

ダイオキシン類簡易測定法評価検討会 報告書

平成18年3月

環境省 水・大気環境局
総務課 ダイオキシン対策室

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	2
2 - 1 検討方法	2
2 - 1 - 1 対象技術の公募	2
2 - 1 - 2 分析試験の実施方法	2
2 - 2 検討結果	4
2 - 2 - 1 検討対象技術の分類	4
2 - 2 - 2 各技術分類の概要	5
2 - 2 - 3 分析試験結果	15
2 - 2 - 4 簡易性	36
2 - 3 まとめ	39
3 . 機器分析法によるダイオキシン類簡易測定技術の検討	43
3 - 1 検討方法	43
3 - 1 - 1 対象技術の選定	43
3 - 1 - 2 分析試験の実施方法	43
3 - 2 検討結果	44
3 - 2 - 1 検討対象技術の分類	44
3 - 2 - 2 各技術分類の概要	44
3 - 2 - 3 分析試験結果	48
3 - 2 - 4 簡易性	58
3 - 3 まとめ	59
4 . おわりに	62

< 参考資料 >

参考表1	公定法による毒性等量に対する簡易分析法による測定量(毒性等量)の比
参考表2~21	土壌試料の測定結果(生物検定法)
参考表22~39	底質試料の測定結果(生物検定法)
参考表40~44	土壌試料の測定結果(機器分析法)
参考表45~49	底質試料の測定結果(機器分析法)
参考表50-1~2	各技術の交差反応率
参考図1-1~19	異性体別構成割合(土壌試料)
参考図2-1~18	異性体別構成割合(底質試料)
参考図3-1~44	公定法による毒性等量と簡易分析法による測定量(毒性等量)の相関図(生物検定法)
参考図4-1~22	公定法による毒性等量と簡易分析法による測定量(毒性等量)の相関図(機器分析法)

< 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 (コプラナーポリクロロビフェニル)
CV :	Correlation Variability (変動係数)
DMSO :	Dimethylsulfoxide (ジメチルスルホキシド)
DRE :	Dioxin Response Element (ダイオキシン応答配列)
ELISA :	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (酵素免疫測定)
HpCDD :	Heptachlorodibenzo-p-dioxin (ヘプタクロロジベンゾ - パラ - ジオキシン)
HpCDF :	Heptachlorodibenzofuran (ヘプタクロロジベンゾフラン)
HxCDD :	Hexachlorodibenzo-p-dioxin (ヘキサクロロジベンゾ - パラ - ジオキシン)
HxCDF :	Hexachlorodibenzofuran (ヘキサクロロジベンゾフラン)
HRMS :	High Resolution Mass Spectrometer (高分解能質量分析計)
ITMS :	Ion Trap Mass Spectrometer (イオントラップ型質量分析計)
IUPAC :	International Union of Pure and Applied Chemistry (国際純正・応用化学連合)
LRMS :	Low Resolution Mass Spectrometer (低分解能質量分析計)
MS :	Mass Spectrometer / Mass Spectrometry (質量分析計/質量分析法)
OCDD :	Octachlorodibenzo-p-dioxin (オクタクロロジベンゾ - パラ - ジオキシン)
OCDF :	Octachlorodibenzofuran (オクタクロロジベンゾフラン)
PCDD :	Polychlorinated dibenzo-p-dioxin (ポリクロロジベンゾ - パラ - ジオキシン)
PCDF :	Polychlorinated dibenzofuran (ポリクロロジベンゾフラン)
PCDD/DF :	PCDD + PCDF
PCP :	Pentachlorophenol (ペンタクロロフェノール)
PCR :	Polymerase Chain Reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)
PeCDD :	Pentachlorodibenzo-p-dioxin (ペンタクロロジベンゾ - パラ - ジオキシン)
PeCDF :	Pentachlorodibenzofuran (ペンタクロロジベンゾフラン)
QMS :	Quadrupole Mass Spectrometer (四重極型質量分析計)
TeCDD :	Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (テトラクロロジベンゾ - パラ - ジオキシン)
TeCDF :	Tetrachlorodibenzofuran (テトラクロロジベンゾフラン)
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 (生体異物応答配列)

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する。これらの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評価においては、各異性体の濃度に、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)を乗じ、それらを足しあわせた値の毒性等量(TEQ)を用いている。

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について、同法第8条第2項第1号等により規定された測定法いわゆる公定法(「排ガス中のダイオキシン類の測定方法(JIS K 0311)」等)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つを測定する高度な分析法となっており、分析に多大な時間や費用を要することなどから、簡易測定法の開発・適用が大きな課題となっている。

環境省は、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ダイオキシン類の各種簡易測定法の適用可能性について検討を行った。その結果、平成16年12月にダイオキシン類対策特別措置法施行規則の一部を改正する省令(平成16年環境省令第30号)において、廃棄物焼却炉からの排出ガス、ばいじん及び燃え殻に含まれるダイオキシン類の測定の一部に生物検定法による簡易測定法の追加等を行い、平成17年9月に「ダイオキシン類対策特別措置法施行規則第2条第1項第4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)」を公布・施行した。

一方、土壌及び底質については、その汚染由来が多岐にわたり、調査対象となる地域や地点も広範となることから、当該環境媒体に対してもかねてよりその簡易測定技術の導入が期待されてきた。

このため、環境省では、平成17年1月に「ダイオキシン類簡易測定法評価検討会」(座長：森田昌敏国立環境研究所客員研究官)を設置し、生物検定法及び機器分析法により現在開発されている各種簡易測定技術について、土壌及び底質試料の測定に関する技術的検討を行ってきた。

本報告書は、これら簡易測定技術の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、生物応答あるいは生化学的応答を測定することにより、物質の活性又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、一部において利用されはじめている。

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、公募期間は、平成17年2月14日(月)から3月14日(月)までとした。

(1)測定方法

土壌、底質に含まれるダイオキシン類を測定することができる生物検定法(小型の生物、細胞又はその構成物質等を用いて、物質の活性又は量を測定する方法)による測定方法であること。实用化されていること(市販/受託の実績があること。土壌のみ又は底質のみの実績でも可)。現行のJIS及びマニュアルに示されている測定方法に比べ、測定に要する時間が短く、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。

測定方法に関する特許権の所有者が、非差別的かつ合理的な条件でいかなる者に対しても当該特許権の実施を許諾することを表明できること。

現行公定法との比較データが対象とする媒体において20以上あること。

(2)応募機関

測定方法(前処理及びダイオキシン類の定量の方法)の開発者/機関(以下「開発者等」という)又は当該開発者等から応募の依頼を受けた者/機関(以下「依頼を受けた者等」という)であること。ただし、ダイオキシン類の定量の方法のみの開発者等(依頼を受けた者等を含む)については、前処理方法の開発者等(依頼を受けた者等を含む)と共同で、前処理方法の開発者等の特定が困難な通常の前処理方法である場合は、当該前処理方法による前処理を実施することができる者/機関(以下「前処理実施可能者等」という)と共同で応募すること。(なお、前処理方法が2以上ある場合は、当該測定方法にとって最適な前処理方法の開発者等又は前処理実施可能者等と共同で応募すること。)

1つの測定方法*の応募は、1応募機関(共同応募機関を含む)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

本分析試験では、様々な由来により汚染されている土壌及び底質試料に対して、生物検定法の技術的な適用性を評価するため、焼却に由来する汚染が推定される土壌試料を2地域からそれぞれ7試料及び4試料、PCB汚染油の漏洩に由来する汚染が認められる土壌試料を1地域から4試料、農薬に由来する汚染が推定される土壌試料を1地域から4試料、農薬に由来する汚染が推定される底質試料を1水域から7試料、農薬・PCB・焼却に由来する汚染が推定される底質試料を1水域から3試料、PCB・PCPに由来する汚染が推定される底質試料を1水域から4試料及び工場排水に由来する汚染が推定される底質試料を

1水域から4試料を採取し、適切な濃度範囲になるように調製したものの計37試料を各応募機関に配布した。これらの試料は各機関において通常行う方法で分析し、その結果について環境省に報告することとした。各分析試験の実施方法の概要は以下のとおりである。

目的	： 様々な汚染由来試料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	： 異なる汚染由来が推定される土壌試料及び底質試料
試料数	： 土壌19試料、底質18試料
試料配布	： 平成17年5月27日(金)
結果報告	： 平成17年7月15日(金)

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土壌試料については参考図1 - 1～参考図1 - 19、底質試料については参考図2 - 1～参考図2 - 18に示す。

表1 分析試験に供した共通試料の概要

【土壌試料】			【底質試料】		
推定される汚染の由来	試料番号	ダイオキシン類濃度 (pg-TEQ/g)	推定される汚染の由来	試料番号	ダイオキシン類濃度 (pg-TEQ/g)
焼却	A - 1	70	農薬	E - 1	110
	A - 2	1500		E - 2	240
	A - 3	2700		E - 3	71
	A - 4	8700		E - 4	1500
	A - 5	29000		E - 5	180
	A - 6	220		E - 6	380
	A - 7	840		E - 7	2400
焼却	B - 1	2100	農薬・PCB・ 焼却	F - 1	180
	B - 2	15		F - 2	550
	B - 3	450000		F - 3	24
	B - 4	280	PCB・PCP	G - 1	100
PCB汚染油 漏洩	C - 1	5800		G - 2	61
	C - 2	65000		G - 3	170
	C - 3	240000		G - 4	11
	C - 4	49000	工場排水	H - 1	180
農薬	D - 1	110		H - 2	120
	D - 2	45000		H - 3	2.8
	D - 3	71		H - 4	28
	D - 4	2900			

(注)ダイオキシン類濃度は2分析機関の平均値

2 - 2 検討結果

2 - 2 - 1 検討対象技術の分類

応募のあった15機関15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14機関14技術を本検討の対象とした。

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、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及びダイオキシン類に対して結合能を有するペプチドを用いた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1)。

本検討においては、これら5つの技術分類毎に技術的適用性について調査した。

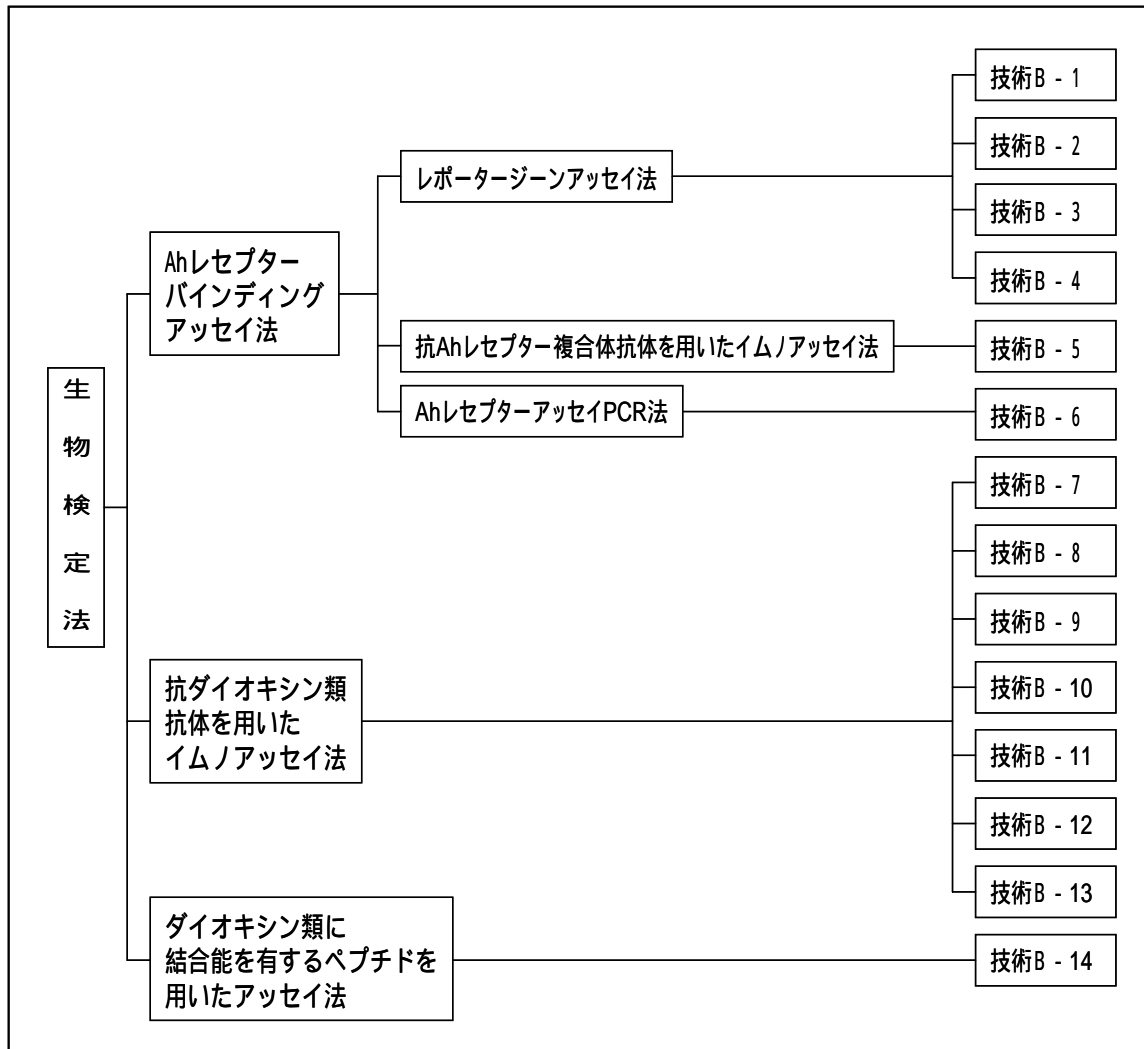


図1 検討対象技術の分類

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。

(i)レポーター遺伝子アッセイ法(技術B - 1~4)

<測定原理>

ダイオキシン類を細胞に曝露すると、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、さらにARNTと複合体を形成し、DNA上のXRE又はDREと呼ばれる部位に結合して薬物代謝酵素のチトクロムP450酵素などを誘導し、毒性を発現する。

レポーター遺伝子アッセイ法は、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、XREの制御下に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反応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B - 1はヒト肝がん細胞由来の細胞、技術B - 2及び技術B - 4はマウス肝がん細胞由来の細胞、技術B - 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 レポーター遺伝子アッセイ法の比較

技術	レポーター遺伝子導入細胞	レポーター遺伝子
技術B - 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B - 2	H1L6.1c2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B - 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B - 4	HeB5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/DFは、毒性等価係数(WHO-TEF)と比べやや高めであるが、WHO-TEFと良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、比較的類似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(図2、表3、参考表50 - 1、参考表50 - 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B - 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B - 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にはバキュロウイ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塩素化から8塩素化のPCDD/DF及びCo-PCBIは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。また、臭素系ダイオキシン類や一部の多環芳香族炭化水素とも交差反応性を示す(図2、表3、参考表50 - 1、参考表50 - 2を参照)。

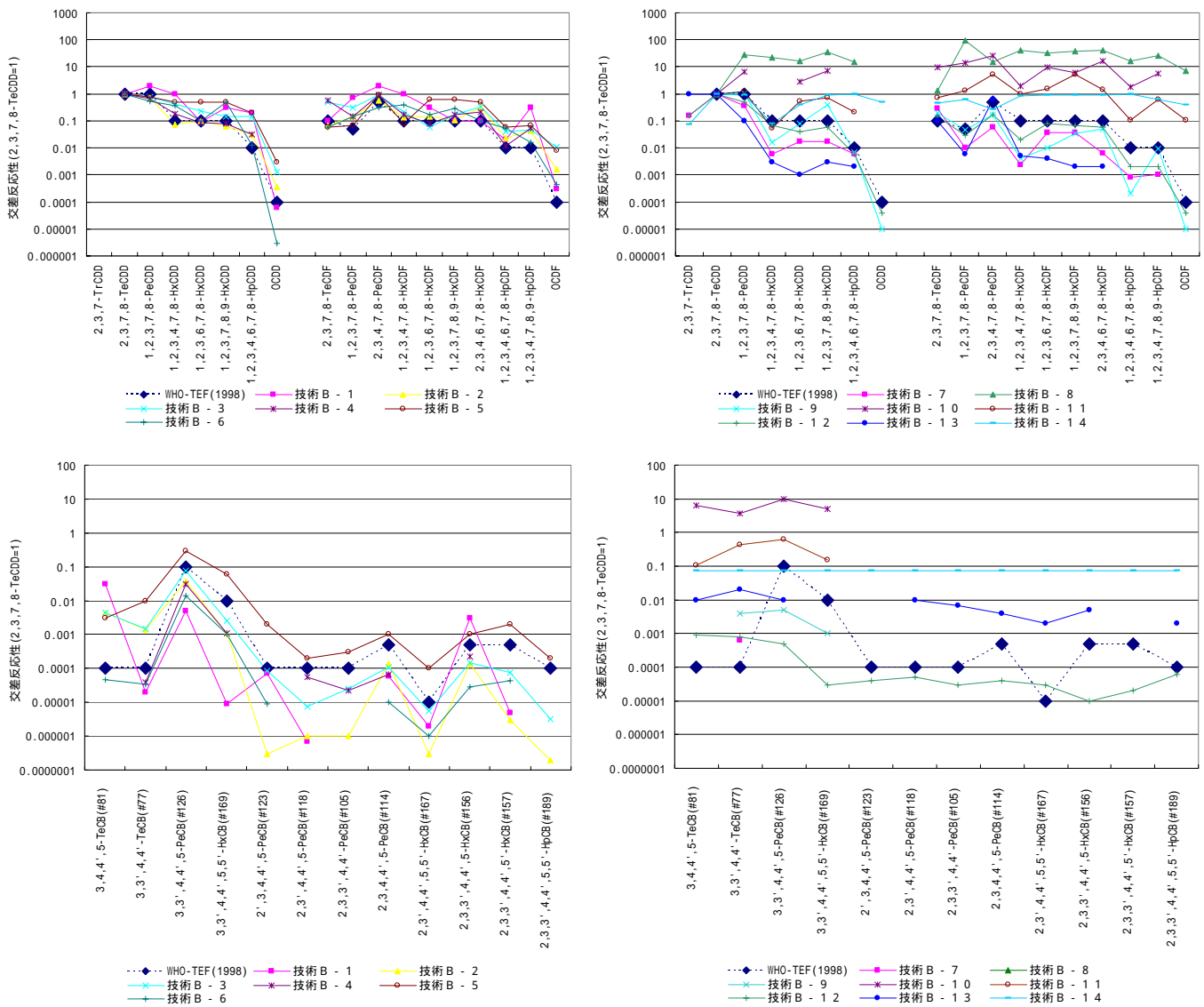


図2 各技術の交差反応性

()AhレセプターアッセイPCR法(技術B - 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プロンプ(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。

*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/DFはWHO-TEFと比較的似た傾向の交差反応性を示す。Co-PCBはWHO-TEFより低めであるが、比較的似た傾向の交差反応性を示す(図2、表3、参考表50 - 1、参考表50 - 2を参照)。

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B - 1	PCDD/DFはWHO-TEFよりやや高め、Co-PCBはやや低めであるが、比較的似た傾向の交差反応性を示す。ただし、3,3',4,4',5,5'-HxCB [#169]、2,3',4,4',5-PeCB [#118]及び2,3,3',4,4',5'-HxCB [#157]に対する反応性はWHO-TEFより低い。
技術B - 2	PCDD/DFはWHO-TEFと良く一致した交差反応性を示す。Co-PCBはやや低めであるが、比較的似た傾向の交差反応性を示す。ただし、2',3,4,4',5-PeCB [#123]、2,3',4,4',5-PeCB [#118]、2,3,3',4,4'-PeCB [#105]、2,3,3',4,4',5'-HxCB [#157]及び2,3,3',4,4',5,5'-HpCB [#189]に対する反応性はWHO-TEFより低い。臭素系ダイオキシン類とも交差反応性を示す。
技術B - 3	PCDD/DFはWHO-TEFよりやや高めであるが、良く一致した交差反応性を示す。Co-PCBはやや低めであるが、比較的似た傾向の交差反応性を示す。臭素系ダイオキシン類や一部の多環芳香族炭化水素とも交差反応性がある。
技術B - 4	PCDD/DFはWHO-TEFと良く一致した交差反応性を示す。Co-PCBはやや低めであるが、比較的似た傾向の交差反応性を示す。
技術B - 5	6塩素化から8塩素化のPCDD/DF及びCo-PCBはWHO-TEFよりやや高めであるが、比較的似た傾向の交差反応性を示す。臭素系ダイオキシン類や一部の多環芳香族炭化水素とも交差反応性を示す。
技術B - 6	PCDD/DFはWHO-TEFと比較的似た傾向の交差反応性を示す。Co-PCBはWHO-TEFよりやや低めであるが、比較的似た傾向の交差反応性を示す。多環芳香族炭化水素とはほとんど反応しない。
技術B - 7	PCDD/DFはWHO-TEFよりやや低めであるが、比較的似た傾向の交差反応性を示す。OCDD、OCDF、Co-PCB及び多環芳香族炭化水素とはほとんど反応しない。
技術B - 8	5塩素化から7塩素化のPCDD/DFと高い交差反応性を示す。他の異性体と比較して2,3,7,8-TeCDDの交差反応性は低く、Co-PCB及び多環芳香族炭化水素とはほとんど反応性がない。
技術B - 9	PCDD/DFはWHO-TEFよりやや低めであるが、比較的似た傾向の交差反応性を示す。Co-PCBとの反応性はやや低い。
技術B - 10	5塩素化及び6塩素化のPCDFと高い交差反応性を示すが、他の異性体と比較して2,3,7,8-TeCDDの交差反応性は低い。non-ortho体のCo-PCBとは高い反応性を示すが、その他のCo-PCBに対してはほとんど反応性がない。
技術B - 11	5塩素化及び6塩素化のPCDFと高い交差反応性を示す。non-ortho体のCo-PCBとは反応性を示すが、その他のCo-PCBに対してはほとんど反応性がない。
技術B - 12	PCDD/DFはWHO-TEFと良く一致した交差反応性を示す。Co-PCBはやや低めであるが、比較的似た傾向の交差反応性を示す。ただし、3,3',4,4',5-PeCB [#126]及び3,3',4,4',5,5'-HxCB [#169]に対する反応性はWHO-TEFより低い。臭素系ダイオキシン類とも交差反応性を示す。
技術B - 13	6塩素化から8塩素化のPCDD及びPCDFはWHO-TEFより低い交差反応性を示すが、Co-PCBとは高い反応性を示す。
技術B - 14	6塩素化から8塩素化のPCDDはWHO-TEFよりも高い交差反応性を示す。また、PCDF及びCo-PCBの反応性も高い。一部の多環芳香族炭化水素とも交差反応性を示す。

(注) []内は、IUPAC No.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B - 7~13)

<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B - 7、技術B - 9及び技術B - 12で用いている抗体は、PCDD/DFに対してWHO-TEFと比較的類似した交差反応性を示す(図2、表3、参考表50 - 1、参考表50 - 2を参照)。

表4 イムノアッセイ法等の比較

技術	測定方法	測定対象物質	抗体等	標識物質	測定波長
技術B - 5	間接競合 酵素免疫測定法	PCDD、PCDF、 Co-PCB	マウス抗ARNT ホリクロナル抗体	ALP (アルカリフォスファターゼ)	405nm
技術B - 7	間接競合 酵素免疫測定法	PCDD、PCDF	ウサギ抗ダイオキシン ホリクロナル抗体	HRP(西洋ワサビ ペルオキシダーゼ)	450nm
技術B - 8	間接競合 酵素免疫測定法	PCDD、PCDF	マウス抗ダイオキシン モノクロナル抗体	HRP(西洋ワサビ ペルオキシダーゼ)	450nm (450/650nm)
技術B - 9	直接競合 酵素免疫測定法	PCDD、PCDF	ウサギ抗ダイオキシン ホリクロナル抗体	HRP(西洋ワサビ ペルオキシダーゼ)	450nm
技術B - 10	間接競合 酵素免疫測定法	PCDD、PCDF	マウス抗ダイオキシン モノクロナル抗体	HRP(西洋ワサビ ペルオキシダーゼ)	450nm
技術B - 11	結合平衡除外 蛍光免疫測定法	PCDD、PCDF、 Co-PCB	マウス抗ダイオキシン モノクロナル抗体	Cy5	665nm (励起650nm)
技術B - 12	間接競合 酵素免疫測定法	PCDD、PCDF、 Co-PCB	マウス抗ダイオキシン モノクロナル抗体	HRP(西洋ワサビ ペルオキシダーゼ)	450nm (450/650nm)
技術B - 13	間接競合 酵素免疫測定法	PCDD、PCDF	ウサギ抗ダイオキシン ホリクロナル抗体	HRP(西洋ワサビ ペルオキシダーゼ)	450nm (450/650nm)
技術B - 14	直接競合測定法	PCDD、PCDF	ダイオキシン類認識 合成ペプチド	4-フルオロ-7-ニトロベン ゾフラザン(NBD-F)	540nm (励起470nm)

()ダイオキシン類に対して結合能を有するペプチドを用いたアッセイ法(技術B - 14)

<測定原理>

ダイオキシン類に親和性を持つペプチドをポリスチレンビーズに共有結合させ、ダイオキシン類に対する蛍光色素を標識した競合物質を試料中のダイオキシン類と競合的に結合反応させ、蛍光顕微鏡により染色されたビーズの画像を撮影し、画像解析ソフトウェアによって、取得したビーズ画像の蛍光強度の消光率からダイオキシン類濃度を算出するものである(表4)。

<交差反応性>

6塩素化から8塩素化のPCDDはWHO-TEFよりも高い交差反応性を示し、PCDF及びCo-PCBの反応性も高い。

一部の多環芳香族炭化水素とも交差反応性を示す(図2、表3、参考表50 - 1、参考表50 - 2を参照)。

(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、ソックスレー抽出を行っている技術(技術B - 3、技術B - 8、技術B - 10、技術B - 12~14)の他に、高圧流体抽出を行っている技術(技術B - 1、技術B - 5~7及び技術B - 11)がある。さらに、公定法に記載されていない方法であるが、超音波抽出(技術B - 2及び技術B - 4)、還流抽出(技術B - 4)及びかく拌抽出(技術B - 9)を行っているところもある。

また、クリーンアップは、多層シリカゲルカラムにアルミナカラム又は活性炭シリカゲルカラムなどを組み合わせて行っているものが多い(技術B - 5~8、技術B - 10、技術B - 13及び技術B - 14)が、硫酸シリカゲルカラムに活性炭カラムを組み合わせたもの(技術B - 1、技術B - 2及び技術B - 9)、硫酸シリカゲルカラムのみ(技術B - 3)、多層シリカゲルカラムのみ(技術B - 4)、自動前処理装置を用いる方法(技術B - 11)及びフタロシアニン固定化シリカゲルカラムを用いる方法(技術B - 12)がある。

表5 各技術の前処理方法

技術	抽出		クリーンアップ	
技術B-1	高圧流体抽出(トルエン)		硫酸シリカゲル/活性炭連結カラム	
技術B-2	超音波抽出(メタノール/トルエン) セライト545吸着 超音波抽出(トルエン)		33%硫酸シリカゲル/活性炭連結カラム	
技術B-3	ソックスレー抽出(トルエン)		二層硫酸シリカゲルカラム	
技術B-4	土壌	加熱超音波抽出(トルエン)	変則多層シリカゲルカラム	
	底質	酢酸処理 還流抽出(トルエン)		
技術B-5	高圧流体抽出(トルエン)		土壌	硫酸処理 多層シリカゲルカラム 又は、硫酸処理 多層シリカゲルカラム 塩基性アルミナカラム
			底質	硫酸処理 多層シリカゲルカラム 塩基性アルミナカラム 硫酸シリカゲルカラム
技術B-6	高圧流体抽出(トルエン)		硫酸処理 多層シリカゲルカラム アルミナカラム	
技術B-7	高圧流体抽出(トルエン)		多層シリカゲルカラム 活性炭シリカゲルカラム	
技術B-8	ソックスレー抽出(トルエン)		硫酸処理 銅チップ処理(必要に応じて) 多層シリカゲル/リバーシブル活性炭連結カラム	
技術B-9	かく拌抽出(アセトン、ヘキサン)		硫酸シリカゲル/活性炭連結カラム	
技術B-10	ソックスレー抽出(トルエン)		多層シリカゲルカラム アルミナカラム	
技術B-11	高圧流体抽出(トルエン)		多層シリカゲルカラム 自動前処理装置	
技術B-12	ソックスレー抽出(トルエン)		多層シリカゲルカラム(必要に応じて還元銅を上部に積層) フタロシアニン固定化シリカゲルカラム	
技術B-13	ソックスレー抽出(トルエン)		硫酸処理 多層シリカゲルカラム アルミナカラム	
技術B-14	ソックスレー抽出(トルエン)		多層シリカゲルカラム アルミナカラム	

(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。

標準物質として、技術B - 1～6、技術B - 9及び技術B - 14では2,3,7,8-TeCDDを使用しているが、技術B - 10及び技術B - 11では2,3,4,7,8-PeCDFを、技術B - 13では2,3,7-TrCDDを使用している。また、技術B - 7、技術B - 8及び技術B - 12では、ダイオキシン類の代替物質を使用している。

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B - 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B - 1は一次回帰式、技術B - 2はHillの式、技術B - 3はシグモイド曲線の回帰式、技術B - 4はロジスティック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B - 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B - 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。

() 抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術B - 7～13)

技術B - 7では、標準物質としてTMDD(2,3,7-トリクロロ-8-メチルジベンゾ-p-ジオキシン)を用いている。

技術B - 8では、抗ダイオキシン類抗体と2,3,4,7,8-PeCDFとの反応性よりも100倍ほど感度が低いものの、2,3,4,7,8-PeCDF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-グリシルグリシンを用いている。

技術B - 9では、2,3,7,8-TeCDDを用いており、技術B - 10及び技術B - 11では、2,3,4,7,8-PeCDFを用いている。

技術B - 12では、2,7,8-TrCDA(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)を用いている。

技術B - 13では、2,3,7,8-TeCDDと同程度の交差反応性を示す2,3,7-TrCDDを用いている。

いずれの技術も検量線は、4-Parameterの式を用いて作成している。

() ダイオキシン類に対して結合能を有するペプチドを用いたアッセイ法(技術B - 14)

標準物質は、2,3,7,8-TeCDDを用いている。また、検量線は4-Parameterの式を用いて作成している。

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B - 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B - 2	2,3,7,8-TeCDD	$V = V_{\max} \times [S]^n / (K_m^r + [S]^n) + b$ 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 (ダイオキシン類濃度) 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B - 3	2,3,7,8-TeCDD	$V = a_0 / (1 + (x/a_1)^{a_2})$ Y : 発光量 (DMSOブランク補正済み)、X : TeCDD濃度 (pM/well)、 a ₀ : 最大発光量、a ₁ : 曲線のEC ₅₀ (pM/well)、a ₂ : 曲線の勾配 (プレート毎にa ₀ 、a ₁ 、a ₂ の最適化を図る)
技術B - 4	2,3,7,8-TeCDD	$Y = \frac{\alpha}{1 + \beta \times e^{-X}} + \delta$ Y : 発光量Net値、X : 2,3,7,8-TeCDD濃度 (pg/μl)
技術B - 5	2,3,7,8-TeCDD	$Y = m_1 X^3 + m_2 X^2 + m_3 X + b$ Y : 試料中の値 (pg-DEQ)、X : 吸光度 (mOD)、m ₁ ~ m ₃ 、b : 係数
技術B - 6	2,3,7,8-TeCDD	各測定ポイントを直線で結ぶ
技術B - 7	TMDD (2,3,7-トリカゴロ-8-メチルベンゾ-p-ジチン)	$Y = ((A - D) / (1 + (X/C)^B)) + D$ 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B - 8	TCP-ケリルグリシン (2,4,5-トリカゴロフェノール-ケリルグリシン)	$Y = ((A - D) / (1 + (X/C)^B)) + D$ 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B - 9	2,3,7,8-TeCDD	$Y = ((A - D) / (1 + (X/C)^B)) + D$ A : 上部漸近線のY値、B : 曲線部分の傾き、C : 曲線の50%におけるX値、 D : 下部漸近線のY値、Y : 対照コントロールの吸光度に対する吸光度、 X : チューブ当りの濃度 (pg)
技術B - 10	2,3,4,7,8-PeCDF	$Y = ((A - D) / (1 + (X/C)^B)) + D$ A : 0濃度のB/B ₀ %、B : 50%阻害濃度 (IC ₅₀)での傾き、C : IC ₅₀ 、 D : 過剰濃度でのB/B ₀ %、Y : 吸光度 (Abs. 450nm)、X : 試料中の量 (ng/mL)
技術B - 11	2,3,4,7,8-PeCDF	$Y = ((A - D) / (1 + (X/C)^B)) + D$ A : 最大センサ測定結果B/B ₀ 、B : 曲線部分の傾き、C : 50%阻害濃度 (IC ₅₀)、 D : 最小センサ測定結果B/B ₀ 、Y : センサ測定結果 (665nm)、X : 試料中の量 (ng/mL)
技術B - 12	2,7,8-TrCDA (3-(2,7,8-トリカゴロベンゾ [1,4]ジチン-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 (OD at 450nm)、X : 試料の濃度 (pg/ml)
技術B - 13	2,3,7-TrCDD	$Y = a \times e^{bX}$ Y : 標準物質質量、X : 吸光度
技術B - 14	2,3,7,8-TeCDD	$Y = ((A - D) / (1 + (X/C)^B)) + D$ A : 0濃度の消光度、B : 曲線部分の傾き、C : 50%阻害濃度 (IC ₅₀)、 D : 最小消光度 (バックグラウンド値)、Y : 消光度、X : 試料中の量 (pg/well)

(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。

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などにより設定している。定量範囲の設定方法は各技術により異なるが、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B - 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を分取割合等で試料へ-スに換算	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を分取割合等で試料へ-スに換算	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を分取割合等で試料へ-スに換算
技術B - 2	ブランク値の標準偏差の3倍の濃度を分取割合等で試料へ-スに換算	ブランク値の標準偏差の10倍の濃度を分取割合等で試料へ-スに換算	標準物質を6回繰り返し測定した時の変動係数が30%以内となる濃度を分取割合等で試料へ-スに換算
技術B - 3	ブランク値の標準偏差の3倍の濃度を分取割合等で試料へ-スに換算	ブランク値の標準偏差の10倍の濃度を分取割合等で試料へ-スに換算	EC ₂₀ 付近の値(2~3pM/well)を採用し、この範囲から外れる場合は、前後の測定量を平均して用いる
技術B - 4	設定せず	ブランク値の平均値にブランク値の標準偏差のn倍(土壌:n=3、底質:n=2)を加えた値と、標準溶液の定量下限(0.2pg/μl DMSO/well)から分取割合等で試料へ-スに換算した値のうち、高い方の値	アッセイの定量上限値(5pg/well)を分取割合等で試料へ-スに換算
技術B - 5	アッセイの検出下限値(1pg/well)を分取割合等で試料へ-スに換算	検出下限値の4倍の濃度	アッセイの定量上限値(64pg/well)を分取割合等で試料へ-スに換算
技術B - 6	設定せず	アッセイの定量下限値(63pg/ml)を分取割合等で試料へ-スに換算	アッセイの定量上限値(2000pg/ml)を分取割合等で試料へ-スに換算
技術B - 7	設定せず	阻害率10%を示す濃度(IC10)を分取割合等で試料へ-スに換算	阻害率90%を示す濃度(IC90)を分取割合等で試料へ-スに換算
技術B - 8	検量線の最大吸光度(ブランク)の90%に相当する毒性等量を試料へ-スに換算	検量線の最大吸光度(ブランク)の80%に相当する毒性等量を試料へ-スに換算	阻害率80%を示す濃度(IC80)を分取割合等で試料へ-スに換算
技術B - 9	設定せず	アッセイの検出下限値(4pg/tube)を分取割合等で試料へ-スに換算	アッセイの定量上限値(100pg/tube)を分取割合等で試料へ-スに換算
技術B - 10	ELISA定量値の相対標準偏差(RSD%)が30%となる点(1.8ng/mL)を分取割合等で試料へ-スに換算	ELISA定量値の相対標準偏差(RSD%)が10%となる点(3.1ng/mL)を分取割合等で試料へ-スに換算	検量線の上限濃度(50ng/mL)を分取割合等で試料へ-スに換算
技術B - 11	B/B ₀ 値が0.9を示す(B ₀ - (3 × RSD)に相当)時の標準物質濃度を分取割合等で試料へ-スに換算	B/B ₀ 値が0.85を示す時の標準物質濃度を分取割合等で試料へ-スに換算	B/B ₀ 値が0.15を示す時の標準物質濃度を分取割合等で試料へ-スに換算
技術B - 12	検量線において吸光度の阻害率10%を示す濃度を分取割合等で試料へ-スに換算	検量線において吸光度の阻害率20%を示す濃度を分取割合等で試料へ-スに換算	検量線において吸光度の阻害率80%を示す濃度を分取割合等で試料へ-スに換算
技術B - 13	定量下限値の1/3の濃度	検量線の最低濃度(0.21ng/well)を分取割合等で試料へ-スに換算	検量線の上限濃度(50ng/well)を分取割合等で試料へ-スに換算
技術B - 14	検量線作成時の最大輝度密度の標準偏差の3倍を最大輝度密度の値から減じた値を検量線の式に代入	検量線作成時の最大輝度密度の標準偏差の10倍を最大輝度密度の値から減じた値を検量線の式に代入	最小輝度密度の値に最大輝度密度の標準偏差の3倍を加えて検量線の式に代入

(5) 測定量(毒性等量)への換算方法

各技術の測定量(毒性等量)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土壌、底質は、他の媒体に比べて比較的異性体組成の変動が大きいいため、公定法による毒性等量と生物検定法による測定量(毒性等量)の間の相関関係は、必ずしも良好とは言えない場合がある。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、測定量(毒性等量)を求めるために、汚染由来別に異なる換算方法を設定している技術もある。

() レポータージーンアッセイ法(技術B - 1~4)

いずれの技術も、媒体毎に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。

技術B - 1は、実測濃度が公定法による毒性等量よりも大きい値となるため、換算係数は1よりも小さい値となっている。

技術B - 2は、分画処理によりPCDD/DF画分とCo-PCB画分に分けて測定を行っており、それぞれ異なる換算係数を設定している。PCDD/DF画分の換算係数は1よりも小さい値だが、Co-PCB画分の換算係数は1よりも大きい値となっている。

技術B - 3では、PCB汚染油漏洩由来の土壌試料について、他の土壌試料とは異なる換算係数を設定している。

技術B - 4の換算係数は、1に近い値となっている。

() 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B - 5)

自社の測定データをもとに、土壌試料は1/20、底質試料は1/30と換算係数を設定している。実測濃度が公定法による毒性等量よりも大きい値となるため、換算係数は1より小さい値となっている。

() AhレセプターアッセイPCR法(技術B - 6)

自社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。また、アッセイ間で感度に変動があることから、アッセイ間補正係数を用いて規格化している。

() 抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術B - 7~13)

技術B - 7、技術B - 12及び技術B - 13は、換算を行っていない。

技術B - 8は、自社の測定データをもとに、媒体毎の換算式を設定しているが、累乗近似式を使用しているため、実測濃度からの直接換算はできない。

技術B - 9は、自社の測定データをもとに、媒体毎の換算係数を設定しており、実測濃度が公定法による毒性等量よりも小さい値となるため、換算係数は1より大きい値となっている。

技術B - 10は、自社の測定データをもとに、媒体毎の換算係数を設定しており、実測濃度が公定法による毒性等量よりも大きい値となるため、換算係数は1より小さい値となっている。

技術B - 11は、自社の測定データをもとに媒体毎の換算係数又は換算式を設定しているが、特に土壌試料については、焼却汚染由来、農薬汚染由来及びPCB汚染油漏洩由来のそれぞれの系列について、異

なる換算係数を設定している。

()ダイオキシン類に対して結合能を有するペプチドを用いたアッセイ法(技術B - 14)

自社の測定データをもとに土壌の換算係数を設定している。実測濃度が公定法による毒性等量よりも大きい値となるため、換算係数は1より小さい値となっている。

表8 各技術の測定量(毒性等量)への換算方法

技術	土壌	底質
技術 B - 1	測定量(毒性等量) = 実測濃度 / 4.8	測定量(毒性等量) = 実測濃度 / 7.5
技術 B - 2	PCDD/DF画分 測定量(毒性等量) = 実測濃度 × 0.346 Co-PCB画分 測定量(毒性等量) = 実測濃度 × 2.939	PCDD/DF画分 測定量(毒性等量) = 実測濃度 × 0.226 Co-PCB画分 測定量(毒性等量) = 実測濃度 × 3.206
技術 B - 3	試料A系列、試料B系列、試料D系列 測定量(毒性等量) = 実測濃度 / 2.88 試料C系列 測定量(毒性等量) = 実測濃度 / 0.686	測定量(毒性等量) = 実測濃度 / 2.55
技術 B - 4	測定量(毒性等量) = (実測濃度 - 0.00966) / 0.924	測定量(毒性等量) = (実測濃度 - 0.0139) / 1.36
技術 B - 5	測定量(毒性等量) = 実測濃度 / 20	測定量(毒性等量) = 実測濃度 / 30
技術 B - 6	測定量(毒性等量) = 1.0 × 実測濃度 × A A : アッセイ間補正係数	測定量(毒性等量) = 1.0 × 実測濃度 × A
技術 B - 7	換算は行わない	
技術 B - 8	TEQ=13.373 × C ^{1.0058} × V/F	TEQ=15.520 × C ^{0.9106} × V/F
	TEQ : pg-TEQ/mL、C : 希釈系列1mL当りの標準物質相当量(μg-TCP/mL) × 希釈系列希釈倍数、 V : 最終定容量、F : 分取量	
技術 B - 9	測定量(毒性等量) = 実測濃度 × 3.5048	測定量(毒性等量) = 実測濃度 × 5.9852
技術 B - 10	測定量(毒性等量) = 実測濃度 × 0.0715	測定量(毒性等量) = 実測濃度 × 0.0279
技術 B - 11	試料A系列 測定量(毒性等量) = 実測濃度 / 4.753 試料B系列、試料D系列 測定量(毒性等量) = 実測濃度 / 7.683 試料C系列 測定量(毒性等量) = 実測濃度 / 26.026	測定量(毒性等量) = (標準物質相当量 × 希釈倍率 - 1.5353) / 11.6632 × 調製液量 / 採取量 調製液量 : 測定対象とする前処理済み試料溶液の液量 採取量 : 前処理済み試料溶液に含まれる実試料量
技術 B - 12	換算は行わない	
技術 B - 13	換算は行わない	
技術 B - 14	測定量(毒性等量) = 実測濃度 × 0.04	

(注) 技術B - 13では土壌を測定対象としていない。技術B - 14では底質を測定対象としていない。

2 - 2 - 3 分析試験結果

(1)測定結果

【土壌試料】

土壌試料の測定結果を参考表2～21に示す。

()レポータージーンアッセイ法(技術B - 1～4)

すべての試料の測定量(毒性等量)が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B - 5)

試料B - 2(15pg-TEQ/g)、試料C - 2(65000pg-TEQ/g)、試料C - 3(240000pg-TEQ/g)及び試料C - 4(49000pg-TEQ/g)の測定量(毒性等量)に定量下限値未満のものがあつた。それ以外の試料の測定量(毒性等量)については、すべて定量下限値以上であつた。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術B - 6)

すべての試料の測定量(毒性等量)が定量下限値以上であつた。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術B - 7～12)

技術B - 7、技術B - 9～10は、すべての試料の測定量(毒性等量)が定量下限値以上であつた。

技術B - 8は、試料B - 2(15pg-TEQ/g)及び試料D - 3(71pg-TEQ/g)の測定量(毒性等量)が定量下限値未満であり、それ以外の試料の測定量(毒性等量)は定量下限値以上であつた。

技術B - 11は、試料B - 2(15pg-TEQ/g)の測定量(毒性等量)が定量下限値未満であり、それ以外の試料の測定量(毒性等量)は定量下限値以上であつた。

技術B - 12は、試料B - 2(15pg-TEQ/g)、試料D - 1(110pg-TEQ/g)及び試料D - 3(71-pg-TEQ/g)の測定量(毒性等量)が定量下限値未満であり、それ以外の試料の測定量(毒性等量)は定量下限値以上であつた。

()ダイオキシン類に対して結合能を有するペプチドを用いたアッセイ法(技術B - 14)

試料A - 1(70pg-TEQ/g)、試料A - 6(220pg-TEQ/g)、試料A - 7(840pg-TEQ/g)、試料B - 1(2100pg-TEQ/g)、試料B - 2(15pg-TEQ/g)、試料B - 4(280pg-TEQ/g)、試料D - 1(110g-TEQ/g)、試料D - 3(71pg-TEQ/g)及び試料D - 4(2900pg-TEQ/g)の測定量(毒性等量)に定量下限値未満のものがあつた。それ以外の試料の測定量(毒性等量)は定量下限値以上であつた。

【底質試料】

底質試料の測定結果を参考表22～39に示す。

()レポータージーンアッセイ法(技術B - 1～4)

技術B - 1、技術B - 3及び技術B - 4は、すべての試料の測定量(毒性等量)が定量下限値以上であつた。

技術B - 2は、試料H - 3(2.8pg-TEQ/g)のPCB画分における測定量(毒性等量)が定量下限値未満であり、それ以外の試料の測定量(毒性等量)は定量下限値以上であつた。

()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B - 5)

試料G - 4(11pg-TEQ/g)及び試料H - 3(2.8pg-TEQ/g)の測定量(毒性等量)が定量下限値未満であり、それ以外の試料の測定量(毒性等量)は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B - 6)

すべての試料の測定量(毒性等量)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B - 7~13)

技術B - 7、技術B - 10及び技術B - 13は、すべての試料の測定量(毒性等量)が定量下限値以上であった。

技術B - 8は、試料F - 1(180pg-TEQ/g)、試料F - 3(24pg-TEQ/g)、試料G - 2(61pg-TEQ/g)、試料G - 4(11pg-TEQ/g)、試料H - 3(2.8pg-TEQ/g)及び試料H - 4(28pg-TEQ/g)の測定量(毒性等量)に定量下限値未満のものがあつたが、それ以外の試料の測定量(毒性等量)は定量下限値以上であった。

技術B - 9は、試料E - 3(71pg-TEQ/g)、試料F - 3(24pg-TEQ/g)、試料G - 4(11pg-TEQ/g)、試料H - 3(2.8pg-TEQ/g)及び試料H - 4(28pg-TEQ/g)の測定量(毒性等量)に定量下限値未満のものがあつたが、それ以外の試料の測定量(毒性等量)は定量下限値以上であった。

技術B - 11は、試料F - 3(24pg-TEQ/g)、試料G - 1(100pg-TEQ/g)、試料G - 2(61pg-TEQ/g)、試料G - 4(11pg-TEQ/g)及び試料H - 3(2.8pg-TEQ/g)の測定量(毒性等量)に定量下限値未満のものがあつたが、それ以外の試料の測定量(毒性等量)は定量下限値以上であった。

技術B - 12は、試料E - 1(110pg-TEQ/g)、試料E - 3(71pg-TEQ/g)、試料E - 4(1500pg-TEQ/g)、試料E - 5(180pg-TEQ/g)、試料E - 6(380pg-TEQ/g)、試料H - 3(2.8pg-TEQ/g)の測定量(毒性等量)に定量下限値未満のものがあつたが、それ以外の試料の測定量(毒性等量)は定量下限値以上であった。

技術B - 13は、試料H - 1(180pg-TEQ/g)及び試料H - 4(28pg-TEQ/g)の測定量(毒性等量)が定量下限値未満であり、それ以外の試料の測定量(毒性等量)は定量下限値以上であった。

(2)適用可能性の検討

各技術の適用可能性について、公定法との比較、定量下限及び測定量(毒性等量)のばらつきの3つの観点から検討した。

(ア)公定法との比較

公定法比

【土壌試料】

土壌試料について、公定法による毒性等量に対する各技術の測定量(毒性等量)の比率をまとめたものを表9~11に示す。

土壌試料の測定量(毒性等量)は、Ahレセプターバイディングアッセイ法では、公定法による毒性等量よりも高い値を示す傾向が見られた。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、公定法による毒性等量よりも低い値となるものと高い値となるものがあつた。特にPCB汚染油

漏洩由来の試料(試料C系列)については、もともとPCBに対する交差反応性が低いため、大幅に低い値を示すものが多く見られた。

表9 公定法による毒性等量に対する各技術の測定量(毒性等量)の比率(試料A系列)

	A - 1	A - 2	A - 3	A - 4	A - 5	A - 6	A - 7
公定法による毒性等量 (pg-TEQ/g)	70	1500	2700	8700	29000	220	840
技術 B - 1	1.2	1.0	1.1	1.2	1.3	1.7	1.2
技術 B - 2	2.0	2.0	1.9	1.7	1.5	2.4	2.4
技術 B - 3	1.2	1.5	1.7	1.1	1.3	2.3	2.0
技術 B - 4	2.4	2.0	1.8	1.2	1.6	2.3	3.3
技術 B - 5	0.51	0.59	0.73	0.61	0.67	1.2	0.81
技術 B - 6	0.89	2.6	2.8	1.0	1.5	6.8	5.2
技術 B - 7	5.5	2.6	1.4	1.6	2.2	6.7	2.1
技術 B - 8	1.1	0.68	0.86	0.78	0.64	0.52	0.82
技術 B - 9	1.7	2.0	1.6	1.6	1.0	1.9	1.4
技術 B - 10	1.4	0.96	0.95	0.86	0.86	1.4	1.2
技術 B - 11	1.6	1.5	1.3	1.2	1.2	2.7	2.1
技術 B - 12	0.61	0.83	0.57	0.81	0.55	0.70	0.74
技術 B - 13							
技術 B - 14	1.2	0.83	0.53	1.0	1.0	1.2	0.21

(注) 技術B-13は、土壌試料の分析を実施していない。

表10 公定法による毒性等量に対する各技術の測定量(毒性等量)の比率(試料B系列、試料C系列)

	B - 1	B - 2	B - 3	B - 4	C - 1	C - 2	C - 3	C - 4
公定法による毒性等量 (pg-TEQ/g)	2100	15	450000	280	5800	65000	240000	49000
技術 B - 1	1.2	0.91	0.79	1.2	0.24	0.019	0.0060	0.031
技術 B - 2	2.4	2.6	2.4	2.3	1.2	1.3	1.4	1.5
技術 B - 3	1.7	2.5	1.7	1.6	1.5	1.4	1.5	1.4
技術 B - 4	3.2	7.8	4.3	2.5	0.82	0.71	0.55	0.70
技術 B - 5	0.89	1.3	1.0	0.99	0.29	0.30	0.23	0.33
技術 B - 6	5.9	32	1.6	6.1	0.22	0.011	0.033	0.070
技術 B - 7	0.94	29	0.30	3.6	0.60	0.31	0.16	0.21
技術 B - 8	1.2	0.66	1.3	0.93	0.075	0.053	0.051	0.060
技術 B - 9	2.0	4.3	0.91	0.99	0.026	0.014	0.020	0.021
技術 B - 10	1.3	4.5	1.5	1.4	1.5	2.0	1.9	2.5
技術 B - 11	0.82	2.0	0.90	0.87	0.67	0.68	0.61	0.60
技術 B - 12	0.24	*	0.43	1.7	0.20	0.17	0.42	0.19
技術 B - 13								
技術 B - 14	0.51	9.8	0.41	0.60	2.8	0.52	2.1	0.48

* : 定量下限値未満

(注) 技術B-13は、土壌試料の分析を実施していない。

表11 公定法による毒性等量に対する各技術の測定量(毒性等量)の比率(試料D系列)

	D - 1	D - 2	D - 3	D - 4
公定法による毒性等量 (pg-TEQ/g)	110	45000	71	2900
技術 B - 1	1.2	0.79	0.63	2.2
技術 B - 2	2.4	3.2	1.9	2.6
技術 B - 3	2.0	1.4	1.2	2.4
技術 B - 4	3.9	3.0	2.7	2.5
技術 B - 5	1.2	0.70	0.54	1.6
技術 B - 6	2.5	4.1	85	5.1
技術 B - 7	3.6	0.14	5.4	0.34
技術 B - 8	0.52	1.0	0.14	1.0
技術 B - 9	1.6	1.4	1.0	0.89
技術 B - 10	1.6	0.36	2.0	0.19
技術 B - 11	0.95	2.2	2.4	1.5
技術 B - 12	*	0.019	*	0.030
技術 B - 13				
技術 B - 14	2.8	0.55	4.5	0.27

* : 定量下限値未満

(注) 技術B-13は、土壌試料の分析を実施していない。

()レポータージーンアッセイ法(技術B - 1~4)

焼却汚染由来の試料A系列では、技術B - 1の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比 : 1.0~1.7)していた。技術B - 2では、試料A - 6及び試料A - 7の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比 : いずれも2.4)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比 : 1.5~2.0)していた。技術B - 3では、試料A - 6の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比 : 2.3)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比 : 1.1~2.0)していた。技術B - 4では、試料A - 1、試料A - 6及び試料A - 7の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比 : 2.4、2.3及び3.3)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比 : 1.2~2.0)していた。

一方、試料A系列と同類の焼却汚染由来とされる試料B系列では、技術B - 1の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致していた(公定法比 : 0.79~1.2)のに対し、技術B - 2~4では高い傾向(公定法比 : 1.6~7.8)を示した。

また、PCB汚染油漏洩に由来する試料C系列では、技術B - 2~4の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致していた(公定法比 : 0.55~1.5)のに対し、技術B - 1の測定量(毒性等量)は低い値(公定法比 : 0.0060~0.24)となった。

さらに農薬汚染由来の試料D系列では、技術B - 1及びB - 3において試料D - 4の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比 : 2.2及び2.4)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比 : 0.63~2.0)していた。しかし、技術B - 2及び技術B - 4の測定量(毒性等量)は公定法による毒性等量よりも高い傾向(公定法比 : 1.9~3.9)を示した。

()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B - 5)

試料A系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.51～1.2)していた。試料B系列でも、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.89～1.3)していた。しかし、試料C系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い値(公定法比：0.23～0.33)となった。試料D系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.54～1.6)していた。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術B - 6)

試料A系列では、試料A - 1(70pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)(公定法比：0.89)を除き、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い傾向(公定法比：1.0～6.8)を示した。試料B系列でも同様に、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い傾向(公定法比：1.6～32)を示した。試料C系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い値(公定法比：0.011～0.22)となった。試料D系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：2.5～85)となった。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術B - 7～12)

技術B - 7では、試料A系列において、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い傾向(公定法比：1.4～6.7)を示した。試料B系列では、公定法による毒性等量に対する測定量(毒性等量)の比率にばらつき(公定法比：0.30～29)があった。試料C系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い傾向(公定法比：0.16～0.60)を示した。試料D系列では、公定法による毒性等量に対する測定量(毒性等量)の比率にばらつき(公定法比：0.14～5.4)があった。

技術B - 8では、試料A系列において、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.52～1.1)していた。試料B系列でも、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.66～1.3)していた。しかし、試料C系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い値(公定法比：0.051～0.075)となった。試料D系列では、検出下限以上・定量下限値未満となった試料D - 3(71pg-TEQ/g)(公定法比：0.14)を除き、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.52～1.0)していた。

技術B - 9では、試料A系列において、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：1.0～2.0)していた。試料B系列では、試料B - 2(15pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：4.3)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比：0.91～2.0)していた。しかし、試料C系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い値(公定法比：0.014～0.026)となった。試料D系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.89～1.6)していた。

技術B - 10では、試料A系列において、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.86～1.4)していた。試料B系列では、試料B - 2(15pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：4.5)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比：1.3～1.5)していた。試料C系列では、試料C - 4の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：2.5)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比：1.5～2.0)していた。試料D系列では、試料D - 1及び試料D - 3の測定量(毒性等量)が公定法による

毒性等量と良好に一致(公定法比：1.6及び2.0)していたが、試料D - 2(45000pg-TEQ/g、系列内で最高濃度)及び試料D - 4(2900pg-TEQ/g、系列内で2番目に高い濃度)は低い値(公定法比：0.36及び0.19)となった。

技術B - 11では、試料A系列において、試料A - 6及び試料A - 7の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：2.7及び2.1)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比：1.2~1.6)していた。試料B系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.82~2.0)していた。試料C系列でも、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.60~0.68)していた。しかし、試料D系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い傾向(公定法比：0.95~2.4)を示した。

技術B - 12では、試料A系列において、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.55~0.83)していた。試料B系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い傾向(公定法比：0.24~1.7)を示した。試料C系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い値(公定法比：0.17~0.42)となり、試料D系列では、さらに低い値(公定法比：0.019及び0.030)となった。

()ダイオキシン類に対して結合能を有するペプチドを用いたアッセイ法(技術B - 14)

試料A系列において、試料A - 7の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い値(公定法比：0.21)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比：0.53~1.2)していた。試料B系列では、試料B - 2(15pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：9.8)となったが、その他の試料については低い傾向(公定法比：0.41~0.60)を示した。試料C系列では、公定法による毒性等量に対する測定量(毒性等量)の比率にばらつき(公定法比：0.48~2.8)があった。試料D系列でも同様に、公定法による毒性等量に対する測定量(毒性等量)の比率にばらつき(公定法比：0.27~4.5)があった。

【底質試料】

底質試料について、公定法による毒性等量に対する各技術の測定量(毒性等量)の比率をまとめたものを表12~14に示す。

底質試料の測定量(毒性等量)は、Ahレセプターバイディングアッセイ法では、いずれの技術も公定法による毒性等量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毒性等量よりも低い値となるものと、高い値となるものがあった。

表12 公定法による毒性等量に対する各技術の測定量(毒性等量)の比率(試料E系列)

	E - 1	E - 2	E - 3	E - 4	E - 5	E - 6	E - 7
公定法による毒性等量 (pg-TEQ/g)	110	240	71	1500	180	380	2400
技術 B - 1	1.5	2.3	2.8	1.9	2.0	1.8	1.2
技術 B - 2	1.1	1.2	1.4	1.6	1.5	1.8	1.6
技術 B - 3	2.6	2.8	2.5	3.1	2.8	1.9	2.4
技術 B - 4	3.4	3.6	3.5	3.0	3.4	3.9	3.0
技術 B - 5	1.8	1.6	1.5	1.1	1.8	1.1	0.92
技術 B - 6	4.9	5.2	4.6	5.2	5.2	4.1	5.8
技術 B - 7	1.0	1.5	1.5	0.40	1.3	1.2	0.22
技術 B - 8	1.0	1.3	0.75	0.77	1.4	1.0	1.5
技術 B - 9	1.4	1.0	1.3	0.53	1.3	0.60	0.47
技術 B - 10	1.1	0.40	0.20	0.61	0.54	0.44	0.29
技術 B - 11	1.5	1.1	1.3	1.9	0.85	1.3	1.7
技術 B - 12	0.17	0.14	0.57	0.020	0.10	0.057	0.025
技術 B - 13	1.4	0.86	3.1	0.11	0.69	0.55	0.12
技術 B - 14							

(注) 技術B-14は、底質試料の分析を実施していない。

表13 公定法による毒性等量に対する各技術の測定量(毒性等量)の比率(試料F系列、試料G系列)

	F - 1	F - 2	F - 3	G - 1	G - 2	G - 3	G - 4
公定法による毒性等量 (pg-TEQ/g)	180	550	24	100	61	170	11
技術 B - 1	1.4	0.82	47	1.3	2.0	1.8	7.8
技術 B - 2	1.4	1.9	1.6	2.0	1.9	1.1	1.4
技術 B - 3	1.9	1.9	12	3.0	1.9	1.2	2.0
技術 B - 4	3.3	5.0	4.2	4.7	4.6	5.1	4.7
技術 B - 5	0.93	0.90	0.93	0.71	0.69	0.67	**
技術 B - 6	4.6	3.4	3.0	3.9	2.6	1.7	4.3
技術 B - 7	3.4	3.8	6.5	1.7	3.1	2.0	5.9
技術 B - 8	0.078	0.45	0.51	0.26	0.15	0.10	0.51
技術 B - 9	0.74	0.88	*	1.4	1.8	1.5	*
技術 B - 10	0.63	0.76	260	0.73	1.0	1.4	2.2
技術 B - 11	0.86	0.50	**	0.49	0.32	0.96	**
技術 B - 12	3.3	1.7	1.3	0.71	0.95	0.55	2.6
技術 B - 13	1.5	0.76	7.4	2.0	9.1	2.1	19
技術 B - 14							

* : 定量下限値未満 ** : 検出下限値未満

(注) 技術B-14は、底質試料の分析を実施していない。

表14 公定法による毒性等量に対する各技術の測定量(毒性等量)の比率(試料H系列)

	H - 1	H - 2	H - 3	H - 4
公定法による毒性等量 (pg-TEQ/g)	180	120	2.8	28
技術 B - 1	1.4	1.9	3.1	1.9
技術 B - 2	1.5	1.5	0.61	1.3
技術 B - 3	2.5	2.6	3.2	2.2
技術 B - 4	3.8	4.0	7.3	5.2
技術 B - 5	1.6	1.5	2.9	1.2
技術 B - 6	5.2	3.1	4.2	1.7
技術 B - 7	2.3	4.5	37	6.6
技術 B - 8	0.70	0.83	3.2	0.41
技術 B - 9	1.1	1.7	*	*
技術 B - 10	2.4	2.5	6.5	3.1
技術 B - 11	3.0	3.3	**	1.6
技術 B - 12	2.3	3.4	*	2.3
技術 B - 13	0.87	1.4	130	4.8
技術 B - 14				

* : 定量下限値未満 ** : 検出下限値未満

(注) 技術B-14は、底質試料の分析を実施していない。

()レポータージーンアッセイ法(技術B - 1~4)

農薬汚染由来の試料E系列では、技術B - 2の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比 : 1.1~1.8)していた。技術B - 1では、試料E - 2及び試料E - 3の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比 : 2.3及び2.8)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比 : 1.2~2.0)していた。技術B - 3及び技術B - 4では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い傾向(公定法比 : 1.9~3.9)を示した。

農薬・PCB・焼却汚染由来の試料F系列では、技術B - 2の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比 : 1.4~1.9)していた。技術B - 1及び技術B - 3では、試料F - 3(24pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比 : 47及び12)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比 : 0.82~1.9)していた。技術B - 4では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比 : 3.3~5.0)となった。

PCB・PCP汚染由来の試料G系列では、技術B - 2の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比 : 1.1~2.0)していた。技術B - 1では、試料G - 4(11pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比 : 7.8)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比 : 1.3~2.0)していた。また、技術B - 3では、試料G - 1の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比 : 3.0)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比 : 1.2~2.0)していた。技術B - 4では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比 : 4.6~5.1)となった。

工場排水汚染由来の試料H系列では、技術B - 2の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比 : 0.61~1.5)していた。技術B - 1では、試料H - 3(2.8pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比 : 3.1)となったが、その他の試料に

については良好に一致(公定法比：1.4～1.9)していた。技術B - 3及び技術B - 4では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：2.2～7.3)となった。

()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B - 5)

試料E系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.92～1.8)していた。試料F系列でも、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.90～0.93)していた。また、試料G系列でも、検出下限値未満であった試料G - 4(11pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)を除き、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.67～0.71)していた。試料H系列では、試料H - 3(2.8pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：2.9)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比：1.2～1.6)していた。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術B - 6)

すべての系列について、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い傾向(公定法比：1.7～5.8)を示した。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術B - 7～13)

技術B - 7では、試料E系列において、試料E - 4及び試料E - 7(1500pg-TEQ/g、2400pg-TEQ/g、系列内で最高濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い値(公定法比：0.40及び0.22)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比：1.0～1.5)していた。試料F系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：3.4～6.5)となった。試料G系列では、試料濃度が低くなるほど測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高くなる傾向(公定法比：1.7～5.9)を示した。試料H系列も同様に、試料濃度が低くなるほど測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高くなる傾向(公定法比：2.3～37)を示した。

技術B - 8では、試料E系列において、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(0.75～1.5)していた。試料F系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い傾向(公定法比：0.078～0.51)を示した。試料G系列でも同様に、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い傾向(公定法比：0.10～0.51)を示した。試料H系列では、試料H - 3(2.8pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：3.2)となったが、その他の試料については低い傾向(公定法比：0.41～0.83)を示した。

技術B - 9では、試料E系列において、試料E - 7(2400pg-TEQ/g、系列内で最高濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い値(公定法比：0.47)となったが、それ以外の試料については良好に一致(公定法比：0.53～1.4)していた。試料F系列では、定量下限未満であった試料F - 3(24pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)を除き、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.74及び0.88)していた。試料G系列でも、定量下限未満であった試料G - 4(11pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)を除き、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：1.4～1.8)していた。さらに試料H系列でも、定量下限未満であった試料H - 3(2.8pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)及び試料H - 4(28pg-TEQ/g、系列内で2番目に低い濃度)を除き、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好

に一致(公定法比：1.1及び1.7)していた。

技術B - 10では、試料E系列において、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い傾向(公定法比：0.20～1.1)を示した。試料F系列では、試料F - 3(24pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：260)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比：0.63及び0.76)していた。試料G系列では、試料G - 4(11pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量より高い値(公定法比：2.2)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比：0.73～1.4)していた。試料H系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：2.4～6.5)となった。

技術B - 11では、試料E系列において、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.85～1.9)していた。試料F系列では、検出下限未満であった試料F - 3(24pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)を除き、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.50及び0.86)していた。試料G系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い傾向(公定法比：0.32～0.96)を示した。一方、試料H系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い傾向(公定法比：1.6～3.3)を示した。

技術B - 12では、試料E系列において、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い傾向(公定法比：0.020～0.57)を示した。試料F系列では、試料F - 1の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：3.3)となったが、その他の試料は良好に一致(公定法比：1.3及び1.7)していた。試料G系列では、試料G - 4(11pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：2.6)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比：0.55～0.95)していた。試料H系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：2.3～3.4)となった。

技術B - 13では、試料E系列において、試料E - 4(1500pg-TEQ/g、系列内で2番目に高い濃度)及び試料E - 7(2400pg-TEQ/g、系列内で最高濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い値(公定法比：0.11及び0.12)となった。しかし、試料E - 3(71pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)は公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：3.1)となった。その他の試料については良好に一致(公定法比：0.55～1.4)していた。試料F系列では、試料F - 3(24pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：7.4)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比：0.76及び1.5)していた。試料G系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い傾向(公定法比：2.0～19)を示した。試料H系列では、試料濃度が低くなるほど、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高くなる傾向(公定法比：0.87～130)を示した。

公定法との相関

公定法による毒性等量と各技術による測定量(毒性等量)の相関図を参考図3 - 1～44に示す。ここでは、公定法による毒性等量と各技術による測定量(毒性等量)の一次回帰直線式を求め、その決定係数から各技術による測定量(毒性等量)の精度について調べた。さらに、その傾きから各技術による測定量(毒性等量)の正確さについて調べた。

()レポータージーンアッセイ法(技術B - 1~4)

< 技術B - 1 >

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度はやや悪く、正確さは悪い。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は概ね良好であり、正確さは極めて良好であった。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度はやや悪く、正確さは悪い。系列内で最も濃度の低い試料F - 3(24pg-TEQ/g)について、公定法比が高い結果(公定法比: 47)となったが、濃度が低い試料は、試料マトリクスを交差要因として影響を受けているのではないかと考えられる。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度は概ね良好であり、正確さは極めて良好であった。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度は概ね良好であり、正確さは良好であった。

< 技術B - 2 >

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であったが、正確さはやや悪い。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であったが、正確さは悪い。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度はやや悪いが、正確さは極めて良好であった。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

< 技術B - 3 >

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は概ね良好であったが、正確さはやや悪い。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度は概ね良好であり、正確さは良好であった。系列内で最も濃度の低い試料F - 3(24pg-TEQ/g)について、公定法比が高い結果(公定法比:12)となったが、濃度が低い試料は、試料マトリクスを交差要因として影響を受けているのではないかと考えられる。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度はやや悪いが、正確さは極めて良好であった。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度は良好であったが、正確さはやや悪い。

< 技術B - 4 >

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であったが、正確さは悪い。系列内で最も濃度の低い試料B - 2(15pg-TEQ/g)について、公定法比が高い結果(公定法比:7.8)となったが、濃度が低い試料は、試料マトリクスを交差要因として影響を受けているのではないかと考えられる。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であったが、正確さはやや悪い。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は良好であったが、正確さはやや悪い。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度は良好であったが、正確さは悪い。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度は良好であったが、正確さは悪い。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度は良好であったが、正確さは悪い。

()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 B - 5)

<技術B - 5>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は良好であったが、正確さは悪い。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術B - 6)

<技術B - 6>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。系列内で最も濃度の低い試料B - 2(15pg-TEQ/g)について、公定法比が高い結果(公定法比：32)となったが、濃度が低い試料は、試料マトリクスを交差要因として影響を受けているのではないかと考えられる。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は概ね良好であったが、正確さは悪い。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であったが、正確さは悪い。系列内で最も濃度の低い試料D - 3(71pg-TEQ/g)について、公定法比が高い結果(公定法比：85)となったが、濃度が低い試料は、試料マトリクスを交差要因として影響を受けているのではないかと考えられる。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は良好であったが、正確さは悪い。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度は良好であったが、正確さは悪い。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度はやや悪いが、正確さは良好であった。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度は概ね良好であったが、正確さは悪い。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術B - 7~13)

<技術B - 7>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は概ね良好であったが、正確さは悪い。系列内で最も濃度の低い試料B - 2(15pg-TEQ/g)について、公定法比が高い結果(公定法比：29)となったが、濃度が低い試料は、試料マトリクスを交差要因として影響を受けているのではないかと考えられる。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は概ね良好であったが、正確さは悪い。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であったが、正確さは悪い。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度はやや悪く、正確さは悪い。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度は良好であったが、正確さは悪い。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度は概ね良好であり、正確さは良好であった。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度はやや悪く、正確さもやや悪い。系列内で最も濃度の低い試料H - 3(2.8pg-TEQ/g)について、公定法比が高い結果(公定法比：37)となった。濃度が低い試料は、試料マトリクスを交差要因として影響を受けているのではないかと考えられる。

<技術B - 8>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は良好であったが、正確さは悪い。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は概ね良好であり、正確さは良好であった。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度は概ね良好であったが、正確さはやや悪い。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度はやや悪く、正確さは悪い。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度は概ね良好であり、正確さは極めて良好であった。

<技術B - 9>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は良好であったが、正確さは悪い。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は良好であったが、正確さはやや悪い。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

3試料のうち、試料F - 3(24pg-TEQ/g)が定量下限値未満であった。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度は概ね良好であり、正確さは良好であった。

工場排水汚染由来(試料H系列)

4試料のうち、試料H - 3(2.8pg-TEQ/g)及び試料H - 4(28pg-TEQ/g)の2試料が定量下限値未満であった。

<技術B - 10>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であったが、正確さはやや悪い。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度はやや悪く、正確さもやや悪い。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度はやや悪く、正確さは悪い。系列内で最も濃度の低い試料F - 3(24pg-TEQ/g)について、公定法比が高い結果(公定法比:260)となった。濃度が低い試料は、試料マトリクスを交差要因として影響を受けているのではないかと考えられる。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度は概ね良好であり、正確さは極めて良好であった。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度は良好であったが、正確さはやや悪い。

<技術B - 11>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であったが、正確さはやや悪い。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

3試料のうち、試料F - 3(24pg-TEQ/g)が検出下限値未満であった。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度は概ね良好であり、正確さは良好であった。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度は良好であったが、正確さは悪い。

<技術B - 12>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であったが、正確さはやや悪い。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は概ね良好であったが、正確さはやや悪い。

農薬汚染由来(試料D系列)

4試料のうち、試料D - 1(110pg-TEQ/g)及び試料D - 3(71pg-TEQ/g)の2試料が定量下限値未満

であった。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度はやや悪く、正確さは悪い。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度は概ね良好であり、正確さは良好であった。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度は概ね良好であったが、正確さはやや悪い。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度は概ね良好であったが、正確さはやや悪い。

<技術B - 13>

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度はやや悪く、正確さは悪い。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度は良好であったが、正確さはやや悪い。系列内で最も濃度の低い試料F - 3(24pg-TEQ/g)について、公定法比が高い結果(公定法比7.4)となった。濃度が低い試料は、試料マトリクスを交差要因として影響を受けているのではないかと考えられる。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度がやや悪く、正確さは悪い。系列内で最も濃度の低い試料G - 4(11pg-TEQ/g)について、公定法比が高い結果(公定法比：19)となった。濃度が低い試料は、試料マトリクスを交差要因として影響を受けているのではないかと考えられる。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度がやや悪く、正確さは悪い。系列内で最も濃度の低い試料H - 3(2.8pg-TEQ/g)について、公定法比が高い結果(公定法比：130)となった。濃度が低い試料は、試料マトリクスを交差要因として影響を受けているのではないかと考えられる。

()ダイオキシン類に対して結合能を有するペプチドを用いたアッセイ法(技術B - 14)

<技術B - 14>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であったが、正確さはやや悪い。系列内で最も濃度の低い試料B - 2(15pg-TEQ/g)について、公定法比が高い結果(公定法比：9.8)となった。濃度が低い試料は、試料マトリクスを交差要因として影響を受けているのではないかと考えられる。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は概ね良好であったが、正確さはやや悪い。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。系列内で濃度の高い試料D - 2(45000pg-TEQ/g)及び試料D - 4(2900pg-TEQ/g)で、公定法比が低くなる傾向が見られた。

(イ)定量下限

土壌については、環境基準が達成されている場合であって、土壌中のダイオキシン類の量が250pg-TEQ/g以上の場合には、必要な調査を実施することとされている。また、底質については、環境基準として150pg-TEQ/gが設定されている。ここでは、一般的な分取倍率や希釈倍率等に基づき各応募機関が算出した定量下限値についてとりまとめた。

試料の種類と性状、試料量、分取倍率、希釈倍率及びクリーンアップの効果などにより定量下限値は変動するものであり、今回の検討において定量下限値のリアリティは評価していない。

各技術における土壌試料の定量下限値を表15に、底質試料の定量下限値を表16に示す。

表15 土壌試料に係る各技術の定量下限値(各応募機関の報告値)

試料 技術	試料量 (g)	分取倍率	最終液量 (mL)	希釈倍率	1wellあたりの 供試料 (μ L)	1wellあたりの 定量下限値 (pg-TEQ/well)	試料換算 定量下限値 (pg-TEQ/g)
技術 B - 1	10	1	0.2	1	0.5	0.052	2.1
技術 B - 2	3.5	1	0.4	4	190	0.15	0.36
技術 B - 3	20	0.1	0.1	100	8	0.0070	4.4
技術 B - 4	10	0.5	0.07	10	1	0.14	20
技術 B - 5	2	0.5	0.04	1	2	0.2	4
技術 B - 6	2	1	0.5	1	5	0.32	16
技術 B - 7	5	0.2	0.2	2	25	0.50	8.0
技術 B - 8	20	0.5	1	1	25	0.71	2.9
技術 B - 9	5	0.5	0.05	2	50	14	11
技術 B - 10	20	0.25	1	1	5	1.1	44
技術 B - 11	20	0.25	0.7	140	20	0.13	130
技術 B - 12	20	0.25	0.05	1.1	4	4.2	12
技術 B - 13							
技術 B - 14	10	1	1	10	30	0.90	30

(注) 技術B-13は、土壌試料の分析を実施していない。

表16 底質試料に係る各技術の定量下限値(各応募機関の報告値)

技術	試料 試料量 (g)	分取倍率	最終液量 (mL)	希釈倍率	1wellあたりの 供試料 (μ L)	1wellあたりの 定量下限値 (pg-TEQ/well)	試料換算 定量下限値 (pg-TEQ/g)
技術 B - 1	10	1	0.2	1	0.5	0.033	1.3
技術 B - 2	3.5	1	0.4	4	190	0.098	0.24
技術 B - 3	20	0.2	0.1	100	8	0.0080	2.5
技術 B - 4	5	0.5	0.07	5	1	0.074	10
技術 B - 5	2	0.5	0.04	1	2	0.13	2.7
技術 B - 6	4	1	0.5	1	5	0.32	8.0
技術 B - 7	5	0.4	0.2	2	25	0.50	4.0
技術 B - 8	20	0.5	1	1	25	0.77	3.1
技術 B - 9	5	0.5	0.05	2	50	24	19
技術 B - 10	20	0.25	1	1	5	0.43	17
技術 B - 11	20	0.25	0.7	130	20	0.083	76
技術 B - 12	20	0.25	0.05	1.1	4	2.6	7.2
技術 B - 13	20 50	1 1	0.2 0.2	1 1	50 50	210 210	42 17
技術 B - 14							

(注) 技術B-14は、底質試料の分析を実施していない。

(ウ)測定量(毒性等量)のばらつき

同一試料における測定量(毒性等量)のばらつきの程度を評価するため、変動係数について調べた。

【土壌試料】

各技術における土壌試料の変動係数を表17に示す。

表17 各技術の変動係数(土壌試料)

単位：%

技術	試料A系列	試料B系列	試料C系列	試料D系列
技術 B - 1	4.6 ~ 15 (n=3)	3.3 ~ 6.0 (n=3)	0 ~ 17 (n=3)	1.6 ~ 5.6 (n=3)
技術 B - 2	3.1 ~ 16 (n=3)	5.3 ~ 9.3 (n=3)	4.2 ~ 14 (n=3)	1.1 ~ 9.7 (n=3)
技術 B - 3	6.4 ~ 16 (n=6)	11 ~ 21 (n=6)	5.4 ~ 9.8 (n=6)	5.4 ~ 18 (n=6)
技術 B - 4	1.9 ~ 21 (n=3)	5.9 ~ 13 (n=3)	0 ~ 31 (n=3)	5.9 ~ 39 (n=3)
技術 B - 5	4.2 ~ 34 (n=3)	6.5 ~ 40 (n=3)	11 ~ 20 (n=3)	9.2 ~ 15 (n=3)
技術 B - 6	4.3 ~ 18 (n=3)	4.7 ~ 20 (n=3)	11 ~ 18 (n=3)	9.3 ~ 18 (n=3)
技術 B - 7	4.4 ~ 28 (n=3)	13 ~ 23 (n=3)	16 ~ 24 (n=3)	8.2 ~ 48 (n=3)
技術 B - 8	5.1 ~ 23 (n=3)	2.6 ~ 22 (n=3)	15 ~ 23 (n=3)	8.0 ~ 17 (n=3)
技術 B - 9	8.1 ~ 12 (n=3)	2.1 ~ 11 (n=3)	9.7 ~ 18 (n=3)	6.0 ~ 11 (n=3)
技術 B - 10	2.8 ~ 16 (n=3)	1.1 ~ 9.0 (n=3)	8.5 ~ 38 (n=3)	4.5 ~ 9.3 (n=3)
技術 B - 11	0.96 ~ 6.9 (n=3)	1.9 ~ 4.1 (n=3)	1.5 ~ 5.0 (n=3)	1.5 ~ 5.1 (n=3)
技術 B - 12	7.8 ~ 27 (n=3)	22 ~ 58 (n=3)	20 ~ 50 (n=3)	18 ~ 28 (n=3)
技術 B - 13				
技術 B - 14	15 ~ 110 (n=3)	19 ~ 85 (n=3)	20 ~ 92 (n=3)	24 ~ 77 (n=3)

(注) 技術B-13は、土壌試料の分析を実施していない。

()レポータージーンアッセイ法(技術B - 1~4)

技術B - 1及び技術B - 2では、いずれの試料も変動係数が20%以内であった。

技術B - 3では、試料B - 3(変動係数：21%)を除き変動係数が20%以内であった。

技術B - 4では、試料A - 6(変動係数：21%)、試料C - 1(変動係数：31%)、試料D - 2(変動係数：24%)及び試料D - 3(変動係数：39%)の変動係数が20%を超えていたが、その他の試料の変動係数は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B - 5)

試料A - 1(変動係数：34%)、試料A - 3(変動係数：34%)、試料A - 5(変動係数：23%)及び試料B - 2(変動係数：40%)の変動係数が20%を超えていたが、その他の試料の変動係数は20%以内であった。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術B - 6)

いずれの試料も変動係数は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B - 7~12)

技術B - 9及び技術B - 11では、いずれの試料も変動係数が20%以内であった。

技術B - 7では、試料A - 1(変動係数：28%)、試料B - 1(変動係数：23%)、試料C - 3(変動係数：24%)及び試料D - 3(変動係数：48%)の変動係数が20%を超えていたが、その他の試料の変動係数は20%以内であった。

技術B - 8では、試料A - 7(変動係数：23%)、試料B - 2(変動係数：22%)及び試料C - 3(変動係数：23%)の変動係数が20%を超えていたが、その他の試料の変動係数は20%以内であった。

技術B - 10では、試料C - 1(変動係数：26%)及び試料C - 2(変動係数：38%)の変動係数が20%を超えていたが、その他の試料の変動係数は20%以内であった。

技術B - 12では、特に試料B系列及び試料C系列の変動係数が高く、30%を超過する例が少なからず認められた。

()ダイオキシン類に対して結合能を有するペプチドを用いたアッセイ法(技術B - 14)

すべての系列において変動係数が高く、30%を超過する例が少なからず認められた。

【底質試料】

各技術における底質試料の変動係数を表18に示す。

表18 各技術の変動係数(底質試料)

単位：%

系列 技術	試料E系列	試料F系列	試料G系列	試料H系列
技術 B - 1	3.5 ~ 14 (n=3)	5.1 ~ 12 (n=3)	1.8 ~ 14 (n=3)	2.3 ~ 13 (n=3)
技術 B - 2	2.9 ~ 18 (n=3)	8.6 ~ 22 (n=3)	3.9 ~ 11 (n=3)	3.7 ~ 11 (n=3)
技術 B - 3	4.7 ~ 16 (n=6)	6.0 ~ 16 (n=6)	11 ~ 19 (n=6)	7.0 ~ 22 (n=6)
技術 B - 4	1.5 ~ 19 (n=3)	3.6 ~ 23 (n=3)	2.1 ~ 42 (n=3)	2.5 ~ 26 (n=3)
技術 B - 5	1.8 ~ 20 (n=3)	6.8 ~ 7.1 (n=3)	9.1 ~ 20 (n=3)	2.1 ~ 23 (n=3)
技術 B - 6	4.7 ~ 17 (n=3)	5.8 ~ 8.3 (n=3)	4.0 ~ 18 (n=3)	3.3 ~ 16 (n=3)
技術 B - 7	1.6 ~ 29 (n=3)	5.5 ~ 46 (n=3)	9.8 ~ 24 (n=3)	6.6 ~ 22 (n=3)
技術 B - 8	1.5 ~ 17 (n=3)	4.7 ~ 18 (n=3)	8.9 ~ 25 (n=3)	4.7 ~ 13 (n=3)
技術 B - 9	0 ~ 18 (n=3)	9.5 ~ 13 (n=3)	4.0 ~ 16 (n=3)	11 ~ 14 (n=3)
技術 B - 10	5.1 ~ 49 (n=3)	14 ~ 45 (n=3)	0.92 ~ 40 (n=3)	6.1 ~ 20 (n=3)
技術 B - 11	1.1 ~ 42 (n=3)	17 ~ 51 (n=3)	4.0 ~ 35 (n=3)	7.7 ~ 33 (n=3)
技術 B - 12	15 ~ 18 (n=3)	6.1 ~ 38 (n=3)	16 ~ 69 (n=3)	4.2 ~ 29 (n=3)
技術 B - 13	2.7 ~ 39 (n=2)*	7.2 ~ 13 (n=2)*	4.9 ~ 24 (n=2)*	0 ~ 5.4 (n=2)*
技術 B - 14				

*：分析に使用する試料量が不足したため、2回の測定しか実施できなかった。そのため、変動係数の数値に留意する必要がある。

(注) 技術B-14は、底質試料の分析を実施していない。

()レポータージーンアッセイ法(技術B - 1~4)

技術B - 1では、いずれの試料も変動係数が20%以内であった。

技術B - 2では、試料F - 3(変動係数：22%)を除き変動係数が20%以内であった。

技術B - 3では、試料H - 1(変動係数：22%)を除き変動係数が20%以内であった。

技術B - 4では、試料F - 2(変動係数：23%)、試料G - 1(変動係数：27%)、試料G - 3(変動係数：42%)及び試料H - 4(変動係数：26%)の変動係数が20%を超えていたが、その他の試料の変動係数は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B - 5)

試料H - 2(変動係数：23%)を除き変動係数は20%以内であった。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術B - 6)

いずれの試料も変動係数は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B - 7~13)

技術B - 9では、いずれの試料も変動係数が20%以内であったが、その他の技術では、変動係数が20%を超えるものがあった。

技術B - 7では、試料E - 2(変動係数：21%)、試料E - 3(変動係数：22%)、試料E - 4(変動係数：29%)、試料F - 3(変動係数：46%)、試料G - 2(変動係数：24%)及び試料H - 4(変動係数：22%)の変動係数が20%を超えていたが、その他の試料の変動係数は20%以内であった。

技術B - 8では、試料G - 1(変動係数：25%)を除き変動係数が20%以内であった。

技術B - 10では、試料E - 2(変動係数：23%)、試料E - 3(変動係数：49%)、試料F - 3(変動係数：45%)及び試料G - 4(変動係数：40%)の変動係数が20%を超えていたが、その他の試料の変動係数は20%以内であった。

技術B - 11では、試料E - 5(変動係数：42%)、試料F - 2(変動係数：51%)、試料G - 1(変動係数：35%)及び試料H - 1(変動係数：33%)の変動係数が20%を超えていたが、その他の試料の変動係数は20%以内であった。

技術B - 12では、試料F - 2(変動係数：38%)、試料F - 3(変動係数：28%)、試料G - 2(変動係数：26%)、試料G - 3(変動係数：69%)及び試料H - 4(変動係数：29%)の変動係数が20%を超えていたが、その他の試料の変動係数は20%以内であった。

技術B - 13では、試料E - 4(変動係数：39%)、試料E - 6(変動係数：28%)及び試料G - 1(変動係数：24%)の変動係数が20%を超えていたが、その他の試料の変動係数は20%以内であった。

2 - 2 - 4 簡易性

(1)分析時間

20検体を同時に処理した場合の各技術における平均的な分析時間を表19及び表20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、20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3～4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日半程度、抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法で約1～7日程度、ダイオキシン類に対して結合能を有するペプチドを用いたアッセイ法で5日程度であり、20～30日程度かかる公定法に比べて大幅に短縮される。

()レポータージーンアッセイ法(技術B - 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3～4日程度で分析できる。なお、測定は試料添加後16～24時間程度曝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B - 5)

測定は7時間程度であり、全体で3日程度で分析できる。しかし、硫黄化合物が多く含まれている試料は、硝酸銀シリカゲルカラム処理を十分に行う必要があることから、この場合は、クリーンアップ工程に時間を要する。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術B - 6)

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日半程度で分析可能である。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術B - 7~13)

各技術の抽出、クリーンアップ方法により異なるが、全体で約1~7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。

()ダイオキシン類に対して結合能を有するペプチドを用いたアッセイ法(技術B - 14)

全体で5日程度で分析することが可能である。

表19 20試料を同一測定ロットで分析を行った場合の各技術の分析時間(各応募機関の申告による)

単位：時間 / 20検体

技術		B - 1	B - 2	B - 3	B - 4	B - 5	B - 6	B - 7	
土壌	全体	88	62~80	80	67	58~235	34	200	
	内訳	乾燥	20	8	6	20	5~144	8	24
		抽出	20	7.5	34	2.5	6~40	7.5	36
		クリーンアップ	16	11.5	10	16	12~33	8	72
		定量	24	26	28	26	12~14	8	60
		データ処理	3.5	3	2	2	2~6	2	4
		その他	4.5	6~24	0	0	5	0	4
底質	全体	88	62~80	80	70	74~235	34	205	
	内訳	乾燥	20	8	6	20	5~144	8	20
		抽出	20	7.5	34	6	6~40	7.5	36
		クリーンアップ	16	11.5	15	16	12~33	8	80
		定量	24	26	52	26	12~14	8	60
		データ処理	3.5	3	1	2	2~6	2	4
		その他	4.5	6~24	0	0	4	0	5
備考	測定実績から算出	乾燥時間は試料による		乾燥時間は試料による	測定実施機関の最小値~最大値	乾燥時間は試料による			

表20 20試料を同一測定ロットで分析を行った場合の各技術の分析時間(各応募機関の申告による)

単位：時間 / 20検体

技術		B - 8	B - 9	B - 10	B - 11	B - 12	B - 13	B - 14
土壌	全体	98	9.5	105	78.5	82		135
	乾燥	(恒量まで)	0	48	15	0		48
	抽出	40	0.5	20	22.5	30		20
	クリーンアップ	40	4	30	21	24		25
	定量	14	4.5	5	10	26		38
	データ処理	2	0.5	2	10	2		4
	その他	2	0	0	0	0		0
底質	全体	98	9.5	105	79	82	124	
	乾燥	(恒量まで)	0	48	15	0	5	
	抽出	40	0.5	20	23	30	68	
	クリーンアップ	40	4	30	21	24	42	
	定量	14	4.5	5	10	26	8	
	データ処理	2	0.5	2	10	2	1	
	その他	2	0	0	0	0	0	
備考	乾燥時間を 含めない	抽出には湿 泥を用いる				抽出には湿 泥を用いる	土壌試料は 対象外	底質試料は 対象外

(2)分析費用

20検体を同時に処理した場合の各技術における平均的な分析費用を表21及び表22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15万円かかる公定法の1/4～1/3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、検体数が多ければ、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B - 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4～5万円程度である。

()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B - 5)

分析費用は、1検体あたり人件費込みで4～5万円程度である。

()AhレセプターアッセイPCR法(技術B - 6)

分析費用は、1検体あたり人件費込みで5万円程度である。

()抗ダイオキシン類抗体を用いたイムノアッセイ法(技術B - 7～13)

分析費用は、分析条件により幅があるが、1検体あたり人件費込みで1～6万円程度である。

()ダイオキシン類に対して結合能を有するペプチドを用いたアッセイ法(技術B - 14)

分析費用は、1検体当たり人件費を除いて7,000円程度である。

表21 20試料を同一測定ロットで分析を行った場合の各技術の分析費用(単価) (各応募機関の申告による)

単位：円/検体

技術		B - 1	B - 2	B - 3	B - 4	B - 5	B - 6	B - 7	
土壌	全体	44,000	50,000	45,000	40,000	40,000~45,500	50,000	35,000	
	内訳	乾燥	7,500	10,000	/	/	0~3,350	(0)	1,000
		抽出	7,500				5,600~10,000	(200)	5,000
		クリーンアップ	10,500				4,800~16,000	(2,500)	8,000
		測定	9,700				16,000~25,100	(8,000)	21,000
底質	全体	44,000	50,000	45,000	45,000	40,000~50,000	50,000	43,000	
	内訳	乾燥	7,500	10,000	/	/	0~3,350	(0)	2,000
		抽出	7,500				5,600~10,000	(200)	8,000
		クリーンアップ	10,500				4,800~20,000	(2,500)	12,000
		測定	9,700				16,000~25,100	(8,000)	21,000
備考			上記は分画を行った場合の費用分画を行わない場合は35,000円	内訳については算出していない	内訳については算出していない	測定実施機関の最小値~最大値	平均的な費用として算出した()内は試薬等の費用		

表22 20試料を同一測定ロットで分析を行った場合の各技術の分析費用(単価) (各応募機関の申告による)

単位：円/検体

技術		B - 8	B - 9	B - 10	B - 11	B - 12	B - 13	B - 14
土壌	全体	38,000	50,000	55,000	60,000	50,000	/	6,425
	内訳	乾燥	7,000	0	2,500	5,000		0
		抽出	3,500	10,000	17,500	15,000		900
		クリーンアップ	15,000	20,000	25,000	25,000		5,000
		測定	12,500	20,000	10,000	15,000		525
底質	全体	38,000	50,000	55,000	60,000	50,000	10,500	/
	内訳	乾燥	7,000	0	2,500	5,000	250	
		抽出	3,500	10,000	17,500	15,000	1,500	
		クリーンアップ	15,000	20,000	25,000	25,000	8,000	
		測定	12,500	20,000	10,000	15,000	750	
備考		乾燥に長めの時間を要する試料の場合				受託分析を行っていないため、概算とした	土壌試料は対象外	人件費を除く底質試料は対象外

2 - 3 まとめ

これまでの検討結果を踏まえ、各技術の概略及び分析試験結果をまとめたものを表23 - 1~3に示す。

表 2 3 - 1 生物検定法の概略

技術番号	技術分類		細胞・受容体・抗体の種別	交差反応性の特徴			抽出方法	前処理方法
	大分類	小分類		PCDD/DF	Co-PCB	その他		
B-1	Ah レセプター バインディング アッセイ法	レポーター遺伝子 アッセイ法	ヒト肝がん細胞(HepG2)由来 101L 細胞	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示す	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示す 一部の Co-PCB との反応性は 低い	(報告なし)	高圧流体抽出法	硫酸シリカゲル/活性炭連結カラム
B-2			マウス肝がん細胞由来 H1L6.1c2 細胞	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示す	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示す 一部の Co-PCB との反応性は 低い	臭素系ダイオキシン類と 反応する	超音波抽出	硫酸シリカゲル/活性炭連結カラム
B-3			ラット肝がん細胞由来 H411E-Luc 細胞	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示す	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示す	臭素系ダイオキシン類と 一部の多環芳香族炭化水 素と反応する	ソックスレー抽出	二層硫酸シリカゲルカラム
B-4			マウス肝がん細胞由来 HeB5 細胞	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示す	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示す	(報告なし)	(土壌) 加熱超音波抽出 (底質) 還流抽出	変則多層シリカゲルカラム
B-5		抗 Ah レセプター 複合体抗体を用いた イムノアッセイ法	ヤギ抗 ARNT ポリクローナル抗体	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示す	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示す	臭素系ダイオキシン類と 一部の多環芳香族炭化水 素と反応する	高圧流体抽出	(土壌) 硫酸処理 多層シリカゲルカラム 又は、硫酸処理 多層シリカゲルカラム アルミナカラム (底質) 硫酸処理 多層シリカゲルカラム アルミナカラム 硫酸 シリカゲルカラム
B-6		Ah レセプター アッセイ PCR 法	ARNT DRE プロンプ	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示す	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示す	多環芳香族炭化水素とは ほとんど反応しない	高圧流体抽出	硫酸処理 多層シリカゲルカラム アルミナカラム
B-7	抗ダイオキシン類抗体を 用いたイムノアッセイ法		ウサギ抗ダイオキシン ポリクローナル抗体	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示すが、 OCDD/DF にはほとんど反応 しない	(評価できない)	多環芳香族炭化水素とは ほとんど反応しない	高圧流体抽出	多層シリカゲルカラム 活性炭シリカゲルカラム
B-8			マウス抗ダイオキシン モノクローナル抗体	5~7 塩素化体との反応性は 高いが、2,3,7,8-TeCDD との 反応性は低い	(評価できない)	多環芳香族炭化水素とは ほとんど反応しない	ソックスレー抽出	硫酸処理 (銅チップ) 多層シリカゲル/リバーシブル活性炭連結 カラム
B-9			ウサギ抗ダイオキシン ポリクローナル抗体	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示す	(評価できない)	(報告なし)	かく拌抽出	硫酸シリカゲル/活性炭連結カラム
B-10			マウス抗ダイオキシン モノクローナル抗体	5~6 塩素化 PCDF との反応 性は高いが、2,3,7,8-TeCDD との反応性は低い	non-ortho 体の交差反応性が 高い	(報告なし)	ソックスレー抽出	多層シリカゲルカラム アルミナカラム
B-11			マウス抗ダイオキシン モノクローナル抗体	5~6 塩素化 PCDF との反応 性は高い	non-ortho 体の交差反応性が 高い	(報告なし)	高圧流体抽出	多層シリカゲルカラム 自動前処理装置
B-12			マウス抗ダイオキシン モノクローナル抗体	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示す	WHO-TEF に似た傾向の交 差反応性を示す 一部の Co-PCB との反応性は 低い	臭素系ダイオキシン類と 反応する	ソックスレー抽出	(銅粉積層)多層シリカゲルカラム フタロシアニン固定化シリカ ゲルカラム
B-13			ウサギ抗ダイオキシン ポリクローナル抗体	6~8 塩素化体との反応性は 低い	交差反応性が高い	(報告なし)	ソックスレー抽出	硫酸処理 多層シリカゲルカラム アルミナカラム
B-14	ダイオキシン類の結合能を 有するペプチドを用いた アッセイ法	ダイオキシン類認識合成 ペプチド	6~8 塩素化 PCDD との反応 性は高い、PCDF との反応性 も高い	(評価できない)	一部の多環芳香族炭化水 素と反応する	ソックスレー抽出	多層シリカゲルカラム アルミナカラム	

表 2 3 - 2 生物検定法の分析試験結果のまとめ (土壌試料)

技術番号	技術分類		測定値の変動係数(%)	汚染由来別測定精度			公定法による毒性等量と簡易測定法による測定量(毒性等量)の一次回帰直線式								
	大分類	小分類		a/b			焼却汚染由来 (A、B 系列)			PCB 汚染油漏洩由来 (C 系列)			農業汚染由来 (D 系列)		
				公定法による毒性等量に対して 1/2 倍以上 2 倍以下の測定量 (毒性等量) が得られた試料数	全試料数	焼却汚染由来 (A、B 系列)	PCB 汚染油漏洩由来 (C 系列)	農業汚染由来 (D 系列)	傾き	切片	決定係数	傾き	切片	決定係数	傾き
B-1	Ah レセプター バインディング アッセイ法	レポータージーン アッセイ法	0 ~ 17 (n=3)	11/11	0/4	3/4	0.79	2100	0.9982	0.000090	1400	0.0065	0.77	1300	0.9881
B-2			1.1 ~ 16 (n=3)	5/11	4/4	1/4	2.4	-3200	0.9994	1.4	-2100	0.9986	3.2	-640	0.9999
B-3			5.4 ~ 21 (n=6)	9/11	4/4	3/4	1.7	-1700	0.9997	1.5	-2900	0.9997	1.3	1000	0.9975
B-4			0 ~ 39 (n=3)	4/11	4/4	0/4	4.4	-12000	0.9983	0.53	6600	0.9939	3.0	-490	0.9999
B-5		抗 Ah レセプター 複合体抗体を用いた イムノアッセイ法	4.2 ~ 40 (n=3)	11/11	0/4	4/4	1.1	-1600	0.9994	0.22	3500	0.9878	0.68	830	0.9938
B-6		Ah レセプター アッセイ PCR 法	4.3 ~ 20 (n=3)	4/11	0/4	0/4	1.6	1400	0.9997	0.029	760	0.8217	4.0	2900	0.9993
B-7	抗ダイオキシン類抗体を 用いたイムノアッセイ法	4.4 ~ 48 (n=3)	3/11	1/4	0/4	0.29	7500	0.8560	0.15	5000	0.9411	0.13	450	0.9987	
B-8		2.6 ~ 23 (n=3)	11/11	0/4	3/4	1.3	-2700	0.9989	0.050	290	0.9990	1.0	-57	1.0000	
B-9		2.1 ~ 18 (n=3)	10/11	0/4	4/4	0.90	1600	0.9997	0.020	-98	0.9886	1.4	-440	0.9995	
B-10		1.1 ~ 38 (n=3)	10/11	3/4	2/4	1.5	-2600	0.9992	1.9	10000	0.9957	0.36	-71	0.9986	
B-11		0.96 ~ 6.9 (n=3)	9/11	4/4	2/4	0.90	1500	0.9994	0.60	1500	0.9985	2.2	-670	0.9997	
B-12		7.8 ~ 58 (n=3)	8/10	0/4	0/2	0.43	860	0.9995	0.45	-9800	0.9757	*	*	*	
B-13															
B-14	ダイオキシン類の結合能を 有するペプチドを用いた アッセイ法	15 ~ 110 (n=3)	8/11	1/4	1/4	0.41	2400	0.9897	2.2	-58000	0.9519	0.55	-69	0.9983	

* : プロット数が 2 しかないため、回帰式を算出していない。

(注) 技術 B - 12 では、試料 B - 2、試料 D - 1 及び試料 D - 3(定量下限値未満)の結果を含めない。

技術 B - 13 では、土壌試料の分析を実施していない。

表 2 3 - 3 生物検定法の分析試験結果のまとめ (底質試料)

技術 番号	技術分類		測定値の 変動係数(%)	汚染由来別測定精度				公定法による毒性等量と簡易測定法による測定量(毒性等量)の一次回帰直線式											
	大分類	小分類		$\frac{a}{b}$ 公定法による毒性等量に対して 1/2 倍 以上 2 倍以下の測定量(毒性等量)が得 られた試料数 全試料数				農薬汚染由来 (E 系列)			農薬・PCB・焼却汚染由来 (F 系列)			PCB・PCP 汚染由来 (G 系列)			工場排水汚染由来 (H 系列)		
				農薬汚染 由来 (E 系列)	農薬・ PCB・焼却 汚染由来 (F 系列)	PCB・PCP 汚染由来 (G 系列)	工場排水 汚染由来 (H 系列)	傾き	切片	決定係数	傾き	切片	決定係数	傾き	切片	決定係数	傾き	切片	決定係数
B-1	Ah レセプター バインディング アッセイ法	レポータージーン アッセイ法	1.8 ~ 14 (n=3)	5/7	2/3	3/4	3/4	1.3	190	0.9081	-0.97	850	0.3117	1.3	48	0.8400	1.4	16	0.9411
B-2			2.9 ~ 22 (n=3)	7/7	3/3	4/4	4/4	1.6	-14	0.9976	2.0	-51	0.9909	1.1	36	0.7146	1.5	-1.9	0.9979
B-3			4.7 ~ 22 (n=6)	1/7	2/3	3/4	0/4	2.6	33	0.9741	1.5	180	0.9513	1.3	48	0.5269	2.5	-0.16	0.9968
B-4			1.5 ~ 42 (n=3)	0/7	0/3	0/4	0/4	2.9	130	0.9984	5.1	-150	0.9870	5.1	-22	0.9968	3.7	27	0.9969
B-5		抗 Ah レセプター 複合体抗体を用いた イムノアッセイ法	1.8 ~ 23 (n=3)	7/7	3/3	3/3	3/4	0.91	120	0.9896	0.89	3.3	0.9998	0.65	4.3	0.9969	1.6	-3.5	0.9974
B-6		Ah レセプター アッセイ PCR 法	3.3 ~ 18 (n=3)	0/7	0/3	1/4	1/4	5.7	-240	0.9951	3.3	89	0.9816	1.7	78	0.5420	5.0	-72	0.9279
B-7	抗ダイオキシン類抗体を 用いたイムノアッセイ法		1.6 ~ 46 (n=3)	5/7	0/3	2/4	0/4	0.17	220	0.5830	3.8	14	0.9959	1.6	55	0.9112	2.1	140	0.7230
B-8			0 ~ 43 (n=3)	7/7	0/3	1/4	2/4	1.4	-110	0.9063	0.48	-28	0.9234	0.091	6.8	0.4291	0.73	1.6	0.9724
B-9			0 ~ 18 (n=3)	6/7	2/2	3/3	2/2	0.44	110	0.9894	*	*	*	1.4	17	0.9793	*	*	*
B-10			0.92 ~ 49 (n=3)	3/7	2/3	3/4	0/4	0.35	58	0.7760	-9.0	4500	0.4803	1.3	-12	0.8672	2.3	17	0.9989
B-11			1.1 ~ 51 (n=3)	7/7	2/2	1/3	1/3	1.8	-110	0.9954	*	*	*	1.4	-73	0.9679	3.2	-32	0.9862
B-12			4.2 ~ 69 (n=3)	1/7	2/3	3/4	0/3	0.012	23	0.5110	1.5	120	0.8674	0.39	29	0.9680	2.5	28	0.8716
B-13			0 ~ 39 (n=2)	4/7	2/3	1/4	2/4	0.034	170	0.3474	0.45	170	0.9928	0.21	310	0.0074	-0.83	270	0.3554
B-14	ダイオキシン類の結合能を 有するペプチドを用いた アッセイ法																		

* : プロット数が 2 しかないため、回帰式を算出してない。

(注) 技術 B-5 では、試料 G-4(検出下限値未満)の結果を含めない。

技術 B-9 では、試料 F-3、試料 G-4、試料 H-3 及び試料 H-4(定量下限値未満)の結果を含めない。

技術 B-11 では、試料 F-3、試料 G-4 及び試料 H-3(検出下限値未満)の結果を含めない。

技術 B-12 では、試料 H-3(定量下限値未満)の結果を含めない。

技術 B-13 では、分析に使用する試料量が不足したため、2 回の測定しか実施できなかった。そのため、変動係数の数値に留意する必要がある。

技術 B-14 では、底質試料の分析を実施していない。

3 . 機器分析法によるダイオキシン類簡易測定技術の検討

3 - 1 検討方法

3 - 1 - 1 対象技術の選定

機器分析法は、従来公定法で用いられてきたHRGC/HRMSによる方法ではなく、より廉価な機器等を用い、かつ試料の前処理方法についても迅速化・簡便化を図っている方法であり、近年、民間企業等において様々な手法が開発され、一部において利用されはじめている。

本検討では、以下の要件を満たすものについて、個別に協力を要請し、了承が得られた技術を選定した。選定された技術は表24に示したとおりである。

土壌、底質に含まれるダイオキシン類を測定することができる機器分析法であること。
実用化されていること。
現行のJIS及びマニュアルに示されている測定方法に比べ、測定に要する時間が短く、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。

3 - 1 - 2 分析試験の実施方法

本分析試験では、様々な由来により汚染されている土壌及び底質試料に対して、機器分析法の技術的な適用性を評価するため、焼却に由来する汚染が推定される土壌試料を2地域からそれぞれ7試料及び4試料、PCB汚染油の漏洩に由来する汚染が認められる土壌試料を1地域から4試料、農薬に由来する汚染が推定される土壌試料を1地域から4試料、農薬に由来する汚染が推定される底質試料を1水域から7試料、農薬・PCB・焼却に由来する汚染が推定される底質試料を1水域から3試料、PCB・PCPに由来する汚染が推定される底質試料を1水域から4試料及び工場排水に由来する汚染が推定される底質試料を1水域から4試料を採取し、適切な濃度範囲になるように調製したものの計37試料を各応募機関に配布した。これらの試料は各機関において通常行う方法で分析し、その結果について環境省に報告することとした。各分析試験の実施方法の概要は以下のとおりである。

目的 : 様々な汚染由来試料への技術的適用性評価
分析者 : 各協力機関
分析方法 : 各協力機関における通常の方法
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 : 異なる汚染由来が推定される土壌試料及び底質試料
試料数 : 土壌19試料、底質18試料
試料配布 : 平成17年5月27日(金)
結果報告 : 平成17年7月15日(金)

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土壌試料については参考図1 - 1 ~ 参考図1 - 19、底質試料については参考図2 - 1 ~ 参考図2 - 18に示す。

3 - 2 検討結果

3 - 2 - 1 検討対象技術の分類

今回検討対象とした技術は、QMS(四重極型質量分析計)を用いる方法(技術C - 1及び技術C - 2)、IT-MS/MS(タンデムイオントラップ型質量分析計)を用いる方法(技術C - 3~5)、燃焼イオンクロマトグラフを用いる方法(技術C - 6)、HRMS(高分解能質量分析計)を用いて指標異性体を測定する方法(技術C - 7)に分けられる(表24)。

本検討においては、これら7つの技術について技術的適用性について調査した。

表24 検討対象技術の分類

技術	分類	抽出	前処理	検出	測定対象
技術C - 1	QMS	高圧流体抽出 又はソックスレ-抽出	多層シリカゲルカラム 活性炭シリカゲルカラム	QMS	PCDD/DF(17種) Co-PCB(12種)
技術C - 2		高圧流体抽出	多層シリカゲル/活性炭シリカゲル連結カラム	QMS	PCDD/DF(17種) Co-PCB(12種)
技術C - 3	IT-MS/MS	ソックスレ-抽出	多層シリカゲルカラム 活性炭シリカゲルカラム	IT-MS/MS	PCDD/DF(17種) Co-PCB(12種)
技術C - 4		超音波抽出(土壌) 還流抽出(底質)	多層シリカゲルカラム ゲル浸透クロマトグラフィ	IT-MS/MS	PCDD/DF(17種) 2',3,4,4',5-PeCB[#123]2,3,3',4,4'- PeCB[#105]を除く Co-PCB(10種)
技術C - 5		ソックスレ-抽出又は 高圧流体抽出	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	IT-MS/MS	PCDD/DF(17種) Co-PCB(12種)
技術C - 6	燃焼イオン クロマトグラフ	加熱流下抽出	多層シリカゲルカラム	イオンクロマト グラフ	半・難揮発性有機化合物
技術C - 7	HRMS 指標異性体	高圧流体抽出	多層シリカゲルカラム 活性炭シリカゲルカラム	HRMS	2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,4,7,8-HxCDF 必要に応じて PCDD/DF(17種) 必要に応じて Co-PCB(12種)

(注) [] 内は、IUPAC No.を示す。

3 - 2 - 2 各技術分類の概要

(1)測定原理

表25に、各技術の測定方法をまとめる。

()QMS(四重極型質量分析計)を用いる方法(技術C - 1及び技術C - 2)

ガスクロマトグラフについては、キャピラリーカラムを用い、質量分析計はQMSを用いる。QMSは、4本のロッドの相対する2組の電極に、直流電圧と高周波電圧を重畳させて印加させることにより、特定のイオンのみを通過させて検出する装置であり、質量分解能はユニットマスとなる。

毒性等価係数を有するすべての異性体について測定を行い、得られた各異性体の濃度に毒性等価係数を乗じて毒性等量を求めるものである。

()IT-MS/MS(タンデムイオントラップ型質量分析計)を用いる方法(技術C - 3~5)

ガスクロマトグラフについては、キャピラリーカラムを用い、質量分析計はIT-MS/MSを用いる。IT-MS/MSは、質量分析部がリング状イオントラップのもので、特定のイオンをトラップし、さらに高周波電圧をかけることでトラップされたイオンに運動エネルギーを与え、さらにフラグメンテーションさせて検出する方法である。ダイオキシン類特有のフラグメントを検出することによって、選択性を飛躍的に向上させることができる。

毒性等価係数を有するすべての異性体について測定を行い、得られた各異性体の濃度に毒性等価係数を乗じて毒性等量を求めるものである。ただし、技術C - 4では、そのうちの2',3,4,4',5-PeCB(IUPAC No.123)及び2,3,3',4,4'-PeCB(IUPAC No.105)を測定対象外としている。

()燃焼イオンクロマトグラフを用いる方法(技術C - 6)

ダイオキシン類の毒性等量と強い相関関係のあるダイオキシン類縁物塩素(ダイオキシン類及びその類縁物質に付いている塩素)濃度を測定し、相関関係から毒性等量の推定を行うものである。ダイオキシン類縁物塩素濃度は、燃焼イオンクロマトグラフによって測定する。

()HRMS(高分解能質量分析計)を用いて指標異性体を測定する方法(技術C - 7)

ガスクロマトグラフについては、キャピラリーカラムを用い、質量分析計はHRMSを用いる。これは、公定法と同じ組み合わせであるが、測定対象とする物質が公定法とは異なるため、簡易測定法として位置付けられる。すなわち、毒性等量と相関の高い異性体(指標異性体)の濃度をHRMSで測定し、相関関係から毒性等量の推定を行うものである。キャピラリーカラムによって指標異性体を単離し、HRMSによって高精度・高感度な測定を行うことが可能である。

表25 各技術の測定方法

技術	キャピラリーカラム(測定回数)	測定対象物質
技術C - 1	DB-5MS(1回測定) HT-8(1回測定)	PCDD/DF(17種) Co-PCB(12種)
技術C - 2	BPX-DXN(1回測定)	PCDD/DF(17種) Co-PCB(12種)
技術C - 3	CP-Si18CB(2回測定)	PCDD/DF(17種) Co-PCB(12種)
技術C - 4	BPX-DXN(1回測定)	PCDD/DF(17種) 2',3,4,4',5-PeCB[#123]、2,3,3',4,4'-PeCB[#105] を除く Co-PCB(10種)
技術C - 5	BPX-DXN(2回測定)	PCDD/DF(17種) Co-PCB(12種)
技術C - 6		半・難揮発性有機ハロゲン
技術C - 7	DB-17HT(1回測定) DB-17HT(2回測定) DB-17HT(1回測定) + HT8-PCB(1回測定) DB-17HT(1回測定) + HT8-PCB(2回測定)	2,3,4,7,8-PeCDF(土壌) 2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,4,7,8-HxCDF(底質) 必要に応じて PCDD/DF(17種) さらに必要に応じて Co-PCB(12種)

(注) []内は、IUPAC No.を示す。

(2) 前処理方法

抽出は、ソックスレー抽出を行っている技術(技術C - 1、技術C - 3及び技術C - 5)の他に、高圧流体抽出(技術C - 1、技術C - 2、技術C - 5及び技術C - 7)を行っている技術がある。さらに、公定法に記載されていない方法であるが、超音波抽出(技術C - 4)、還流抽出(技術C - 4)及び加熱流下抽出(技術C - 6)を行っているところもある。

クリーンアップは、技術C - 1～3、技術C - 5及び技術C - 7では、多層シリカゲルカラム及び活性炭シリカゲルカラムによる処理を行っているが、技術C - 6では多層シリカゲルカラムのみを用いている。また、技術C - 4では、多層シリカゲルカラム及びゲル浸透クロマトグラフィによる処理を行っている。

各技術の前処理方法の概要を表26に示す。

表 26 各技術の前処理方法

技術	抽出	クリーンアップ
技術C - 1	高圧流体抽出 又はソックスレー抽出	多層シリカゲルカラム 活性炭シリカゲルカラム
技術C - 2	高圧流体抽出(エタノール、50% アセトン/ヘキサン、トルエン)	多層シリカゲル(20%硝酸銀/シリカゲル、44%硫酸/シリカゲル) /2層活性炭シリカゲル(ENVI-Carb、Carboxen1000)連結カラム
技術C - 3	ソックスレー抽出(トルエン)	多層シリカゲルカラム 活性炭シリカゲルカラム
技術C - 4	土壌 超音波抽出(トルエン)	多層シリカゲルカラム ゲル浸透クロマトグラフィ
	底質 還流抽出(トルエン)	
技術C - 5	ソックスレー抽出(トルエン) 又は高圧流体抽出(トルエン)	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
技術C - 6	加熱流下抽出(トルエン)	多層シリカゲルカラム(無水硫酸ナトリウム、10%硝酸銀/シリ カゲル、44%硫酸/シリカゲル) 硫黄分の多い特殊な試料の場合にのみ入れる
技術C - 7	高圧流体抽出	多層シリカゲルカラム 活性炭シリカゲルカラム

(3) 標準物質及び検量線作成方法

技術C - 1～5及び技術C - 7では、1～2000pg/μL程度の濃度範囲で3～7段階のPCDD/DF及びCo-PCB標準溶液を調製し、各装置に注入して、測定対象物質と内標準物質のピーク面積から内標準法による検量線を作成している。

また、技術C - 6では、50μg-Cl/L、250μg-Cl/Lの塩化ナトリウム標準水溶液を調製し、イオンクロマトグラフに注入して、ピーク面積と塩化物イオン濃度との関係から絶対検量線を作成している。

(4) 検出下限値及び定量範囲の設定方法

原則として検量線の最低濃度レベルの標準溶液を各装置に注入し、得られた測定値から標準偏差を求め、その3倍を検出下限、10倍を定量下限としているが、技術C - 6では、その3倍を検出下限、8倍を定量下限としている。

(5) 測定量(毒性等量)への換算方法

() QMS(四重極型質量分析計)を用いる方法(技術C - 1及び技術C - 2)

測定したPCDD/DF及びCo-PCBの各異性体濃度にTEFを乗じたものの総和を求め、測定量(毒性等量)としている。いずれの技術も、PCDD/DFの17種及びCo-PCBの12種を測定対象としている。

() IT-MS/MS(タンデムイオントラップ型質量分析計)を用いる方法(技術C - 3~5)

測定したPCDD/DF及びCo-PCBの各異性体濃度にTEFを乗じたものの総和を求め、測定量(毒性等量)としている。技術C - 3及び技術C - 5では、PCDD/DFの17種及びCo-PCBの12種を測定対象としているが、技術C - 4ではPCDD/DFの17種と、2',3,4,4',5-PeCB(IUPAC No.123)及び2,3,3',4,4'-PeCB(IUPAC No.105)を除く10種のCo-PCBを測定対象としている。

() 燃焼イオンクロマトグラフを用いる方法(技術C - 6)

過去に蓄積されたデータから得られる土壌又は底質試料中のダイオキシン類縁物塩素濃度と毒性等量との相関関係より、測定量(毒性等量)を求めている。

相関式 (測定量(毒性等量)[pg-TEQ/g]) = a × (ダイオキシン類縁物塩素濃度[μg-Cl/g])^b

係数 土壌 : a = 3500 b = 2.2 (主に焼却汚染由来)

a = 13 b = 1.3 (主にPCB汚染由来)

a = 460 b = 1.1 (主に農薬汚染由来)

底質 : a = 200 b = 1.7 (焼却・農薬汚染由来)

底質について、PCBに由来する汚染が主な場合は、測定量(毒性等量)が高めになると考えられる。また、工場排水に由来する汚染が主な場合は、現時点で測定量(毒性等量)への換算ができない。しかし、今後データが蓄積されれば、測定量(毒性等量)への換算が可能である。

() HRMS(高分解能質量分析計)を用いて指標異性体を測定する方法(技術C - 7)

過去に蓄積されたデータから得られる土壌又は底質試料中の指標異性体濃度と毒性等量との相関関係より、あらかじめ換算係数を求めておき、測定した指標異性体(2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,4,7,8-HxCDF)の濃度に換算係数を乗じて、測定量(毒性等量)としている。

相関式 (測定量(毒性等量)[pg-TEQ/g]) = a × (指標異性体の実測濃度[pg/g])

係数 土壌 : a = 2.02 (指標異性体 : 2,3,4,7,8-PeCDF)

底質 : a = 0.75 (指標異性体 : 2,3,4,7,8-PeCDF + 1,2,3,4,7,8-HxCDF)

しかし、試料の異性体分布が通常とは異なる場合については、17種のPCDD/DF及び12種のCo-PCBのうち、TEQへの寄与率が高い異性体についても測定し、その濃度にTEFを乗じたものの総和を求め、測定量(毒性等量)としている。今回配布した試料のうち、下記の試料については、この方法により測定量(毒性等量)を求めている。

試料D - 2 : HxCDD/DF ~ OCDD/DFのTEQに占める割合が90%以上であったため、DB-17HTキャピラリーカラムを用いてHxCDD/DF ~ OCDDのみを測定対象としている。

試料D - 3、試料E - 1、試料E - 3、試料E - 5、試料G - 3 : non-orthoPCBのTEQに占める割合が10%以

上であったため、HT8-PCBキャピラリーカラムを用いてmono-orthoPCBの測定も併せて行っている。試料C - 1、試料C - 2、試料C - 3、試料C - 4 : Co-PCBのTEQに占める割合が95%以上であったため、HT8-PCBキャピラリーカラムを用いてCo-PCBのみを測定対象としている

3 - 2 - 3 分析試験結果

(1)測定結果

土壌試料の測定結果を参考表40～44に、底質試料の測定結果を参考表45～49に示す。

技術C - 1～5及び技術C - 7については、測定対象とした全異性体の実測濃度が定量下限値未満となるような試料はなかったが、技術C - 4では、試料B - 2(15pg-TEQ/g)、試料F - 3(24pg-TEQ/g)、試料G - 4(11pg-TEQ/g)及び試料H - 3(2.8pg-TEQ/g)について、測定対象とした異性体の検出下限の1/2の値にTEFを乗じた値の総和未満となった。また、技術C - 6では、試料G - 4(11pg-TEQ/g)の実測濃度が定量下限値未満となった。

(2)適用可能性の検討

各技術の適用可能性について、公定法との比較、定量下限及び測定値のばらつきの3つの観点から検討した。

(ア)公定法との比較

公定法比

【土壌試料】

土壌試料について、公定法による毒性等量に対する各技術の測定量(毒性等量)の比率をまとめたものを表27～29に示す。

表27 公定法による毒性等量に対する各機器分析技術の測定量(毒性等量)の比率(試料A系列)

	A - 1	A - 2	A - 3	A - 4	A - 5	A - 6	A - 7
公定法による毒性等量 (pg-TEQ/g)	70	1500	2700	8700	29000	220	840
技術 C - 1	1.6	1.5	1.6	1.3	1.3	1.9	1.4
技術 C - 2	2.1	2.3	2.2	1.8	2.1	3.4	2.4
技術 C - 3	0.94	1.5	1.3	1.3	1.4	1.6	1.3
技術 C - 4	1.5	1.3	1.4	1.1	1.0	1.5	1.4
技術 C - 5	0.69	0.87	0.99	0.75	0.66	1.3	0.81
技術 C - 6	2.5	0.54	0.45	0.89	1.1	1.6	0.83
技術 C - 7	1.3	1.4	1.7	1.3	1.3	1.8	1.4

表28 公定法による毒性等量に対する各機器分析技術の測定量(毒性等量)の比率(試料B系列、試料C系列)

	B - 1	B - 2	B - 3	B - 4	C - 1	C - 2	C - 3	C - 4
公定法による毒性等量 (pg-TEQ/g)	2100	15	450000	280	5800	65000	240000	49000
技術 C - 1	1.2	1.7	0.94	1.1	0.94	1.1	1.2	0.87
技術 C - 2	1.7	1.4	1.1	1.4	1.0	1.0	0.98	1.0
技術 C - 3								
技術 C - 4	1.3	*	1.4	1.1	1.1	0.99	1.1	1.3
技術 C - 5	1.1	4.4	0.91	1.5	0.43	0.39	0.35	0.46
技術 C - 6	0.31	2.8	7.0	4.6	0.52	1.3	0.75	0.58
技術 C - 7	1.2	0.77	0.98	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1

*：測定対象とした異性体の検出下限の1/2の値にTEFを乗じた値の総和未満

(注) 技術C - 3は、試料B系列及び試料C系列の分析を実施していない。

表29 公定法による毒性等量に対する各機器分析技術の測定量(毒性等量)の比率(試料D系列)

	D - 1	D - 2	D - 3	D - 4
公定法による毒性等量 (pg-TEQ/g)	110	45000	71	2900
技術 C - 1	1.2	1.3	1.4	1.1
技術 C - 2	1.4	1.4	1.3	1.3
技術 C - 3				
技術 C - 4	1.0	1.3	1.2	1.1
技術 C - 5	2.4	1.2	3.0	0.53
技術 C - 6	0.66	0.61	4.7	0.69
技術 C - 7	1.1	1.1	0.95	1.1

(注) 技術C - 3は、試料D系列の分析を実施していない。

()QMS(四重極型質量分析計)を用いる方法(技術C - 1~2)

技術C - 1では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.87~1.9)していた。

技術C - 2では、試料A系列について、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い傾向(公定法比：1.8~3.4)を示したが、試料B系列、試料C系列及び試料D系列については、良好に一致(公定法比：0.98~1.7)していた。特に、試料C系列については極めて良好に一致(公定法比：0.98~1.0)していた。

()IT-MS/MS(タンデムイオントラップ型質量分析計)を用いる方法(技術C - 3~5)

技術C - 3では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.94~1.6)していた。

技術C - 4では、測定対象とした異性体の検出下限の1/2の値にTEFを乗じた値の総和未満となった試料B - 2(15pg-TEQ/g)を除き、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.99~1.5)していた。

技術C - 5では、試料A系列において、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定

法比：0.66～1.3)していた。試料B系列では、試料B - 2(15pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：4.4)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比：0.91～1.5)していた。一方、試料C系列については、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い値(公定法比：0.35～0.46)となった。試料D系列については、試料D - 2及び試料D - 4の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：1.2及び0.53)していたが、試料D - 1(110pg-TEQ/g、系列内で2番目に低い濃度)及び試料D - 3(71pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)は高い値(公定法比：2.4及び3.0)となった。

() 燃焼イオンクロマトグラフを用いる方法(技術C - 6)

試料A系列では、試料A - 1(70pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：2.5)となった。しかし、試料A - 3(2700pg-TEQ/g)の測定量(毒性等量)は公定法による毒性等量よりも低い値(公定法比：0.45)となった。その他の試料については公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.54～1.6)していた。

試料B系列では、公定法による毒性等量に対する測定量(毒性等量)の比率に、ばらつき(公定法比：0.31～7.0)があった。試料C系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.52～1.3)していた。試料D系列では、試料D - 3(71pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比：4.7)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比：0.61～0.69)していた。

() HRMS(高分解能質量分析計)を用いて指標異性体を測定する方法(技術C - 7)

すべての系列において、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比：0.77～1.8)していた。特に、試料C系列及び試料D系列については、極めて良好に一致(公定法比：0.95～1.1)していた。

【底質試料】

底質試料について、公定法による毒性等量に対する各技術の測定量(実測濃度)の比率をまとめたものを表30～32に示す。

表30 公定法による毒性等量に対する各機器分析技術の測定量(毒性等量)の比率(試料E系列)

	E - 1	E - 2	E - 3	E - 4	E - 5	E - 6	E - 7
公定法による毒性等量 (pg-TEQ/g)	110	240	71	1500	180	380	2400
技術 C - 1	1.4	1.3	1.2	1.3	1.3	1.4	1.5
技術 C - 2	1.5	1.4	1.4	1.2	1.5	1.5	1.2
技術 C - 3	1.2	1.2	1.1	1.5	1.3	1.4	1.4
技術 C - 4	1.4	1.6	1.2	1.5	1.5	1.7	1.7
技術 C - 5	2.5	1.9	2.0	2.1	1.9	1.8	2.4
技術 C - 6	2.5	0.54	4.2	1.3	1.0	0.53	1.8
技術 C - 7	1.5	1.5	1.3	1.3	1.5	1.6	1.6

表31 公定法による毒性等量に対する各機器分析技術の測定量(毒性等量)の比率(試料F系列、試料G系列)

	F - 1	F - 2	F - 3	G - 1	G - 2	G - 3	G - 4
公定法による毒性等量 (pg-TEQ/g)	180	550	24	100	61	170	11
技術 C - 1	1.4	1.3	0.83	1.8	1.3	1.1	0.92
技術 C - 2	1.8	1.6	1.2	2.0	1.8	1.3	1.1
技術 C - 3							
技術 C - 4	1.2	1.6	*	1.4	1.2	1.2	*
技術 C - 5	0.91	1.0	2.8	1.1	1.2	1.0	2.7
技術 C - 6	0.86	0.48	1.8	1.8	1.8	11	**
技術 C - 7	1.4	1.3	1.2	1.5	1.4	1.1	1.2

* : 測定対象とした異性体の検出下限の1/2の値にTEFを乗じた値の総和未満

** : 検出下限値未満

(注) 技術C - 3は、試料F系列及び試料G系列の分析を実施していない。

表32 公定法による毒性等量に対する各機器分析技術の測定量(毒性等量)の比率(試料H系列)

	H - 1	H - 2	H - 3	H - 4
公定法による毒性等量 (pg-TEQ/g)	180	120	2.8	28
技術 C - 1	1.7	1.5	9.6	1.3
技術 C - 2	1.5	1.4	0.30	1.1
技術 C - 3				
技術 C - 4	1.4	1.3	*	0.98
技術 C - 5	0.95	0.99	10	1.3
技術 C - 6				
技術 C - 7	1.4	1.3	1.2	1.0

* : 測定対象とした異性体の検出下限の1/2の値にTEFを乗じた値の総和未満

(注) 技術C - 3は、試料H系列の分析を実施していない。

技術C - 6は、試料H系列について、測定量(毒性等量)への換算を行っていない。

()QMS(四重極型質量分析計)を用いる方法(技術C - 1~2)

技術C - 1及び技術C - 2では、試料H - 3(2.8pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)を除き、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比 : 0.83 ~ 2.0)していた。試料H - 3における公定法による毒性等量に対する測定量(毒性等量)の比率は、技術C - 1では9.6、技術C - 2では0.30であった。この試料における技術C - 1の3回の測定値は、ばらついており、また、技術C - 2で測定対象としている異性体のほとんどが検出下限未満の値となっていた。

()IT-MS/MS(タンデムイオンラップ型質量分析計)を用いる方法(技術C - 3~5)

技術C - 3では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比 : 1.1 ~ 1.5)していた。

技術C - 4では、測定対象とした異性体の検出下限の1/2の値にTEFを乗じた値の総和未満となった試料F - 3(24pg-TEQ/g)、試料G - 4(11pg-TEQ/g)及び試料H - 3(2.8pg-TEQ/g)を除き、測定量(毒性等量)が

公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比:0.98~1.7)していた。

技術C-5では、試料E系列について、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い傾向(公定法比:1.8~2.5)を示した。しかし、試料F系列、試料G系列及び試料H系列では、各系列においてそれぞれ最も濃度の低い試料(試料F-3(24pg-TEQ/g)、試料G-4(11pg-TEQ/g)及び試料H-3(2.8pg-TEQ/g))を除き、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比:0.91~1.3)していた。

() 燃焼イオンクロマトグラフを用いる方法(技術C-6)

試料E系列について、試料E-1(110pg-TEQ/g、系列内で2番目に低い濃度)及び試料E-3(71pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(公定法比:2.5及び4.2)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比:0.53~1.8)していた。

試料F系列では、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも低い傾向(公定法比:0.48~1.8)を示した。

試料G系列では、試料G-3(170pg-TEQ/g)の測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量よりも高い値(11pg-TEQ/g)となったが、その他の試料については良好に一致(公定法比:いずれも1.8)していた。

() HRMS(高分解能質量分析計)を用いて指標異性体を測定する方法(技術C-7)

すべての系列において、測定量(毒性等量)が公定法による毒性等量と良好に一致(公定法比:1.0~1.6)していた。

公定法との相関

公定法による毒性等量と各技術による測定量(毒性等量)の相関図を参考図4-1~22に示す。ここでは、公定法による毒性等量と各技術による測定量(毒性等量)の一次回帰直線式を求め、その決定係数から各技術による測定量(毒性等量)の精度について調べた。さらに、その傾きから各技術による測定量(毒性等量)の正確さについて調べた。

() QMS(四重極型質量分析計)を用いる方法(技術C-1~2)

<技術C-1>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度は概ね良好であり、正確さは極めて良好であった。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

<技術C - 2>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度は概ね良好であり、正確さは極めて良好であった。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

()IT-MS/MS(タンデムイオントラップ型質量分析計)を用いる方法(技術C - 3~5)

<技術C - 3>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

<技術C - 4>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

3試料のうち、試料F - 3(24pg-TEQ/g)が測定対象とした異性体の検出下限の1/2の値にTEFを乗じた値の総和未満であった。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度は概ね良好であり、正確さは極めて良好であった。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

<技術C - 5>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は良好であったが、正確さはやや悪い。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は良好であったが、正確さはやや悪い。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

() 燃焼イオンクロマトグラフを用いる方法(技術C - 6)

<技術C - 6>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であったが、正確さは悪い。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は概ね良好であり、正確さは極めて良好であった。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は概ね良好であり、正確さは良好であった。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度は概ね良好であったが、正確さはやや悪い。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度は概ね良好であったが、正確さは悪い。

()HRMS(高分解能質量分析計)を用いて指標異性体を測定する方法(技術C - 7)

<技術C - 7>

【土壌試料】

焼却汚染由来(試料A系列、試料B系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

PCB汚染油漏洩由来(試料C系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

農薬汚染由来(試料D系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

【底質試料】

農薬汚染由来(試料E系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

農薬・PCB・焼却汚染由来(試料F系列)

精度は良好であり、正確さは極めて良好であった。

PCB・PCP汚染由来(試料G系列)

精度は概ね良好であり、正確さは極めて良好であった。

工場排水汚染由来(試料H系列)

精度は良好であり、正確さも良好であった。

(イ)定量下限

各技術で用いる分析装置の定量下限値の比較を表33に示す。また、技術C-6の燃焼イオンクロマトグラフを用いる方法における定量下限値を表34に示す。

表33 装置の検出下限値・定量下限値(各応募機関の報告値)

単位：pg

測定対象物質	分類	QMS				IT-MS/MS						HRMS	
		技術 C-1		技術 C-2		技術 C-3		技術 C-4		技術 C-5		技術 C-7	
		DL	QL	DL	QL	DL	QL	DL	QL	DL	QL	DL	QL
2,3,7,8-TeCDD		0.1	0.4	1	4	0.5	2	0.8	2	0.05	0.2	0.01	0.04
1,2,3,7,8-PeCDD		0.2	0.8	2	6	0.5	2	0.3	0.8	0.05	0.2	0.04	0.01
1,2,3,4,7,8-HxCDD		0.3	1	3	9	0.5	2	0.4	2	0.05	0.2	0.02	0.07
1,2,3,6,7,8-HxCDD		0.4	1	3	9	0.5	2	0.8	4	0.05	0.2	0.03	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD		0.2	0.8	3	8	0.5	2	0.8	3	0.1	0.3	0.04	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD		0.2	0.6	3	8	0.5	2	0.8	3	0.05	0.2	0.06	0.2
OCDD		0.8	3	6	21	0.5	2	3	8	0.5	2	0.04	0.1
2,3,7,8-TeCDF		0.06	0.2	1	4	0.5	2	0.8	3	0.05	0.2	0.01	0.03
1,2,3,7,8-PeCDF		0.2	0.8	1	3	0.5	2	0.4	2	0.03	0.1	0.03	0.1
2,3,4,7,8-PeCDF		0.4	1	1	4	0.5	2	0.8	2	0.1	0.5	0.03	0.09
1,2,3,4,7,8-HxCDF		0.2	0.7	2	5	0.5	2	0.8	2	0.08	0.3	0.02	0.06
1,2,3,6,7,8-HxCDF		0.4	1	1	5	0.5	2	0.8	4	0.08	0.2	0.02	0.06
1,2,3,7,8,9-HxCDF		0.4	1	2	6	0.5	2	2	8	0.1	0.4	0.03	0.1
2,3,4,6,7,8-HxCDF		0.4	1	3	9	0.5	2	0.8	3	0.2	0.6	0.03	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF		0.3	1	1	5	0.5	2	0.4	2	0.08	0.3	0.02	0.05
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF		0.3	1	2	8	0.5	2	0.8	3	0.2	0.5	0.02	0.08
OCDF		0.9	3	6	19	0.5	2	0.8	4	2	7	0.05	0.2
3,4,4',5-TeCB	[#81]	0.02	0.07	0.5	1.6	0.5	2	0.4	2	0.05	0.2	0.01	0.04
3,3',4,4'-TeCB	[#77]	0.03	0.09	0.4	1.5	0.5	2	2	8	0.05	0.2	0.02	0.06
3,3',4,4',5-PeCB	[#126]	0.02	0.08	0.9	3.1	0.5	2	2	8	0.2	0.7	0.02	0.07
3,3',4,4',5,5'-HxCB	[#169]	0.04	0.1	2	6	0.5	2	0.4	2	0.06	0.2	0.02	0.08
2',3,4,4',5-PeCB	[#123]	0.04	0.1	1	4	0.5	2	-	-	0.1	0.4	0.01	0.04
2,3',4,4',5-PeCB	[#118]	0.03	0.1	0.8	2.6	0.5	2	0.8	2	0.2	0.6	0.02	0.07
2,3,3',4,4'-PeCB	[#105]	0.04	0.2	0.9	2.9	0.5	2	-	-	0.3	0.9	0.03	0.1
2,3,4,4',5-PeCB	[#114]	0.05	0.2	0.9	2.9	0.5	2	1	4	0.1	0.7	0.03	0.1
2,3',4,4',5,5'-HxCB	[#167]	0.05	0.2	0.8	2.8	0.5	2	0.4	2	0.05	0.2	0.03	0.1
2,3,3',4,4',5-HxCB	[#156]	0.01	0.04	1	4	0.5	2	2	8	0.06	0.2	0.02	0.06
2,3,3',4,4',5'-HxCB	[#157]	0.02	0.08	0.5	1.6	0.5	2	2	8	0.06	0.2	0.01	0.04
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	[#189]	0.05	0.2	1	4	0.5	2	0.4	2	0.1	0.4	0.02	0.06

(注) DL：検出下限値 QL：定量下限値

QMS：四重極型質量分析計 IT-MS/MS：タンデムイオントラップ型質量分析計 HRMS：高分解能質量分析計

[]内は、IUPAC No.を示す。

表34 装置の定量下限値(燃焼イオンクロマトグラフを用いる方法) (応募機関の報告値)

抽出試料量 W (g)	抽出液量 e_1 (ml)	抽出液分取量 e_2 (ml)	最終濃縮液量 v_1 (ml)	装置への導入液量 v_2 (ml)	吸収液量 v_3 (ml)	イオンクロマトグラフへの注入液量 v_4 (ml)	イオンクロマトグラフの定量下限値 C_2 ($\mu\text{g-Cl}$)	試料換算定量下限値 C_1 ($\mu\text{g-Cl/g}$)
20	180	90	0.20	0.050	5.0	0.30	0.00030	0.0020

(注) 定量下限の算出方法は、次式による。

$$C_1 = \frac{C_2 e_1 v_1 v_3}{W e_2 v_2 v_4}$$

ここで C_1 : ダイオキシン類縁物塩素の定量下限値 ($\mu\text{g-Cl/g-dry}$)

C_2 : イオンクロマトグラフの定量下限値 ($\mu\text{g-Cl}$)

W : 抽出試料量(g-dry)

e_1 : 抽出液量(ml)

e_2 : 抽出分取量(ml)

v_1 : 最終濃縮液量(ml-抽出液)

v_2 : CIC装置導入量(ml-抽出液)

v_3 : 吸収液量(ml-吸収液)

v_4 : イオンクロマトグラフへの注入液量(ml-吸収液)

(ウ)測定量(毒性等量)のばらつき

同一試料における測定量(毒性等量)のばらつきの程度を評価するため、変動係数について調べた。

【土壌試料】

各技術における土壌試料の変動係数を表35に示す。

いずれの技術も変動係数は20%以内であり、測定によるばらつきは少なかった。

表35 各技術の変動係数(土壌試料)

単位：%

技術	試料A系列	試料B系列	試料C系列	試料D系列
技術 C - 1	0 ~ 9.3 (n=3)	1.4 ~ 7.7 (n=3)	0 ~ 18 (n=3)	1.8 ~ 13 (n=3)
技術 C - 2	0 ~ 3.9 (n=3)	0 ~ 3.2 (n=3)	0.85 ~ 4.3 (n=3)	0.94 ~ 3.8 (n=3)
技術 C - 3	1.4 ~ 15 (n=3)			
技術 C - 4	1.1 ~ 8.2 (n=3)	0.91 ~ 9.1 (n=3)	3.8 ~ 11 (n=3)	0 ~ 7.7 (n=3)
技術 C - 5	0 ~ 17 (n=3)	1.4 ~ 10 (n=3)	2.3 ~ 10 (n=3)	0 ~ 15 (n=3)
技術 C - 6	6.5 ~ 20 (n=3)	0 ~ 9.8 (n=3)	1.4 ~ 6.5 (n=3)	1.7 ~ 7.5 (n=3)
技術 C - 7	5.1 ~ 9.9 (n=3)	5.8 ~ 14 (n=3)	3.8 ~ 13 (n=3)	1.9 ~ 9.9 (n=3)

(注) 技術C - 3は、試料B系列、試料C系列及び試料D系列の分析を実施していない。

【底質試料】

各技術における底質試料の変動係数を表36に示す。

技術C - 2～4、技術C - 6及び技術C - 7では、いずれの試料も変動係数が20%以内であったが、その他の技術では、変動係数が20%を超えるものがあった。

技術C - 5では、試料E - 1(変動係数：26%)を除き変動係数が20%以内であった。

技術C - 1では、試料G - 4(11pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の変動係数が39%、試料H - 3(2.8pg-TEQ/g、系列内で最低濃度)の変動係数が84%、試料H - 4(28pg-TEQ/g、系列内で2番目に低い濃度)の変動係数が39%であったが、その他の試料の変動係数は20%以内であった。

表36 各技術の変動係数(底質試料)

単位：%

技術	試料E系列	試料F系列	試料G系列	試料H系列
技術 C - 1	0 ~ 9.2 (n=3)	4.7 ~ 11 (n=3)	8.3 ~ 39 (n=3)	3.3 ~ 84 (n=3)
技術 C - 2	0 ~ 3.3 (n=3)	1.9 ~ 9.1 (n=3)	0 ~ 2.9 (n=3)	0 ~ 6.9 (n=3)
技術 C - 3	2.6 ~ 12 (n=3)			
技術 C - 4	0 ~ 7.7 (n=3)	4.8 ~ 7.1 (n=3)	4.8 ~ 11 (n=3)	3.8 ~ 12 (n=3)
技術 C - 5	1.3 ~ 26 (n=3)	4.4 ~ 11 (n=3)	2.7 ~ 18 (n=3)	3.3 ~ 5.1 (n=3)
技術 C - 6	3.0 ~ 13 (n=3)	6.7 ~ 8.2 (n=3)	3.3 ~ 6.7 (n=3)	
技術 C - 7	2.2 ~ 10 (n=3)	1.9 ~ 7.9 (n=3)	3.1 ~ 17 (n=3)	6.2 ~ 14 (n=3)

(注) 技術C - 3は、試料F系列、試料G系列及び試料H系列の分析を実施していない。

技術C - 6は、試料H系列について、測定量(毒性等量)への換算を行っていない。

3 - 2 - 4 簡易性

(1)分析時間

高压流体抽出や加熱流下抽出などを用いることにより、抽出時間の短縮化が図られている。また、クリーンアップは、多層シリカゲル/活性炭連結カラムの使用などにより簡略化が図られている技術もある。

測定には、四重極型質量分析計、タンデムイオントラップ型質量分析計、燃烧イオンクロマトグラフなどが用いられ、公定法と比較して測定条件の簡略化が図られており、分析時間の短縮化に寄与している。

また、測定に高分解能質量分析計を用いる場合であっても、毒性等量と相関の高い異性体(指標異性体)のみを測定し、相関関係から毒性等量の推定を行うことにより、公定法と比較して分析時間の短縮化が図られている技術もある。

(2)分析費用

四重極型質量分析計やタンデムイオントラップ型質量分析計などの価格は1,000万円～3,000万円程度である。また、燃烧イオンクロマトグラフの価格は900万円程度(燃烧装置のみで500万円程度)である。6,000万円～8,000万円程度の高分解能質量分析計に比べて、その導入コストは1/2～1/8程度である。

また、四重極型質量分析計やタンデムイオントラップ型質量分析計などの維持管理に要する費用は

年に150万円程度(燃烧イオンクロマトグラフの場合はさらに安価)であり、高分解能質量分析計の維持管理費用(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。

各技術における分析時間及び分析費用を表 37 に示す。

表37 各技術における分析時間及び分析費用(各応募機関の申告による)

技術	ロットサイズ	前処理	測定	データ処理 及びその他	1検体あたりの分析費用
技術C - 1	1	12.7時間	1時間	0.5時間	
技術C - 2	1	5.5時間	3時間	1.5時間	60,000円(土壌)
	20	45時間	18時間	11時間	
	1	9時間	3時間	1.5時間	60,000円(底質)
	20	46時間	18時間	11時間	
技術C - 3	1	8時間	7.3時間	1.5時間	48,800円
	20	30時間	42時間	8時間	26,000円
技術C - 4	10	39時間	15時間	2時間	30,000円
技術C - 5	1	7.5時間	2時間	1時間	97,000円
	20	55時間	45時間	3時間	70,000円
技術C - 6	1	4.5時間	1時間	0.2時間	30,000 ~ 50,000円
	4	4.5時間	4時間	0.8時間	30,000 ~ 50,000円
	20	22.5時間	20時間	4時間	20,000 ~ 40,000円
技術C - 7	1	12.5時間	1 ~ 2.5時間	1時間	50,000円
	20	28.5時間	21時間	11時間	45,000円

3 - 3 まとめ

これまでの検討結果を踏まえ、各技術の概略及び分析試験結果をまとめたものを表38 - 1 ~ 3に示す。

表 3 8 - 1 機器分析法の概略

技術番号	技術分類	分析方法の概要				
		抽出方法	クリーンアップ方法	分離に使用するキャピラリーカラム	測定対象	検出方法
C-1	四重極型質量分析計(QMS)を用いる方法	高压流体抽出又はソックスレー抽出	多層シリカゲルカラム 活性炭シリカゲルカラム	DB-5MS(1回測定) HT-8(1回測定)	PCDD/DF (17種) Co-PCB (12種)	QMS
C-2		高压流体抽出	多層シリカゲル/活性炭シリカゲル連結カラム	BPX-DXN(1回測定)		
C-3	タンデムイオントラップ型質量分析計(IT-MS/MS)を用いる方法	ソックスレー抽出	多層シリカゲルカラム 活性炭シリカゲルカラム	CP-Sil8CB(2回測定)	PCDD/DF (17種) Co-PCB (12種)	IT-MS/MS
C-4		超音波抽出(土壌) 還流抽出(底質)	多層シリカゲルカラム ゲル浸透クロマトグラフィ	BPX-DXN(1回測定)	PCDD/DF (17種) 2',3,4,4',5-PeCB [#123] 2,3,3',4,4'-PeCB [#105] を除く Co-PCB(10種)	
C-5		ソックスレー抽出 又は高压流体抽出	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	BPX-DXN(2回測定)	PCDDs/DF (17種) Co-PCB (12種)	
C-6	燃烧イオンクロマトグラフを用いる方法	加熱流下抽出	多層シリカゲルカラム		半・難揮発性有機ハロゲン	イオンクロマトグラフ
C-7	高分解能質量分析計(HRMS)を用いて指標異性体を測定する方法	高压流体抽出	多層シリカゲルカラム 活性炭シリカゲルカラム	DB-17HT(1回測定) DB-17HT(2回測定) DB-17HT(1回測定)+HT8-PCB(1回測定) DB-17HT(1回測定)+HT8-PCB(2回測定)	2,3,4,7,8-PeCDF(土壌) 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF(底質) 必要に応じて PCDD/DF (17種)、 さらに必要に応じて Co-PCB (12種)	HRMS

(注) [] 内は、IUPAC No.を示す。

表 3 8 - 2 機器分析法の分析試験結果のまとめ(土壌試料)

技術番号	技術分類	測定値の変動係数(%)	汚染由来別測定精度(偏差内の出現頻度)			公定法による毒性等量と簡易測定法による測定量(毒性等量)の一次回帰直線式								
			$\frac{a}{b}$ 公定法による毒性等量に対して1/2倍以上2倍以下の測定量(毒性等量)が得られた試料数 全試料数			焼却汚染由来 (A、B系列)			PCB 汚染油漏洩由来 (C系列)			農薬汚染由来 (D系列)		
			焼却汚染由来 (A、B系列)	PCB 汚染油漏洩由来 (C系列)	農薬汚染由来 (D系列)	傾き	切片	決定係数	傾き	切片	決定係数	傾き	切片	決定係数
C-1	四重極型質量分析計(QMS)を用いる方法	0~18 (n=3)	11/11	4/4	4/4	0.93	1700	0.9993	1.2	-8300	0.9974	1.3	-170	0.9999
C-2		0~4.3 (n=3)	5/11	4/4	4/4	1.1	4200	0.9965	0.97	2500	0.9996	1.4	-81	1.0000
C-3	タンデムイオントラップ型質量分析計(IT-MS/MS)を用いる方法	1.4~15 (n=3)	7/7			1.4	-130	0.9996						
C-4		0~11 (n=3)	10/10	4/4	4/4	1.4	-1600	0.9997	1.1	-260	0.9969	1.3	-150	1.0000
C-5		0~17 (n=3)	10/11	0/4	2/4	0.91	-750	0.9997	0.34	2900	0.9962	1.2	-500	0.9987
C-6	燃烧イオンクロマトグラフを用いる方法	0~20 (n=3)	5/11	4/4	3/4	7.0	-26000	0.9971	0.74	6600	0.9439	0.61	170	0.9999
C-7	高分解能質量分析計(HRMS)を用いて指標異性体を測定する方法	1.9~14 (n=3)	11/11	4/4	4/4	0.98	1600	0.9995	1.1	-230	0.9999	1.1	-68	1.0000

(注) 技術 C - 3 では、試料 B 系列、試料 C 系列及び試料 D 系列の分析を実施していない。

技術 C - 4 では、試料 B - 2(測定対象とした異性体の検出下限の 1/2 の値に TEF を乗じた値の総和未満)の結果を含めない。

表 3 8 - 3 機器分析法の分析試験結果のまとめ (底質試料)

技術 番号	技術分類	測定値の 変動係数(%)	汚染由来別測定精度(偏差内の出現頻度)				公定法による毒性等量と簡易測定法による測定量(毒性等量)の一次回帰直線式											
			$\frac{a}{b}$ 公定法による毒性等量に対して 1/2 倍 以上 2 倍以下の測定量(毒性等量)が得 られた試料数 全試料数				農薬汚染由来 (E 系列)			農薬・PCB・焼却汚染由来 (F 系列)			PCB・PCP 汚染由来 (G 系列)			工場排水汚染由来 (H 系列)		
			農薬汚染 由来 (E 系列)	農薬・ PCB・焼却 汚染由来 (F 系列)	PCB・PCP 汚染由来 (G 系列)	工場排水 汚染由来 (H 系列)	傾き	切片	決定係数	傾き	切片	決定係数	傾き	切片	決定係数	傾き	切片	決定係数
C-1	四重極型質量分析計 (QMS)を用いる方法	0~84 (n=3)	7/7	3/3	4/4	3/4	1.4	-26	0.9939	1.3	0.14	0.9983	1.2	13	0.8571	1.6	5.1	0.9811
C-2		0~9.1 (n=3)	7/7	3/3	4/4	3/4	1.2	60	0.9982	1.6	4.6	0.9983	1.3	22	0.8657	1.5	-8.0	0.9987
C-3	タンデムイオントラップ型 質量分析計(IT-MS/MS) を用いる方法	2.6~12 (n=3)	7/7	/	/	/	1.5	-23	0.9981	/	/	/	/	/	/	/	/	/
C-4		0~12 (n=3)	7/7	2/2	3/3	3/3	1.7	-43	0.9946	*	*	*	1.1	13	0.9707	1.5	-18	0.9985
C-5		1.3~26 (n=3)	4/7	2/3	3/4	3/4	2.4	-110	0.9936	0.96	23	0.9888	0.91	19	0.9997	0.83	20	0.9917
C-6	燃焼イオンクロマトグラフ を用いる方法	3.0~13 (n=3)	5/7	2/3	2/3	/	1.7	-150	0.9531	0.40	53	0.9468	16	-1100	0.8853	/	/	/
C-7	高分解能質量分析計(HRMS) を用いて指標異性体を 測定する方法	1.9~17 (n=3)	7/7	3/3	4/4	4/4	1.6	-36	0.9852	1.3	10	0.9983	1.1	14	0.9317	1.4	-6.7	0.9976

* : プロット数が 2 しかないため、回帰式を算出してない。

(注) 技術 C-3 では、試料 F 系列、試料 G 系列及び試料 H 系列の分析を実施していない。

技術 C-4 では、試料 F-3、試料 G-4 及び試料 H-3(測定対象とした異性体の検出下限の 1/2 の値に TEF を乗じた値の総和未満)の結果を含めない。

技術 C-6 では、試料 G-4(検出下限値未満)の結果を含めない。また、試料 H 系列について測定量(毒性等量)への換算を行っていない。

4 . おわりに

今回の検討は、土壌及び底質に含まれるダイオキシン類を迅速、低廉に分析するために、簡易測定技術の適用性について検討を行ったものである。

ここでは、14種類の生物検定法及び7種類の機器分析法について検討したところ、生物検定法については、異性体組成についての情報が得られない欠点はあるものの、毒性等量（TEQ）を求めることについて迅速性が認められた。また、機器分析法の多くの技術については、異性体組成の情報が得られる長所が認められた。

これらの技術のうち、いくつかのものは、今後、スクリーニング法等としての利用が考えられる。