0.00039	0.11	0.053	0.0034	
試料2H	0.013		nd		0.017	0.27	140	0.00053	nd	nd	nd	nd
標準偏差	0.00023		*		0.00094	0.015	3.4	1.2E-05	*	*	*	*
CV%	1.8		*		5.6	5.6	2.4	2.3	*	*	*	*
定量上限値	0.082		0.13		0.30	5.7	4,000	0.014	33	17	0.98	
定量下限値	0.00091		0.0082		0.0092	0.15	240	0.00088	0.14	0.069	0.013	
検出下限値	*		0.0036		*	*	110	0.00039	0.11	0.053	0.0034	
試料2I	0.035		0.0054		0.0058	0.087	770	0.0028	nd	nd	nd	nd
標準偏差	0.0030		0.0001		0.0015	0.021	100	0.00036	*	*	*	*
CV%	8.7		2.0		26	24	13.3	13	*	*	*	*
定量上限値	0.082		0.13		0.30	5.7	4,000	0.014	33	17	0.98	
定量下限値	0.00091		0.0082		0.0092	0.15	240	0.00088	0.14	0.069	0.013	
検出下限値	*		0.0036		*	*	110	0.00039	0.11	0.053	0.0034	

(注) 数値: 測定値が検出下限値以上定量下限値未満の試料のデータ。

nd: 測定値が検出下限値未満であることを示す。

*: 測定値が検出下限値未満のためデータが得られなかったことを示す。

*: 検出下限値、定量上限値が設定されていないこと又はデータが得られていないことを示す。

各技術で用いている実測値の単位

(技術1) ng-TEQ_{HRGS}/g < TEQ_{HRGS}: P450HRGSで測定した毒性等量 >

(技術4) ng-TcEQ/g < TcEQ: 2,3,7,8-TCDD等量 >

(技術5) ng-DEQ/g < DEQ: dioxins equivalents >

(技術8) ng2378-TCDDeq./g < 2378-TCDDeq.: 2,3,7,8-TCDD等量(eq) >

(技術10) ng-TCP/g < TCP: TCP-グリシドグリシを標準物質として使用 >

(技術11) ng-DEQ/g < DEQ: 2,3,7,8-TCDD equivalent >

(2)適用可能性の検討

各技術分類の規制基準適合性の判定における適用可能性について、公定法との比較、定量範囲、測定値のばらつきの3つの観点から検討した。なお、公定法との比較及び測定値のばらつきについては、非常に低濃度であった試料 2E、2G、2H、及び各技術において測定値が定量下限値未満であった試料のデータは評価の対象外とした。

公定法との比較

【標準試料】

標準試料について、公定法による TEQ 値に対する各技術の実測値又は換算値の比率(公定法比)をまとめたものを表13及び図4に示す。なお、換算を行っていない技術については、「換算値 = 実測値」として取り扱っている。

標準試料の実測値は、Ah レセプターバインディングアッセイ法では、いずれの技術も公定法による TEQ 値よりも高い値であった。

一方、抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法では、一部の技術を除き、公定法による TEQ 値よりも低い値であったが、1/2 倍以上であった。

換算値は、抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法の一部の技術を除き、公定法による TEQ 値の 1/3 倍から3倍の範囲内であり、比較的よく一致していた。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

実測値は、いずれの技術も公定法による TEQ 値よりも高い値であったが、技術3及び技術4の実測値は公定法による TEQ 値の2倍以内で、比較的よく一致していた。

換算を行っている技術1及び技術2の換算値は、両技術とも公定法による TEQ 値の2倍以内であり、比較的よく一致していた。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

実測値は公定法による TEQ 値の 4.2～4.8 倍であったが、換算値は 1.1～1.2 倍でよく一致していた。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

実測値は公定法による TEQ 値の 3.6～3.8 倍であったが、換算値は 0.36～0.41 倍で、1/3 倍以上ではあるがやや低めであった。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

実測値は、技術10を除き、公定法による TEQ 値よりも低い値であったが、技術7、技術8及び技術11の実測値は公定法による測定値の 1/2 倍以上であり、比較的よく一致していた。

技術9は、実測値で公定法による TEQ 値の約 0.4 倍、換算値で約 8 倍であった。

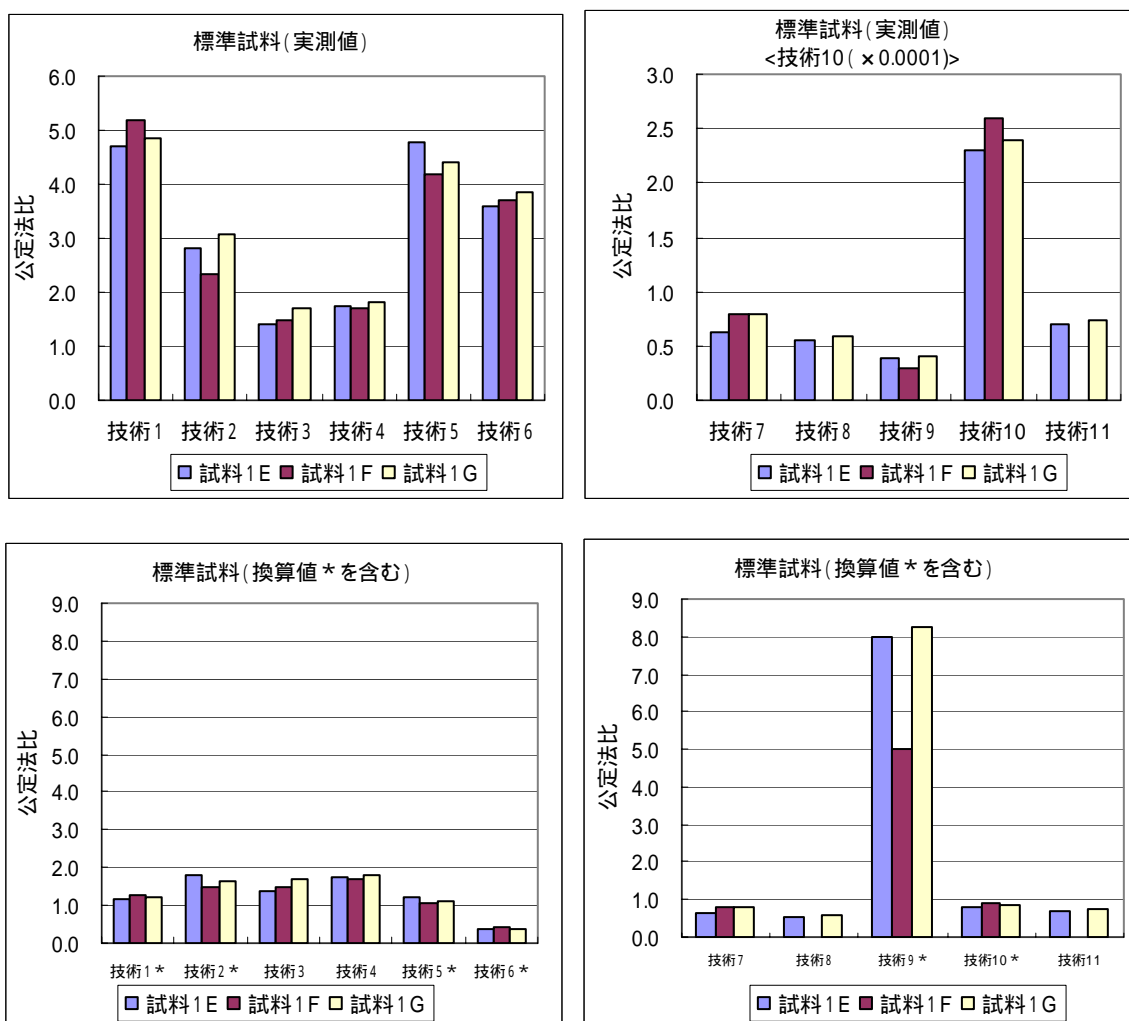
技術10は、標準物質の感度の関係で実測値は公定法による TEQ 値の 2,300～2,600 倍であったが、換算値は 0.80～0.90 倍であり、よく一致していた。

表13 各技術の公定法比(標準試料)

技術	実測値			換算値		
	試料1E	試料1F	試料1G	試料1E	試料1F	試料1G
技術1*	4.7	5.2	4.9	1.2	1.3	1.2
技術2*	2.8	2.4	3.1	1.8	1.5	1.7
技術3	1.4	1.5	1.7	1.4	1.5	1.7
技術4	1.8	1.7	1.8	1.8	1.7	1.8
技術5*	4.8	4.2	4.4	1.2	1.1	1.1
技術6*	3.6	3.7	3.8	0.36	0.41	0.37
技術7	0.62	0.79	0.78	0.62	0.79	0.78
技術8	0.55	#	0.58	0.55	#	0.58
技術9*	0.39	<u>0.30</u>	0.40	8.0	<u>5.0</u>	8.3
技術10*	2,300	2,600	2,400	0.80	0.90	0.83
技術11	0.70	<u>0.65</u>	0.73	0.70	<u>0.65</u>	0.73

*:換算を行っている技術。換算を行っていない換算値の欄には実測値の比率を掲載。数値:測定値が検出下限値以上定量下限値未満の試料の公定法比。#:測定値が検出下限値未満のため、公定法比が得られなかったことを示す。

図4 各技術の公定法比(標準試料)



【排出ガス試料】

排出ガス試料について、公定法による TEQ 値に対する各技術の実測値又は換算値の比率をまとめたものを表14及び図5に示す。なお、換算を行っていない技術については、「換算値 = 実測値」として取り扱っている。

排出ガス試料の実測値は、Ah レセプターバインディングアッセイ法では、いずれの技術も公定法による TEQ 値よりも高い値であり、また、その比率は標準試料よりも高めであった。これは、試料中に存在するダイオキシン類以外の交差反応性を有する物質の影響によるものと考えられる。一方、抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法は、一部の技術を除き、公定法による TEQ 値よりも低い値であったが、濃度が低い試料ほど高めになる傾向がみられた。

換算値は、Ah レセプターバインディングアッセイ法では、各技術とも公定法による TEQ 値の概ね 1/3 倍から3倍の範囲内で比較的良好一致していたが、抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法では、試料により概ね 1/3 倍から3倍の範囲内になる技術もあったが、低濃度の試料 2C では、測定値が検出下限値未満のため公定法比を出せないか、公定法による TEQ 値よりも高めの値であった。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

いずれの技術も、実測値は公定法による TEQ 値よりも高い値であったが、換算値は 1/2 倍から3倍の範囲内であり、比較的良好一致していた。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

実測値は公定法による TEQ 値の 13～29 倍と高めであったが、換算値は 0.67～1.4 倍で比較的良好一致していた。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

実測値は公定法による TEQ 値の 8.8～30 倍と高めであった。

換算値については、低濃度の試料 2C は 3.9 倍であったが、それ以外の試料は 0.86～1.9 倍で比較的良好一致していた。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

技術7の実測値は、低濃度の試料 2C は公定法による TEQ 値の 3.5 倍であったが、それ以外の試料は 0.80～1.4 倍で比較的良好一致していた。

技術8の実測値は、試料 1A で公定法による TEQ 値の 0.25 倍と低めであったが、それ以外の試料は 0.54～0.76 倍で比較的良好一致していた。

技術9で測定値が定量下限値以上だった試料は試料 1A 及び 2C で、それぞれ実測値は公定法による TEQ 値の 0.24 倍及び 13 倍、換算値は 4.3 倍及び 210 倍であった。

技術10の実測値は公定法による TEQ 値の 10,000～27,000 倍であったが、換算値は 0.54～1.7 倍で比較的良好一致していた。

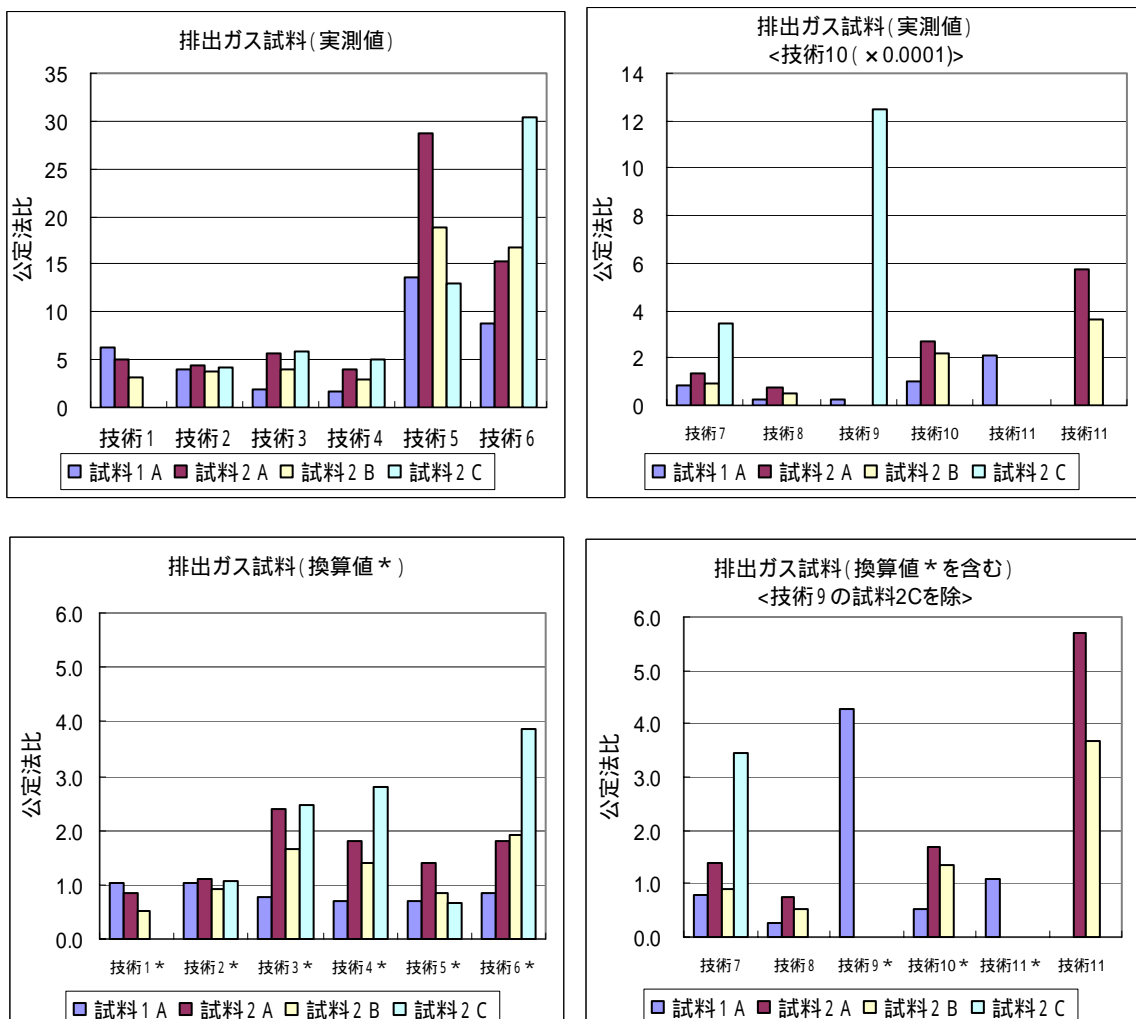
技術11は、定量下限値以上だった試料は試料 1A だけであったが、実測値は公定法による TEQ 値の 2.1 倍、換算値は 1.1 倍でよく一致していた。

表14 各技術の公定法比(排出ガス試料)

技術	実測値				換算値			
	試料1 A	試料2 A	試料2 B	試料2 C	試料1 A	試料2 A	試料2 B	試料2 C
技術1 *	6.2	5.0	3.1	#	1.0	0.83	0.52	#
技術2 *	4.0	4.3	3.7	4.3	1.0	1.1	0.92	1.1
技術3 *	1.9	5.7	3.9	5.8	0.78	2.4	1.7	2.5
技術4 *	1.6	3.9	3.0	5.0	0.71	1.8	1.4	2.8
技術5 *	14	29	19	13	0.68	1.4	0.83	0.67
技術6 *	8.8	15	17	30	0.86	1.8	1.9	3.9
技術7	0.80	1.4	0.90	3.5	0.80	1.4	0.90	3.5
技術8	0.25	0.76	0.54	#	0.25	0.76	0.54	#
技術9 *	0.24	<u>0.11</u>	<u>0.28</u>	13	4.3	<u>1.5</u>	<u>4.1</u>	210
技術10 *	10,000	27,000	22,000	<u>20,000</u>	0.54	1.7	1.3	<u>1.8</u>
技術11 *	2.1	#	#	#	1.1	#	#	#
技術11		5.7	3.7	#		5.7	3.7	#

*:換算を行っている技術。換算を行っていない換算値の欄には実測値の比率を掲載。数値:測定値が検出下限値以上定量下限値未満の試料の公定法比。#:測定値が検出下限値未満のため、公定法比が得られなかったことを示す。

図5 各技術の公定法比(排出ガス試料)



【ばいじん試料】

ばいじん試料について、公定法による TEQ 値に対する各技術の実測値又は換算値の比率をまとめたものを表15及び図6に示す。なお、換算を行っていない技術については、「換算値 = 実測値」として取り扱っている。

ばいじん試料の実測値は、Ah レセプターバインディングアッセイ法では、いずれの技術も公定法による TEQ 値よりも高い値であり、抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法では技術により公定法による TEQ 値よりも低い値となるものと、高い値となるものがあった。

換算値は、試料 2E を除き、Ah レセプターバインディングアッセイ法では、公定法による TEQ 値の 1/2 倍から 3 倍の範囲内であり、比較的よく一致していた。抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法では、1/8 倍から 6 倍の範囲であった。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

試料 2E を除き、いずれの技術も、実測値は公定法による TEQ 値よりもやや高めであったが、換算値は公定法による TEQ 値の 1/2 倍から 3 倍の範囲内であり、比較的よく一致していた。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

試料 2E を除き、実測値は公定法による TEQ 値の 18～28 倍と高めであったが、換算値は 0.87～1.4 倍で比較的よく一致していた。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

試料 2E を除き、実測値は公定法による TEQ 値の 14～24 倍と高めであったが、換算値は 1.5～2.3 倍で比較的よく一致していた。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

技術7の実測値は、試料 2E を除き、公定法による TEQ 値の 1.6～5.9 倍であった。

技術8の実測値は、検出下限値未満であった試料 2D 及び 2E を除き、公定法による TEQ 値の 0.14～0.47 倍でやや低めであった。

技術9は、定量下限値未満であった試料 2D 及び 2E を除き、実測値は公定法による TEQ 値の 0.11～0.27 倍でやや低めであったが、換算値は 1.8～4.8 倍であった。

技術10は、試料 2E を除き、実測値は公定法による TEQ 値の 68,000～270,000 倍程度であったが、換算値は 0.24～0.91 倍であり、試料 1B を除き、比較的よく一致していた。試料 1B の公定法比が 0.24 と低めであったのは、この技術で用いている抗体がよく反応する5塩素化及び6塩素化のジベンゾフラン類の割合が試料 1B ではやや低めであったためと考えられる。

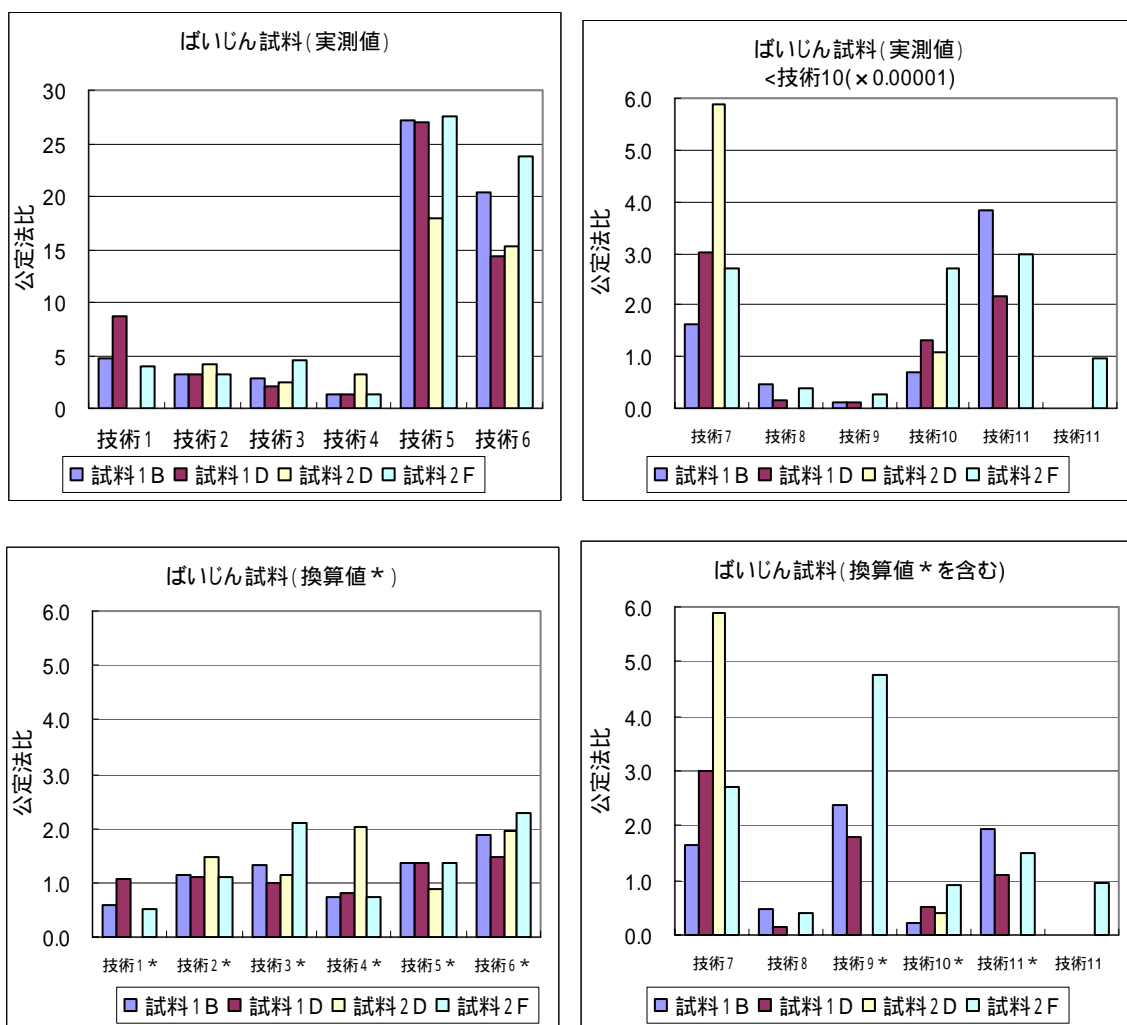
技術11は、検出下限値未満であった試料 2D 及び 2E を除き、実測値は公定法による TEQ 値の 2.2～3.8 倍、換算値は 1.1～1.9 倍であり、比較的よく一致していた。

表15 各技術の公定法比(ばいじん試料)

技術	実測値					換算値				
	試料1B	試料1D	試料2D	試料2E	試料2F	試料1B	試料1D	試料2D	試料2E	試料2F
技術1*	4.7	8.6	#	#	4.0	0.58	1.1	#	#	0.50
技術2*	3.3	3.1	4.1	33	3.1	1.2	1.1	1.5	12	1.1
技術3*	2.8	2.1	2.4	8.0	4.5	1.3	1.0	1.2	3.8	2.1
技術4*	1.3	1.4	3.3	95	1.3	0.74	0.83	2.0	68	0.75
技術5*	27	27	18	300	28	1.4	1.3	0.87	15	1.4
技術6*	20	14	15	2000	24	1.9	1.5	1.9	250	2.3
技術7	1.6	3.0	5.9	78	2.7	1.6	3.0	5.9	78	2.7
技術8	0.47	0.14	#	#	0.39	0.47	0.14	#	#	0.39
技術9*	0.13	0.11	0.65	360	0.27	2.4	1.8	9.3	5,500	4.8
技術10*	68,000	130,000	110,000	3,200,000	270,000	0.24	0.50	0.41	12	0.91
技術11*	3.8	2.2	#	#	3.0	1.9	1.1	#	#	1.5
技術11			#	#	0.95			#	#	0.95

*:換算を行っている技術。換算を行っていない換算値の欄には実測値の比率を掲載。**数値**:測定値が検出下限値以上定量下限値未満の試料の公定法比。**#**:測定値が検出下限値未満のため、公定法比が得られなかったことを示す。

図6 各技術の公定法比(ばいじん試料)



【燃え殻試料】

燃え殻試料について、公定法による TEQ 値に対する各技術の実測値又は換算値の比率をまとめたものを表16及び図7に示す。なお、換算を行っていない技術については、「換算値 = 実測値」として取り扱っている。

燃え殻試料の実測値は、評価可能ないずれの技術も公定法による TEQ 値よりも高い値であった。

換算値は、試料 2G 及び 2H を除き、Ah レセプターバインディングアッセイ法では、公定法による TEQ 値の 1/3 倍から 2 倍の範囲内であり、比較的よく一致していた。抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法では 1/15 倍から 6 倍の範囲であった。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

試料 2G 及び 2H を除き、実測値はいずれの技術も公定法による TEQ 値よりもやや高めであったが、換算値は公定法による TEQ 値の 1/2 倍から 2 倍の範囲内であり、比較的よく一致していた。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

試料 2G 及び 2H を除き、実測値は公定法による TEQ 値の 9.0～22 倍と高めであったが、換算値は 0.45～1.1 倍で比較的よく一致していた。試料 2I についてアルミナカラム及び硫酸シリカゲルカラム処理により更に夾雑物を除去した試料 2I の換算値は 0.63 倍であり、処理前の測定値(試料 2I)の換算値の 0.45 倍に比べて公定法による TEQ 値に近い値であった。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

試料 2G 及び 2H を除き、実測値は公定法による TEQ 値の 12～13 倍と高めであったが、換算値は 1.5 倍で比較的よく一致していた。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

技術7の実測値は、試料 2G 及び 2H を除き、公定法による TEQ 値の 1.6～5.2 倍であった。

技術8で測定値が定量下限値以上であった試料は試料 1C だけであり、その実測値は公定法による TEQ 値の 1.4 倍で比較的よく一致していた。

技術9で測定値が定量下限値以上であった試料は一番低濃度の試料 2H だけであるが、これは異常値と考えられるため、技術9の燃え殻試料に係る評価は困難であった。

技術10は、試料 2G 及び 2H を除き、実測値は公定法による TEQ 値の 18,000～110,000 倍であったが、換算値は 0.067～0.42 倍であり、やや低めであった。

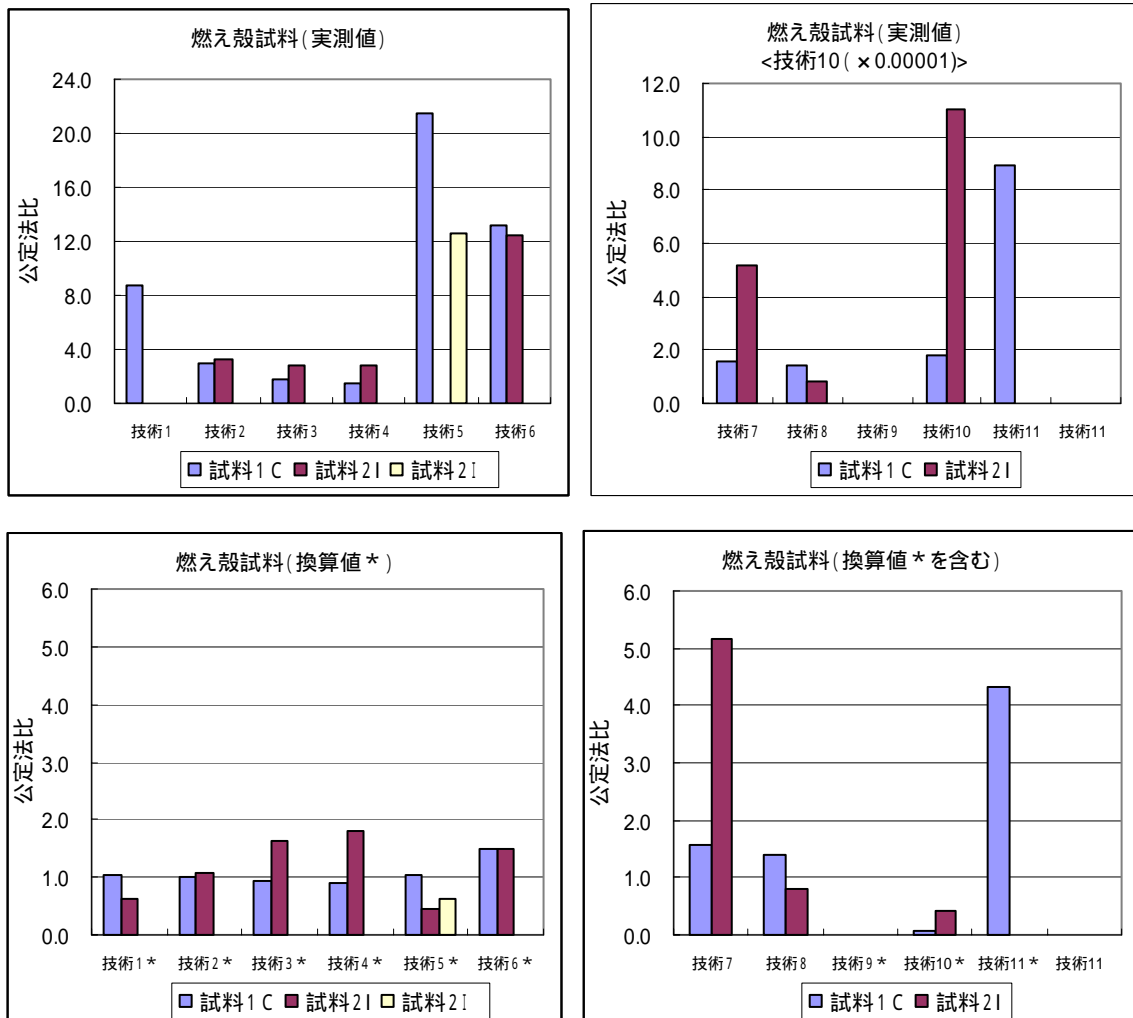
技術11で測定値が定量下限値以上であった試料は試料 1C だけであり、その実測値は公定法による TEQ 値の 8.9 倍、換算値は 4.3 倍で、やや高めであった。

表16 各技術の公定法比(燃え殻試料)

技術	実測値					換算値				
	試料1C	試料2G	試料2H	試料2I	試料2J	試料1C	試料2G	試料2H	試料2I	試料2J
技術1*	8.7	#	#	4.9		1.1	#	#	0.61	
技術2*	3.0	2.6	14	3.3		1.0	0.82	4.6	1.1	
技術3*	1.7	1.8	17	2.8		0.94	0.97	9.1	1.6	
技術4*	1.4	7.6	60	2.8		0.89	6.5	54	1.8	
技術5*	22	<u>27</u>	#	9.0	13	1.1	<u>1.3</u>	#	0.45	0.63
技術6*	13	1,300	480	12		1.5	140	63	1.5	
技術7	1.6	52	370	5.2		1.6	52	370	5.2	
技術8	1.4	#	#	<u>0.81</u>		1.4	#	#	<u>0.81</u>	
技術9*	<u>0.38</u>	<u>0.21</u>	480	<u>0.87</u>		<u>6.1</u>	<u>2.7</u>	7,700	<u>13</u>	
技術10*	18,000	#	<u>4,000,000</u>	110,000		0.067	#	<u>15</u>	0.42	
技術11*	8.9	#	#	#		4.3	#	#	#	
技術11		#	#	#			#	#	#	

*: 換算を行っている技術。換算を行っていない換算値の欄には実測値の比率を掲載。数値: 測定値が検出下限値以上定量下限値未満の試料の公定法比。#: 測定値が検出下限値未満のため、公定法比が得られなかったことを示す。

図7 各技術の公定法比(燃え殻試料)



定量範囲

各技術分類とも、定量上限値については、希釈によりかなり高濃度の試料まで測定可能であるため、ここでは、定量下限値について検討する。

【排出ガス試料】

各技術における排出ガス試料の定量下限値を表18及び図8に示す。

廃棄物焼却炉の排出ガスの排出基準値は表17のとおりであり、施設規模別の排出基準値の低い方(新設)の1/10を評価の目安値とすると、定量下限値は、抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法の一部の技術を除き、焼却能力2t/h未滿の廃棄物焼却炉の評価の目安値以下であった。

表17 廃棄物焼却炉の排出基準値(排出ガス)

特定施設種類	施設規模 (焼却能力)	基準値(単位:ng-TEQ/m ³ N)	
		新設施設	既存施設
廃棄物焼却炉 (火床面積 0.5 m ² 以上又は焼却能力が 50kg/h 以上)	4t/h 以上	0.1	1
	2t/h 以上4t/h 未滿	1	5
	2t/h 未滿	5	10

()レポータージーンアッセイ法(技術1~4)

定量下限値は、いずれの技術も焼却能力2t/h未滿の廃棄物焼却炉の評価の目安値以下であった。技術2及び技術3の定量下限値は、焼却能力4t/h以上の施設についても評価の目安値以下であったが、技術1の定量下限値は焼却能力2t/h以上の施設、技術4の定量下限値は焼却能力4t/h以上の施設について、それぞれ評価の目安値を超えていた。

なお、技術1及び技術4については、DMSO分配量等を見直すことにより、技術1で、0.0030~0.0085 ng-TEQ/m³N、技術4で0.012~0.014 ng-TEQ/m³Nまで定量下限値を下げる事が可能である。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

定量下限値は0.0090~0.20 ng-TEQ/m³Nであり、焼却能力2t/h未滿の廃棄物焼却炉の評価の目安値以下であった。なお、測定する元試料量を増加させたり、DMSOによる希釈倍率を下げる事により、試料2A-2Cでは0.0016~0.002 ng-TEQ/m³Nまで定量下限値を下げる事が可能である。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

定量下限値は0.0015~0.0025 ng-TEQ/m³Nであり、すべての規模の廃棄物焼却炉について評価の目安値以下であった。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7~11)

技術7、技術8及び技術10の定量下限値は、それぞれ0.0046~0.011 ng-TEQ/m³N、0.056~0.096 ng-TEQ/m³N、0.031~0.075 ng-TEQ/m³Nであり、焼却能力4t/h未滿の廃棄物焼却炉の評価の目安値以下であった。

技術9及び技術11の定量下限値は、それぞれ0.83～2.4 ng-TEQ/m³N、0.18～1.1ng-TEQ/m³Nであり、すべての規模の廃棄物焼却炉について評価の目安値を超えていた。なお、技術9については、溶媒のDMSO量を減らすことにより、0.26～0.75ng-TEQ/m³Nまで定量下限値を下げる事が可能である。また、技術11の高感度化を図った技術である技術11の定量下限値は、焼却能力2t/h未満の廃棄物焼却炉については評価の目安値以下であった。

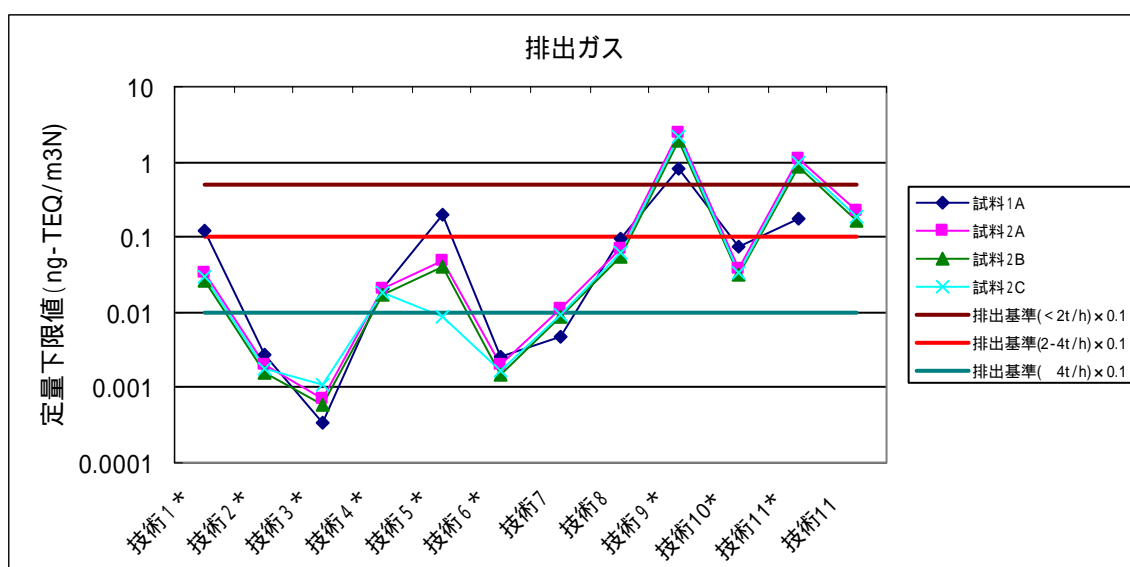
表18 各技術の定量下限値(排出ガス)

単位:ng-TEQ/m³N

技術	試料1A	試料2A	試料2B	試料2C
技術1*	0.12	0.034	0.027	0.030
技術2*	0.0028	0.0020	0.0016	0.0018
技術3*	0.00035	0.00072	0.00059	0.0011
技術4*	0.021	0.020	0.017	0.018
技術5*	0.20	0.050	0.040	0.0090
技術6*	0.0025	0.0020	0.0015	0.0017
技術7	0.0046	0.011	0.0085	0.0094
技術8	0.096	0.071	0.056	0.062
技術9*	0.83	2.4	1.9	2.1
技術10*	0.075	0.039	0.031	0.034
技術11*	0.18	1.1	0.89	0.98
技術11		0.22	0.17	0.19

*:換算を行っている技術。換算を行っていない技術は、実測値の定量下限値を記載。

図8 各技術の定量下限値(排出ガス)



【ばいじん試料】

各技術におけるばいじん試料の定量下限値を表19及び図9に示す。

廃棄物焼却炉に係るばいじんの処理基準値は、3ng-TEQ/g であり、その 1/10 の値

(0.3ng-TEQ/g)をばいじん試料の定量下限値の評価の目安値とすると、いずれの技術分類とも定量下限値は評価の目安値以下であった。

なお、参考までに、同じ固形物の媒体である水底の底質の環境基準値(150pg-TEQ/g)の1/10の値(0.015ng-TEQ/g)と比較すると、レポータージーンアッセイ法の一部、AhレセプターアッセイPCR法、及び抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法の一部の技術において定量下限値がその値以下であった。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

定量下限値は、いずれの技術もばいじんの処理基準値の1/10の目安値以下であった。

また、技術1以外の技術は、水底の底質の環境基準値の1/10の値も下回っていた。

なお、技術1については、DMSO 分配量等を見直すことにより、0.00078～0.0016 ng-TEQ/g まで定量下限値を下げる事が可能である。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

定量下限値は、0.0040～0.20ng-TEQ/g であり、ばいじんの処理基準値の1/10の目安値以下であったが、水底の底質の環境基準値の1/10の値は超えていた。なお、測定する元試料量を増加させたり、DMSO による希釈倍率を下げる事により、試料 2D-2F では 0.00025～0.008 ng-TEQ/g まで定量下限値を下げる事が可能である。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

定量下限値は、0.00024～0.0021ng-TEQ/g であり、ばいじんの処理基準値の1/10の目安値及び水底の底質の環境基準値の1/10の値を下回っていた。

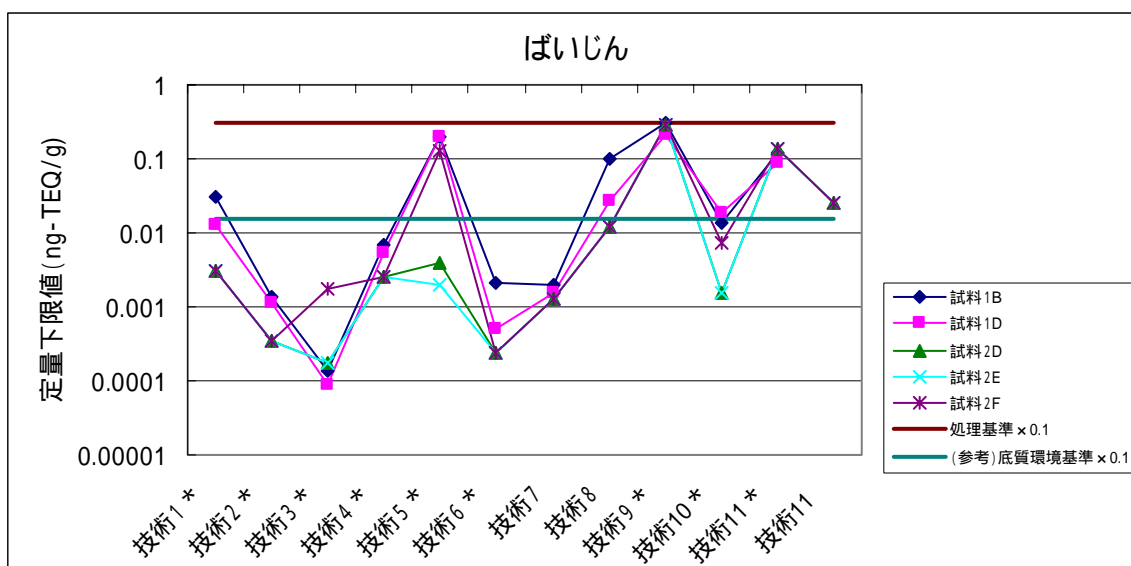
表19 各技術の定量下限値(ばいじん試料)

単位:ng-TEQ/g

技 術	試料1B	試料1D	試料2D	試料2E	試料2F
技術1*	0.031	0.013	0.0031	0.0031	0.0031
技術2*	0.0014	0.0011	0.00034	0.00034	0.00034
技術3*	0.00014	0.000088	0.00017	0.00018	0.0018
技術4*	0.0067	0.0055	0.0025	0.0025	0.0025
技術5*	0.20	0.20	0.0040	0.0020	0.13
技術6*	0.0021	0.00052	0.00024	0.00024	0.00024
技術7	0.0020	0.0015	0.0013	0.0013	0.0013
技術8	0.10	0.027	0.012	0.012	0.012
技術9*	0.30	0.21	0.29	0.29	0.29
技術10*	0.014	0.019	0.0015	0.0015	0.0073
技術11*	0.12	0.090	0.14	0.14	0.14
技術11			0.026	0.026	0.026

*:換算を行っている技術。換算を行っていない技術は、実測値の定量下限値を記載。

図9 各技術の定量下限値(ばいじん試料)



()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

定量下限値は、いずれの技術もばいじんの処理基準値の 1/10 の目安値以下であったが、技術7を除き、水底の底質の環境基準値の 1/10 の値は超えていた。なお、技術9については、溶媒のDMSO量を減らすことにより、0.070～0.092ng-TEQ/gまで定量下限値を下げる事が可能である。

【燃え殻試料】

各技術における燃え殻試料の定量下限値を表20及び図10に示す。

廃棄物焼却炉に係る燃え殻の処理基準値は、ばいじんと同じ 3ng-TEQ/g であり、その 1/10 の値 (0.3ng-TEQ/g) を燃え殻試料の定量下限値の評価の目安値とすると、いずれの技術分類とも定量下限値は目安値以下であった。

なお、参考までに、同じ固形物の媒体である水底の底質の環境基準値 (150pg-TEQ/g) の 1/10 の値 (0.015ng-TEQ/g) と比較すると、抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法の一部の技術を除き、定量下限値はその値以下であった。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

定量下限値は、いずれの技術も燃え殻の処理基準値の 1/10 の目安値以下であるとともに、水底の底質の環境基準値の 1/10 の値も下回っていた。

なお、技術1については、DMSO 分配量等を見直すことにより、0.00039ng-TEQ/g まで定量下限値を下げる事が可能である。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

定量下限値は 0.0010～0.0040ng-TEQ/g であり、燃え殻の処理基準値の 1/10 の目安値及び水底の底質の環境基準値の 1/10 の値を下回っていた。

() AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

定量下限値は 0.00012~0.00045ng-TEQ/g であり、燃え殻の処理基準値の 1/10 の目安値及び水底の底質の環境基準値の 1/10 の値を下回っていた。

() 抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7~11)

定量下限値は、いずれの技術も燃え殻の処理基準値の 1/10 の目安値以下であったが、技術7及び技術10を除き、水底の底質の環境基準値の 1/10 の値は超えていた。

なお、技術9については、溶媒の DMSO 量を減らすことにより、0.045~0.046ng-TEQ/g まで定量下限値を下げる事が可能である。また、技術11の定量下限値は、水底の底質の環境基準値の 1/10 の値以下であった。

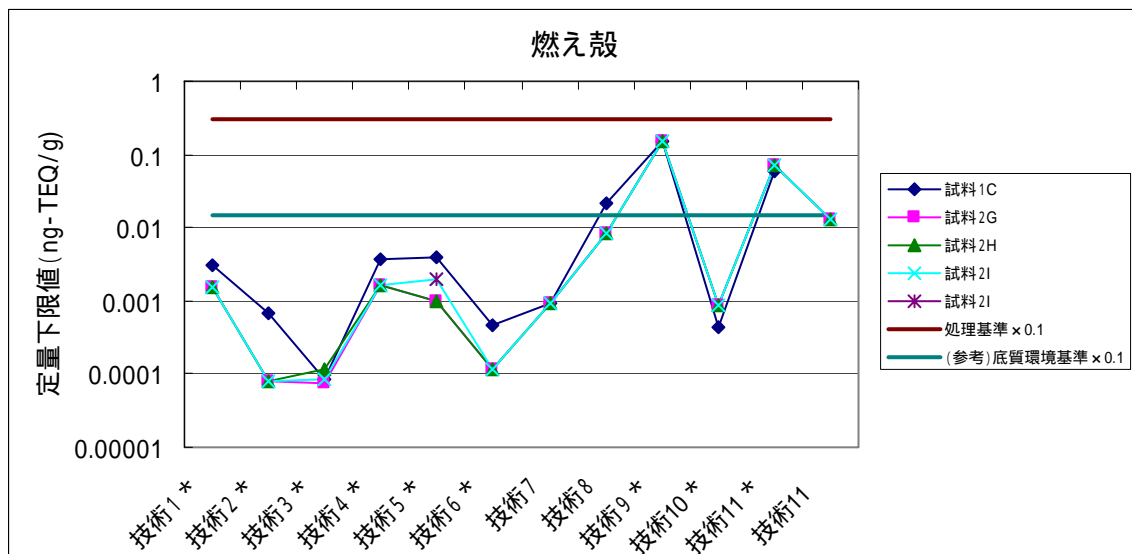
表20 各技術の定量下限値(燃え殻試料)

単位:ng-TEQ/g

技術	試料1C	試料2G	試料2H	試料2I	試料2I
技術1*	0.0031	0.0015	0.0015	0.0015	
技術2*	0.00066	0.000082	0.000082	0.000082	
技術3*	0.000083	0.000077	0.00012	0.000083	
技術4*	0.0037	0.0016	0.0016	0.0016	
技術5*	0.0040	0.0010	0.0010	0.0020	0.0020
技術6*	0.00045	0.00012	0.00012	0.00012	
技術7	0.00091	0.00091	0.00091	0.00091	
技術8	0.021	0.0082	0.0082	0.0082	
技術9*	0.15	0.15	0.15	0.15	
技術10*	0.00044	0.00088	0.00088	0.00088	
技術11*	0.058	0.069	0.069	0.069	
技術11		0.013	0.013	0.013	

*:換算を行っている技術。換算を行っていない技術は、実測値の定量下限値を記載。

図10 各技術の定量下限値(燃え殻試料)



測定値のばらつき

各技術分類の同一試料における測定値のばらつきの程度を評価するため、変動係数について検討した。

【標準試料】

各技術における標準試料の変動係数を表21及び図11に示す。

標準試料における変動係数の目安を 20%以内とすると、いずれの技術分類も測定値が定量下限値以上の試料では変動係数 20%以内であり、測定によるばらつきは比較的少なかった。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

いずれの技術も各試料とも変動係数は 20%以内であった。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

変動係数は 7.0～18%であり、20%以内であった。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

変動係数は 2.1～4.0%であり、測定によるばらつきは非常に少なかった。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

いずれの技術も、測定値が定量下限値以上の試料では、変動係数は 20%以内であった。

表21 各技術の変動係数(標準試料)

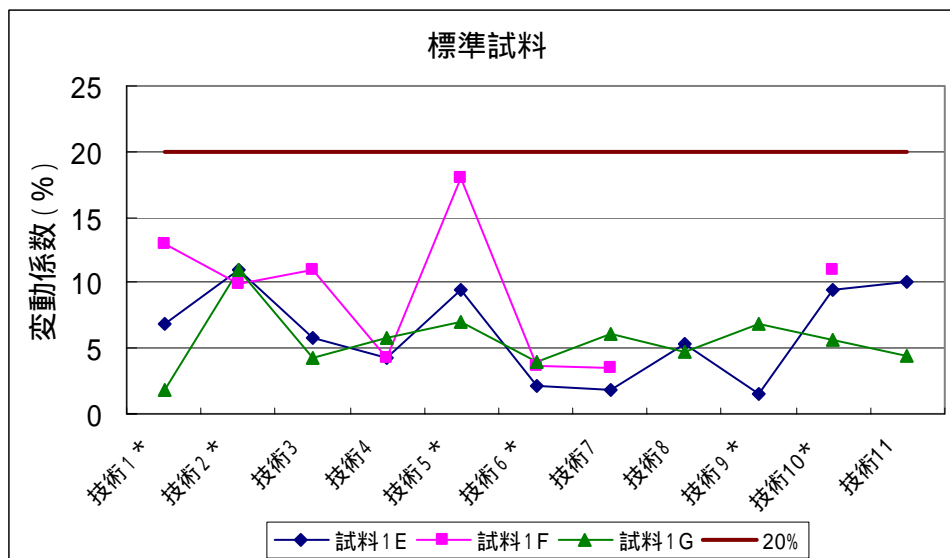
単位: %

技術	試料1E	試料1F	試料1G
技術1*	6.9	13	1.8
技術2*	11	9.9	11
技術3	5.8	11	4.3
技術4	4.2	4.3	5.8
技術5*	9.5	18	7.0
技術6*	2.1	3.7	4.0
技術7	1.9	3.5	6.1
技術8	5.4	#	4.7
技術9*	1.5	<u>24</u>	6.8
技術10*	9.5	11	5.7
技術11	10	<u>27</u>	4.4

*: 換算を行っている技術。数値: 測定値が検出下限値以上定量下限値未満の試料の変動係数。

#: 測定値が検出下限値未満のため、変動係数が得られなかったことを示す。

図11 各技術の変動係数(標準試料)



【排出ガス試料】

各技術における排出ガス試料の変動係数を表22及び図12に示す。

実試料における変動係数の目安を 30%以内とすると、いずれの技術分類も測定値が定量下限値以上の試料では、変動係数は 30%以内であり、測定によるばらつきは比較的少なかった。

()レポーターゾーンアッセイ法(技術1～4)

いずれの技術も、各試料とも、変動係数は 30%以内であった。

表22 各技術の変動係数(排出ガス試料)

単位: %

技術	試料1 A	試料2 A	試料2 B	試料2 C
技術1*	1.5	3.3	1.9	#
技術2*	16	21	9.1	11
技術3*	2.7	3.4	5.3	5.3
技術4*	3.1	1.1	2.6	5.6
技術5*	13	23	13	29
技術6*	4.1	10	12	7.2
技術7	2.0	20	26	25
技術8	4.9	#	12	#
技術9*	5.1	<u>41</u>	<u>48</u>	3.8
技術10*	5.3	12	12	<u>13</u>
技術11*	7.6	#	#	#
技術11		2.0	2.3	#

*: 換算を行っている技術。数値: 測定値が検出下限値以上定量下限値未満の試料の変動係数。

#: 測定値が検出下限値未満のため、変動係数が得られなかったことを示す。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

変動係数は13~29%であり、30%以内であった。

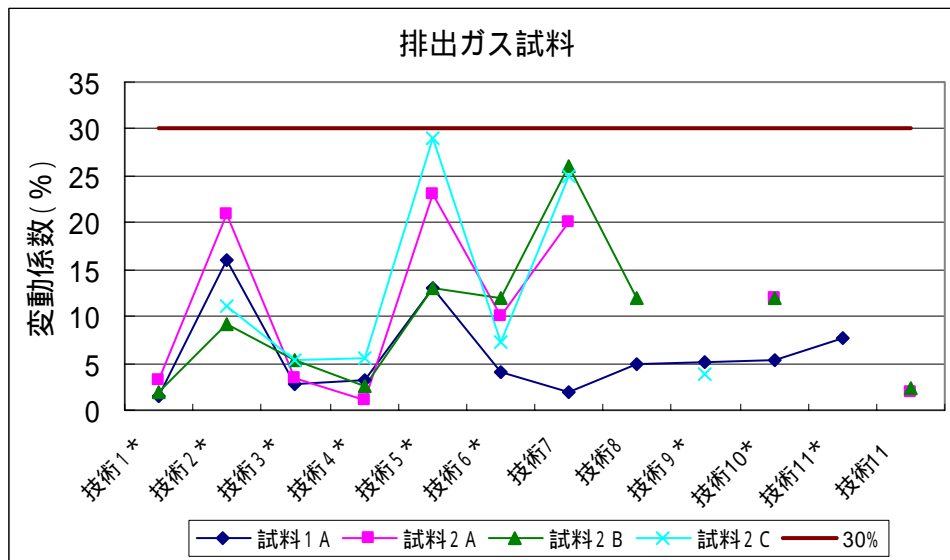
()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

変動係数は4.1~12%であり、20%以内であった。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7~11)

いずれの技術も、測定値が定量下限値以上の試料では、変動係数は30%以内であった。

図12 各技術の変動係数(排出ガス試料)



【ばいじん試料】

各技術におけるばいじん試料の変動係数を表23及び図13に示す。

実試料における変動係数の目安を30%以内とすると、いずれの技術分類も、非常に低濃度の試料2E及び測定値が各技術の定量下限値未満の試料を除き、変動係数は30%以内であり、測定によるばらつきは比較的少なかった。

()レポータージーンアッセイ法(技術1~4)

いずれの技術も、試料2E及び測定値が各技術の定量下限値未満の試料を除き、変動係数は20%以内であった。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

変動係数は、試料2Eを除き、13~23%であり、30%以内であった。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

変動係数は、試料2Eを除き、0.0~6.2%であり、10%以内であった。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7~11)

いずれの技術も、試料2E及び測定値が各技術の定量下限値未満の試料を除き、変動係数は20%以内であった。

表23 各技術の変動係数(ばいじん試料)

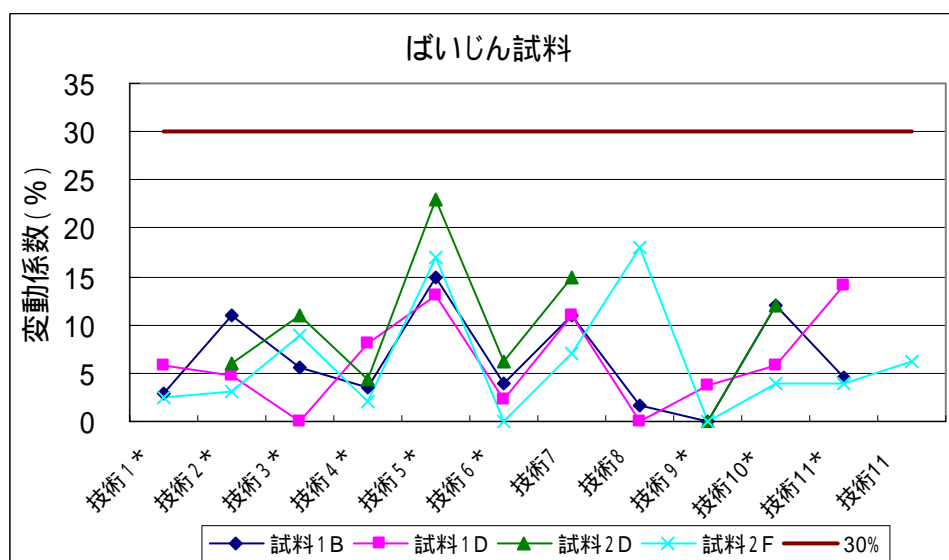
単位: %

技術	試料1B	試料1D	試料2D	試料2E	試料2F
技術1*	3.0	5.8	#	#	2.4
技術2*	11	4.8	6.0	23	3.1
技術3*	5.6	0.0	11	33	9.0
技術4*	3.6	8.0	4.4	12	2.0
技術5*	15	13	23	<u>55</u>	17
技術6*	4.0	2.3	6.2	0.0	0.0
技術7	11	11	15	17	7.0
技術8	1.6	0.0	#	#	18
技術9*	0.0	3.7	<u>48</u>	5.6	0.0
技術10*	12	5.9	12	<u>26</u>	4.0
技術11*	4.6	14	#	#	4.0
技術11			#	#	6.3

*: 換算を行っている技術。数値: 測定値が検出下限値以上定量下限値未満の試料の変動係数。

#: 測定値が検出下限値未満のため、変動係数が得られなかったことを示す。

図13 各技術の変動係数(ばいじん試料)



【燃え殻試料】

各技術における燃え殻試料の変動係数を表24及び図14に示す。

実試料における変動係数の目安を30%以内とすると、イムノアッセイ法の一部の技術を除き、非常に低濃度であった試料2G、2H及び測定値が各技術の定量下限値未満の試料を除く試料では、変動係数は30%以内であった。

()レポータージーンアッセイ法(技術1~4)

いずれの技術も、試料2G及び2Hを除き、変動係数は20%以内であった。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

変動係数は、試料1Cは24%であったが、試料2Iは33%であり、目安の30%を超えていた。なお、試料2Iを更に精製し夾雑物を除去した試料2Iの測定値の変動係数は4%であった。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

変動係数は、1.3~6.8%であり、測定によるばらつきは少なかった。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7~11)

技術7の変動係数は、試料1Cは39%で目安の30%を超えていたが、それ以外の試料は10%以内であった。技術7以外の各技術の変動係数は、試料2G、2H及び測定値の定量下限値未満の試料を除き、20%以内であった。

表24 技術の変動係数(燃え殻試料)

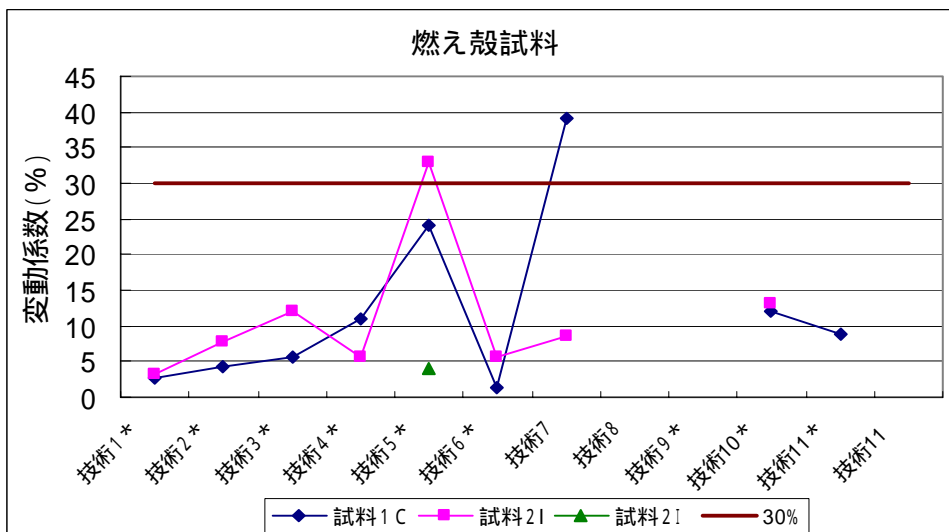
単位:%

技術	試料1C	試料2G	試料2H	試料2I	試料2I
技術1*	2.8	#	#	3.3	
技術2*	4.3	11	20	7.9	
技術3*	5.5	15	36	12	
技術4*	11	3.3	4.9	5.7	
技術5*	24	<u>27</u>	#	33	4.0
技術6*	1.3	3.1	6.8	5.6	
技術7	39	3.1	1.8	8.7	
技術8	-	#	#	<u>2.0</u>	
技術9*	<u>3.3</u>	<u>170</u>	5.6	<u>24</u>	
技術10*	12	#	<u>2.3</u>	13	
技術11*	8.9	#	#	#	
技術11		#	#	#	

*:換算を行っている技術。数値:測定値が検出下限値以上定量下限値未満の試料の変動係数。

#:測定値が検出下限値未満のため、変動係数が得られなかったことを示す。

図14 各技術の変動係数(燃え殻試料)



(3) 中立機関における検証

各技術分類毎に1又は2技術について中立機関で追試を実施し、再現性等の検証を行った。

()レポーターゾーンアッセイ法(技術1及び3)

技術1及び3の中立機関の検証結果をそれぞれ表25及び表26、図15及び図16に示す。

両技術とも、試料及び試薬は同じものを使用し、前処理と測定はそれぞれ別の中立機関で実施した。技術1及び技術3の測定部分は概ね中立機関の追試で再現性がみられた。

前処理操作、アッセイそれぞれの習熟度合いにより、測定値に差が出る場合もあるため、技術の適用に当たっては、実施機関の操作の習熟度合いについて留意する必要がある。

【技術1】

中立機関の定量下限値は応募機関のそれより1桁程度低いオーダーであり、測定値が定量下限値以上だった試料は、両機関とも排出ガス試料2試料、ばいじん試料、燃え殻試料各1試料であった。測定値が定量下限値以上だった試料の測定値の変動係数は、応募機関が1.9～3.3%であったのに対し、中立機関は18～23%であり、中立機関の方がややばらついていた。なお、中立機関でのアッセイは3名の実験者によるデータを取りまとめたものであり、この変動はアッセイの個人差をあらわす指標値でもある。

公定法によるTEQ値に対する中立機関及び応募機関の測定値の比(公定法比)の比率(表中の「中立機関/応募機関」)は、測定値が定量下限値以上だった試料では、排出ガス試料が0.77～0.83、ばいじん試料が0.99、燃え殻試料が1.2であり、よく一致していた。

【技術3】

中立機関と応募機関の定量下限値はほぼ同じオーダーであり、測定値は両機関ともすべて定量下限値以上であった。測定値の変動係数は、試料2E、2G、2Hを除くと、応募機関が3.3～12であったのに対し、中立機関は11～29%であり、中立機関の方がややばらついていた。なお、中立機関でのアッセイは3名の実験者によるデータを取りまとめたものであり、この変動はアッセイの個人差をあらわす指標値でもある。

中立機関と応募機関の測定値の公定法比の比率は、試料2E、2G、2Hを除くと、排出ガス試料が0.80～3.4、ばいじん試料が1.3～3.5、燃え殻試料が1.5であった。(中立機関)なお、応募機関が前処理した試料を同じ中立機関で測定した場合(中立機関)、測定値の公定法比の比率は、排出ガス試料が0.65～1.0、ばいじん試料が0.75～1.2、燃え殻試料が1.0であり、前処理試料を共通化した場合、アッセイ測定だけの比較では、機関間でよく一致していた。

図15 中立機関の検証結果(技術1)

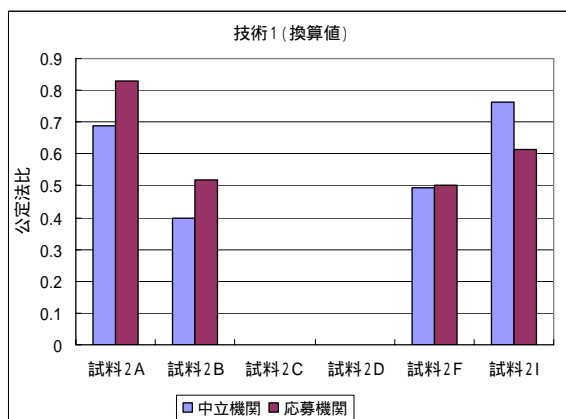
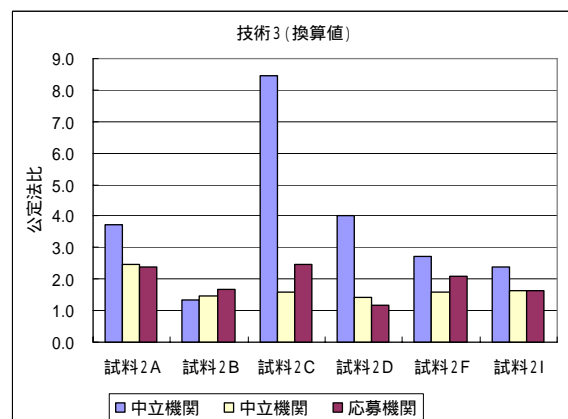


図16 中立機関の検証結果(技術3)



(注) 中立機関 (Blue): 前処理、測定とも中立機関で実施
 中立機関 (Yellow): 測定のみ中立機関で実施

表25 中立機関の検証結果(技術1)

媒体		排出ガス			ばいじん			燃え殻			
試料		試料2A	試料2B	試料2C	試料2D	試料2E	試料2F	試料2G	試料2H	試料2I	
実測値	単位	ng/m ³ N			ng/g			ng/g			
	中立機関	平均値	0.42	0.29	nd	nd	nd	1.8	nd	nd	0.041
		標準偏差	0.096	0.060	*	*	*	0.32	*	*	0.0082
		CV%	23	21	*	*	*	18	*	*	20
		定量上限値	0.51	0.40	0.45	0.063	0.063	0.063	0.031	0.031	0.031
		定量下限値	0.065	0.051	0.057	0.0079	0.0079	0.0049	0.0024	0.0024	0.0024
		検出下限値	0.057	0.045	0.050	0.0070	0.0070	0.0039	0.0019	0.0019	0.0019
		公定法比	4.2	2.4	#	#	#	4.0	#	#	6.1
	応募機関	平均値	0.50	0.37	nd	nd	nd	1.8	nd	nd	0.033
		標準偏差	0.016	0.0069	*	*	*	0.043	*	*	0.0011
		CV%	3.3	1.9	*	*	*	2.4	*	*	3.3
		定量上限値	6.6	5.2	5.7	0.80	0.80	0.80	0.40	0.40	0.40
		定量下限値	0.20	0.16	0.18	0.025	0.025	0.025	0.012	0.012	0.012
		検出下限値	0.12	0.10	0.11	0.015	0.015	0.015	0.0075	0.0075	0.0075
公定法比		5.0	3.1	#	#	#	4.0	#	#	4.9	
換算値	単位	ng-TEQ/m ³ N			ng-TEQ/g			ng-TEQ/g			
	中立機関	平均値	0.069	0.048	nd	nd	nd	0.22	nd	nd	0.0051
		標準偏差	0.016	0.010	*	*	*	0.040	*	*	0.0010
		CV%	23	21	*	*	*	18	*	*	20
		定量上限値	0.085	0.067	0.075	0.0078	0.0078	0.0078	0.0038	0.0038	0.0038
		定量下限値	0.011	0.0085	0.0095	0.00098	0.00098	0.00060	0.00030	0.00030	0.00030
		検出下限値	0.010	0.0075	0.0083	0.00086	0.00086	0.00048	0.00023	0.00023	0.00023
		公定法比	0.69	0.40	#	#	#	0.50	#	#	0.76
	応募機関	平均値	0.083	0.062	nd	nd	nd	0.22	nd	nd	0.0041
		標準偏差	0.0027	0.0012	*	*	*	0.0052	*	*	0.00013
		CV%	3.3	1.9	*	*	*	2.4	*	*	3.3
		定量上限値	1.1	0.86	0.95	0.099	0.099	0.099	0.049	0.049	0.049
		定量下限値	0.034	0.027	0.030	0.0031	0.0031	0.0031	0.0015	0.0015	0.0015
		検出下限値	0.020	0.016	0.018	0.0019	0.0019	0.0019	0.00093	0.00093	0.00093
公定法比		0.83	0.52	#	#	#	0.50	#	#	0.61	
中立機関 / 応募機関		0.83	0.77	#	#	#	0.99	#	#	1.2	

nd:測定値が検出下限値未満であることを示す。

*:測定値が検出下限値未満のためデータが得られなかったことを示す。

#:測定値が検出下限値未満のため比率を求められなかったことを示す。

技術1で用いている実測値の単位:ng-TEQ_{HRGS}/m³N(or g) < TEQ_{HRGS}:P450HRGSで測定した毒性等量 >

表26 中立機関の検証結果(技術3)

媒体		排出ガス			ばいじん			燃え殻			
試料		試料2A	試料2B	試料2C	試料2D	試料2E	試料2F	試料2G	試料2H	試料2I	
実測値	中立機関	単位	ng/m³N			ng/g			ng/g		
		平均値	0.89	0.38	0.30	0.040	0.017	2.6	0.0069	0.0059	0.029
	標準偏差	0.18	0.079	0.033	0.0098	0.0084	0.29	0.0022	0.0020	0.0085	
	CV%	20	21	11	25	46	11	31	35	29	
	定量上限値	5.4	1.3	1.4	0.20	0.20	20	0.098	0.098	0.098	
	定量下限値	0.0039	0.0039	0.0051	0.00071	0.00031	0.00031	0.00025	0.00025	0.00018	
	検出下限値	0.0013	0.0013	0.0017	0.00024	0.00011	0.00011	0.000082	0.000082	0.000066	
	公定法比	8.9	3.2	20	8.7	300	5.9	20	170	4.3	
	平均値	0.58	0.42	0.057	0.014	0.0016	1.5	0.0027	0.00061	0.020	
	公定法比	5.8	3.5	3.8	3.0	29	3.4	7.9	17	3.0	
	応募機関	平均値	0.57	0.47	0.087	0.011	0.00045	2.0	0.00060	0.00058	0.019
		標準偏差	0.019	0.025	0.0046	0.0013	0.00015	0.18	0.000088	0.00021	0.0024
		CV%	3.3	5.3	5.3	11	34	8.8	15	36	12
		定量上限値	2.8	2.2	0.37	0.051	0.015	11	0.0092	0.0092	0.093
定量下限値		0.0017	0.0014	0.0027	0.00037	0.00039	0.0039	0.00014	0.00021	0.00015	
検出下限値		0.00067	0.00053	0.0011	0.00015	0.00015	0.0015	0.000051	0.000081	0.000056	
公定法比		5.7	3.9	5.8	2.4	8.0	4.5	1.8	17	2.8	
単位		ng-TEQ/m³N			ng-TEQ/g			ng-TEQ/g			
中立機関	平均値	0.37	0.16	0.13	0.018	0.0081	1.2	0.0038	0.0032	0.016	
	標準偏差	0.074	0.034	0.014	0.0045	0.0038	0.13	0.0012	0.0011	0.0047	
	CV%	20	21	11	25	46	11	31	35	29	
	定量上限値	2.3	0.55	0.59	0.093	0.093	9.3	0.054	0.054	0.054	
	定量下限値	0.0016	0.0013	0.0019	0.00033	0.00015	0.00015	0.00014	0.00014	0.00010	
	検出下限値	0.0002	0.0002	0.0002	0.00003	0.000013	0.000013	0.000010	0.000010	0.0000085	
	公定法比	3.7	1.3	8.4	4.0	150	2.7	11	93	2.4	
	平均値	0.25	0.18	0.024	0.0065	0.00074	0.70	0.0015	0.00034	0.011	
公定法比	2.5	1.5	1.6	1.4	13	1.6	4.4	10	1.6		
応募機関	平均値	0.24	0.20	0.037	0.0053	0.00021	0.93	0.00033	0.00032	0.011	
	標準偏差	0.0081	0.011	0.0019	0.00060	0.000070	0.084	0.000049	0.00012	0.0013	
	CV%	3.4	5.3	5.3	11	33	9.0	15	36	12	
	定量上限値	1.2	0.95	0.15	0.024	0.0072	5.0	0.0051	0.0051	0.052	
	定量下限値	0.00072	0.00059	0.0011	0.00017	0.00018	0.0018	0.000077	0.00012	0.000083	
	検出下限値	0.00028	0.00022	0.00047	0.000070	0.000070	0.00070	0.000028	0.000045	0.000031	
	公定法比	2.4	1.7	2.5	1.2	3.8	2.1	1.0	9.1	1.6	
中立機関 / 応募機関		1.6	0.80	3.4	3.5	39	1.3	12	10	1.5	
中立機関 / 応募機関		1.0	0.89	0.65	1.2	3.5	0.75	4.5	1.1	1.0	

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

技術5の中立機関の検証結果を表27、図17に示す。

試料及び試薬は同じものを使用し、前処理、測定とも同じ中立機関で実施した。

中立機関の定量下限値は、応募機関とほぼ同じであり、測定値が定量下限値以上であった試料は、排出ガス試料3試料及びばいじん試料1試料、検出下限値以上定量下限値未満の試料が燃え殻1試料であった。測定値が定量下限値以上だった試料の測定値の変動係数は、応募機関が16～33%であったのに対し、中立機関は4.8～15%であり、中立機関の方はばらつきが小さかった。なお、中立機関で検出されていない試料があることには注意を要する。

中立機関と応募機関の測定値の公定法比の比率は、上記5試料について、排出ガス試料が0.56～1.2、ばいじん試料が0.43、燃え殻試料が0.36であり、比較的良好一致していた。

図17 中立機関の検証結果(技術5)

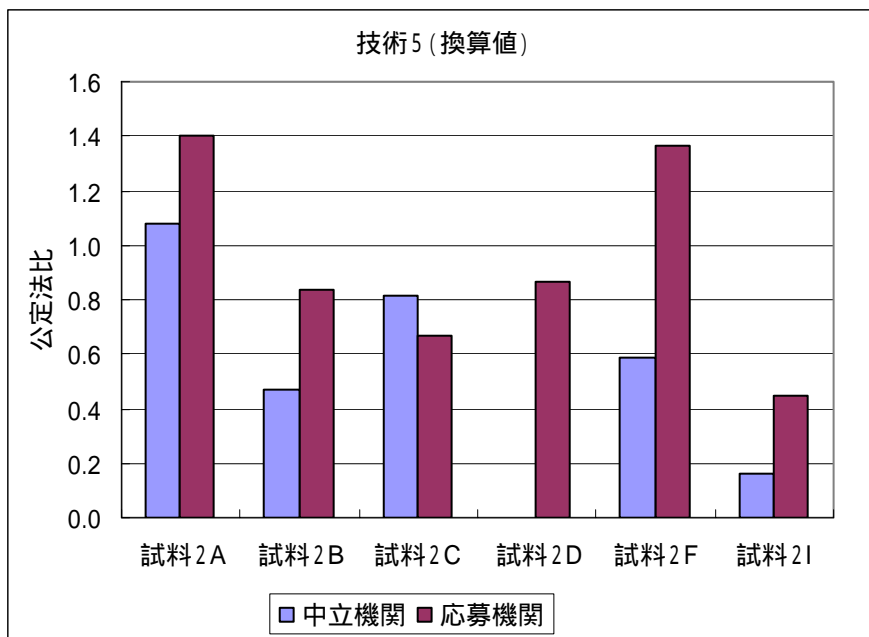


表27 中立機関の検証結果(技術5)

媒体		排出ガス			ばいじん			燃え殻			
試料		試料2A	試料2B	試料2C	試料2D	試料2E	試料2F	試料2G	試料2H	試料2I	
実測値	単位	ng/m ³ N			ng/g			ng/g			
	中立機関	平均値	2.2	1.1	0.24	nd	nd	5.2	nd	nd	<u>0.022</u>
		標準偏差	0.10	0.081	0.027	*	*	0.76	*	*	<u>0.0088</u>
		CV%	4.8	7.1	11	*	*	15	*	*	<u>41</u>
		定量上限値	66	52	57	8.0	8.0	8.0	4.0	4.0	4.0
		定量下限値	1.0	0.81	0.18	0.080	0.040	3.2	0.020	0.020	0.040
		検出下限値	0.27	0.21	0.054	0.020	0.010	0.80	0.0050	0.0050	0.010
		公定法比	22	9.4	16	#	#	12	#	#	<u>3.2</u>
	応募機関	平均値	2.9	2.3	0.19	0.083	<u>0.017</u>	12	<u>0.0091</u>	nd	0.061
		標準偏差	0.65	0.36	0.062	0.019	<u>0.0095</u>	2.1	<u>0.0025</u>	*	0.020
		CV%	23	16	28	23	<u>56</u>	18	<u>28</u>	*	33
		定量上限値	130	100	23	10	5.1	330	2.6	2.6	5.1
		定量下限値	1.0	0.81	0.18	0.080	0.040	2.6	0.020	0.020	0.040
		検出下限値	0.26	0.20	0.045	0.020	0.010	0.64	0.0050	0.0050	0.010
公定法比		29	19	13	18	<u>300</u>	28	<u>27</u>	#	9.0	
換算値	単位	ng-TEQ/m ³ N			ng-TEQ/g			ng-TEQ/g			
	中立機関	平均値	0.11	0.056	0.012	nd	nd	0.26	nd	nd	<u>0.0011</u>
		標準偏差	0.0051	0.0040	0.0014	*	*	0.038	*	*	<u>0.0004</u>
		CV%	4.8	7.1	11	*	*	15	*	*	<u>41</u>
		定量上限値	3.3	2.6	2.9	0.40	0.40	0.40	0.20	0.20	0.20
		定量下限値	0.051	0.040	0.0089	0.0040	0.0020	0.16	0.0010	0.0010	0.0020
		検出下限値	0.013	0.010	0.0027	0.0010	0.00050	0.040	0.00025	0.00025	0.00050
		公定法比	1.1	0.47	0.81	#	#	0.59	#	#	<u>0.16</u>
	応募機関	平均値	0.14	0.10	0.010	0.0040	<u>0.00085</u>	0.60	<u>0.00045</u>	nd	0.0030
		標準偏差	0.032	0.013	0.0029	0.00092	<u>0.00047</u>	0.10	<u>0.00012</u>	*	0.0010
		CV%	23	13	29	23	<u>55</u>	17	<u>27</u>	*	33
		定量上限値	6.6	5.2	1.1	0.51	0.26	16	0.13	0.13	0.26
		定量下限値	0.050	0.040	0.0090	0.0040	0.0020	0.13	0.0010	0.0010	0.0020
		検出下限値	0.010	0.010	0.0020	0.0010	0.00050	0.032	0.00025	0.00025	0.00050
公定法比		1.4	0.83	0.67	0.87	<u>15</u>	1.4	<u>1.3</u>	#	0.45	
中立機関/応募機関		0.77	0.56	1.2	#	#	0.43	#	#	0.36	

数値:測定値が検出下限値以上定量下限値未満の試料のデータ。

nd:測定値が検出下限値未満であることを示す。

*:測定値が検出下限値未満のためデータが得られなかったことを示す。

#:測定値が検出下限値未満のため比率を求められなかったことを示す。

技術5で用いている実測値の単位:ng-DEQ/m³N (or g) < DEQ:dioxins equivalents >

() AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

技術6の中立機関の検証結果を表28、図18に示す。

試料及び試薬は同じものを使用し、前処理と測定は別の中立機関で実施した。

中立機関の定量下限値は、応募機関とほぼ同じオーダーであり、測定値は両機関とも全て定量下限値以上であった。測定値の変動係数は、試料2E、2G、2Hを除き、応募機関が0.69～13%であったのに対し、中立機関は1.2～29%であり、全般に中立機関の方がばらつきが大きかった。

中立機関と応募機関の測定値の公定法比の比率は、試料2E、2G、2Hを除き、排出ガス試料が1.2～2.7、ばいじん試料が0.62～0.93、燃え殻試料が1.3であり、比較的良好に一致していた。

図18 中立機関の検証結果(技術6)

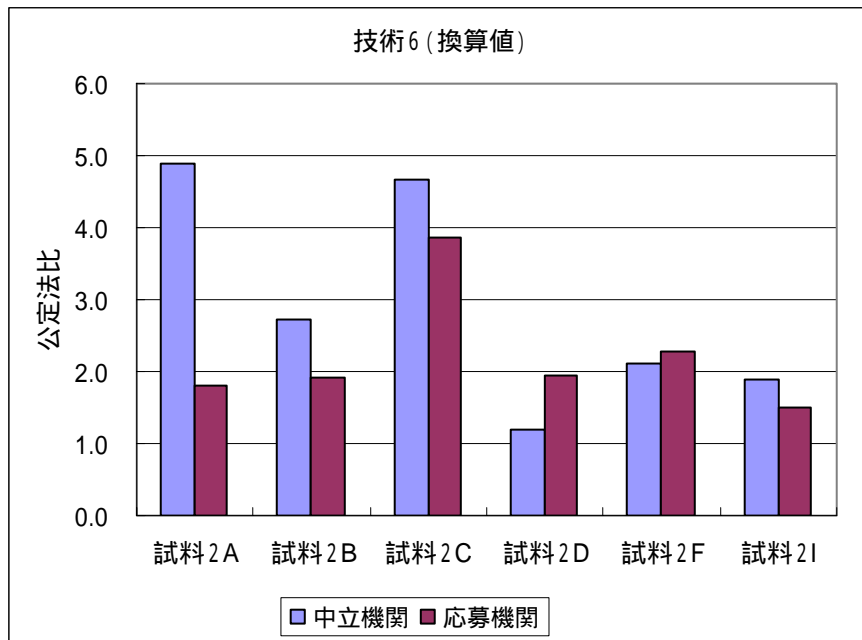


表28 中立機関の検証結果(技術6)

媒体		排出ガス			ばいじん			燃え殻			
試料		試料2A	試料2B	試料2C	試料2D	試料2E	試料2F	試料2G	試料2H	試料2I	
実測値	単位	ng/m ³ N			ng/g			ng/g			
	中立機関	平均値	6.0	4.0	0.78	0.059	0.018	13	0.033	0.010	0.15
		標準偏差	0.16	0.57	0.22	0.00072	0.0025	1.6	0.0023	0.0010	0.043
		CV%	2.6	14	28	1.2	14	12	6.9	9.4	29
		定量上限値	6.1	8.1	1.8	0.38	0.13	38	0.44	0.063	0.31
		定量下限値	0.016	0.025	0.028	0.0039	0.0039	0.0039	0.0020	0.0020	0.0020
		検出下限値	*	*	*	*	*	*	*	*	*
		公定法比	60	33	52	13	310	30	96	290	22
	応募機関	平均値	1.5	2.0	0.46	0.070	0.11	11	0.43	0.017	0.083
		標準偏差	0.17	0.26	0.032	0.0050	0.0015	0.073	0.013	0.00096	0.0036
		CV%	11	13	7.1	7.1	1.3	0.69	3.0	5.6	4.3
		定量上限値	5.1	12	4.5	1.0	3.0	3.0	0.94	0.31	0.94
		定量下限値	0.013	0.010	0.011	0.0016	0.0016	0.0016	0.00079	0.00079	0.00079
		検出下限値	*	*	*	*	*	*	*	*	*
公定法比		15	17	30	15	2000	24	1300	480	12	
換算値	単位	ng-TEQ/m ³ N			ng-TEQ/g			ng-TEQ/g			
	中立機関	平均値	0.49	0.33	0.070	0.0055	0.0017	0.93	0.0030	0.0010	0.013
		標準偏差	0.012	0.044	0.018	0.000064	0.00023	0.10	0.00020	0.000089	0.0035
		CV%	2.5	14	26	1.2	14	11	6.6	8.9	27
		定量上限値	0.55	0.72	0.16	0.034	0.011	3.4	0.039	0.0056	0.028
		定量下限値	0.0018	0.0027	0.0030	0.00042	0.00042	0.00042	0.00021	0.00021	0.00021
		検出下限値	*	*	*	*	*	*	*	*	*
		公定法比	4.9	2.7	4.7	1.2	31	2.1	8.8	29	1.9
	応募機関	平均値	0.18	0.23	0.058	0.0089	0.014	1.0	0.049	0.0022	0.010
		標準偏差	0.017	0.029	0.0042	0.00055	0.0	0.0	0.0015	0.00015	0.00058
		CV%	10	12	7.2	6.2	0.0	0.0	3.1	6.8	5.6
		定量上限値	0.63	1.5	0.57	0.12	0.37	3.7	0.12	0.040	0.12
		定量下限値	0.0020	0.0015	0.0017	0.00024	0.00024	0.00024	0.00012	0.00012	0.00012
		検出下限値	*	*	*	*	*	*	*	*	*
公定法比		1.8	1.9	3.9	1.9	250	2.3	140	63	1.5	
中立機関 / 応募機関		2.7	1.4	1.2	0.62	0.12	0.93	0.063	0.45	1.3	

*: 検出下限値が設定されていないことを示す。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7)

技術7の中立機関の検証結果を表29、図19に示す。

試料及び試薬は同じものを使用し、前処理、測定とも同じ中立機関で実施した。

中立機関の定量下限値は、応募機関とほぼ同じであり、測定値は両機関とも全て定量下限値以上であった。測定値の変動係数は、試料 2E、2G、2H を除き、応募機関が 7~26%であったのに対し、中立機関は 5.8~25%であった。

中立機関と応募機関の測定値の公定法比の比率は、試料2E、2G、2Hを除き、排出ガス試料が 0.78~1.1、ばいじん試料が 0.085~0.25、燃え殻試料が 0.34 であり、排出ガス以外はあまり一致を見なかった。これは、前処理及び測定の操作における習熟の度合いによるものと考えられる。このため、技術の適用に当たっては、実施機関の操作の習熟度合いについて留意する必要がある。

図19 中立機関の検証結果(技術7)

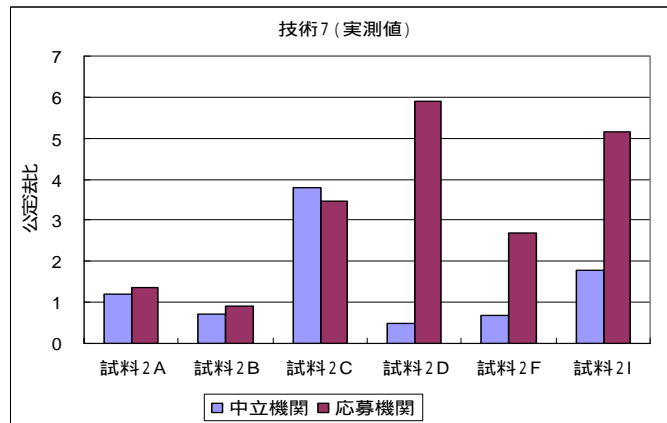


表29 中立機関の検証結果(技術7)

媒体		排出ガス			ばいじん			燃え殻			
試料		試料2A	試料2B	試料2C	試料2D	試料2E	試料2F	試料2G	試料2H	試料2I	
実測値	単位	ng/m ³ N			ng/g			ng/g			
	中立機関	平均値	0.12	0.084	0.057	0.0023	0.000080	0.30	0.000037	0.00046	0.012
		標準偏差	0.0072	0.0087	0.0072	0.00058	*	0.029	0.000007	0.00027	0.0015
		CV%	5.8	10	13	25	*	9.6	18	59	13
		定量上限値	1.7	1.4	1.5	0.31	0.31	0.75	0.38	0.38	0.38
		定量下限値	0.039	0.030	0.034	0.0018	0.0018	0.0017	0.00084	0.00084	0.00084
		検出下限値	*	*	*	*	*	*	*	*	*
		公定法比	1.2	0.70	3.8	0.50	1.4	0.68	0.11	13	1.8
	応募機関	平均値	0.14	0.11	0.052	0.027	0.0044	1.2	0.018	0.013	0.035
		標準偏差	0.027	0.028	0.013	0.0042	0.00073	0.083	0.00054	0.00023	0.0030
		CV%	20	26	25	15	17	7.0	3.1	1.8	8.7
		定量上限値	1.1	0.87	0.96	0.13	0.13	0.13	0.082	0.082	0.082
		定量下限値	0.011	0.0085	0.0094	0.0013	0.0013	0.0013	0.00091	0.00091	0.00091
		検出下限値	*	*	*	*	*	*	*	*	*
公定法比		1.4	0.90	3.5	5.9	78	2.7	52	370	5.2	
中立機関 / 応募機関		0.88	0.78	1.1	0.085	0.018	0.25	0.0021	0.035	0.34	

*: 検出下限値が設定されていないこと又はデータが得られていないことを示す。

2 - 2 - 4 簡易性

(1)分析時間

各技術の平均的な1検体あたりの分析時間を表30に示す。

いずれの技術分類も、クリーンアップ及び測定部分の操作が簡素化されるため、1検体あたりの分析時間は、レポータージーンアッセイ法で3～5日程度、抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法で3日程度、AhレセプターアッセイPCR法で1日程度、抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法で1～3日程度と長くて5日程度であり、10～20日程度かかる公定法に比べて大幅に短縮される。また、一度に多数の検体を測定することができるため、検体数が増えれば、更なる分析時間の短縮化が図られる。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

各技術の抽出、クリーンアップ方法により異なるが、全体で3～5日程度で分析できる。

なお、測定は、試料添加後16～24時間程度暴露に時間を要するため、結果を得るまでに1日以上かかる。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

抽出は高速溶媒抽出、クリーンアップは硫酸処理及び多層シリカゲルカラム処理だけであり、操作時間の短縮化が図られている。また、測定も7時間程度であり、全体で3日(正味17.3時間)程度で分析できる。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

抽出は高速溶媒抽出、クリーンアップは多層シリカゲルカラム処理及びアルミナカラム処理だけであり、操作時間の短縮化が図られている。測定は1回4時間程度であり、2回測定を行っても全体で1日程度(17時間)で分析可能である。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

各技術の抽出、クリーンアップ方法により異なるが、全体で1～3日程度で分析できる。

測定は、Ahレセプターバインディングアッセイ法に比べ一般に短く、再測定を行っても数時間程度しかかからない。技術によっては2次抗体反応をオーバーナイトで行う場合もある。

表30 各技術の分析時間

単位:時間/検体

技 術		技術1	技術2	技術3	技術4	技術5	技術6	
排出ガス	全 体	39.5	60.5 ~ 78.5	53	132	17.3	17	
	内 訳	抽出	6	22	21	48	3	0.75
		クリーンアップ	3.5	7.5	5	8	7	6
		測定	22.5	24	26	72	7	8
		データ整理	3.5	1	1	4	0.3	2
		その他	4	6 ~ 24				
ばいじん	全 体	37.5	59.5 ~ 77.5	50	132	17.3	17	
	内 訳	抽出	4	21	18	48	3	0.75
		クリーンアップ	3.5	7.5	5	8	7	6
		測定	22.5	24	26	72	7	8
		データ整理	3.5	1	1	4	0.3	2
		その他	4	6 ~ 24				
燃え殻	全 体	37.5	59.5 ~ 77.5	50	132	17.3	17	
	内 訳	抽出	4	21	18	48	3	0.75
		クリーンアップ	3.5	7.5	5	8	7	6
		測定	22.5	24	26	72	7	8
		データ整理	3.5	1	1	4	0.3	2
		その他	4	6 ~ 24				
備 考		<p>・「抽出」:高速溶媒抽出。ばいじん・燃え殻は塩酸処理した場合。</p> <p>・「測定」:サンプル添加後の培養時間を含む。</p> <p>・「その他」:受付作業、野帳作成、器具洗浄等</p>	<p>・個々の内訳は、分析操作の正味の時間。</p> <p>・「抽出」:ソックス抽出。排出ガスは採取用器材の洗い込みを含む。</p> <p>・「測定」:細胞暴露時間を含む。</p> <p>・「その他」:希釈倍率決定の予備操作時間。</p>	<p>・「抽出」:ソックス抽出。排出ガスは、器具類の洗い込み、樹脂の乾燥を含む。</p>	<p>・「抽出」:ソックス抽出。</p>	<p>・排出ガスはダイオキシンフィルターを使用した場合。</p> <p>・「抽出」:高速溶媒抽出。</p> <p>・「データ整理」:18検体/3時間。</p>	<p>・「抽出」:高速溶媒抽出。</p>	

単位:時間/検体

技 術		技術7	技術8	技術9	技術10	技術11	
排出ガス	全体	24	54	8.6	37	2日	
	内訳	抽出	16	18	0.75	24	4
		クリーナップ	3	12	6	10	4
		測定	4	23	1.3	4	1~2日
		データ整理	1	1	0.5	0.5	1
		その他				0.5	
ばいじん	全体	24	54	8.6	35	2日	
	内訳	抽出	16	18	0.75	20	4
		クリーナップ	3	12	6	10	4
		測定	4	23	1.3	4	1~2日
		データ整理	1	1	0.5	0.5	1
		その他				0.5	
燃え殻	全体	24	54	8.6	35	2日	
	内訳	抽出	16	18	0.75	20	4
		クリーナップ	3	12	6	10	4
		測定	4	23	1.3	4	1~2日
		データ整理	1	1	0.5	0.5	1
		その他				0.5	
備 考		<ul style="list-style-type: none"> ・「抽出」:ソックスレー抽出。 ・「測定」:検体希釈操作を含む。 	<ul style="list-style-type: none"> ・「抽出」:ソックスレー抽出。 ・「測定」:オーバーナイトの反応時間を含む。 	<ul style="list-style-type: none"> ・「抽出」:高速溶媒抽出。 	<ul style="list-style-type: none"> ・「抽出」:ソックスレー抽出。無人放置時間16時間を含む。排出ガスは採取器具の洗浄液からの抽出操作を含む。 ・「その他」:報告書作成。 ・準備、後かたづけ、予備時間を含む。 	<ul style="list-style-type: none"> ・「抽出」:高速溶媒抽出。 ・10検体:全体で2日、100検体:全体で12日。 	

(2)分析費用

各技術の代表的分析条件又は平均の1検体当たりの分析費用を表31に示す。

いずれの技術分類も、分析費用は、1検体あたり人件費込みで概ね4～5万円程度であり、約20万円かかる公定法の1/5～1/4程度である。また、一度に多数の検体を測定することができるため、検体数が増えれば、更に安価での分析が可能である。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

分析費用は、分析の条件や検体数により幅があるが、1検体あたり人件費込みで3.5～6.5万円程度である。技術により、抽出操作に手数や時間がかかる排出ガスの分析費用がばいじん・燃え殻に比べて1.5～2万円程度高いものもある。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

分析費用は、1検体あたり、人件費込みで、各媒体とも4.5万円程度である。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

分析費用は、1検体あたり、人件費込みで、各媒体とも4万円程度である。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

分析費用は、分析条件や検体数により幅があるが、1検体あたり、人件費込みで、各媒体とも3.6～5万円程度である。

なお、測定に用いるキット代は、測定条件にもよるが、1検体あたり0.9～1万円程度である。

表31 各技術の分析費用

単位:円/検体

技 術		技術1	技術2	技術3	技術4	技術5	技術6	
排出ガス	全 体	65,000	55,000	50,000	50,000 以下の予定	45,000	40,000	
	内 訳	抽出		30,000			7,000	(200)
		クリーンアップ		5,000			15,000	(1,500)
		測定		20,000			23,000	(10,000)
ばいじん	全 体	50,000	35,000	50,000	50,000 以下の予定	45,000	40,000	
	内 訳	抽出		10,000			7,000	(200)
		クリーンアップ		5,000			15,000	(1,500)
		測定		20,000			23,000	(10,000)
燃え殻	全 体	50,000	35,000	50,000	50,000 以下の予定	45,000	40,000	
	内 訳	抽出		10,000			7,000	(200)
		クリーンアップ		5,000			15,000	(1,500)
		測定		20,000			23,000	(10,000)
備 考		人件費含む。	人件費含む。 定量、非分画 の場合。 各種方法別料 金体系別途有	人件費含む。	人件費含む。	人件費含む。	全体額は人件 費含む。 (): 試薬等費 用	

技 術		技術7	技術8	技術9	技術10	技術11	
排出ガス	全 体		100,000/50,000	36,000	50,000	(13,900)	
	内 訳	抽出			(200)	10,000	(1,504)
		クリーンアップ			(1,500)	20,000	(3,199)
		測定	(10,000)		(9,000)	20,000	(9,197)
ばいじん	全 体		100,000/50,000	36,000	50,000	(13,900)	
	内 訳	抽出			(200)	10,000	(1,504)
		クリーンアップ			(1,500)	20,000	(3,199)
		測定	(10,000)		(9,000)	20,000	(9,197)
燃え殻	全 体		100,000/50,000	36,000	50,000	(13,900)	
	内 訳	抽出			(200)	10,000	(1,504)
		クリーンアップ			(1,500)	20,000	(3,199)
		測定	(10,000)		(9,000)	20,000	(9,197)
備 考		人件費含まず。 (): 1キットで20検 体を測定する場合 の概算キット代。	人件費含む。 (左)ソックスレ-抽出 (右)高速溶媒抽出 の場合。	全体額は人件費 含む。 (): 試薬等費用。	人件費含む。	人件費含まず。 10 検体の場合 (): 試薬等費用。	

2 - 3 まとめ

これまでの検討結果を技術分類ごとにまとめると以下のとおりである。

()レポータージーンアッセイ法(技術1～4)

- ・ダイオキシン類による毒性発現における遺伝子発現誘導メカニズムを活用した分析法であり、交差反応性は、毒性等価係数(WHO-TEF)とよく一致する。
- ・実測値は、公定法による TEQ 値よりも高い傾向を示し、測定値が偽陰性になる可能性はほとんどなく、また、換算値の公定法比は、極低濃度の試料を除き、1/2 倍から3倍の範囲内であり、公定法による TEQ 値と比較的よく一致する。
- ・定量下限値は、焼却能力2t/h未満の廃棄物焼却炉における排出ガスの基準値の1/10及びばいじん・燃え殻の処理基準の1/10の目安値を下回るレベルである。なお、この技術分類には、今回検討を行った技術の中で最も定量下限値レベルの低い水準を有する技術が含まれていた。
- ・同一試料の測定における変動係数は、標準試料で20%以内、実試料で30%以内であり、測定によるばらつきは比較的少ない。
- ・測定値とTEQ値の乖離が少ない利点を有している。
- ・分析時間は、3～5日、分析費用は、3.5～6.5万円/検体であり、公定法に比べ、迅速かつ安価な手法である。

()抗Ahレセプター複合体抗体を用いたイムノアッセイ法(技術5)

- ・ダイオキシン類による毒性発現におけるダイオキシン類 - Ahレセプター - ARNT複合体の形成を活用した分析法であり、交差反応性は、毒性等価係数(WHO-TEF)と比べて高いが、比較的傾向は似ている。
- ・実測値は、実試料では、公定法による TEQ 値よりも常に10倍程度以上高く、換算係数を厳密に設定する必要があるが、測定値が偽陰性になる可能性はほとんどなく、また、換算値の公定法比は、極低濃度の試料を除き、1/3倍から2倍の範囲内であり、公定法による TEQ 値と比較的よく一致する。
- ・定量下限値は、焼却能力2t/h未満の廃棄物焼却炉における排出ガスの基準値の1/10及びばいじん・燃え殻の処理基準の1/10の目安値を下回るレベルである。
- ・同一試料の測定における変動係数は、標準試料で20%以内、実試料で概ね30%以内であり、測定によるばらつきは大きくない。
- ・分析時間は3日程度、分析費用は、4.5万円/検体であり、公定法に比べ、迅速かつ安価な分析法である。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術6)

- ・ダイオキシン類による毒性発現におけるダイオキシン類 - Ahレセプター - ARNT複合体のDREとの結合性を活用した分析法であり、交差反応性は、毒性等価係数(WHO-TEF)と比較的よく一致する。
- ・実測値は、公定法による TEQ 値よりも常に高いため、測定値が偽陰性になる可能性はほとんどなく、また、換算値の公定法比は、極低濃度の試料を除き、概ね1/3倍から3倍の範囲内であり、公定法による TEQ 値と比較的よく一致する。
- ・定量下限値は、焼却能力4t/h以上の廃棄物焼却炉における排出ガスの基準値の1/10及びばいじん・燃え殻の処理基準の1/10の目安値以下であり、また、水底の底質環境基準値の

1/10も下回るレベルである。

- ・ 同一試料の測定における変動係数は、標準試料で 10%以内、実試料で 20%以内であり、測定によるばらつきは少ない。
- ・ 分析時間は1日程度、分析費用は、4万円 / 検体であり、公定法に比べ、迅速かつ安価な分析法である。

() 抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術7～11)

- ・ ダイオキシン類に特異的に反応する抗体による抗原抗体反応を活用した分析法であり、特定のダイオキシン類の異性体と高い交差反応性を示し、それ以外の異性体や化学物質とはほとんど交差反応性を示さないが、技術によって、交差反応性に抗体による差異が見受けられる。一部の技術が用いている抗体には、毒性等価係数(WHO-TEF)と比較的よく一致するものがある。
- ・ 実測値は、技術や媒体により、公定法による TEQ 値よりも高めになる傾向のものと低めになる傾向のものがある。換算値又は実測値の公定法比が、極低濃度の試料を除き、概ね 1/3倍から3倍の範囲内で、公定法による TEQ 値と比較的よく一致する技術がある一方で、定量下限値が高いため、公定法による TEQ 値との比較がほとんど不可能な技術もある。
- ・ 定量下限値は、ばいじん・燃え殻については、処理基準の 1/10 の目安値を下回るレベルであるが、一部の技術は、排出ガスについては焼却能力 2 t/h 未満の廃棄物焼却炉における規制基準値の 1/10 を満足しないレベルである。
- ・ 同一試料の測定における変動係数は、標準試料で 20%以内、実試料で概ね 30%以内であり、測定によるばらつきは大きくない。
- ・ 分析時間は1～3日程度、分析費用は、3.6～5万円 / 検体であり、公定法に比べ、迅速かつ安価な分析法である。

以上、排出ガス、ばいじん及び燃え殻の規制基準適合性の判定における適用性の観点から、「Ahレセプターバインディングアッセイ法」の3技術分類については、概ね各評価項目を満足しており、一定の技術的レベルにあると評価できる。一方、「抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法」については、現段階においては、各評価項目を十分満足している状況にはないが、データの蓄積による適切な換算方法の確立や各媒体に応じた適切な前処理方法の開発等更なる改善を図ることにより、各評価項目を満足する可能性のある技術もあると考えられる。

なお、各技術分類とも測定操作の簡便化等、更なる改善が望まれるものである。

3. 低分解能ガスクロマトグラフ質量分析計によるダイオキシン類簡易測定技術の検討

低分解能ガスクロマトグラフ質量分析計によるダイオキシン類簡易測定技術については、平成12～14年度ダイオキシン類簡易測定法実証調査のデータをもとに検討を加えたものである。

3-1 分析機器

質量分析計の分類を表32に示す。

通常、高分解能質量分析計(高分解能MS)、低分解能質量分析計(低分解能MS)のいずれも、ガスクロマトグラフは、キャピラリーカラムガスクロマトグラフが用いられる。高分解能MSとは、一般的に、磁場型(二重収束型)を指し、JISをはじめ、各国において標準的なダイオキシン類測定法に採用されている。一方、低分解能MSには、四重極型、イオントラップ型、磁場型等がある(これらのうち、磁場型は中程度の分解能を有するが、検討にあたっては、これを含め、低分解能MSとして整理した)。また、イオントラップ型などにおいては、MS/MSによる測定が行われている。MS/MS装置は、前段のMSによって生じたイオンを一旦質量分析計内にトラップし、そのイオンに中性ガス分子を衝突させ、目的とする分子からできる可能性のあるイオンのみを後段のMSに送り込むことで選択性を高める方式である。

表32 質量分析計の分類

	高分解能MS	低分解能MS		
		中分解能	低分解能	
ガスクロマトグラフ	キャピラリーカラム ガスクロマトグラフ	同左	同左	
質量分析計の型式	磁場型(二重収束型)	磁場型(二重収束型)	イオントラップ型	MS MS/MS
			四重極型 (トリプルステージ四重極型)	MS MS/MS

3-2 検出下限値及び毒性等量値

各質量分析計の検出下限値の比較を表33に、毒性等量値における比較を表34に示す。

これまでの環境省での比較実証試験の結果では、各種低分解能MSにおける装置の検出下限値は高分解能MSの検出下限値の1/10～1/250程度であった。

一方、毒性等量値については、低分解能MSは、高分解能MSとほぼ同等の値を示した。

表33 各質量分析計の検出下限値の比較

(単位: pg)

	低分解能MS								高分解能MS
	低分解能						中分解能		
	四重極	四重極	四重極	3D 四重極 MS/MS	四重極 トリプル ステージ MS/MS	イオン トラップ MS/MS	イオン トラップ MS/MS	磁場型 (二重収束)	磁場型 (二重収束)
2,3,7,8-TeCDD	0.2	0.6	6	2	3	0.04	1	0.06	0.02
1,2,3,7,8-PeCDD	0.5	2	10	9	2	0.08	2	0.1	0.03
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.4	2	30	5	7	0.3	1	0.08	0.04
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.3	2	10	9	7	0.6	1	0.2	0.04
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.4	2	20	20	9	0.5	0.4	0.2	0.04
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.4	1	5	10	5	0.4	2	0.1	0.03
OCDD	0.3	3	8	20	30	1	3	0.1	0.09
2,3,7,8-TeCDF	0.1	1	7	3	2	0.1	0.4	0.07	0.02
1,2,3,7,8-PeCDF	0.4	1	5	4	4	0.4	3	0.08	0.03
2,3,4,7,8-PeCDF	0.1	0.5	6	5	5	0.2	1	0.1	0.03
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.3	0.6	10	20	3	0.5	2	0.1	0.03
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.2	1	10	5	3	0.6	0.2	0.2	0.03
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.2	0.4	9	7	4	0.7	0.2	0.1	0.04
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	0.7	3	5	4	0.9	1	0.2	0.03
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.1	1	7	6	5	0.6	1	0.05	0.02
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.1	2	9	4	8	0.7	1	0.07	0.03
OCDF	0.1	2	8	20	9	1	4	0.07	0.07
3,3',4,4'-TeCB #77	0.4	-	0.3	-	-	-	0.5	0.09	0.04
3,4,4',5'-TeCB #81	0.2	-	0.3	-	-	-	1	0.05	0.05
3,3',4,4',5'-PeCB #126	0.3	-	1	-	-	0.2	2	0.09	0.06
3,3',4,4',5,5'-HxCB #169	0.2	-	1	-	-	0.5	0.9	0.05	0.05
2,3,3',4,4'-PeCB #105	0.3	-	1	-	-	0.5	2	0.08	0.06
2,3,4,4',5'-PeCB #114	0.3	-	1	-	-	-	0.9	0.1	0.04
2,3',4,4',5'-PeCB #118	0.4	-	1	-	-	0.3	2	0.2	0.06
2',3,4,4',5'-PeCB #123	0.1	-	1	-	-	-	2	0.3	0.04
2,3,3',4,4',5'-HxCB #156	0.1	-	1	-	-	0.3	5	0.1	0.06
2,3,3',4,4',5',5'-HxCB #157	0.09	-	1	-	-	-	2	0.3	0.06
2,3',4,4',5,5'-HxCB #167	0.2	-	1	-	-	-	3	0.06	0.06
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB #189	0.2	-	1	-	-	-	2	0.09	0.09

高分解能 MS のみ複数の分析機関 (5 機関) の定量下限値の平均値

表34 各質量分析計の毒性等量値における比較

(単位: pg-TEQ/μl)

	低分解能MS		高分解能MS (平均値)	低分解能 / 高分解能 (比率)	中分解能 / 高分解能 (比率)
	低分解能 (平均値)	中分解能			
焼却炉排出ガス試料(1)	190	170	180	1.06	0.94
焼却炉排出ガス試料(2)	210	180	200	1.05	0.90
焼却炉排出ガス試料(3)	250	230	240	1.04	0.96
ばいじん試料	25	21	23	1.09	0.91

同一試料を複数の分析機関に配布し、測定した結果の平均値(低分解能: 7機関、中分解能: 1機関、
高分解能: 5機関)

3 - 3 測定値のばらつき

質量分析計の変動係数の比較を表35に示す。

低分解能MSを用いた測定における、異性体毎の分析値の変動係数は、高分解能MSに比較すると変動の幅は大きく、一部で高い値を示すものの、ほぼ10%から50%の範囲内であった。

表35 質量分析計の変動係数の比較

(単位:%)

対象試料 分析法	焼却炉排出ガス 試料(1)		焼却炉排出ガス 試料(2)		焼却炉排出ガス 試料(3)		ばいじん試料	
	低分解能 MS	高分解能 MS	低分解能 MS	高分解能 MS	低分解能 MS	高分解能 MS	低分解能 MS	高分解能 MS
2,3,7,8-TeCDD	80	15	93	7.6	110	20	110	3.8
1,2,3,7,8-PeCDD	22	8.8	27	9.0	40	21	36	6.4
1,2,3,4,7,8-HxCDD	20	5.7	18	2.9	47	12	29	7.1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	17	2.2	18	2.6	14	5.6	35	5.9
1,2,3,7,8,9-HxCDD	23	6.3	21	4.4	28	7.4	51	9.9
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	25	8.1	11	7.0	26	8.6	45	12
OCDD	17	6.0	16	3.3	15	5.9	130	30
2,3,7,8-TeCDF	85	9.9	86	8.8	100	9.7	63	9.1
1,2,3,7,8-PeCDF	37	22	39	19	31	20	40	21
2,3,4,7,8-PeCDF	23	5.5	29	5.3	18	10	36	9.4
1,2,3,4,7,8-HxCDF	51	19	33	23	69	39	74	12
1,2,3,6,7,8-HxCDF	22	8.1	13	5.7	9.4	14	51	16
1,2,3,7,8,9-HxCDF	42	39	42	26	64	32	150	61
2,3,4,6,7,8-HxCDF	28	5.9	23	4.4	17	2.2	78	39
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	13	12	14	9.8	16	9.9	98	15
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	18	15	17	12	14	15	150	35
OCDF	40	8.2	20	3.2	7.6	2.6	130	89
Total Co-PCB(TEQ)	23	8.3	25	6.2	18	10	22	8.7
Total PCDD/DF(TEQ)	15	4.1	17	4.9	10	7.5	34	6.7
Total ダイオキシン類(TEQ)	13	4.5	17	5.3	6.1	8.4	18	7.5

同一試料の分析を異なる分析機関・装置で行った際の変動係数(低分解能:7機関、高分解能:5機関)

3 - 4 簡易性

(1)分析操作

試料の抽出及びクリーンアップ操作を除く低分解能MSの分析操作や分析に要する時間は高分解能MSとほぼ同様である。ただし、複数のキャピラリーカラムを用いる測定を簡略化し、特に毒性等価係数を有する化合物だけの測定を目的として1種類のキャピラリーカラムのみで測定を行うこと等により分析時間を短縮することは可能である。

(2)分析費用

低分解能MSの価格は1千万円～3千万円程度であり、6千万円～8千万円程度の高分解能MSに比べ、その導入コストは1/2～1/8である。また、維持管理に要する費用は年に150万円程度であり、高分解能MSの維持管理費用(年に400万円程度)に比べて安く、イニシャルコスト、ランニングコストともに低く抑えられる。また、設置スペースが小さいことなど、汎用性に優れて

いることから、複数の分析計を導入し、同時に使用すれば、多数の検体の分析が可能であり、さらに効率化を図ることが可能である。

3 - 5 まとめ

低分解能MSによる測定は、高分解能MSに比べて感度が悪く、ばらつきはやや大きいものの、毒性等量値は高分解能MSによる測定とほぼ同等の結果を示した。

また、イニシャルコスト、ランニングコストともに高分解能MSよりも低く、複数の低分解能MSを導入することが容易であり、多数の検体を分析することで、分析コスト及び分析時間の短縮が可能である。

以上の結果から、低分解能MSは、比較的高濃度レベル(排出ガス中のダイオキシン類濃度が5ng-TEQ/m³N程度)の試料を対象とした測定においては、施設の日常管理における測定スクリーニングなどに適用可能であると考えられる。

また、低分解能MSによる測定技術を有効に活用し、ダイオキシン類の濃度あるいは毒性等量と相関性の高い指標となる化合物(例えば2,3,4,7,8-PeCDF)に焦点を当てた分析条件の検討や、これら指標化合物のみを効果的に単離するクリーンアップ方法との組合せの検討がなされており、試料採取、試料からの抽出及びクリーンアップ操作に要する時間の低減化を併せて図ることで、さらなる迅速化・簡易化が図れるものと考えられる。

本調査では、全ての機器が、感度、精度の面、測定の自動化等、満足できるものではなく、使用に当たっては、機器の選択を十分に考慮すべきである。

4. おわりに

今回の検討により、生物検定法による簡易測定技術は、排出ガス、ばいじん、燃え殻のダイオキシン類の規制基準適合性の判定において、技術的観点から、現行の公定法を補完する方法として適用可能なものであると評価された。

生物検定法による簡易測定技術は、上記公定法を補完する方法としての用途以外にも、日常の施設の自主管理、汚染箇所の確定、環境モニタリング、包括的な毒性評価手法としての活用など、各技術の特性を活かした様々な用途における活用が考えられる。

この技術的評価を踏まえ、今後、適用範囲及び条件、個別技術の認定のあり方などの制度上の検討や精度管理に関する検討を行った上で、これら媒体の規制基準適合性の判定における公定法を補完する方法として導入していくことが望まれる。

また、低分解能ガスクロマトグラフ質量分析計による簡易測定技術については、施設の日常管理やスクリーニングなどへの適用可能性が評価された。

今回検討した測定技術以外にも、試料採取やクリーンアップにおける種々の簡易技術、特定指標物質による測定法、分析の自動化など、ダイオキシン類測定の簡易化に向けた様々な技術開発が進められてきている。

今後とも、こうした簡易測定技術について、適切な評価を行い、更なる技術の開発・改善を促進し、積極的に環境管理技術としての活用を推進していくことが重要である。

< 参考資料 >

ダイオキシン類簡易測定法検討会検討員名簿

(五十音順、敬称略)

	氏名	所 属
	伊藤 裕康	独立行政法人国立環境研究所 化学環境研究領域計測管理研究室 主任研究員
	酒井 伸一	独立行政法人国立環境研究所 循環型社会形成推進・廃棄物研究センター センター長
	半野 勝正	千葉県環境研究センター 廃棄物・化学物質部化学物質研究室 上席研究員
	宮田 秀明	摂南大学 薬学部教授
座長	森田 昌敏	独立行政法人国立環境研究所 統括研究官
	渡邊 肇	大学共同利用機関法人自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター 助教授

ダイオキシン類簡易測定法検討会における検討経過

回	開催年月日	議 題
第1回	平成 15 年 5 月 28 日	(1)ダイオキシン類簡易測定法検討会の設置について (2)検討の進め方について (3)今後のスケジュールについて
第2回	平成 15 年 11 月 7 日	(1)第1次分析試験結果の評価について (2)第2次分析試験の実施方法について
第3回	平成 16 年 3 月 12 日	(1)応募機関からのヒアリング
第4回	平成 16 年 4 月 6 日	(1)分析試験結果の評価について (2)その他の簡易測定法の評価について (3)検討会報告書(案)について
第5回	平成 16 年 4 月 27 日	(1)これまでの議論の整理について (2)検討会報告書(案)について