

生物検定法を用いた市原港底質中ダイオキシン類の迅速測定法の検討

—千葉県ダイオキシン類迅速測定法研究会(平成15年度結果)—

半野勝正, 依田彦太郎, 吉澤正, 石渡康尊, 仁平雅子, 原雄, 白杵靖晃 1), 飯田佐貴子 1), 小林康男 2), 植地俊仁 2), 山本司 3), 中村昌文 3), 笛木正一 4), 石塚昌宏 4)

(1)大塚製薬(株), 2)㈱クボタ, 3)㈱日吉, 4)コスモ石油(株)

1. はじめに

当センターでは、ダイオキシン類の測定法として、生物反応により毒性を判定するバイオアッセイ法

(生物検定法)を利用した迅速測定を実施している民間4社(大塚製薬—ELISA法, クボタ—Ah- ImA アッセイ, 日吉—CALUX[®]-Assay, コスモ石油— ImA DNX)と共同で平成14年度から研究会を組織した(「千葉県ダイオキシン類迅速測定法研究会」)。平成14年度は焼却施設解体時汚染堆積物・ばいじん等について検討し¹⁾, 平成15年度は底質等について、特に市原港内底質についての汚染範囲確定調査への利用可能性についての検討を行った。

2. 検討試料及び検討方法

2.1 検討試料

検討した底質等試料は、Co-PCBsのTEQ寄与率の低い試料(2%以下)として市原港底質(試料28検体: min. 46—max. 15,000pg-TEQ/g)とCo-PCBsのTEQ寄与率の高い試料(25—83%)として市原港内事業場排水口内底泥(試料6検体: min. 86—max. 430pg-TEQ/g)の計34検体である。

2.2 検討方法

検討分担については、当センターがHR-GC/MSによる公定法分析を民間各社が各生物検定法を担当した。生物検定各社の精製方法の概略は、既報¹⁾の通りであるが、今年度からコスモ石油が参加し、同社の方法は以下の通りである。 ImA DNX(コスモ石油): 粗抽出液→多層シリカカラムグラフィー→DMSO置換→ ImA DNX測定。

公定法前処理方法及びGC/MS分析条件は、「ダイオキシンに係る底質調査測定マニュアル」(平成12年3月、環境庁水質保全局水質管理課)に準拠した。

3. 結果と考察

図1に各生物検定法についての分析結果の散布図を示す。左側に底質試料全体の散布図(46—15,000pg-TEQ/g)を、右側に公定法TEQ値が1,500pg-TEQ/g未満の部分の散布図を示す。

3.1 測定範囲

市原港底質に関しての各生物検定法の測定範囲については、ELISAキット(大塚製薬)とAh- ImA アッセイTM(クボタ)では1,500pg-TEQ/g以上の高濃度汚染領域に対しては相関性が悪くなる傾向が見られるが、1,500pg-TEQ/g未満の比較的低濃度領域に対しては良い相関を示しており、この領域での使用が適している。CALUX[®]-Assay(日吉)、 ImA DNX(コスモ石油)は、低濃度(46pg-TEQ/g)~15,000pg-TEQ/gまで広範囲に渡って比較的良好な相関であった。しかしながら各生物検定法の検出下限値が0.19pg-TEQ/well(CALUX[®]-Assay(日吉))~205pg-DEQ/well(ELISA法(大塚製薬))と方法により大きく異なっているため、低濃度領域での利用にはこれらの測定感度の違いを考慮する必要がある。

3.2 Co-PCBsの影響

生物検定法の中でも特にイムノアッセイ法は、ダイオキシン類の中で比較的毒性等価係数の高い異性体への反応性が高い抗体を使用し、その測定結果と公定法から得られる毒性等量との相関から毒性等量を換算しており、毒性等価係数の低いCo-PCBsにはほとんど反応しない方法もある。一方、汚染底質等には、Co-PCBsのTEQ寄与率の高いものも多く、市原港周辺事業場排水口内汚泥からもCo-PCBsのTEQ寄与率の高いものが発見された。今回の検討試料について、生物検定分析値とGC-MS公定法分析値比の比(当研究会では「相関倍数」と呼ぶ)で比較すると、

Co-PCBs 含有により、①正の影響を受けるもの、

②負の影響を受けるもの、③反応しないものと3グループに分かれた。①ELISA法(大塚製薬):8.6(0.45)は正の影響を、②Ah-イムノアッセイ™(クボタ):2.2(29)とCALUX®-Assay(日吉):0.7(3.0)は負の影響を受けていた。(〇内はCo-PCBsの寄与率の低い試料の相関倍数。)③一方、イムノDXN(コスモ石油)は、抗体がCo-PCBsとは殆ど反応しない性質のため、Co-PCBsのTEQ寄与率の高い底質試料との相関性は見られなかった。

3・3 測定時間

測定時間に関しては、抽出～クリーンアップ工程までに関しては、公定法とほぼ同じであるが、定量に関しては、生物検定法では短期間に多数の試料の

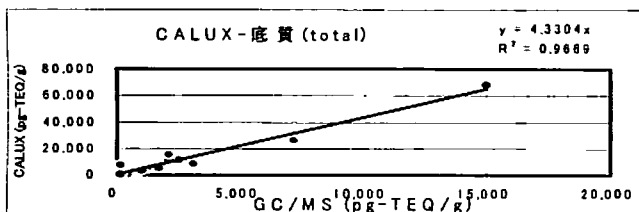
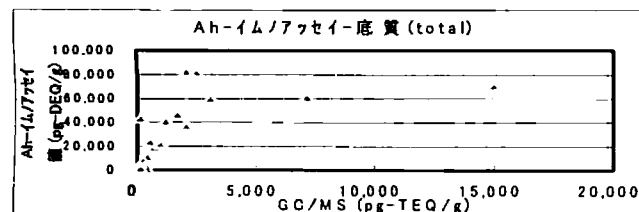
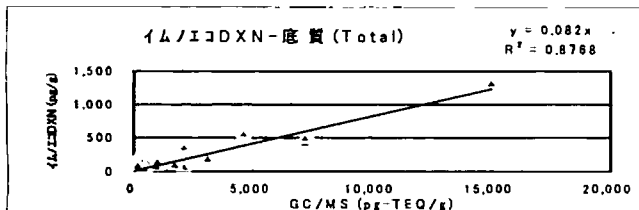
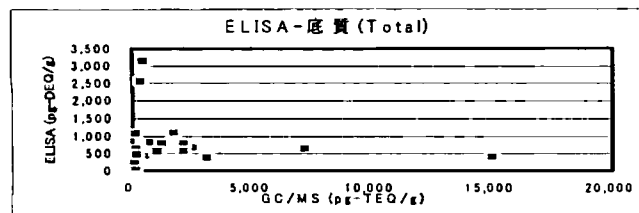
分析が可能のため、試料数が多くなるほど1試料当たりの測定時間は短縮され有利である。そのため、公定法では、抽出～精製～定量に約3週間かかるが、生物検定法では3日～1週間で完了する。(例えば、500試料測定の場合、公定法では6ヶ月程度かかるが生物検定法で数日～2週間程度で可能である。)

従って、今回検討した生物検定各法は、底質汚染調査時の汚染範囲確定等のスクリーニング手法として適した方法の一つであることが確認できた。

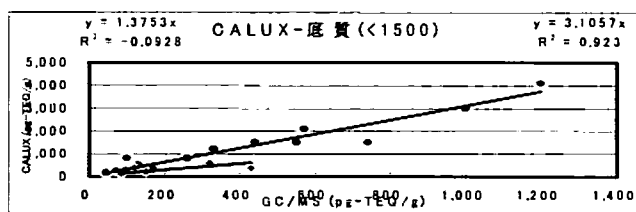
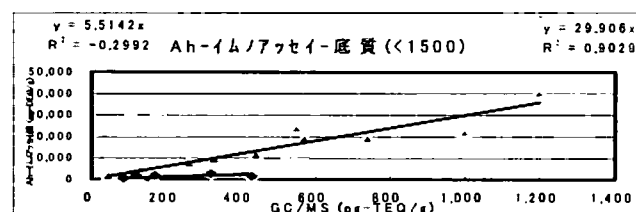
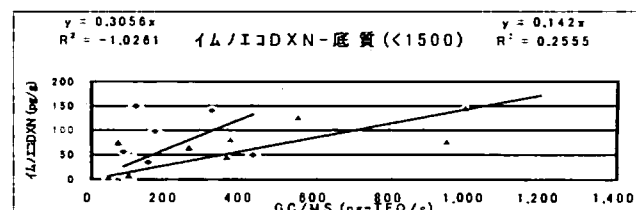
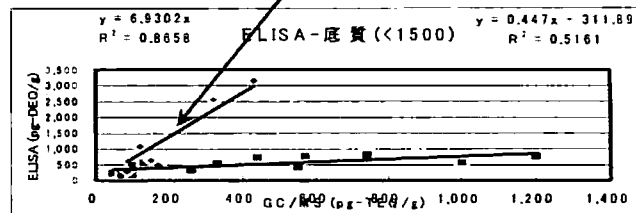
[参考文献]

1) 半野勝正ら:生物検定を利用したダイオキシン類の簡易迅速測定法の検討(ばいじん等),千葉県環境研究センター年報第2号(平成14年度)

底質試料 (Total) n=26



底質試料 (<1,500pg-TEQ/g、h-8-10を除く)



※各グラフ右肩の相関式は市原港、左肩の相関式はPCB多含有底質のものである。

図1 各生物検定法についての分析結果(散布図)