

(18) 金属ナトリウム法によるPCB処理過程の バイオアッセイモニタリング

滝上 英孝^{1*}・光原 好人²・松山喜代志²・酒井 伸一³

¹ (独) 国立環境研究所 循環型社会・廃棄物研究センター (〒305-8506 茨城県つくば市小野川16-2)

² (株) トヨタ自動車 (〒471-8571 愛知県豊田市トヨタ町1)

³ 京都大学 環境保全センター (〒606-8501 京都市左京区吉田本町)

* E-mail: takigami@nies.go.jp

金属ナトリウム法によるPCB処理過程のPCBや分解生成物を検出するためにバイオアッセイを適用し、包括的な毒性評価法としての、また、迅速かつ簡易なPCBモニタリング方法としての有効性を評価した。Co-PCB等のダイオキシン類及びダイオキシン様化学物質の包括評価を目的として、ラット肝ガン細胞H4IIE-*luc*を用いたAh受容体(ダイオキシン受容体)レポーター遺伝子アッセイであるDR-CALUX (Dioxin Responsive Chemical Activated Luciferase gene eXpression) と、簡易迅速にPCBをモニターする観点からイムノアッセイ (ELISA) を適用した。その結果、DR-CALUXではダイオキシン類の毒性等量と、ELISAではPCB濃度との間に相関性がみられた。

Key Words : dioxin-like compounds, DR-CALUX, ELISA, PCB, sodium dispersion method

1. はじめに

わが国では、平成13年6月にポリ塩素化ビフェニル(PCB)廃棄物処理特別措置法が制定され、昭和47年にPCBの製造や新たな使用が禁止されて以来、約30年間保管の続いているPCB廃棄物の処理を、平成28年までの予定で実施する制度が整えられた¹⁾。これを受けて、PCB廃棄物の拠点的な広域処理施設が全国5箇所(北九州、大阪、豊田、東京、北海道の各事業所)に設置され、PCBを含有するトランス、コンデンサ等を対象に、PCB汚染油と容器部分及びその他汚染物等の処理工程からなる処理事業が開始されている²⁾。処理事業の核心であるPCB汚染油(液処理)方式としては、燃焼ガスが発生しないこと、バッチ確認が可能なことから化学処理方式が採用されている。

本研究は、広域処理で採用されている金属ナトリウム法(化学処理方式のうち、廃棄物処理法に基づく脱塩素化分解処理方式に分類される技術)について、広域処理の開始前に同処理法によるPCB処理の安全性、信頼性確認や向上を図ることを目的として実施されたものである。

PCB処理で用いられる金属ナトリウム法は、フェニルナトリウム生成反応(PCBの塩素原子がナトリウム原子

により置換される脱塩素化反応)を応用したものである³⁾。例えば、処理温度別に2段階の方法が提案されており²⁾、低濃度処理法(処理温度60℃)ではppmオーダーのPCBを含む汚染油を対象とし、ビフェニルと塩化ナトリウム、苛性ソーダを処理物として得る方法である。また、高濃度処理法(処理温度170℃)ではPCBの塩素原子と置換したナトリウム原子が他のPCBの塩素原子と反応し、高分子化したビフェニルと塩化ナトリウムが生成する。反応メカニズム解明については既報文献が詳しい^{3,4)}。一方で、実油ベースでの処理メカニズムや、ダイオキシン類など微量の有害物質の副生については知見が報告されていないかった。

本研究では、金属ナトリウム法による処理過程のPCBや分解生成物に対するバイオアッセイの検出特性と化学分析結果との関連性を解析することによって、包括的な毒性評価法としての、また、迅速かつ簡易なPCBモニタリング方法としてのバイオアッセイのPCB処理への適用性を評価した。バイオアッセイとしては、ダイオキシン様PCB(Co-PCB)をはじめとするダイオキシン類、ダイオキシン様化学物質の包括評価を目的として、ラット肝ガン細胞H4IIE-*luc*を用いたAh受容体(ダイオキシン受容体)/レポーター遺伝子アッセイであるDR-CALUX

(Dioxin Responsive Chemical Activated Luciferase gene eXpression)⁹⁾と、簡易迅速にPCBをモニターする観点からイムノアッセイ (ELISA) を適用した。DR-CALUXは、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に用いることのできる公定法 (簡易測定法) として認められている⁹⁾。また、ELISA (技術) についても、前述のダイオキシン類簡易測定や、絶縁油中微量PCBの簡易測定の公定法⁹⁾として認められている。これらのバイオアッセイについて、適切な試料前処理法と組み合わせて、対応する化学分析値 (高分解能GC/MS分析から求められるダイオキシン類の毒性等量濃度とPCB濃度) との比較考察を行い、PCB処理過程のモニタリングへの適用可能性について検討を行った。

2. 実験方法

(1) 金属ナトリウム法を用いたPCB処理実験

分解実験に用いた試験装置を図-1に示す。反応器内にPCB濃度が所定濃度になるようにヘキサデカン、あるいは鉱物絶縁油にPCBを添加して実験を行った。窒素雰囲気下、所定温度まで加熱攪拌し、10 μ m以下の金属ナトリウム分散体 (SD) を投入し、反応を行った。反応温度は60–160℃で、SDは10–26%程度の濃度で行った。反応停止剤として水を用いた。PCB試料としては、カネクロール (KC-300, 400, 500) を対象として処理実験を行った。PCBの脱塩素化過程におけるPCB濃度や毒性の推移を明確に把握することを目的とし、経時的に試料採取を実施した。

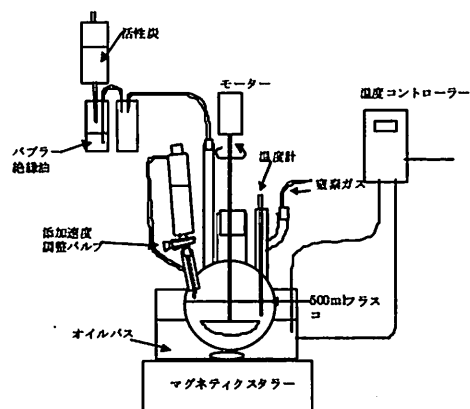


図-1 分解処理実験に用いた試験装置

(2) 化学分析

PCB、ダイオキシン類 (PCDD/DFs, Co-PCBs) の化学

分析は、高分解能GC/MS (HP6890/JMS-700) を用いて行った。PCB分析 (PCB全異性体分析) は「特別管理一般廃棄物及び特別管理産業廃棄物に係る基準の検定方法 (平成4年厚生省告示第192号)」別表第二に従って実施した。また、ダイオキシン類の分析は「特別管理一般廃棄物及び特別管理産業廃棄物に係る基準の検定方法 (平成4年厚生省告示第192号)」別表第一に従って行い、分析結果 (ダイオキシン類異性体濃度) には毒性等価係数として世界保健機関 (WHO) が1998年に定めた毒性等価係数 (WHO-TEF) を乗じて毒性等量 (WHO-TEQ) を算定した。

(3) バイオアッセイ

バイオアッセイとしては、DR-CALUXとELISAを用いた。

DR-CALUX は、BDS社 (オランダ) により開発された遺伝子組み換え細胞 (ラット肝ガンH4IIE-huc細胞) を使用するAh受容体/レポーター遺伝子アッセイであり、マウスダイオキシン応答遺伝子配列にホタル・ルシフェラーゼ遺伝子をつないだプラスミド (pGudLuc 1.1) を細胞内に組み込んでいる。細胞への試料曝露を介して、試料中のダイオキシン類を始めとするAh受容体リガンドの受容体への結合に起因して発現するルシフェラーゼの活性を測定し、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) 標準品の活性 (検量線) と比較することで試料中のTCDD毒性等価濃度 (CALUX-TEQ) を求め評価を行った。具体的には、TCDDの検量線の1–4 μ Mの濃度域 (線形部分) に相当する試料の活性値を採用して定量を行った。

ELISA (Abraxis LLC, PA, USA) は、高塩素化PCBに応答性の高い抗体を用いたキット (以下、General PCB ELISAと呼ぶ) と低塩素化PCBに応答性の高い抗体を用いたキット (以下、LC-PCB ELISAと呼ぶ) の2種類を用いた。両キットともに直接競合ELISAであり、標準物質 (カネクロール) を用いた検量線を作成して、測定試料の試験時に得られた吸光度を検量線に内挿することによって測定試料中のPCB濃度を算出した。具体的には、検量線の線形部分 (検量線の中央部分、50%阻害濃度IC50値付近) において定量を行った。

バイオアッセイ用前処理として、試料油 (1–10 g) はまず、DMSO分配を行い、ヘキサデカン等、鎖状炭化水素類の除去を行った。続いてDMSO層に選択的に移行した物質をヘキサンにて逆抽出し、ヘキサンを揮発させ再度少量のDMSOに転溶させたものを粗画分とした。この粗画分はELISAによるPCB検出を期待して調製を行った。また、DR-CALUXによりPCB、ダイオキシン類の活性評価を行う上で妨害となるビフェニル、PAHs等の有

機物質の十分かつ効率的な除去を行うために、44%硫酸シリカゲルを用いた加熱還流処理^{7,9)}を採用した（本法で調製された画分を安定画分と呼ぶ）。試料前処理フローを図-2に示す。バイオアッセイでは、化学分析（内部標準物質添加）による回収率確認は行えない。回収率損失を防ぐため、DMSO分配後のDMSO/ヘキサンとの二相分離や水洗の工程は慎重に実施した。また、44%硫酸シリカゲルを用いた加熱還流処理におけるPCB（2-10塩素化物）、ダイオキシン類の回収率は80%以上と良好であることを標準品を用いた実験で化学分析によって確認している⁹⁾。

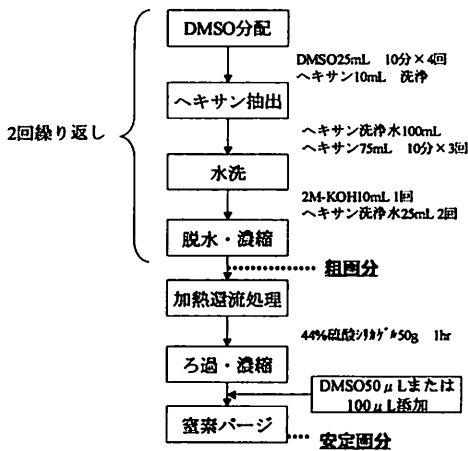


図-2 バイオアッセイのための試料前処理フロー

3. 結果と考察

(1) バイオアッセイのキャラクタリゼーション

a) DR-CALUX

DR-CALUXのダイオキシン類の各異性体に対する対TCDD比活性（CALUX-TEF）は基本的にはTCDDと同様にシグモイドカーブを描き、EC50（最大活性の50%を示す濃度）のTCDDとの比較により求めるが、DR-CALUXではPCDD/DF、Co-PCBについてWHO-TEFとよく一致したCALUX-TEFを与える⁹⁾。

DR-CALUXの検出下限はブランク（溶媒ブランク）の標準偏差の3倍（SN = 3）、定量下限は同10倍（SN = 10）を示す活性値に相当するTCDD濃度で定義されるが、定量下限値は1 pM（プレートウェル当たり約0.06 pgの負荷）を下回る場合が通例である。PCB処理試料あたりの定量下限値は、例えば、10 gの試料を前処理し、100 μLのDMSOをDR-CALUXの試験試料とした場合、理論的には、約0.5 pg/gと算定できる。

b) ELISA

General PCB ELISA、LC-PCB ELISA 各キットのカネクロールへの応答性（IC50値、交差反応性）を表-1にまとめた。

General PCB ELISAは、5塩素化ビフェニルを中心に、4-6塩素化ビフェニルに高い応答性を示し、KC-400、500、600、1000について得られたIC50値は20-70 ng/mL (ppb)の範囲にあった。一方、LC-PCB ELISAは、3、4塩素化ビフェニルを中心に高い応答性を有していた。この2キットを適宜用いることでカネクロールを含む試料については、試料によって適切な前処理法を選択する必要があるが、理論的には ng/g (ppb) のレベルが検出できるものと考えられた。

表-1 ELISAのカネクロール、主要 PCB 異性体への応答性

カネクロール	主成分	General PCB ELISA		LC-PCB ELISA	
		IC ₅₀ (ng/mL)	交差反応性 (%)	IC ₅₀ (ng/mL)	交差反応性 (%)
KC-300	三塩素化 ビフェニル	120	17	80	65
KC-400	四塩素化 ビフェニル	30	67	52	100
KC-500	五塩素化 ビフェニル	20	100	100	52
KC-600	六塩素化 ビフェニル	30	67	170	31
KC-1000	KC-300+ 三塩素化 ベンゼン	70	29	140	37
PCB異性体		IC ₅₀ (ng/mL)	交差反応性 (%)	IC ₅₀ (ng/mL)	交差反応性 (%)
二塩素化 ビフェニル	#5	10000	0.20	700	7.4
	#8	2600	0.77	200	26
	#12	40000	0.050	280	19
	#18	1100	1.8	380	14
三塩素化 ビフェニル	#20	300	6.7	520	10
	#28	500	4.0	30	170
	#29	610	3.3	240	22
	#31	250	8.0	55	95
	#33	580	3.4	120	43
	#44	160	13	340	15
四塩素化 ビフェニル	#52	110	18	>100000	-
	#66	38	53	90	58
	#70	60	33	200	26
	#95	500	4.0	>100000	-
五塩素化 ビフェニル	#101	9	220	6500	0.80
	#110	48	42	40	130
	#138	16	130	320	16
	#149	28	71	2000	2.6
六塩素化 ビフェニル	#153	8.5	240	3800	1.4
	#174	190	11	>100000	-
	#187	48	42	2800	1.9
	#194	220	9.1	>100000	-
八塩素化 ビフェニル	#196	250	8.0	>100000	-
	#199	>100000	-	>100000	-
	#203	105	18	5100	1.0

(2) ヘキサデカン溶媒で行ったPCB処理実験とバイオアッセイモニタリング

a) 化学分析

金属ナトリウム法によるカネクロール分解試料について、化学分析によるPCB（総濃度）、ダイオキシン類（WHO-TEQ）の測定結果を表-2に示す。いずれのカネクロール（初期濃度は約100 μg/g）も低温条件（120、130℃）では5分以内の処理時間でPCB油処理目標基準（0.5 μg/g未満）を達成し、KC-400を対象に行った高温条

表-2 DR-CALUXによるPCB分解試料（ヘキサデカン溶媒ベース）の各面分測定結果と化学分析値との比較

PCB	分解条件	反応時間 (分)	CALUX-TEQ (pg/g)					化学分析		B/C比**
			粗面分		安定面分		理論値*	WHO-TEQ (pg/g)	Total-PCBs (µg/g)	
			平均値 (n=3)	%CV	平均値 (n=3)	%CV				
KC-300	低温 (120℃)	0	980	8.1	980	0.5	1200	240	91	4.1
		1.5	18	9.9	2.0	0	6.9	0.22	12	9.1
		5	13	14	<0.5	-	ND	0.0016	0.0017	-
KC-400	低温 (130℃)	0	1600	14	1300	8.9	2900	2000	110	0.65
		1.5	16	8.5	2.0	41	67	4.1	22	0.49
		3	7.9	6.7	<0.5	-	ND	0.0052	0.0096	-
	高温 (160℃)	0.5	5.0	25	<0.5	-	ND	0.0033	0.027	-
KC-500***	低温 (120℃)	0	990	4.6	740	11	1400	1700	95	0.44
		2	78	13	66	21	110	47	11	1.4
		5	8.9	11	1.7	0.8	0.28	0.072	0.045	24

* 理論値 = Σ (CALUX-TEF × ダイオキシン類似性係数)

** B/C比 = (安定面分のCALUX-TEQ, pg/g) / (WHO-TEQ, pg/g)

*** KC-500の希釈にはヘキサデカンと共に一部鉱油が使用された。

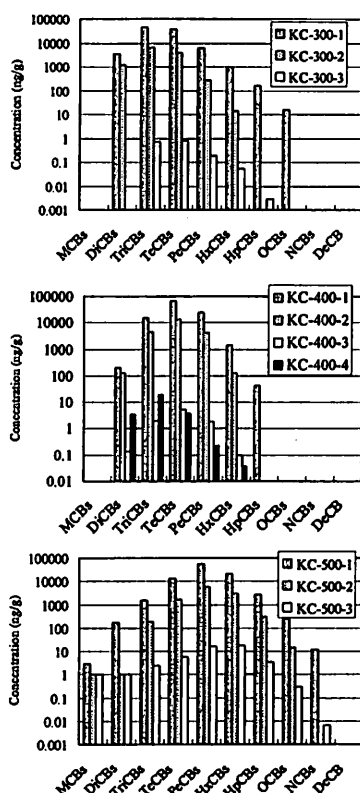


図-3 金属ナトリウム法によるカネクロール分解試料のPCB同族体パターン

(上) KC-300 (1:処理前, 2:低温処理中間, 3:低温処理済) (中) KC-400 (1:処理前, 2:低温処理中間, 3:低温処理済, 4:高温処理済), (下) KC-500 (1:処理前, 2:低温処理中間, 3:低温処理済)

件 (160℃) 時の処理では0.5分以内に処理目標基準を達成した。

同族体パターンをみれば、処理前試料と処理試料の間に類似性がみられた (図-3)。すなわち、KC-400では4塩素化ビフェニル濃度が最も高く (KC-300では3塩素化ビフェニル、KC-500では5塩素化ビフェニル)、次いで塩素数の近いPCB同族体濃度が高いが、処理が進行しても、同族体プロファイルの特徴は変わらず、各同族体の構成比も処理前試料と処理試料間で概してよく一致していた。このことから、ヘキサデカン中では脱塩素化反応が進行することにより低塩素のPCB濃度が増加するのではなく、見かけ上、どの同族体濃度も一様に減少する傾向がみられた。ダイオキシン類についてみれば、カネクロール処理前試料 (PCB濃度 約100 µg/g) については、KC-300, 400, 500それぞれ、240、2,000、1,700 pg/gの毒性等量値 (WHO-TEQ) を示した。処理とともに毒性等量値は減少し、処理中間試料 (PCB約10–20 µg/g) で0.2–47 pg/g、処理済試料 (PCB < 0.5 µg/g) で0.0016–0.072 pg/gまで低減した。

b) DR-CALUX

安定面分の結果 (表-2) についてみると、処理前試料のCALUX-TEQ (活性の2,3,7,8-TCDD換算値) はKC-300で980 pg/g、KC-400で1,300 pg/g、KC-500で740 pg/gであった。処理とともにCALUX-TEQ値は減少し、処理済試料中のレベルは、KC-300、KC-400 (高温、低温) で定量下限未満 (< 0.5 pg/g) を示し、KC-500では、1.7 pg/gを示した。処理中間試料 (PCB濃度 約10–20 µg/g) については、全て定量可能であり、数–数十pg/gの範囲にあった。粗面分のCALUX-TEQ (表-2) は、安定面分と比べて高い値を示したが、処理前試料では両面分間で値に大きな違いはみられなかった。処理中間試料で粗面分は安定面分と比べて、1.2–9倍高い活性値を示し、処理済試料で5.0–

13 pg/gとなった。

CALUX-TEQ（安定画分）と化学分析値（WHO-TEQ）の比較を行うと、そのアッセイ値／化学分析値比（B/C比）は対象試料を通じて、0.44～24の範囲にあった（表-2）。処理前試料では、KC-300で4.1、KC-400で0.65、KC-500で0.44という値となった。KC-400、500についてはB/C比を低く見積もらせる要因（AhRアンタゴニストの高存在比）が大きいと考えられている¹⁰。処理中間試料についてみると、B/C比はKC-300、400については処理前試料と同様の傾向（KC-300ではB/C比>1、KC-400ではB/C比<1）がみられている。一方で、KC-500に関しては処理中間試料、処理済試料についてB/C比>1となっており、処理前試料（B/C比<1）と傾向を異にする。KC-500の分解実験時のみKC-500の希釈にヘキサデカンとともに一部、鉱物油を使用しているが、鉱物油中には夾雑活性成分が存在することが知られており⁹、44%硫酸シリカゲル加熱還流前処理過程で除去しきれなかった可能性も考えられる。

続いて、以下のような解析、考察を行った。WHO-TEFを有するCo-PCB（及びPCDD/DF）異性体の化学分析による実測濃度にDR-CALUXの標準品評価で得たCALUX-TEF⁹を乗じてCALUX-TEQの理論値を算出し、CALUX-TEQ（実験値）との比較を行った（表-2）。CALUX-TEQについて実験値／理論値の比を取ると、実験値が得られた試料については、KC-500処理済試料（比の値は6.1）を除いて全て1を下回った。KC-400処理中間試料（比の値は0.03）を除くと実験値／理論値比は、0.1～1の範囲内にあり乖離の程度は一定範囲内であった。実験値／理論値の比が1を下回る傾向は安定画分中に含まれてくるnon-planar PCB（ビフェニル構造が共平面構造をとらないもの）のAhR拮抗作用（AhRアンタゴニスト作用）¹⁰に影響されているものと考えられる。

c) ELISA

いずれのカネクロール、いずれの処理段階においてもGeneral PCB ELISAとLC-PCB ELISAの両方で応答が得られた。ELISAで得られた応答は、KC-400を標準品として定量したが、各カネクロールの処理系列別にそれぞれのカネクロール等量値に換算したものをELISA測定値として評価を行った。カネクロール等量値への換算に際しては当該カネクロールとKC-400の交差反応率の比（ICS₅₀の比）を換算係数として用いた。

総PCB濃度と2キットのELISA測定値（カネクロール等量値）との関係を、全てのカネクロール処理試料（ $n = 10$ ）についてそれぞれ図-4に両対数軸プロットした。ELISA測定値（ y , $\mu\text{g/g}$ ）と総PCB濃度（ x , $\mu\text{g/g}$ ）の間には、2キットとも粗画分、安定画分の結果双方で直線相関の傾向がみられた。粗画分と安定画分における測定値間の

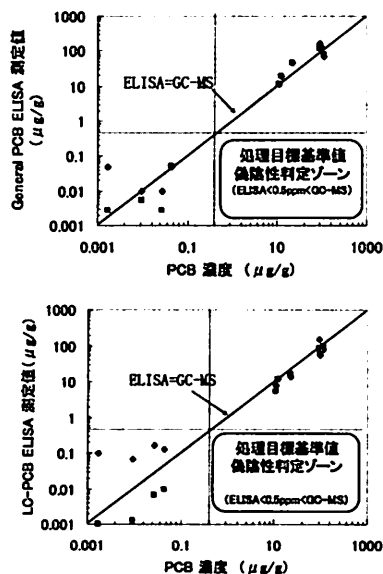


図-4 カネクロール処理試料（ヘキサデカン溶媒）における総 PCB 濃度と General PCB ELISA（上）及び LC-PCB ELISA（下）測定値（カネクロール当量値）との関係

（◆：粗画分、■：安定画分）

ずれば処理前試料、処理中間試料では少なく、類似した測定値が得られた。一方、処理済試料のプロット（第3象限、ppbオーダーの部分のプロット）について、特にLC-PCB ELISAにおいて粗画分と安定画分で異なる傾向が観察された。すなわち、粗画分はPCB濃度より高いELISA測定値を示す傾向があり、安定画分だと逆にELISA測定値がPCB濃度を下回る場合がみられた。このうち、粗画分における高いELISA測定値の原因としては、低塩素化PCBに反応性の高いLC-PCB ELISA抗体が処理生成物であるビフェニル等にも交差反応性を有しており、ビフェニル等が粗画分中に含まれる（ビフェニルは、硫酸シリカゲル加熱還流処理で分解され、安定画分中には含まれない）ためだと推定される。一方、安定画分について、処理目標基準値（0.5 $\mu\text{g/g}$ ）を大きく下回る低PCB濃度域でELISA測定値がPCB濃度を下回る現象は、交差反応性の低いPCB組成に推移したか、何らかの理由で回収率が低下した可能性が考えられた。高塩素化PCBに反応性の高いGeneral PCB ELISAでは同様の傾向は明瞭に認められなかった。処理済試料のPCBレベル（ ng/g レベル）は用いたELISAの定量範囲ではあるものの、定量下限に近いレベルであり、ばらつき誤差が生じる可能性が高いと考えられる。より高い濃度レベルである処理目標基準値（0.5 $\mu\text{g/g}$ ）をめぐるELISAが偽陰性判定（図-4のグラフ中、第4象限に該当する判定、ELISA測定値<0.5 $\mu\text{g/g}$ <化学分析値）を出さないよう、当該濃度レベル

の試料測定を追加し確認、検討を行うことが必要であると考えられた。

(3) 鉱物絶縁油中で行ったPCB処理実験とバイオアッセイモニタリング

(2)で述べたヘキサデカン溶媒とは異なり、夾雑成分の多い鉱物絶縁油ベース（実油ベース）でのPCB処理試料を対象にした検討を実施した。高濃度（%オーダー）或いは低濃度（100 µg/g）のPCB（KC-300, 400, 500）を金属ナトリウム法により処理した試料の安定面分を調製し、バイオアッセイを実施した。ヘキサデカンでの実験と同様に、DR-CALUXで得られたCALUX-TEQと化学分析値（WHO-TEQ）との関連性を調べ、ELISAでは、廃油処理目標基準である0.5 µg/g前後（0.01–20 µg/g）の処理試料について、化学分析値（総PCB濃度）と比較しつつ、0.5 µg/gまわりの濃度弁別能を調べた。

a) 化学分析

カネクロール分解試料について、化学分析による総PCB濃度及びダイオキシン類（WHO-TEQ）の測定結果を表-3に示す。

b) DR-CALUX

表-3にDR-CALUXによるPCB分解試料の測定結果を示し、化学分析値（WHO-TEQ、総PCB濃度）との比較を行った。DR-CALUXの結果、定量値が得られたのは低濃度分解実験におけるKC-500処理試料のみであり、残りの試料は全て定量下限未満となった。KC-500処理試料については、WHO-TEQが78 pg/gであり、それに符合するCALUX-TEQ（70 pg/g）が得られた。

PCB処理済試料（PCB処理目標基準を達成した試料）については、CALUX-TEQについて定量下限未満となっており、ヘキサデカンを溶媒とした処理実験の結果と矛盾しない結果となっている。つまり、鉱物絶縁油を媒体とした今回の処理実験においても、WHO-TEQとCALUX-TEQが整合する結果となっており、化学的に安定なダイオキシン類や類縁化合物が副生成することはないものと考えられた。

いものと考えられた。

c) ELISA

低濃度分解実験、高濃度分解実験の双方でいずれのカネクロールの場合においても、処理試料についてELISAによる応答が得られた。定量はまず、KC-400を標準品として行った。

General-ELISAとLC-ELISAによる測定値を比較すると、General-ELISAの方が低い測定値を出す傾向にあり、化学分析による総PCB濃度の値から乖離する傾向にあった。このため、処理により脱塩素化が進んでおり、PCBを検出するためには、低塩素化PCBに対する応答性の高いLC-ELISAを使用する方が適していると考えられた。しかし、LC-ELISA測定値（KC-400等量値）と総PCB濃度を比較しても、多くの試料については、LC-ELISA測定値が総PCB濃度を下回る結果となった。

ELISA測定値は、KC-400を標準品として定量したものであるが、次にKC-300とKC-500の処理系列の測定値をそれぞれのカネクロール等量値に換算して評価を行った。カネクロール等量値への換算に際しては当該カネクロールとKC-400の交差反応率の比（ICS0の比）を換算係数として用いた。総PCB濃度とLC-ELISAキットのELISA測定値（カネクロール等量値）との関係を、全てのカネクロール処理試料（ $n=9$ ）についてそれぞれ図-5にプロットした。ELISA測定値（ y , µg/g）と総PCB濃度（ x , µg/g）の間の相関性を調べた結果、

$$y=0.16x+0.31 \quad (R^2=0.79, n=9)$$

となり、直線相関性がみられた。

図-5に示した両対数軸プロットでみると、6試料においてELISA（カネクロール等量）測定値が化学分析値（総PCB濃度）を下回り、3試料でELISA測定値が化学分析値を上回った。一方、PCB処理目標基準値（0.5 µg/g）をめぐってELISAが偽陰性判定（図-5に示した第4象限に該当する判定）を下すことは今回の試料ではみられなかった。偽陰性を出さない結果は、処理目標基準値についてのスクリーニング目的上、好ましいと考えられるが、

表-3 DR-CALUXによるPCB分解試料（鉱油絶縁油ベース）の測定結果

処理PCB	初期濃度 (µg/g)	処理時間 (分)	CALUX-TEQ* (pg/g)	%CV ($n=3$)	WHO-TEQ (pg/g)	Total-PCBs (µg/g)
低濃度分解実験（処理温度130℃）						
KC-300	100	3	<1.2		0.37	0.09
KC-400	100	60	<1.2		0.0067	16
KC-500	100	60	70	5.6	78	5.3
高濃度分解実験（処理温度150℃）						
KC-300	66000	8	<1.8		0.0075	2.1
		9	<1.8		0.012	0.052
		1	<1.8		0.1	0.44
KC-400	48000	3	<1.8		0.0031	0.012
		5	<1.8		0.22	9.2
KC-500	44000	7	<1.8		0.49	0.11

* CALUX-TEQは安定面分について得られた数値を示す。

ELISA測定値が化学分析値を下回る傾向が観察されていた。これはヘキサデカンでの処理試料でみられた傾向と同様で注意が必要であった。処理過程の進行に伴って、処理油中において低塩素化PCBの比率が高くなるような化学処理では、化学処理メカニズム（PCB分解特性）に応じた適切なELISA抗体の選択と、実試料検討を踏まえたバリデーションが化学処理法ごとに必要であると考えられる。

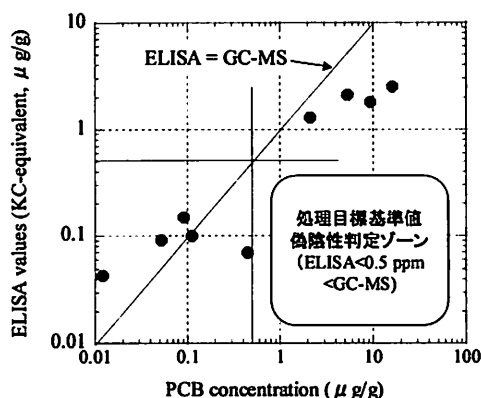


図-5 カネクロール処理試料（鉱物絶縁油）における総PCB濃度とLC-PCB ELISA測定値（カネクロール当量値）との関係

4. まとめ

本研究で取り扱った金属ナトリウム法をはじめ、PCB液処理にバイオアッセイを適用しようとする場合、その目標検出水準としては、廃油のPCB処理目標値である0.5 μg/gを考慮するとPCBがμg/g (ppm) レベルを下回るng/g (ppb) レベルに相当する濃度に対応できることが望ましいと考えられる。モニタリング適用に際して、DR-CALUXにおいては、処理油の残存TEQの迅速評価の可能なリスク（ハザード）アセスメントツールとしての役割、ELISAでは適切な抗体開発を行い、化学分析に先立つプレスクリーニングツールとしての役割を果たすことが求められる。本研究で得られた知見を以下にまとめる。

- 1) PCB（処理）油において、前処理としてDMSO分配/ヘキサン抽出後、44%硫酸シリカゲル加熱還流処理を行う方法について検討を行った。鉱物絶縁油をはじめとする油試料中の夾雑活性成分の除去を行い、DR-CALUXにおいてPCB由来のダイオキシン様活性（CALUX-TEQ）の測定を行う上で、またELISAを行う上で本方法が有効で

あることが対象試料で確認できた。

- 2) DR-CALUXでは、PCB処理目標を達成した処理済試料について、CALUX-TEQとして1 pg/g程度あるいはそれ以下の活性値が得られた。処理試料においてWHO-TEQとCALUX-TEQの大幅な乖離はみられておらず、両者はよく対応していると考えられた。

- 3) ELISAでは、ヘキサデカン溶媒（純溶媒）ベースのPCB処理試料では、DMSO分配のみの前処理粗画分においてELISA測定値と機器分析値との間に直線相関性が観察され、抗体によるPCB簡易検出の妥当性が確認できた。鉱物絶縁油ベースの処理試料ではさらに44%硫酸シリカゲル加熱還流処理を前処理に追加することでPCBの検出が可能であった。処理試料中PCBの精度よい検出（偽陰性判定を下さない検出）のためには、分解処理方法（PCBの処理特性）を踏まえ、それに適合する抗体の選択が重要であることが分かった。

適用したバイオアッセイは、化学分析と併用しつつ、試料性状やPCB分解メカニズムを考慮に入れることにより、ダイオキシン類、PCBを包括的に検出、把握するために実用的な方法となることがわかった。

謝辞：本研究は、環境省廃棄物処理等科学研究費補助金（テーマ：PCB廃棄物の一貫処理システムの安全性、信頼性向上に関する研究）を受けて実施された。また、本研究で使用したELISAの実施において株式会社日本エンパイロケミカルズの協力を得た。ここに記し、関係者に謝意を表する。

参考文献

- 1) 環境省：ポリ塩化ビフェニル廃棄物処理基本計画（平成21年11月10日改訂版）
- 2) 有泉彰，大塚哲郎，神山昌士，細見正明：金属ナトリウム分散体法によるPCBの脱塩素化とその分解挙動，環境化学，Vol. 7, pp. 793-799, 1997.
- 3) Norma Y., Mitsuhashi Y., Matsuyama K. and Sakai S.: Pathways and products of the degradation of PCBs by the sodium dispersion method, *Chemosphere*, Vol. 68, pp. 871-879, 2007.
- 4) Garrison P.M., Tullis K., Aarts J.M., Brouwer A., Giesy J.P., Denison M.S.: Species-specific recombinant cell lines as bioassay systems for the detection of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-like chemicals, *Fundam Appl Toxicol*, Vol. 30, No. 2, pp. 194-203, 1996.
- 5) 環境省水・大気環境局総務課ダイオキシン対策室：排出ガス、ばいじん及び燃え殻のダイオキシン類に係る簡易測定法マニュアル（生物検定法）（平成22年3月）
- 6) 環境省廃棄物・リサイクル対策部産業廃棄物課：絶縁油中の

微量PCBに関する簡易測定法マニュアル（第1版）（平成22年1月）

- 7) Behnisch P.A., Hosoe K., Shiozaki K., Ozaki H., Nakamura K., Sakai S.: Low-temperature thermal decomposition of dioxin-like compounds in fly ash: combination of chemical analysis with *in vitro* bioassays (EROD and DR-CALUX), *Environ.Sci Technol.*, Vol. 36, No. 23, pp. 5211-5217, 2002.
- 8) Takigami H., Behnisch P.A., Shiozaki K., Ohno M., Sakai S.: Bioassay monitoring of waste PCB samples during chemical destruction treatments, *Water.Sci Technol.*, Vol. 53, No. 11, pp. 43-50, 2006.
- 9) Behnisch P.A., Hosoe K., Sakai S.: Brominated dioxin-like compounds: *in*

vitro assessment in comparison to classical dioxin-like compounds and other polyaromatic compounds, *Environ.Int.*, Vol. 29, No. 6, pp. 861-877, 2003.

- 10) van der Plas S.A., Sundberg H., van den Berg H., Scheu G., Wester P., Jensen S., Bergman A., de Boer J., Koeman J.H., Brouwer A.: Contribution of planar (0-1 ortho) and nonplanar (2-4 ortho) fractions of Aroclor 1260 to the induction of altered hepatic foci in female Sprague-Dawley rats, *Toxicol Appl Pharmacol.*, Vol. 169, No.3, pp. 255-268, 2000.

(2010.5.21 受付)

Comparison of DR-CALUX and ELISA to Chemical Analysis during PCB Degradation Process Using Metallic Sodium Dispersion

Hidetaka TAKIGAMI¹, Yoshito MITSUHARA², Kiyoshi MATSUYAMA² and Shin-ichi SAKAI³

¹Research Center for Material Cycles and Waste Management,
National Institute for Environmental Studies

²Toyota Motor Corporation

³Environmental Preservation Center, Kyoto University

In view of increasing risk by waste PCB stockpiles, the Government of Japan has been conducting regional treatments to destroy PCBs stored across the nation. For PCB containing oil treatment, which is of major concern, well-demonstrated chemical treatment technologies were adopted. Oil treatment goal standard for PCB has been set as 0.5 ppm. Additionally, focus is also put on the control and reduction of dioxins and dioxin-like compounds. In this study, bioassay monitoring was conducted during PCB degradation by the sodium dispersion process, which were actually adopted at three national treatment facilities. Treated samples were taken with time and processed to the extraction and clean-ups for two *in vitro* bioassays: DR-CALUX AhR reporter-gene bioassay and enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) adopting polyclonal antibodies against PCB. DR-CALUX was adopted to evaluate total dioxin-like activities (CALUX-TEQs) in complex mixtures. The ELISA was used to simply and rapidly grasp the concentration of residual PCB. In the final treated oil samples, the CALUX-TEQ levels were satisfactorily low in accordance with WHO-TEQs, and consistent correlation was observed between the ELISA results and analytical PCB concentrations.