

Table 2
Recoveries of representative BFRs, PCNs, PCBs, and PCB metabolites from tissue samples

Classes and individual compounds	Spiked Fraction	Adipose (cattle)		Heart (swine)		Kidney (swine)		Liver (swine)	
		5 ng/g		1 ng/g		1 ng/g		1 ng/g	
		Mean (%)	(Std) (n = 3)	Mean (%)	(Std) (n = 3)	Mean (%)	(Std) (n = 3)	Mean (%)	(Std) (n = 3)
Lipid content (%)		86.5	(1.4)	3.88	(0.16)	6.05	(0.14)	5.23	(0.06)
PBDEs (tri-to heptaBDE)									
triBDE-17	A	88.0	(2.6)	83.5	(11)	70.9	(4.6)	74.5	(10)
triBDE-28	A	86.3	(2.3)	80.1	(11)	68.2	(5.7)	70.1	(9.6)
tetraBDE-47	A	99.8	(9.3)	93.7	(11)	75.8	(1.0)	87.9	(11)
tetraBDE-66	A	88.5	(2.0)	80.1	(9.1)	70.3	(4.9)	72.8	(8.0)
pentaBDE-100	A	94.9	(4.1)	85.8	(11)	74.1	(5.3)	77.6	(6.3)
pentaBDE-99	A	93.5	(5.4)	86.6	(7.6)	74.2	(6.0)	77.5	(6.4)
pentaBDE-85	A	103	(5.8)	91.8	(13)	80.5	(5.2)	84.0	(8.0)
hexaBDE-154	A	112	(3.8)	104	(14)	89.4	(8.3)	90.7	(7.8)
hexaBDE-153	A	115	(3.6)	106	(13)	88.2	(5.8)	92.4	(9.0)
hexaBDE-138	A	109	(5.2)	101	(13)	85.4	(7.0)	81.6	(5.9)
heptaBDE-183	A	119	(5.2)	113	(12)	95.3	(7.5)	86.9	(4.5)
TBBP-A	B	41.2	(14)	21.6	(7.0)	78.6	(15)	34.8	(14)
Polychlorinated naphthalenes (PCNs)									
pentaCN-52	A	98.3	(5.5)	91.3	(13)	77.1	(8.8)	77.8	(11)
hexaCN-66	A	69.0	(2.3)	87.3	(11)	75.3	(6.8)	76.9	(11)
heptaCN-73	A	96.1	(0.1)	92.3	(12)	77.7	(6.2)	81.2	(9.5)
octaCN-75	A	118	(4.6)	102	(13)	87.7	(9.3)	94.9	(12)
PCBs (penta-to decaCB)									
pentaCB-92	A	84.3	(2.1)	80.6	(11)	67.0	(6.1)	70.3	(9.2)
pentaCB-101	A	84.6	(3.7)	84.0	(11)	69.9	(6.1)	72.3	(9.0)
pentaCB-119	A	98.5	(14)	86.7	(21)	70.7	(5.6)	79.8	(17)
pentaCB-118	A	83.4	(1.8)	75.4	(9.5)	63.7	(4.6)	66.4	(10)
pentaCB-105	A	81.6	(1.2)	80.9	(18)	62.5	(4.3)	83.9	(11)
hexaCB-151	A	82.3	(1.4)	76.8	(10)	64.5	(5.1)	67.8	(9.3)
hexaCB-144	A	82.5	(2.3)	77.3	(10)	64.9	(5.9)	67.7	(9.9)
hexaCB-134	A	81.0	(1.6)	74.7	(9.5)	62.0	(5.2)	65.5	(11)
hexaCB-158	A	82.6	(1.0)	76.3	(10)	64.2	(4.8)	67.2	(9.7)
hexaCB-128	A	80.9	(1.4)	74.3	(10)	63.1	(4.6)	66.2	(9.3)
hexaCB-157	A	81.0	(1.8)	74.1	(9.1)	62.4	(4.9)	66.4	(8.5)
hepaCB-191	A	83.6	(1.3)	76.6	(11)	63.9	(4.4)	68.1	(7.8)
hepaCB-190	A	81.8	(1.8)	74.5	(10)	62.5	(4.7)	66.7	(8.7)
nonaCB-208	A	83.6	(1.0)	76.8	(9.8)	64.0	(4.4)	68.1	(8.8)
nonaCB-207	A	83.0	(1.8)	76.4	(10)	63.5	(4.6)	67.4	(8.7)
decaCB-209	A	81.8	(2.4)	74.9	(9.8)	62.8	(4.6)	66.3	(7.9)
Hydroxylated PCBs (HO-PCBs)									
4-HO-pentaCB107	B	64.6	(4.9)	47.4	(9.1)	68.8	(7.9)	40.4	(6.7)
4'-HO-hexaCB130	B	63.1	(5.5)	57.3	(8.2)	68.2	(3.7)	43.7	(8.7)
4-HO-heptaCB187	B	58.8	(5.7)	56.3	(9.8)	57.5	(6.2)	36.2	(5.1)
Methylsulfonated PCBs (MeSO ₂ -PCBs)									
4-MeSO ₂ -pentaCB87	B	64.2	(7.5)	106	(14)	98.8	(16)	82.9	(20)
4-MeSO ₂ -hexaCB132	B	69.4	(6.7)	87.0	(11)	87.6	(14)	73.7	(17)
4-MeSO ₂ -heptaCB174	B	75.8	(7.1)	119	(16)	73.5	(n = 1)	76.1	(16)

conducted using tissue samples of swine heart, kidney, liver, and cattle adipose tissue. The reference method is

widely used to extract the lipids from marine animals (Jensen et al., 1969). The lipid content obtained by both

the ASE method and the reference method were quite consistent with each other as shown in Fig. 3.

3.5. GPC cleanup

A sulfuric acid decomposition method or an alkaline digestion method have been the two major methods used for the cleanup of environmental pollutants such as dioxins, PCBs, OCPs and BFRs in biological and environmental samples. However, it is well known that certain kinds of organochlorine pesticides such as dieldrin, endrin and DDTs are decomposed by these methods. We have, therefore, tried GPC as a non-destructive cleanup method. The elution profile of the 59 target compounds and the efficiency of the lipid removal were examined using a GPC column of Bio-Beads S-X3 with DCM/hexane (1:1) as the mobile phase. All of the target compounds were eluted in the fraction from 90 to 160 ml (18 to 32 min retention time). When the elution profile of the lipid extracted from swine liver was examined, the majority of lipids was eluted in the first 90 ml of the eluate (0–18 min retention time). The GPC cleanup gave an excellent efficiency for the lipid removal as shown in Table 1.

3.6. Fractionation by SPE and methylation of phenolic compounds

A silica-gel SPE procedure was used to examine the removal of a small amount of coextracted impurities that still remained in the fraction eluted from the GPC column. This procedure fractionated the non-polar compounds such as the PCBs, PBDEs, PCNs, and most of the OCPs from the more polar compounds such as the PCB metabolites (HO-PCBs, MeSO₂-PCBs), TBBP-A, PCP, and certain kinds of OCPs. The reasons for the fractionation step were that some phenolic compounds such as HO-PCBs and PCP required derivatization prior to the GC/MS analyses, and that the levels of the metabolites were low compared with the parent compounds.

When the elution behavior of the above mentioned target compounds during silica-gel SPE chromatography was examined, the PBDEs, PCBs, PCNs and most of the OCPs were found in the 5% DCM/hexane 8 ml Fraction-A. On the other hand, the PCB metabolites (HO-PCBs, MeSO₂-PCBs), TBBP-A, PCP, δ -HCH, endosulfan II, endosulfan sulfate and endrin ketone were eluted in the 10% methanol/DCM 8 ml Fraction-B. In addition, the coextracted substances that interfered

Table 3
Recoveries of representative organochlorine pesticides from tissue samples

Classes and individual compounds	Spiked Fraction	Adipose (cattle)		Heart (swine)		Kidney (swine)		Liver (swine)	
		5 ng/g		1 ng/g		1 ng/g		1 ng/g	
		Mean (%)	(Std) (n = 3)	Mean (%)	(Std) (n = 3)	Mean (%)	(Std) (n = 3)	Mean (%)	(Std) (n = 3)
Organochlorine pesticides									
Pentachlorobenzene	A	40.9	(0.8)	50.8	(12)	48.8	(9.5)	24.3	(5.2)
Hexachlorobenzene	A	79.2	(3.0)	64.5	(16)	56.3	(14)	46.4	(8.3)
α -HCH	A	68.0	(2.2)	66.5	(13)	54.7	(9.4)	50.7	(9.9)
β -HCH	A	80.1	(4.9)	75.9	(14)	68.5	(3.3)	66.8	(17)
γ -HCH	A	88.7	(16)	88.4	(16)	72.6	(11)	63.4	(14)
δ -HCH	B	73.8	(8.0)	71.4	(18)	59.4	(5.6)	60.9	(8.4)
Heptachlor	A	79.4	(16.1)	74.2	(15)	60.2	(9.6)	46.4	(11)
Heptachlor epoxide	A	80.7	(6.2)	66.4	(9.6)	53.6	(4.8)	53.8	(8.9)
α -Chlordane	A	82.8	(2.6)	77.5	(10)	64.9	(6.3)	65.7	(10)
γ -Chlordane	A	81.7	(2.8)	81.3	(11)	68.6	(6.4)	65.4	(9.6)
4,4'-DDE	A	85.5	(2.1)	68.1	(9.5)	58.5	(4.9)	63.0	(10)
Aldrin	A	111	(20)	110	(20)	90.0	(11)	84.3	(13)
Dieldrin	A	64.6	(5.9)	43.7	(4.8)	37.9	(2.6)	36.3	(5.1)
Endrin	A	52.5	(2.6)	45.4	(5.9)	37.6	(3.5)	37.6	(6.3)
Endrin aldehyde	A	47.9	(2.3)	45.2	(6.1)	39.1	(3.3)	37.1	(5.5)
Endrin ketone	B	72.7	(6.4)	122	(38)	77.3		88.5	(14)
Endosulfan I	A	82.7	(3.6)	78.0	(10)	65.0	(7.1)	65.0	(10)
Endosulfan II	B	79.5	(2.9)	88.5	(14)	73.3	(6.6)	79.2	(8.4)
Endosulfan sulfate	B	70.1	(6.6)	83.3	(13)	67.8	(5.5)	65.8	(11)
Octachlorostyrene	A	94.5	(7.0)	90.4	(14)	75.3	(9.2)	76.5	(11)
Pentachlorophenol	B	94.0	(11)	92.6	(23)	82.2	(12)	106	(11)

with the GC/MS measurement were also sufficiently removed.

Methylation using diazomethane, which has been widely used, was adopted for the GC/MS measurement of the phenolic compounds such as HO-PCBs, PCP and TBBP-A. These compounds were sufficiently esterified within 3 h at ambient temperature.

3.7. Recovery study

The optimized sample extraction and cleanup method was evaluated by measuring the absolute recovery of the 59 compounds. Swine liver, heart, kidney, and cattle adipose tissues spiked with each standard compound at 1–5 ng/g were used for the recovery study, according to the scheme shown in Fig. 4. Table 2 summarizes the recovery data, which were considered satisfactory, and there were no problems encountered during the evaluation. TBBP-A, pentachlorobenzene and endrine aldehyde, however, appeared to have relatively lower recoveries Table 3.

Swine kidney occasionally gave interferences for the determination of 4-MeSO₂-heptaCB174 in Fraction-B, although no interferences were detected from the other matrices. However, the interferences could be removed by passing Fraction-B from the kidney sample through a 22% sulfuric acid silica-gel column (0.3 g of 22% sulfuric acid silica-gel packed in a disposable SPE cartridge) with 5 ml DCM as the eluent.

In this research, lipid extraction by ASE, GPC cleanup, and silica-gel SPE fractionation were automated. Manual work was still needed for parts of the liquid–liquid distribution extraction, the eluate concentration procedure, and the centrifugation.

References

- Bergman, A., Klasson-Wehler, E., Kuroki, H., 1994. Selective retention of hydroxylated PCB metabolites in blood. *Environ. Health Perspect.* 102, 464–470.
- Bjorklund, E., Nilsson, T., Bowadt, S., 2000. Pressurised liquid extraction of persistent organic pollutants in environmental analysis. *Trends Anal. Chem.* 19, 434–445.
- Blatt, A.H., 1943. *Organic Syntheses—Collective Volume 2*. John Wiley & Sons Inc., New York.
- Brandt, I., Bergman, A., 1987. PCB methyl sulphones and related compounds: identification of target cells and tissues in different species. *Chemosphere* 16, 1671–1676.
- Chen, G., Konstantinov, A.D., Joyce, E.M., Bols, N.C., Bunce, N.J., 2001. Synthesis of polybrominated diphenyl ethers and their capacity to induce CYP1A by Ah receptor mediated pathway. *Environ. Sci. Technol.* 35, 3749–3756.
- Christensen, J.H., 2002. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in marine fish and blue mussels from southern Greenland. *Chemosphere* 47, 631–638.
- Covaci, A., Schepens, P., 2001. Chromatographic aspects of the analysis of selected persistent organochlorine pollutants in human hair. *Chromatographia* 53 (Suppl.), S336–S371.
- Covaci, A., de-Boer, J., Ryan, J.J., Voorspoels, S., Schepens, P., 2002. Determination of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue by large-volume injection narrow-bore capillary gas chromatography/electron impact low-resolution mass spectrometry. *Anal. Chem.* 74, 790–798.
- Hubert, A., Wenzel, K.D., Manz, M., Weissflog, L., Engewald, W., Schueuermann, G., 2000. High extraction efficiency for POPs in real contaminated soil samples using accelerated solvent extraction. *Anal. Chem.* 72, 1294–1300.
- Ikonomou, M.G., Rayne, S., Fischer, M., Fernandez, M.P., Cretney, W., 2002. Occurrence and congener profiles of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in environmental samples from coastal British Columbia, Canada. *Chemosphere* 46, 649–663.
- Jakobsson, K., Thuresson, K., Rylander, L., Sjödin, A., Hagmar, L., Bergman, A., 2002. Exposure to polybrominated diphenyl ethers and tetrabromobisphenol-A among computer technicians. *Chemosphere* 46, 709–716.
- Jensen, S., Johnels, A.G., Olsson, M., Otterlind, G., 1969. DDT and PCB in marine animals from Swedish waters. *Nature* 224, 247–250.
- Kramer, V.J., Helferich, W.T., Bergman, A., Klason-Wehler, E., Giesy, J.P., 1997. Hydroxylated polychlorinated biphenyl metabolites are anti-estrogenic in a stably transfected human breast adenocarcinoma (MCF7) cell line. *J. Toxicol. Appl. Pharmacol.* 144, 363–376.
- Meerts, I.A.T.M., Lujks, E.A.C., Marsh, G., Jakobsson, E., Bergman, A., Brouwer, A., 1998. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) as Ah-receptor agonists and antagonist. *Organohalogen Comp.* 37, 147–150.
- Meneses, M., Wingfors, H., Schumacher, M., Domingo, J.L., Lindstrom, G., van-Bavel, B., 1999. Polybrominated diphenyl ethers detected in human adipose tissue from Spain. *Chemosphere* 39, 2271–2278.
- Noren, K., Meironyte, D., 2000. Certain organochlorine and organobromine contaminants in Swedish human milk in perspective of past 20–30 years. *Chemosphere* 40 (9–11 (special issue)), 1111–1123.
- Ryan, J.J., Mills, P., 1997. Lipid extraction from blood and biological samples and concentration of dioxin-like compounds. *Chemosphere* 34 (5–7), 999–1009.
- Saito, K., Takekuma, M., Ogawa, M., Kobayashi, S., Sugawara, Y., Ishizuka, M., Nakazawa, H., Matsuki, Y., 2003. Extraction and cleanup methods of dioxins in house dust from two cities in Japan using ASE and a disposable multi-layer silica-gel cartridge. *Chemosphere* 53, 137–142.
- Sandau, C.D., Sjödin, A., Davis, M.D., Barr, J.R., Maggio, V.L., Waterman, A.L., Preston, K.E., Preau, J.L., Barr, D.B., Needham, L.L., Patterson Jr., D.G., 2003. Comprehensive solid-phase extraction method for persistent organic pollutants, validation and application to the analysis of persistent chlorinated pesticides. *Anal. Chem.* 75, 71–77.
- Sellstrom, U., Jansson, B., Kierkegaard, A., De-Wit, C., Odsjo, T., Olsson, M., 1993. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in biological samples from the Swedish environment. *Chemosphere* 26, 1703–1718.

- Sjödin, A., Hagmar, L., Klasson-Wehler, E., Kronholm-Diab, K., Jakobsson, E., Bergman, A., 1999. Flame retardant exposure: polybrominated diphenyl ethers in blood from Swedish worker. *Environ. Health Perspect.* 107, 643–648.
- Sjödin, A., Hagmar, L., Klasson-Wehler, E., Bergman, A., 2000. Influence of the consumption of fatty Baltic Sea fish on plasma levels of halogenated environmental contaminants in Latvian and Swedish men. *Environ. Health Perspect.* 108, 1035–1041.
- Sjödin, A., Carlsson, H., Thuresson, K., Sjölin, S., Bergman, A., Ostman, C., 2001. Flame retardants in indoor air at an electronics recycling plant and at other work environment. *Environ. Sci. Technol.* 35, 448–454.
- Strandberg, B., Dodder, N.G., Basu, I., Hites, R.A., 2001. Concentration and spatial variations of polybrominated diphenyl ethers and other organohalogen compounds in Great Lakes air. *Environ. Sci. Technol.* 35, 1078–1083.
- Thomsen, C., Leknes, H., Lundanes, E., Becher, G., 2002a. A new method for determination of halogenated flame retardants in human milk using solid-phase extraction. *J. Anal. Toxicol.* 26, 129–137.
- Thomsen, C., Leknes, H., Lundanes, E., Becher, G., 2002b. Brominated flame retardants in archived serum samples from Norway: a study of temporal trends and the role of age. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1414–1418.
- Vallack, H.W., Bakker, D.J., Brandt, I., Brostroem-Lunden, E., Brouwer, A., Bull, K.R., Gough, C., Guardans, R.M., Holoubek, I., Jansson, B., Koch, R., Kuylenskierna, J., Lecloux, A., Mackay, D., McCutcheon, P., Mocarelli, P., Taalman, R.D.F., 1998. Assessment of the Controlling persistent organic pollutants-what next? *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 6, 143–175.
- Vetter, W., 2001. A GC/ECNI-MS method for the identification of lipophilic anthropogenic and natural brominated compounds in marine samples. *Anal. Chem.* 73, 4951–4957.
- WHO, 1998. Consultation on assessment of the health risk of dioxins; re-evaluation of the tolerable daily intake (TDI). *Food Addit. Contam.* 17 (4), 223–240.

(3)

Cleanup Method Using Disposable Tandem Cartridge System for the Determination of Dioxins in Human Milk by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

K. Saito,¹ M. Ishizuka,² Y. Sugawara,² H. Nakazawa,³ Y. Matsuki⁴

¹ Dioxin Research Group, Saitama Institute of Public Health, 639-1, Kamiokubo, Sakura-ku, Saitama 338-0824, Japan

² Cosmo Oil Co., Ltd., 1134-2, Gongendo, Satte-shi, Saitama 340-0193, Japan

³ Department of Analytical Chemistry, Hoshi University, 2-4-41, Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8501, Japan

⁴ Food and Drug Safety Center, Hatano Research Institute, 729-5, Ochiai, Hadano, Kanagawa 257-8523, Japan

Received: 20 November 2003/Accepted: 20 April 2004

For dioxin analysis, the establishment of the appropriate analytical method and the quality control procedure are indispensable for reliable measurements. On the other hand, a method that is simple, rapid, inexpensive, and highly sensitive for the screening of dioxins has been highly demanded by the public and the government. One of the methods that may satisfy these requirements is an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and there have been some reports on the measurement of dioxins using ELISA. We have already reported the development of a dioxin toxicity evaluation method for human milk by ELISA (Sugawara et al. 1998; Ishizuka et al. 2001; Sugawara et al. 2002; Saito et al. 2003a). However, the dioxin analysis by ELISA usually requires a sufficient cleanup similar to the GC/MS method due to the extremely low content of the dioxins, though ELISA is generally said to have the ability of high specificity.

A cleanup method for the analysis of human milk, in which an alkaline digestion step and a three-layer H₂SO₄/silica-gel cartridge were used, was reported in a previous paper (Saito et al. 2003a). Although an excellent cleanup effect could be obtained by employing this method, it required an overnight alkaline digestion treatment (about 12 hours) and a liquid-liquid distribution extraction using hexane. Accordingly, a more effective cleanup method was developed using the tandem column combined with a commercially available multi-layer silica-gel cartridge and an alumina cartridge. Furthermore, in order to assess the usefulness of the proposed cleanup method, the assay validation was carried out by comparing a conventional GC/MS method and the proposed ELISA method for the determination of dioxins in human milk samples.

MATERIALS AND METHODS

All of the dioxin standards were from Wellington Laboratories (USA) and were diluted with decane to the appropriate concentrations. Most of the organic solvents such as hexane, acetone, dichloromethane, toluene, diethylether, ethanol and methanol (MeOH) were of dioxin analysis quality from Kanto Kagaku (Tokyo, Japan) or Wako Pure Chemicals (Osaka, Japan). Decane was of special quality

Correspondence to: K. Saito

grade and was redistilled prior to use.

The multi-layer silica-gel column packed in a disposable cartridge tube was from GL Sciences, Inc. (Tokyo, Japan). It is made of 0.9g silica-gel, 3g 2% KOH/silica-gel, 0.9g silica-gel, 4.5g 44% H₂SO₄/silica-gel, 6g 22% H₂SO₄/silica-gel, 0.9g silica-gel, 3g 10% AgNO₃/silica-gel and 6g sodium sulfate. The cartridge was washed with 100 mL of hexane prior to use. The Sep-pak Plus Alumina (Basic type) cartridge was from Waters (Japan), and was washed with 10 mL of hexane prior to use. The tandem cartridge column of a multi-layer silica-gel cartridge and a Sep-pak Plus Alumina cartridge was prepared as follows; the column outlet part of the multi-layer silica-gel cartridge was connected in series to the inlet part of the Sep-pak Plus Alumina cartridge.

The surrogate standard for ELISA, 2,3,7-trichloro-8-methyl-dibenzo-*p*-dioxin (TMDD) was synthesized by Sanborn et al. (Sanborn et al. 1998). Goat anti-rabbit antibody coupled to horseradish peroxidase and 3,3', 5,5'-tetra-methylbenzidine (TMB) were purchased from Sigma-Aldrich (USA). All other immunoreagents including coating hapten III for 2,3,7,8-TCDD and the antiserum for this ELISA were described in a previous report (Sugawara et al. 2002). All the other chemicals were of PCB analysis quality grade or special quality grade, and used without further purification.

The fat was extracted from human milk according to a previously described procedure (Saito et al. 2003a), and then dissolved with ca. 2 mL of hexane. The hexane solution was applied to the tandem cartridge. After washing the cartridge with 160 mL of hexane, the multi-layer silica-gel cartridge, the upper cartridge of the tandem cartridge, was removed, and subsequently the dioxin fraction was obtained by eluting the Sep-pak Plus Alumina cartridge with 5 mL of 60% DCM/hexane. To the eluate was added 60 µL of a 100 ppm Triton X-100 methanol solution as a keeper, the solution was nearly dried out by a nitrogen stream, and the residue was re-dissolved into 60 µL of MeOH-DMSO (1:1).

The ELISA assay was carried out using a dry plate, which was prepared according to the reported method (Ishizuka et al. 2001). An outline of the method is shown below. Briefly, microtiter plates (Sumitomo Bakelite, Tokyo, Japan) were coated with the optimized concentration (0.5 µg/mL, 100 µL/well) of coating antigens (hapten III) (Sugawara et al. 1998) in carbonate-bicarbonate coating buffer (pH 9.6). They were incubated overnight at 4 °C. On the following day, the coated plates were washed 5 times with 0.05% (v/v) Tween 20 in phosphate buffered saline (PBS, pH 7.5) and were incubated for 30 min at room temperature with 300 µL of a 0.5% (w/v) bovine serum albumin (BSA) with sucrose in PBS (blocking solution) per well. After the removal of the blocking solution, the plates were dried *in vacuo* for 4 hr at 25 °C. They were then put into separate aluminum bags, and were packed *in vacuo*. Standards were prepared in 1:1:2 (v:v:v) DMSO:MeOH with 100 ppm Triton X-100 : PBS containing 2 mg/mL BSA

(PBSB). After an initial blocking step with BSA-PBS, and a wash step, 50 μ L of the standards were added to the standard wells in a microtiter plate. The sample wells contained 25 μ L of PBSB, then 25 μ L of a human milk sample in DMSO-MeOH was added. Next, 50 μ L of the antiserum diluted in PBSB was added to each well. The final ratio of DMSO-MeOH to PBSB was 1:3. The plates were incubated for 90 min. Following a wash step, 100 μ L of goat anti-rabbit antibody coupled to horseradish peroxidase was added (diluted in PBS + 0.05% Tween 20). After a 60-min incubation period, the plates were washed with wash buffer, and 100 μ L of an enzyme substrate containing TMB was added to each well. After 20 min, the color reaction was stopped by the addition of 50 μ L of 2 M sulfuric acid. The resultant color was measured at 450 nm with a Model 550 Microplate Reader (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA) in the single wavelength mode, and the dioxin levels in the human milk samples were calculated on the basis of a standard curve derived from a fit of absorbance versus the logarithm of the concentration.

The analysis of human milk by the GC/MS method was carried in accordance with a previous report (Saito et al. 2003b). The toxic equivalent quantity (TEQ) was calculated using WHO-TEF1998.

RESULTS AND DISCUSSION

The multi-layer silica-gel cartridge was made by modifying the multi-layer silica-gel column (Lamparski et al. 1980; Smith et al. 1984), which has been widely used for dioxin cleanup in various kinds of samples. A cleanup method for the GC/MS analysis of house dust, in which the usefulness of a multi-layer silica-gel cartridge method compared to an alkaline digestion method, was already reported in a previous paper (Saito et al. 2003b). In our preliminary experiment, we tried to develop a simpler cleanup method that allows the extracted fat to be directly treated using a multi-layer silica-gel cartridge without subjecting it to the alkaline digestion step. The multi-layer silica-gel cartridge was a useful method that was able to effectively remove the coexisting material of matrix origin such as the lipids and pigments in the human milk fat. However, the percentage of the fat content in the human milk depends on the subject. An excess amount of fat was often observed to spoil the cleanup performance of the multi-layer silica-gel cartridge. Moreover, the ELISA occasionally showed a false negative value or a low measurement value due to insufficient purification, even if the level of the fat content was in the range of the processing performance of the multi-layer silica-gel cartridge for the purification. We then tried further purification using alumina column chromatography, which has been also widely used for the dioxin cleanup. We have adopted the idea and created a tandem cartridge column system, i.e., a disposable alumina cartridge connected in series to the output of the multi-layer silica-gel cartridge was prepared in order to improve the cleanup efficiency. Furthermore, the maximum loading level of the human milk fat onto the multi-layer silica-gel cartridge was examined.

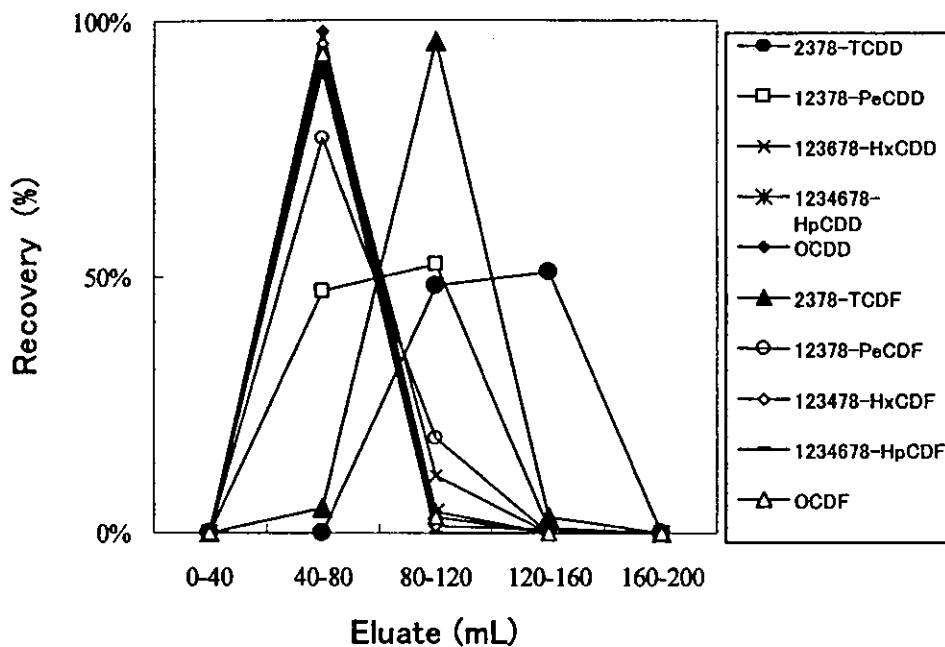


Figure 1. Elution profile of PCDD/Fs from a multi-layer silica-gel cartridge. Forty mL each of hexane eluate was collected as a fraction.

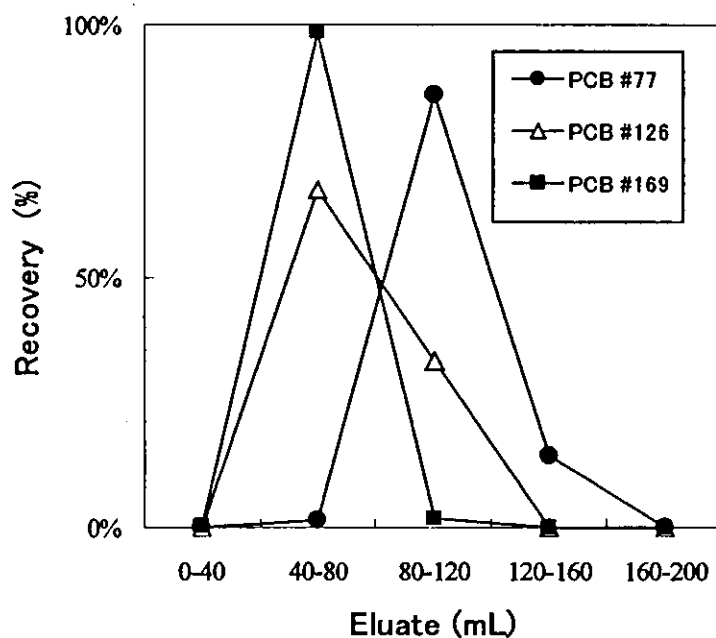


Figure 2. Elution profile of non-ortho PCBs from a multi-layer silica-gel cartridge. Forty mL each of hexane eluate was collected as a fraction.

The maximum loading level of the human milk fat onto the multi-layer silica-gel cartridge was estimated. Each fat (1.1g, 1.2g, 1.3g, 1.5g, 1.8g, 2.3g) extracted from actual human milk (six specimens) was applied to the multi-layer silica-gel cartridge, and the maximum loading level of the fat was judged by observing the carbonization reaction in the 44% H₂SO₄/silica-gel layer of the cartridge. That is, the limit state was that the brown color layer formed along with the reaction in the H₂SO₄/silica-gel layer does not reach the KOH/silica-gel layer. As a result, the fat level of 1.5 g or less was found to be suitable. Accordingly, the fat maximum loading level in the multi-layer silica-gel cartridge was judged to be 1.5g.

The eluting fraction profile of each congener of the PCDD/Fs and Co-PCBs was examined using a multi-layer silica-gel cartridge with hexane as the mobile phase. The dioxin standards, 10 kinds of PCDD/Fs (200 pg each), and 3 kinds of non-ortho-PCBs (1000 pg each) were added to the multi-layer silica-gel cartridge, and subsequently the cartridge was washed with hexane. Each 40 mL of effluent was collected as a separate fraction. Figure 1 and Figure 2 revealed that all of the target chemical substances were eluted with 160 mL of hexane.

For the ELISA, it was preferable to remove the non-planar PCBs and mono-ortho PCBs eluted from the multi-layer silica-gel cartridge as much as possible. There were a lot of PCBs residues in the eluate although the cross-reactivity of these PCBs in the ELISA is extremely low compared to the PCDD/Fs. We then paid attention to the alumina column chromatography already used in the analysis of dioxin, and examined a simple cleanup method with a commercially available pre-packed alumina cartridge. In that case, in order to simplify the operation as much as possible, the alumina cartridge was connected under the multi-layer silica-gel cartridge in series. Such an operation was based on the following idea: dioxins seemed not to be easily eluted from the alumina cartridge when using a non-polar solvent such as hexane, because the basic alumina has the ability to maintain dioxins stronger than silica-gel. The following method was then examined: After the dioxins eluted from the multi-layer silica-gel cartridge were trapped in the alumina cartridge, the multi-layer silica-gel cartridge was removed. Subsequently, the dioxins were eluted from the alumina cartridge with an appropriate solvent. The elution behavior of the dioxins from the alumina cartridge was then examined. As a result, it turned out that both the PCDD/Fs and non-ortho Co-PCBs were not eluted in the first 160mL of hexane, and were eluted in a subsequent 5mL of 60% DCM/hexane.

Figure 3 shows the relationship between the TMDD equivalents by ELISA and GC/MS values (Total-TEQ) determined in the actual human milk samples. Fairly good agreements between the GC/MS values and ELISA values were obtained from a linear regression analysis ($r = 0.947$, $n = 7$). The strong correlation between ELISA and TEQ suggests that the ELISA using the proposed cleanup method indicated its usefulness as a toxicity evaluation method for dioxins in human milk.

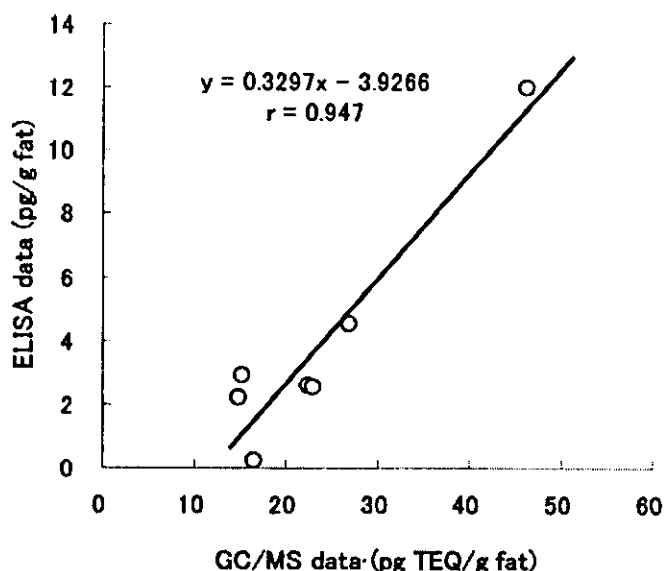


Figure 3. Correlation between GC/MS data and ELISA data.

Acknowledgment. This work was supported in part by Health Sciences Research Grants from the Ministry of Health and Welfare of Japan.

REFERENCES

- Buser H-R (1975) Analysis of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in chlorinated phenols by mass fragmentgraphy. *J Chromatog* 107: 295-310
- Ishizuka M, Sugawara Y, Saito K, Takekuma M, Ogawa M, Kobayashi S, Shan G, Hammock BD, Nakazawa H, Matsuki Y (2001) Development of dioxin toxicity evaluation method in human milk by enzyme-linked immunosorbent assay (Part V: A Study on improvement of stability) *Organohalogen Cmpds* 54: 59-62
- Jimenez B, Gonzalez MJ, Hernandez LM (1990) Extraction and clean-up procedure for polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in fly ash from municipal solid waste incinerators. *J Chromatogr* 523: 265-272
- Lamparski LL, Nestruck TJ (1980) Determination of tetra-, hexa-, and octachlorodibenzo-*p*-dioxin isomers in particulate samples at parts per trillion levels. *Anal Chem* 52: 2045-2054
- Porter ML, Burke JA (1971) Separation of three chlorodibenzo-*p*-dioxins from some polychlorinated biphenyls by chromatography on an aluminum oxide column. *JAOAC* 54: 1426-1428
- Saito K, Takekuma M, Ogawa M, Kobayashi S, Sugawara Y, Ishizuka M, Nakazawa H, Matsuki Y (2003a) Enzyme-linked immunosorbent assay toxicity evaluation method for dioxins in human milk. *Bull Environ Contam Toxicol* 70: 636-643

- Saito K, Takekuma M, Ogawa M, Kobayashi S, Sugawara Y, Ishizuka M, Nakazawa H, Matsuki Y (2003b) Extraction and cleanup methods of dioxins in house dust from two cities in Japan using accelerated solvent extraction and a disposable multi-layer silica-gel cartridge. *Chemosphere* 53: 137-142
- Sanborn JR, Gee SJ, Gilman SD, Sugawara Y, Jones, Rogers J, Szurdoki F, Stanker LH, Stoutamire DW, Hammock BD (1998) Hapten synthesis and antibody development for polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin immunoassays. *J Agric Food Chem* 46: 2407-2416
- Smith LM, Stalling DL, Johnson JL (1984) Determination of part-per-trillion levels of polychlorinated dibenzofurans and dioxins in environmental samples. *Anal Chem* 56: 1830-1842
- Sugawara Y, Gee SJ, Sanborn JR, Gilman SD, Hammock BD (1998) Development of a highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay based on polyclonal antibodies for the detection of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins. *Anal Chem* 70: 1092-1099
- Sugawara Y, Saito K, Ogawa M, Kobayashi S, Shan G, Sanborn JR, Hammock BD, Nakazawa H, Matsuki Y (2002) Development of dioxin toxicity evaluation method in human milk by enzyme-linked immunosorbent assay – assay validation for human milk. *Chemosphere* 46: 1471-1476.

(4)

自治体焼却施設における堆積粉塵中ダイオキシン類濃度と労働者の血清中ダイオキシン類濃度との関係

熊谷信二¹, 織田 肇¹, 田淵武夫¹, 赤阪 進¹,
小坂 博¹, 吉田 仁¹, 甲田茂樹², 毛利一平³

¹大阪府立公衆衛生研究所, ²高知医科大学看護学科, ³独立行政法人 産業医学総合研究所

抄録：自治体焼却施設における堆積粉塵中ダイオキシン類濃度と労働者の血清中ダイオキシン類濃度との関係：

熊谷信二ほか。大阪府立公衆衛生研究所一焼却施設13ヵ所において、労働者の血清中ダイオキシン類濃度と堆積粉塵中ダイオキシン類濃度を測定し、両者の関係を検討した。その結果、以下のことがわかった。1) 堆積粉塵の分析により、ダイオキシンの中では八塩化ダイオキシンおよび七塩化ダイオキシンが、またジベンゾフランの中では、八塩化ジベンゾフランおよび七塩化中ジベンゾフランが主成分であることがわかった。ダイオキシンとジベンゾフランを合わせた毒性等量は0.54～33 ngTEQ/gと一般土壌の1,000～10,000倍のレベルであった。2) 全焼却施設労働者の血清中のダイオキシン毒性等量、ジベンゾフラン毒性等量、およびダイオキシンとジベンゾフランを合わせた毒性等量の平均値はそれぞれ16, 12および28 pgTEQ/g脂肪であった。血清中の六塩化および七塩化ジベンゾフラン濃度が一般人よりも有意に高くなっており、勤務中にこれらの物質の取り込みがあると考えられた。3) 堆積粉塵中ダイオキシン類濃度と血清中ダイオキシン類濃度の関係の検討では、過去7年以内に施設内の全面的な改造工事を行った3施設を除けば、血清中の七塩化ジベンゾフランは堆積粉塵中の濃度と正に相関していた。したがって、焼却施設の堆積粉塵中ダイオキシン類濃度を測定すれば、労働者の血中ダイオキシン類濃度測定を含む健康調査を実施することが必要か、否かの判断が可能かもしれない。

(産衛誌 2004; 46: 1-9)

キーワード：Serum dioxin, Deposited dust, Incinerator worker

2003年6月23日受付；2003年9月22日受理
連絡先：熊谷信二 〒537-0025 大阪市東成区中道1丁目3番
69号 大阪府立公衆衛生研究所
(e-mail: kumagai@iph.pref.osaka.jp)

1. 目 的

1999年に大阪府能勢町の焼却施設における労働者のダイオキシン類への高濃度の曝露が報告されて以来¹⁾、焼却施設で働く労働者の間に健康影響への不安が広がっている。このため、厚生労働省では、1999～2001年に計26ヵ所の焼却施設において、労働者の健康調査を実施した²⁻⁴⁾。血中ダイオキシン類濃度の各施設ごとの平均値は11～40 pg毒性等量 (TEQ)/g脂質と、ほぼ一般人のレベルであったが、一部の焼却施設の労働者では100 pgTEQ/g脂質を超える者も見られた。また、私どもは、1998～2000年に計6ヵ所の焼却施設において、労働者の血清中ダイオキシン類濃度測定を実施した^{5,6)}。血清中ダイオキシン類濃度の各施設ごとの平均値は23～35 pgTEQ/g脂質 (コプラナーポリ塩化ビフェニルを除く) と、ほぼ一般人のレベルであった。

このように、大阪府能勢町以外の焼却施設の場合、血中ダイオキシン類濃度の平均値は一般人のレベルであり、一応、安心できる状況と言える。ただし、一部の労働者で一般人のレベルを超える者が見られたことから、血中ダイオキシン類濃度測定を含む健康調査の実施を求める声が広がっている。そこで、協力の得られた自治体の焼却施設7ヵ所において、労働者の血清中ダイオキシン類濃度を測定した。本報では、これら7ヵ所のデータと既報の6ヵ所のデータと合わせて、焼却施設労働者の血清中ダイオキシン類濃度の特徴を検討した。

もうひとつの目的は、焼却施設の堆積粉塵中ダイオキシン類濃度が労働者の曝露指標として使用できるかを明らかにすることである。焼却施設は全国で約22,000ヵ所 (うち、一般廃棄物焼却施設1,900ヵ所、産業廃棄物焼却施設3,000ヵ所、未規制小型廃棄物焼却施設17,000ヵ所) あり^{7,8)}、これら施設の労働者を合わせれば、数万人に上ると考えられる。しかし、血中ダイオキシン類濃度の測定を実施している機関は少なく、1年間に測定できる能力は全機関合わせても2,000検体以下と推定さ

Table 1. Characteristic of incineration plants and subjects

	A	B	C	D	E	F	G
Incinerator							
Year of beginning of operation	1988	1980	1975, 95	1981	1986	1979	1974, 88
Number of incinerators	3	3	4	1	2	2	2
Type of incinerator	Stoker	Stoker	Stoker	Fluid bed	Fluid bed	Stoker	Stoker
Instrument for removing dust *	EP	EP	EP, BF	BF	EP	EP	EP, BF
Operating hours (h/d)	24	24	24	8	16	16	8, 24
Incinerated volume (ton/d)	160	300	600	20	40	60	170
Number of operation workers	28	38	74	7	7	13	29
Dioxin concentration							
Exhaust gas (ng TEQ/Nm ³)**	8.9-42	0.82-1.4	0.072-12	0.22-590	11-260	11-53	0.021-40
Fly ash (ng TEQ/g)**	42-43	2.9-3.5	1.1-20	1.7	10-34	22-200	1.4-55
Subjects							
Number	10	10	10	7	7	6	10
Age (yr, mean (SD))	50.4 (5.4)	45.4 (3.4)	47.8 (4.4)	44.1 (5.5)	40.6 (11.1)	38.7 (8.3)	55.6 (4.6)
Employment duration (yr, mean (SD))	22.0 (5.3)	9.4 (3.0)	23.6 (3.3)	11.0 (5.1)	10.3 (3.4)	15.7 (7.3)	31.0 (2.7)
	H	I	J	K	L	M	
Incinerator							
Year of beginning of operation	1973, 91	1983, 93	1992	1978	1993	1992	
Number of incinerators	3	2	3	2	3	2	
Type of incinerator	Stoker	Stoker	Stoker	Stoker	Stoker	Fluid bed	
Instrument for removing dust *	EP, BF	EP	BF	EP	BF	BF	
Operating hours (h/d)	24	24	24	24	24	24	
Incinerated volume (ton/d)	450	80	450	180	120	270	
Number of operation workers	44	26	76	33	26	36	
Dioxin concentration							
Exhaust gas (ng TEQ/Nm ³)**	0.002-27	1.0-4.6	0.042-50	0.01-14	0.003-3.3	0.0003-18	
Fly ash (ng TEQ/g)**	0.27-8.8	7.1	3.0	7.3-120	0.84-3.5	5.7-8.7	
Subjects							
Number	10	3	10	9	5	20	
Age (yr, mean (SD))	48.1 (3.8)	43.0 (11.3)	44.4 (6.9)	36.3 (7.0)	43.0 (6.1)	40.8 (5.6)	
Employment duration (yr, mean (SD))	25.4 (2.5)	14.7 (16.8)	20.1 (5.8)	9.3 (3.6)	18.4 (4.2)	13.3 (6.2)	

*: EP=Electrostatic precipitator, BF=Bag filter,

** : The minimum and maximum values are shown for incineration plants with two or more regular measurements.

れる。このため、全焼却施設の労働者の血中濃度測定を実施するには、10年以上の期間が必要になる。したがって、今後、血中濃度を測定できる機関を増やすことが必要であるが、現状では、むしろ測定の必要な焼却施設、つまり曝露の高い可能性のある焼却施設を絞り、そこに資源（血中ダイオキシン類濃度の測定能力）を集中する方法が有効であると考えられる。

このような観点に立ち、焼却施設の堆積粉塵中ダイオキシン類濃度が労働者の曝露指標として使用できるかを検討した。堆積粉塵の測定であれば、測定コストも比較的安く、また、測定を実施できる機関も多い。したがっ

て、短期間で全国の焼却施設での測定が可能となると考えられる。

2. 方法

2-1. 施設の概要

Table 1に焼却施設の概要を示す。焼却施設A～Fについては、既に血清中ダイオキシン類濃度測定を実施し報告している^{5,6)}。今回、新たに焼却施設G～Mについて調査を行ったため、全部で13カ所となった。

焼却施設の稼働開始時期は1973～95年であり、古いものから比較的新しいものまでである。各施設の焼却炉数

Table 2. Characteristics of incinerator workers and controls

	Incinerator workers	Controls	Significance
Workers (n)	117	50	
Age (yr, mean \pm SD)	44.7 \pm 7.8	45.8 \pm 7.2	n.s.*
Age distribution			
20-29 yr (n (%))	3 (2.7)	1 (2.0)	n.s.**
30-39 yr (n (%))	28 (23.9)	7 (14.0)	
40-49 yr (n (%))	56 (47.9)	26 (52.0)	
50-60 yr (n (%))	30 (25.6)	16 (32.0)	
Employment duration at incineration plant (yr, mean \pm SD)	17.5 \pm 8.7	0	
Dietary habit (times/wk, mean \pm SD):			
Fish	6.3 \pm 3.3	7.4 \pm 3.2	$p < 0.05$ *
Meal	6.1 \pm 3.2	6.3 \pm 3.0	n.s.*
Milk	3.6 \pm 4.0	4.2 \pm 4.8	n.s.*
Current smoking habit:			
Smokers (workers, n (%))	63 (53.8)	23 (46.0)	n.s.**
Ex-smokers (workers, n (%))	29 (24.8)	13 (26.0)	
Non-smokers (workers, n (%))	25 (21.4)	14 (28.0)	
Smoking habit index (cigarclcs/d \times yr, mean \pm SD)	470 \pm 443	378 \pm 369	n.s.*
Body mass index (kg/m ² , mean \pm SD)	23.4 \pm 3.2	24.3 \pm 3.1	n.s.*

*: t-test, **: χ^2 -test

は1～4基であった。焼却炉のタイプは、ストーカ方式および流動床方式がそれぞれ10カ所および3カ所であった。煤塵除去装置は、電気集塵器およびバッグフィルターがそれぞれ6カ所および4カ所、電気集塵器およびバッグフィルターの両方を採用している所が3カ所であった。稼働時間は、全連続式(24時間稼働)、准連続式(16時間稼働)およびバッチ式(8時間稼働)がそれぞれ9カ所、2カ所および1カ所であり、全連続式とバッチ式の両方ある所が1カ所であった。実処理量は20～600トン/日であり、焼却炉の運転に携わっている労働者数は7～76名であった。

排ガス中ダイオキシン類濃度は0.0003～590 ngTEQ/Nm³、飛灰中ダイオキシン類濃度は0.27～200 ngTEQ/gであり、低いケースから高いケースまで含まれている。

2-2. 調査対象者

各施設から勤続年数の長い男性労働者3～20名、計117名を選び調査対象者とした。Table 1に各施設の調査対象者の人数、平均年齢および平均勤続年数を示す。平均年齢は36.3～55.6歳と施設による差が見られる。また、焼却施設での平均勤続年数は9.3～31.0年とやはり施設による差が見られる。Table 2に調査対象者全体の年齢、勤続年数、食事習慣(魚、肉、牛乳)、喫煙習

慣、肥満度(Body Mass Index)を示す。

2-3. 血清中ダイオキシン類濃度測定

1) 試薬

ヘキサンは関東化学製(ダイオキシン分析用)を、ジクロロメタンおよびエタノールは和光純薬製(ダイオキシン分析用)を、無水硫酸ナトリウムは和光純薬製(PCB・フタル酸分析用)を、硫酸アンモニウム、水酸化カリウムおよびn-ノナンは和光純薬製(特級)を使用した。また、積層カラムの充填剤は和光純薬製(ダイオキシン分析用)を、アルミナ(塩基性、活性度I)はICN製(ダイオキシン分析用)を使用した。ダイオキシン類の標準液はWellington Laboratories製を使用した。

2) 採血

血中脂質量の食事前後の変動による、血清中ダイオキシン類濃度(1gの脂質中濃度として表す)の見かけ上の変動を少なくするため朝食前に採血した。採血量は約100 mlとし、10 mlの真空採血管(テルモ製ベノジェットII VP-P100)10本を使用した。血液が凝固した後、3,000 rpmで10分間の遠沈を行い、上層の血清をガラス容器に移し、分析時まで-30℃で凍結保存した。

3) 前処理

血清40 mlに内部標準物質(¹³C-2,3,7,8-ダイオキシン,¹³C-2,3,7,8-ジベンゾフランおよび¹³C-コプラナポリ塩化

ビフェニルのアセトン溶液)を添加し混合した。次に、飽和硫酸アンモニウム 27 ml, エタノール 27 ml, ヘキサン 80 ml を加えて 15 分間振とうした。2 層が分離した後、水層を別の分液ロートに移し、ヘキサン 80 ml を加えて、15 分間振とうした。2 層が分離した後、水層を捨て、ヘキサン層を 1 回目のヘキサン層と合わせ、その後、精製水 (ヘキサン洗浄水) 16 ml で 1 回、40 ml で 2 回洗浄した。次いで、無水硫酸ナトリウムで水分を除去し、ロータリーエバポレータで濃縮した。重量を測定したビーカーに濃縮液を移し、室温で蒸発乾固させて重量を測定し、脂質重量を算出した。

脂質重量を測定後、1N 水酸化カリウム-エタノール溶液 10 ml を加え、スターラで 2 時間攪拌して脂質を分解した。次いで、試料を分液ロートに移し、精製水 10 ml およびヘキサン 25 ml を加え、15 分間振とうした。2 層が分離した後、水層を別の分液ロートに移し、ヘキサン 25 ml を加えて、15 分間振とうした。2 層が分離した後、水層を捨て、ヘキサン層を 1 回目のヘキサン層と合わせ、その後、精製水 20 ml で 2 回洗浄した。次いで、無水硫酸ナトリウムで水分を除去し、ろ過 (Advantec 製 5A) 後、濃縮した。

次いで、試料を多層シリカゲルカラムに添加し、ヘキサン 75 ml で溶出させた。濃縮後、アルミナカラム (アルミナ 3 g) に添加し、0.5% ジクロロメタン-ヘキサン 10 ml を通して 1st フラクションとした。次いで、1% ジクロロメタン-ヘキサン 75 ml を通して 2nd フラクションとした。さらに、50% ジクロロメタン-ヘキサン 30 ml を通して 3rd フラクションとした。2nd フラクションを濃縮し先細試験管に移し、さらに濃縮後、n-ノナン 500 μ l (回収率算出用の内部標準物質 ^{13}C -1,2,3,4-四塩化ダイオキシンを含む) を添加してモノオルト-ポリ塩化ビフェニルの分析試料とした。3rd フラクションを濃縮し先細試験管に移し、さらに濃縮後、n-ノナン 10 μ l (回収率算出用の内部標準物質 ^{13}C -1,2,3,4-四塩化ダイオキシンを含む) を添加してダイオキシン、ジベンゾフランおよびノンオルト-ポリ塩化ビフェニルの分析試料とした。

なお、施設 A~C については、調査を行った 1998 年当時は、ダイオキシン類の中にコプラナーポリ塩化ビフェニル (コプラナー PCB) は含まれていなかったため、測定していない。また、焼却過程から発生するダイオキシン類の中でコプラナー PCB の占める割合は小さい⁹⁾。これらの事情から、以下の記述は、ダイオキシンおよびジベンゾフランに絞ることとする。

4) 高分解能ガスクロマトグラフ-高分解能質量分析計による測定

分析試料 2 μ l を高分解能ガスクロマトグラフ-高分解能質量分析計 (日本電子製 Mstation JMS700) に注入

し、ダイオキシン類を定量した。定量下限は、四塩化、五塩化および六塩化のダイオキシンおよびジベンゾフランでは 1 pg/g 脂質、七塩化および八塩化のダイオキシンおよびジベンゾフランでは 2 pg/g 脂質である。

5) ブランク値および定量下限の取り扱い

ブランク試験では、八塩化ダイオキシンが検出されたため、サンプル値からブランク値を差し引いたものを測定値とした。その他の物質については、ブランク試験からは検出されなかった。

毒性等量 (TEQ, WHO1998) の算出において、ある物質の濃度が定量下限未満の場合は、その半分の値を使用した。また、各焼却施設ごとの平均値および標準偏差、あるいは調査対象者全体の平均値および標準偏差の算出においても同様に取扱った。

2-4. 堆積粉塵中ダイオキシン類濃度測定

1) 試薬

トルエンは和光純薬製 (ダイオキシン分析用) を塩酸は和光純薬製 (特級) を使用した。他の試薬は血清中ダイオキシン類分析の場合と同様である。

2) サンプルング

焼却炉および集塵器周辺の梁など、あまり清掃されていない場所 5~6 カ所を選び、堆積している粉塵を採取し、混合して 1 サンプルとした。粒径の大きい粉塵は空気中での沈降速度が速いため、作業現場では粒径の小さい粉塵が浮遊していると考えられる。そこで、堆積粉塵を 32 μ m のメッシュに通し、通過したものを分析試料とした。

3) 前処理

分析試料 0.5~1 g を秤量し、2N 塩酸 10 ml で 1 時間処理後、プフナロートでろ過した。ろ液は分液ロートに移し洗浄水と合わせて 40 ml とし、トルエン 30 ml を加え 15 分間振とうした。2 層が分離した後、水層を別の分液ロートに移し、トルエン 30 ml を加えて、15 分間振とうした。2 層が分離した後、水層を捨て、トルエン層を 1 回目のトルエン層と合わせた。プフナロートのろ過残渣は風乾した後、トルエンによりソックスレ抽出を 16 時間行った。次に、ろ液からのトルエン抽出液およびソックスレ抽出によるトルエン抽出液を合わせ、水 40 ml で 2 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで水分を除去後、濃縮・乾固した。

乾固した試料を少量のヘキサンで溶解し内部標準液を添加した後、多層シリカゲルカラムおよびアルミナカラムを通して分析試料とした。測定は、高分解能ガスクロマトグラフ-高分解能質量分析計を用いて行なった。これらの操作および分析条件は血清中ダイオキシン類測定の場合と同じである。

Table 3. Concentrations of PCDDs and PCDFs in the deposited dust on beams in the incineration plants (unit: ng/g)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
2, 3, 7, 8-TCDD	0.25	0.03	0.41	0.02	0.01	0.38	1.0	0.34	0.20	0.46	0.16	0.03	0.01
1, 2, 3, 7, 8-PeCDD	1.6	0.30	2.0	0.11	1.8	3.2	8.0	2.0	1.3	2.6	1.5	0.17	0.05
1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDD	2.1	0.65	2.9	0.14	5.3	4.2	13	3.2	1.9	4.0	2.6	0.24	0.10
1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD	4.8	1.3	5.3	0.26	53	11	20	5.6	3.6	7.5	5.7	0.56	0.27
1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDD	3.3	0.87	3.8	0.17	31	8.5	18	4.6	2.9	6.0	3.8	0.34	0.22
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD	41	11	51	1.9	790	73	170	50	30	86	54	2.7	2.0
OCDD	97	29	130	3.4	1800	150	390	170	72	360	150	4.6	7.9
2, 3, 7, 8-TCDF	0.41	0.07	0.59	0.14	0.72	0.65	1.8	0.76	0.52	0.88	0.44	0.04	0.04
1, 2, 3, 7, 8-PeCDF	1.3	0.34	2.3	0.58	5.0	2.0	6.4	2.4	1.6	3.2	2.1	0.19	0.39
2, 3, 4, 7, 8-PeCDF	1.7	0.43	2.7	0.57	7.4	2.5	8.5	2.6	1.8	3.2	2.7	0.20	0.56
1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF	3.0	0.81	4.2	0.87	13	4.4	14	4.9	2.9	6.9	4.6	0.20	0.64
1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF	2.9	0.78	4.1	0.80	17	4.9	15	4.6	2.9	6.7	5.0	0.20	0.66
1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDF	0.39	0.14	0.37	0.11	2.4	1.8	6.2	1.8	1.4	2.9	2.3	0.06	0.65
2, 3, 4, 6, 7, 8-HxCDF	3.9	1.3	4.8	1.6	5.4	9.2	29	9.8	6.0	13	10	0.30	1.7
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDF	15	6.1	2.4	3.4	120	32	91	38	16	59	35	1.10	5.3
1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-HpCDF	3.0	0.82	2.7	0.85	4.5	4.4	17	4.9	3.4	8.9	6.8	0.09	1.7
OCDF	17	4.5	1.4	3.0	210	25	79	29	15	61	37	0.40	9.2
TEQ-PCDD	3.3	0.72	4.1	0.21	19	6.7	16	4.2	2.6	5.7	3.4	0.34	0.14
TEQ-PCDF	2.2	0.61	3.1	0.71	14	3.8	12	4.0	2.5	5.5	4.1	0.20	0.73
TEQ-PCDD/PCDF	5.5	1.3	7.3	0.92	33	11	28	8.2	5.1	11	7.5	0.54	0.87

The dust samples were analyzed after being passed through a 32 μ m sieve.

2-5. 統計検定

先に述べたように、焼却施設 A～F の調査結果については既に報告しているが^{5, 6)}、その調査の中で、職業的にダイオキシン類曝露のない一般人（男性）50名を選びコントロールとしていた。Table 2 にこの集団の年齢、食事習慣（魚、肉、牛乳）、喫煙習慣、肥満度を示す。平均年齢は 45.8 歳と本報の焼却施設労働者とほぼ同じであり、年齢構成にも有意差は見られない。また、魚の摂取回数を除く食事習慣、喫煙習慣、肥満度にも有意差は見られない。魚の摂取回数については、一般人の方が有意に多いが、大きな差ではないため、この集団をコントロールとして、血清中ダイオキシン類濃度の中央値の有意差検定を行った（Mann-Whitney *U* 検定）。

堆積粉塵中ダイオキシン類濃度と血清中ダイオキシン類濃度（各施設の平均値）の関係については、いずれも対数変換を行った後、ピアソンの相関係数を算出し有意性の検定を行った。なお、血清中ダイオキシン類濃度の各施設における代表値として平均値を使用したのは、労働者総体への累積曝露を表すためである。また、対数変換したのは、堆積粉塵中ダイオキシン類濃度および血清中ダイオキシン類濃度（各施設の平均値）の施設間分布がいずれも正規分布よりも対数正規分布に近かったためである。

3. 結果

3-1. 堆積粉塵中ダイオキシン類濃度

Table 3 に堆積粉塵中のダイオキシン類濃度を示す。ダイオキシンとジベンゾフランを合わせた毒性等量（TEQ-PCDD/PCDF）は 0.54～33 ngTEQ/g であった。同族体パターンを見ると、ダイオキシンの中では、いずれの施設においても八塩化ダイオキシンがもっとも高く、次いで 1,2,3,4,6,7,8-七塩化ダイオキシンが高かった。ジベンゾフランの中では、8カ所の施設においては 1,2,3,4,6,7,8-七塩化ジベンゾフランがもっとも高く、5カ所の施設においては八塩化ジベンゾフランがもっとも高かった。

3-2. 血清中ダイオキシン類濃度

Table 4 に各焼却施設の労働者の血清中ダイオキシン類濃度の平均値を示す。ダイオキシンとジベンゾフランを合わせた毒性等量（TEQ-PCDD/PCDF）の各施設における平均値は 19～41 pgTEQ/g 脂質であった。

Table 5 に全焼却施設労働者および一般人の血清中ダイオキシン類濃度の平均値、標準偏差、中央値および範囲を示す。焼却施設労働者の血清中ダイオキシン毒性等量（TEQ-PCDD）、ジベンゾフラン毒性等量（TEQ-PCDF）、およびダイオキシンとジベンゾフランを合わせた毒性等量（TEQ-PCDD/PCDF）の平均値はそれぞれ

Table 4. Mean concentrations of PCDDs and PCDFs in the serum of the incinerator workers in each incineration plant (unit: pg/g lipid)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
2, 3, 7, 8-TCDD	2	2	3	2	1	2	3	2	2	1	1	1	1
1, 2, 3, 7, 8-PeCDD	9	10	13	8	8	8	13	8	8	8	6	7	6
1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDD	3	3	5	3	5	4	7	3	4	3	3	3	3
1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD	24	48	62	19	25	24	54	42	36	38	38	35	29
1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDD	5	8	12	4	7	7	11	5	5	6	4	5	5
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD	24	29	41	31	46	24	55	22	28	28	19	14	24
OCDD	260	499	521	356	249	253	679	416	368	554	141	233	170
2, 3, 7, 8-TCDF	3	1	1	1	2	2	2	1	1	1	1	1	2
1, 2, 3, 7, 8-PeCDF	2	2	1	1	3	1	2	1	1	1	1	1	3
2, 3, 4, 7, 8-PeCDF	13	15	18	16	21	14	24	15	16	12	11	11	24
1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF	6	6	6	6	13	5	11	6	5	5	6	4	19
1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF	6	8	6	7	23	8	19	8	7	7	8	5	33
1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDF	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	3
2, 3, 4, 6, 7, 8-HxCDF	4	6	4	3	22	5	11	3	4	3	4	1	24
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDF	15	19	9	8	50	12	39	9	7	13	14	3	82
1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-HpCDF	1	1	1	1	5	1	2	1	1	1	1	1	9
OCDF	2	2	2	1	3	1	1	1	1	1	1	1	3
TEQ-PCDD	15	18	24	13	14	13	24	15	15	14	12	13	12
TEQ-PCDF	9	10	11	10	17	9	17	10	10	8	7	7	21
TEQ-PCDD/PCDF	23	28	35	23	31	23	41	24	25	22	19	20	33

(14-32) (16-37) (21-69) (13-39) (15-58) (11-36) (22-82) (16-47) (13-36) (15-29) (14-24) (11-31) (14-60)

() : Range of TEQ-PCDD/PCDF

Table 5. Concentrations of PCDDs and PCDFs in the serum of the incinerator workers and controls (unit: pg/g lipid)

	Mean	SD	Median	Range	Mean	SD	Median	Range
2, 3, 7, 8-TCDD	2	1	2	(ND-6)	2	1	2	(ND-4)
1, 2, 3, 7, 8-PeCDD	9	4	8	(3-32)	9	5	8	(3-34)
1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDD	4	2	3	(ND-13)	3	2	3	(ND-13)
1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD	37	19	34	(9-100)	36	20	32	(11-78)
1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDD	7	4	5	(ND-29)	7	5	6	(ND-24)
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD	30	24	23	(7-130)	31	37	23	(7-230)
OCDD	350	450	180	(49-2100)	410	570	230	(73-3100)
2, 3, 7, 8-TCDF	1	1	1	(ND-5)	2	1	1	(ND-8)
1, 2, 3, 7, 8-PeCDF	2	2	1	(ND-10)	1	1	ND	(ND-7)
2, 3, 4, 7, 8-PeCDF	17	9	15	(5-52)	15	6	14	(6-34)
1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF	9	7	6 **	(2-41)	6	3	5	(ND-12)
1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF	13	13	9 ***	(2-75)	6	3	6	(2-15)
1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDF	1	1	ND	(ND-7)	1	0	ND	(ND-ND)
2, 3, 4, 6, 7, 8-HxCDF	9	10	4 ***	(ND-59)	3	2	3	(ND-11)
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDF	28	34	14 ***	(3-170)	6	3	6	(3-16)
1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-HpCDF	3	4	ND	(ND-21)	1	0	ND	(ND-ND)
OCDF	2	2	ND	(ND-10)	1	1	ND	(ND-3)
TEQ-PCDD	16	7	14	(5-52)	16	7	15	(6-41)
TEQ-PCDF	12	8	10 **	(4-43)	9	4	9	(4-21)
TEQ-PCDD/PCDF	28	12	25	(11-82)	25	10	23	(11-56)

Incinerator workers: n=117, Controls: n=50, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$ by the Mann-Whitney U test

れ16, 12および28 pgTEQ/g脂質であった。一般人との比較(中央値)では, ジベンゾフラン毒性等量は焼却施設労働者で有意に高かったが, 他の2つの毒性等量には有意差は見られなかった。

各物質ごとに見ると, ダイオキシンでは焼却施設労働者と一般人で有意な差は見られなかったが, ジベンゾフランでは, 3種類の六塩化ジベンゾフランおよび1種類の七塩化ジベンゾフランが焼却施設労働者で有意に高かった。特に1,2,3,4,6,7,8-七塩化ジベンゾフランは中央値で一般人の約2倍であり, 平均値で約4倍であった。

3-3. 堆積粉塵中ダイオキシン類濃度と血清中ダイオキシン類濃度の関係

Figure 1に, 堆積粉塵中に多く含まれていた1,2,3,4,6,7,8-七塩化ダイオキシン, 八塩化ダイオキシン, 1,2,3,4,6,7,8-七塩化ジベンゾフラン, および八塩化ジベンゾフランについて, 各施設の堆積粉塵中濃度と血清中濃度の関係を示すが, いずれの物質も有意な相関は認められなかった。しかし, 調査時点より過去7年以内のうちに, 焼却施設の全面的な改造工事が行われた施設(J, L, M)を除くと, 血清中1,2,3,4,6,7,8-七塩化ジベンゾフランについては有意な正の相関が見られた。

Figure 1には, ダイオキシン毒性等量およびジベンゾフラン毒性等量についても, 堆積粉塵中濃度と血清中濃度の関係を示しているが, 有意な相関は見られなかった。また, 施設J, LおよびMを除外しても有意な相関は見られなかった。

4. 考 察

本報で調査した焼却施設の堆積粉塵中ダイオキシン類濃度は0.54~33 ngTEQ/gであり, これは一般土壌(中央値0.76 pgTEQ/g)¹⁰⁾の1,000~10,000倍のレベルに相当する。これらの粉塵は焼却炉や電気集塵器などの設備内部のものではなく, 焼却炉や電気集塵器周辺の梁などの上に堆積していたものである。したがって, 労働者が日常的に勤務している時に吸入している粉塵とほぼ同質と考えられ, 勤務中のダイオキシン類曝露が懸念される。

焼却施設A~Fの労働者の血清中七塩化ジベンゾフランが一般人よりも有意に高かったことは既に報告している^{5, 6)}。今回, さらに7つの焼却施設で追加調査を行い, 全体として1,2,3,4,6,7,8-七塩化ジベンゾフランが一般人よりも有意に高く, 中央値で約2倍に, 平均値で約4倍になっていることが確認された。堆積粉塵中の同族体パターンでも七塩化ジベンゾフランは高く, 観察された血清中濃度の上昇は勤務中の取り込みによるものと考えられる。また, 3種類の血清中六塩化ジベンゾフランが一般人よりも有意に高くなっていることも確認さ

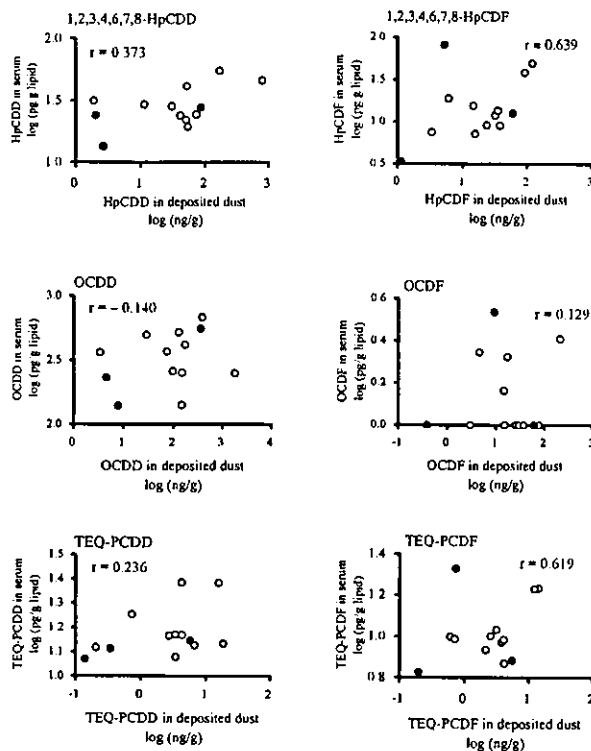


Fig. 1. Relationship between dioxin concentration in deposited dust and that in serum. Both x-axis and y-axis are the logarithm of the dioxin concentration. Black circles are plants J, L and M, where the deposited dust may be different from dust inhaled by workers. The correlation coefficients were calculated using the ten data except for the data obtained from plants J, L and M.

れた。堆積粉塵中の同族体パターンでは六塩化ジベンゾフランはそれほど高いわけではないが, 一般人の血清中濃度が低いため (Table 5), 勤務中の取り込みによる上昇が明確になったものと思われる。

堆積粉塵中濃度が高かった八塩化ジベンゾフランについては, 労働者の血清中濃度の上昇は明確ではなかった。この物質の血清中濃度は一般人で1 pg/g脂質と低く, かつ個人差も小さい。にもかかわらず, 血清中濃度の上昇が明確に見られないのは, この物質の体内での代謝速度が大きい可能性, あるいは排泄速度が大きい可能性が考えられる。

また, 堆積粉塵中濃度が高かった七塩化および八塩化ダイオキシンは, 労働者の血清中濃度の上昇は見られなかった。これら物質の血清中濃度の平均値は一般人でそれぞれ31および411 pg/g脂質と比較的高く, かつ個人差も大きい。このため勤務中の取り込みによる血清中の上昇が明確にならなかったものと考えられる。

大阪府能勢町の焼却施設労働者の調査¹⁾では, コントロールが設定されていないが, 本報のコントロールと比較すると, 八塩化ダイオキシンを除くすべての物質の

平均値が1.5倍以上であり、特に、六塩化ジベンゾフランおよび七塩化ジベンゾフランの上昇が著しい。また、Schecterら¹¹⁾は、ドイツの焼却場労働者の調査を行っており、ダイオキシンとジベンゾフランを合わせた毒性等量 (TEQ-PCDD/PCDF) はコントロールと同程度であったと報告している。物質ごとに比較すると、古い焼却場の労働者では、八塩化ダイオキシン、六塩化ジベンゾフランおよび七塩化ジベンゾフランが高くなっていた。本報でも、六塩化ジベンゾフランおよび七塩化ジベンゾフランが上昇しており、これが焼却場労働者の特徴と言える。

堆積粉塵中ダイオキシン類濃度と血清中ダイオキシン類濃度の関係を、七塩化および八塩化ダイオキシン、七塩化および八塩化ジベンゾフラン、そして毒性等量について検討したが、いずれも有意な相関は見られなかった。原因として、比較的近い過去に焼却施設の全面的な工事が行われた場合には、調査時点で堆積していた粉塵が労働者が長期にわたり吸入してきた粉塵と質的に異なっている可能性が考えられる。例えば、施設 M の労働者の血清中七塩化ジベンゾフラン濃度は、平均値で一般人の14倍になっており (Table 4)、明らかに勤務中の取り込みの影響と考えられるが、堆積粉塵中七塩化ジベンゾフラン濃度は1.7 ng/gと調査した施設の中では低い方であった (Table 3)。この施設では調査の前年に全面的な設備の改造工事を行っており、堆積粉塵と労働者が長期にわたり吸入してきた粉塵の質とが大きく異なっていたと考えられる。

ヒトにおけるダイオキシン類の半減期は約7年であり¹²⁾、この期間に施設内の全面的な工事がなければ、調査時に堆積していた粉塵中のダイオキシン類濃度は、労働者が体内に蓄積したダイオキシン類を反映している可能性がある。このため、過去7年以内に全面的な工事を行った3施設を除外して解析を行った。その結果、七塩化ジベンゾフランで有意な正の相関が認められた。したがって、労働者の血清中濃度は堆積粉塵中濃度をある程度反映していると考えられる。このことから、焼却施設の堆積粉塵中ダイオキシン類濃度を測定すれば、労働者の血中ダイオキシン類濃度測定を含む健康調査を実施することが必要か、否かの判断がある程度可能と言える。ただし、施設 M のように、施設内の全面的な改造工事などにより、堆積粉塵の質が変化した場合には、このような方法は誤った方針を示すことになる。

5. まとめ

焼却施設 13 ヶ所において、労働者の血清中ダイオキシン類濃度と堆積粉塵中ダイオキシン類濃度を測定し、両者の関係を検討した。その結果、以下のことがわかった。

- 1) 堆積粉塵中ダイオキシン類濃度は0.54～33 ngTEQ/gと一般土壌の1,000～10,000倍のレベルであり、労働者の勤務中のダイオキシン類曝露が懸念された。
- 2) 焼却施設労働者において、3種類の六塩化ジベンゾフランおよび1種類の七塩化ジベンゾフランの血清中濃度、および血清中ジベンゾフラン毒性等量が一般人よりも有意に高くなっており、勤務中の取り込み起因すると考えられた。
- 3) 堆積粉塵中ダイオキシン類濃度と血清中ダイオキシン類濃度の関係の検討では、過去7年以内に施設の全面的な工事を行った3施設を除けば、七塩化ジベンゾフランで有意な正の相関が見られた。したがって、焼却施設の堆積粉塵中ダイオキシン類濃度を測定すれば、労働者の血中ダイオキシン類濃度測定を含む健康調査を実施することが必要か、否かの判断がある程度可能と言える。

謝辞

この調査に御協力いただきました焼却施設の労働者の皆様、コントロールとして御協力をいただきました皆様に、心より感謝いたします。この研究は科学研究費補助金 (平成13, 14年度, 基盤研究C, 課題番号13670413) により実施した。

参考文献

- 1) 豊能郡美化センターダイオキシン問題に係る調査研究委員会、豊能郡美化センターダイオキシン問題に係る調査研究報告書。東京：中央労働災害防止協会, 1999。
- 2) ダイオキシン類による健康影響調査研究委員会。清掃業等におけるダイオキシン類等の労働者へのばく露実態の把握に関する調査研究 (平成11年度)。東京：中央労働災害防止協会, 2000。
- 3) ダイオキシン類による健康影響調査研究委員会。清掃業等におけるダイオキシン類等の労働者へのばく露実態の把握に関する調査研究 (平成12年度)。東京：中央労働災害防止協会, 2001。
- 4) ダイオキシン類による健康影響調査研究委員会。清掃業等におけるダイオキシン類等の労働者へのばく露実態の把握に関する調査研究 (平成13年度)。東京：中央労働災害防止協会, 2002。
- 5) Kumagai S, Koda S, Miyakita T, Yamaguchi H, Katagi K, Yasuda N. Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin and dibenzofuran concentrations in the serum samples of workers at continuously burning municipal waste incinerators in Japan. *Occup Environ Med* 2000; 57: 204-210.
- 6) Kumagai S, Koda S, Miyakita T, Ueno M. Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin and dibenzofuran concentrations in serum samples of workers at intermittently burning municipal waste incinerators in Japan. *Occup Environ Med* 2002; 59: 362-368.

- 7) 環境庁. 一般廃棄物焼却施設の排ガス中のダイオキシン類濃度等について. (<http://www.env.go.jp/recycle/dioxin/ippan/ippan-nod.pdf>) 東京：環境庁, 2001.
- 8) 環境庁. 産業廃棄物焼却施設の排ガス中のダイオキシン類濃度等について. (<http://www.env.go.jp/recycle/dioxin/sanpai/sanpai-noudo.pdf>) 東京：環境庁, 2001.
- 9) ダイオキシン類による健康影響調査研究委員会. 清掃業等におけるダイオキシン類等の労働者へのばく露実態の把握に関する調査研究委員会報告書 (廃棄物処理施設の作業環境の実態調査). 東京：中央労働災害防止協会, 2000.
- 10) 環境省. ダイオキシン類による人の暴露実態調査について. 東京：環境省, 2002.
- 11) Schecter A, Pöpke O, Ball M, et al. Dioxin concentrations in the blood of workers at municipal waste incinerators. *Occup Environ Med* 1995; 52: 385-387.
- 12) 中央環境審議会環境保健部会, 生活環境審議会, 食品衛生調査会. ダイオキシンの耐容一日摂取量 (TDI) について. 東京：厚生省, 1999.

Relationships between Dioxin Concentrations in Deposited Dust and those in Serum of Workers at Municipal Waste Incineration Plants

Shinji KUMAGAI¹, Hajime ODA¹, Takeo TABUCHI¹, Susumu AKASAKA¹, Hiroshi KOSAKA¹, Jin YOSHIDA¹, Shigeki KODA² and Ippei MOURI³

¹Department of Environmental Health, Osaka Prefectural Institute of Public Health, 1-3-69 Nakamichi, Higashinari-ku, Osaka 537-0025, Japan, ²Kochi Medical School and ³National Institute of Industrial Health

Abstract: Relationships between concentrations of polychlorodibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and polychlorodibenzofurans (PCDFs) in deposited dust and those in the serum of incinerator workers were examined at 13 municipal incineration plants. The following results were found. 1) Dust analysis showed that dominant constituents were octachlorodibenzo-*p*-dioxin (OCDD) and 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-heptachlorodibenzo-*p*-dioxin (HpCDD) among PCDDs, and 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-heptachlorodibenzofuran (HpCDF) and octachlorodibenzofuran (OCDF) among PCDFs. The toxicity equivalents (TEQs) of total PCDDs and PCDFs in the deposited dust were 0.54 to 33 ngTEQ/g, which were about 1,000 to 10,000 times as high as those in general soil. 2) The mean of serum TEQ of PCDDs, that of PCDFs and that of total PCDDs and PCDFs in the incin-

erator workers were 16, 12 and 28 pg TEQ/g lipid, respectively, for all the incinerator workers. Concentrations of hexachlorodibenzofurans (HxCDFs) and HpCDFs in the serum were significantly higher in the incinerator workers than the general population, which suggests that these workers had inhaled these chemicals during their work. 3) The concentration of 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDF and the TEQ value of PCDFs and in the serum were positively correlated with those in dust except for three plants where large-scale remodeling of the equipment was conducted within the past seven years. Consequently, deposited dust analysis may be useful for judging whether health examination containing blood dioxin measurement is necessary or not.

(*San Ei Shi* 2004; 46: 1-9)