

# ダイオキシン類の簡易測定法の開発

愛媛事業所 山科 清 / 横堀 尚之

## 1 はじめに

ダイオキシン類の測定は、平成11年に「ダイオキシン類対策特別措置法」が施行され、試料形態に応じた公定法で実施されているが、人体に有害であるため極めて微量を正確に求めることが要求されている。pg (ピコグラム =  $10^{-12}$ g) やfg (フェムトグラム =  $10^{-15}$ g) といった微量のダイオキシン類の測定には、それを精製する正確な技術と高価な測定装置、設備が必要であるため、結果が得られるまでに時間がかかり、かつ高価になっている。また、分析機関による測定値のバラツキを少なくするため、精度管理も要求されているので、これも納期を長期化させる大きな要因となっている。

そのため数年前から、安くて迅速なダイオキシン類の簡易測定法の開発ニーズがあり、各社とも生物学的あるいは化学的な方法による検討を実施してきた。弊社では、イオントラップ型GC/MSを用いた化学的方法で開発を進め、迅速かつ安価な測定が可能になったのでGC/MSの技術的進歩を中心にその一端を紹介する。

## 2 ダイオキシン類

### (29異性体)の毒性

ダイオキシン類は、ポリ塩化ジベンゾパラジオキシン(PCDDs)：7異性体・ポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs)：10異性

体・コプラナーポリ塩化ビフェニル(Co-PCBs)：12異性体の計29異性体の総称である。これらは塩素の置換位置と置換数によって、それぞれPCDDで75異性体、PCDFで135異性体、PCBで209異性体の合計419の異性体を持つが、このうちの29異性体のみが人体に有害であるため“ダイオキシン類”として区別し、規制の対象となっている<sup>1)2)</sup>。

毒性の強さには異性体によって大きな差があるため、最も強い毒性を持った2,3,7,8-四塩化ジベンゾパラジオキシン(2,3,7,8-TeCDD)を1とした毒性等価係数(TEF)が設定されている。(表1参照)“ダイオキシン類毒性”といった場合には、29異性体の個々の濃度に毒性等価係数を乗じたものの合算値として表される。つまり、異なる

29異性体の毒物を一纏めにして評価するという非常にユニークな規制方法をとっている化学物質である。

これは、ダイオキシン類の毒性の発現が、主に細胞内のレセプターを介して起こるとされているためで、毒性等価係数は、レセプターがそれぞれの異性体に応答する割合に沿ったものとなっている<sup>3)</sup>。

このダイオキシン類の生体への反応を利用して、ダイオキシン類を含めた毒性を簡易に評価する方法がバイオアッセイ法であり、一部では既に自主管理などに活用されている<sup>4)</sup>。しかし、この方法では“ダイオキシン類を含めた毒性”は推定できても、ダイオキシン類個々の異性体の濃度は全く分からない。

今回、検討を行ったガスクロマトグ

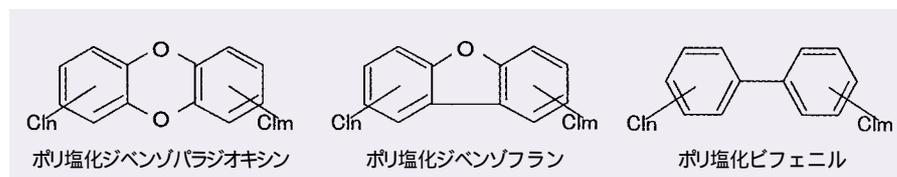


表1 毒性等価係数(TEF)[WHO - 1998]

ポリ塩化ジベンゾパラジオキシン		ポリ塩化ジベンゾフラン		ポリ塩化ビフェニル	
2, 3, 7, 8 - TeCDD	1	2, 3, 7, 8 - TeCDF	0.1	3, 3', 4, 4' - TeCB	77 0.0001
				3, 4, 4', 5 - TeCB	81 0.0001
1, 2, 3, 7, 8 - PeCDD	1	1, 2, 3, 7, 8 - PeCDF	0.05	2, 3, 3', 4, 4' - PeCB	105 0.0001
		2, 3, 4, 7, 8 - PeCDF	0.5	2, 3, 4, 4', 5 - PeCB	114 0.0005
				2, 3', 4, 4', 5 - PeCB	118 0.0001
				2', 3, 4, 4', 5 - PeCB	123 0.0001
				3, 3', 4, 4', 5 - PeCB	126 0.1
1, 2, 3, 4, 7, 8 - HxCDD	0.1	1, 2, 3, 4, 7, 8 - HxCDF	0.1	2, 3, 3', 4, 4', 5 - HxCB	156 0.0005
1, 2, 3, 6, 7, 8 - HxCDD	0.1	1, 2, 3, 6, 7, 8 - HxCDF	0.1	2, 3, 3', 4, 4', 5' - HxCB	157 0.0005
1, 2, 3, 7, 8, 9 - HxCDD	0.1	1, 2, 3, 7, 8, 9 - HxCDF	0.1	2, 3', 4, 4', 5, 5' - HxCB	167 0.00001
		2, 3, 4, 6, 7, 8 - HxCDF	0.1	3, 3', 4, 4', 5, 5' - HxCB	169 0.01
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8 - HpCDD	0.01	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8 - HpCDF	0.01	2, 3, 3', 4, 4', 5, 5' - HpCB	189 0.0001
		1, 2, 3, 4, 7, 8, 9 - HpCDF	0.01		
OCDD	0.0001	OCDF	0.0001		

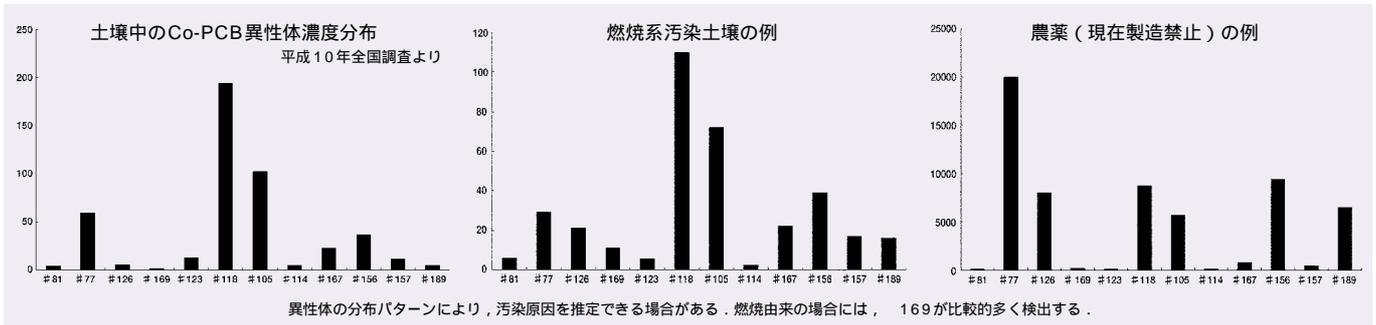


図2 異性体分布パターンによる汚染源の推定

ラフ質量分離 / 質量同定法 (GC-MS / MS) による簡易法では、個々の異性体についての濃度を測定できることから、単に毒性があるかどうかの判別だけでなく、農薬あるいは燃焼による汚染なのかの原因推定にも有効な情報を得ることが可能である<sup>5)</sup>。(図2参照)

### 3 測定方法の原理

公定法でのダイオキシン類分析方法は、その試料の形態に応じて実に様々なマニュアル、ガイドライン、JIS等が存在しているが、その全てが測定装置に分解能10000以上のガスクロマトグラフ2重収束型質量分析計 (HR-GC / MS) を使用することを規定している。HR-GC / MSは、ガスクロマトグラフで分離した分子を高真空下でイオン化し、電場および磁場による高精度の分離を行うことによって、分子量の小数点以下の違いを識別できる装置である。つまり、一般的な分解能500 ~ 1000の四重極型質量分析計 (QMS) では分離困難なTeCDD (319.8965)とTeCDF(319.9358)とが別物質であると識別できる装置である。

一方、今回の簡易法で用いている測定装置は、イオントラップ型MS / MSと呼ばれる質量分析計であり、

QMSとほぼ同程度の卓上型の分析装置である。純粋な意味でのイオン化質量の選別能力については、QMSと同程度であるが、MS / MSモード機能によってHR-GC / MSであっても分離が困難な化合物を区別することができる。図3で、イオン源によりイオン化された分子は、イオントラップと呼ばれるリング状電極に導かれる。ここでは適当な電極に電流・電圧を印加することにより特定のイオン化質量を持ったイオンのみがトラップ内に捕捉された状態となる。さらに、そのトラ

ップ内で捕捉した目的異性体を非弾性衝突させることによって目的異性体を解離させ娘イオンを生じさせ、その娘イオンを検出器に導いて測定するという2つの原理を併せた測定方法である。また、生じた娘イオンをトラップ内で再度解離させ、さらに小さなイオン (孫イオン) を生成し、これを測定すること (慣例的にMS / MS / MS法と呼ばれる) も可能である。つまり図4の左上のように、イオン化が1回のみである従来の方法では、同じ質量のイオン同士は区別することができないの

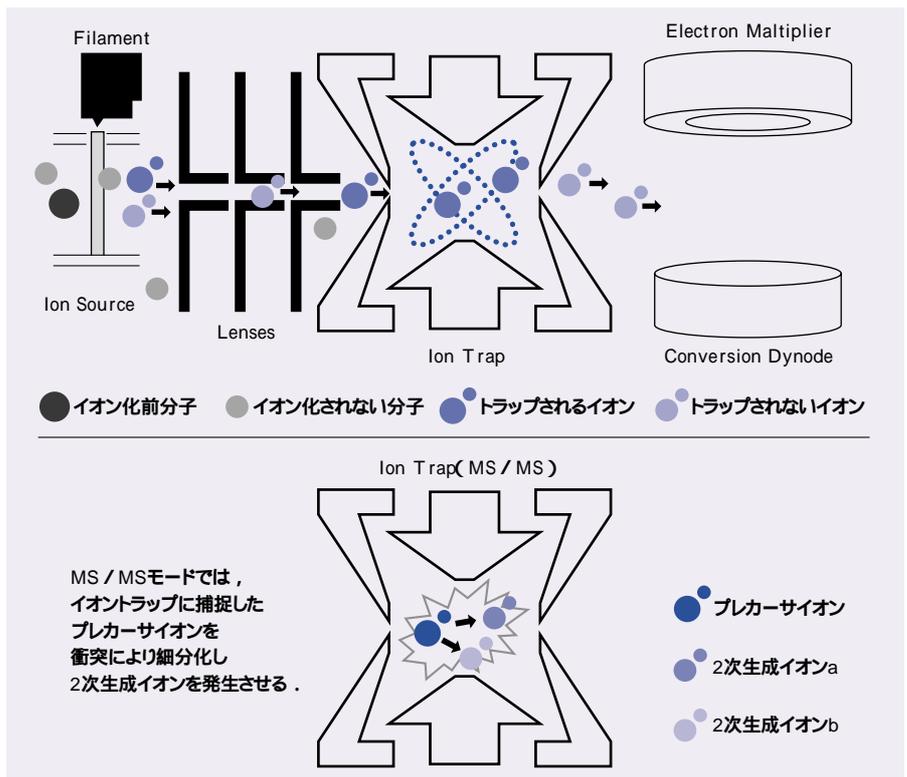


図3 イオントラップ型GC / MS / MSの概念図

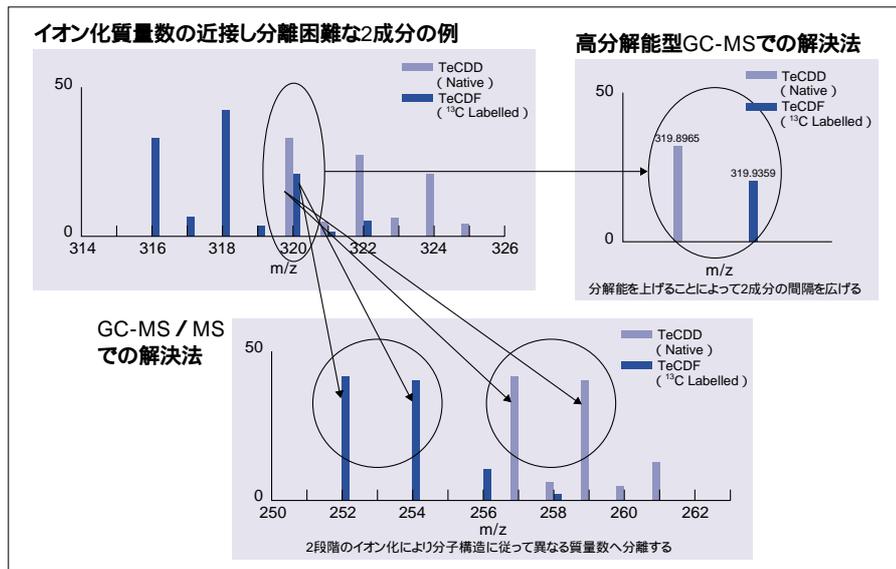


図4 GC / MS / MS法とHR-GC / MS法での選択性に関する概念の違い

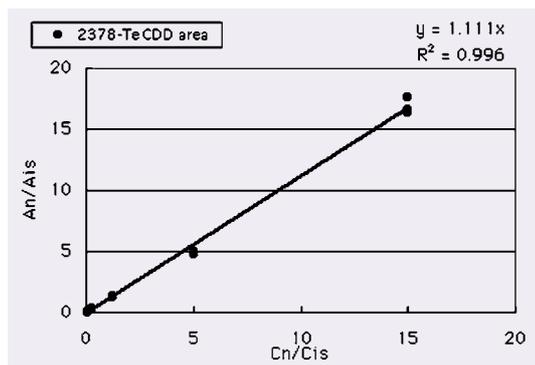


図5 検量線の例 (2, 3, 7, 8-TeCDD)

に対し、イオントラップ型では、再度解離させて目的異性体と妨害物質とが異なるフラグメントを選んで測定するため図4下のように分別が可能となる<sup>6)</sup>。この原理で、公定法で規定されるHR-GC / MSに見劣りしない質量選択性を実現している。

#### 4 定量性の問題の解決

イオントラップ型質量分析計は、2段階（あるいはそれ以上の）解離を行うことが容易にできるため、構造解析の分野で活躍している装置である。しかし、これまでは再現性に難点があるとされ、定量に用いられることは少なかった。これは、大まかには次の2つの理由によるものである。まずはイオ

子がイオントラップの内部に侵入してきてしまうため、この中性分子と目的異性体とが衝突し、予想通りの開裂が得られなかったり、イオン化効率が著しく減少するなどの現象がみられた。この問題については、イオン源をイオントラップとは別に設けた外部イオン化方式の装置によって定量性が改善された。次に解離電圧の条件設定である。電圧を上げればイオン化効率は大きくなるが、あまり高い電圧をかけ過ぎるとイオン化効率がばらつくという現象がみられる。したがって、最適な感度と再現性を得るためには、適切な解離電圧値を探す必要がある。また、この値は測定対象と装置で個々に異なるため、標準品を用いた条件設定が必須である<sup>7-11)</sup>。

弊社では、以上のような理由から ThermoQuest社のイオントラップ型MS / MSを用い、ダイオキシン類測定に充分な実績のある荏原法を用いて測

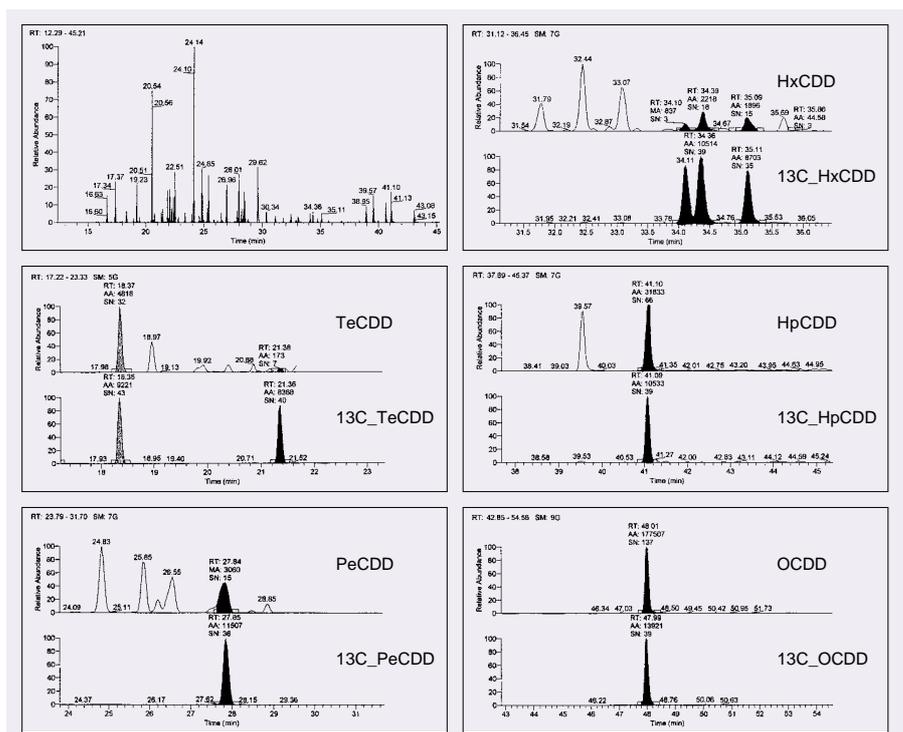


図6 実試料の測定クロマトグラム例 (PCDD)

表2 標準試料および実試料の測定結果

	標準物質			実試料(土壌)				
	簡易法実測	CV値(%)	理論値	簡易法実測	CV値(%)	HR-GC/MS値		
単位:	pg / μL	(n=5)	pg / μL	pg / g	(n=4)	pg / g		
ポリ塩化ジブチルベンゼン	2, 3, 7, 8, - TeCDF	29	12	25	7.8	37	8.2	
	1, 2, 3, 7, 8 - PeCDF	22	9	25	13	30	16	
	2, 3, 4, 7, 8 - PeCDF	28	7	25	15	43	14	
	1, 2, 3, 4, 7, 8 - HxCDF	49	14	50	11	51	14	
	1, 2, 3, 6, 7, 8 - HxCDF	48	9	50	38	29	15	
	1, 2, 3, 7, 8, 9 - HxCDF	52	9	50	11	72	0.96	
	2, 3, 4, 6, 7, 8 - HxCDF	45	5	50	23	40	23	
	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8 - HpCDF	47	4	50	130	31	110	
	1, 2, 3, 4, 7, 8, 9 - HpCDF	52	7	50	6.7	49	7.8	
	OCDF	100	9	100	200	21	170	
ポリ塩化ジペンチルベンゼン	2, 3, 7, 8 - TeCDD	23	3	25	2.2	51	0.92	
	1, 2, 3, 7, 8 - PeCDD	25	6	25	11	27	6.3	
	1, 2, 3, 4, 7, 8 - HxCDD	45	10	50	2.5	39	5.9	
	1, 2, 3, 6, 7, 8 - HxCDD	67	8	50	19	35	16	
	1, 2, 3, 7, 8, 9 - HxCDD	36	18	50	11	5	12	
	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8 - HpCDD	49	6	50	210	10	210	
	OCDD	99	8	100	1900	10	1400	
モノ塩化デカヒドロ	3, 4, 4', 5 - TeCB	81	47	2	50	13	31	6.1
	3, 3', 4, 4' - TeCB	77	46	6	50	76	12	81
	3, 3', 4, 4', 5 - PeCB	126	48	1	50	20	7	22
	3, 3', 4, 4', 5, 5' - HxCB	169	48	4	50	35	40	3.7
	2', 3, 4, 4', 5 - PeCB	123	50	3	50	25	72	26
	2, 3', 4, 4', 5 - PeCB	118	49	1	50	890	5	800
	2, 3, 3', 4, 4' - PeCB	105	測定対象外	測定対象外	50	測定対象外	測定対象外	530
	2, 3, 4, 4', 5 - PeCB	114	46	2	50	45	14	34
	2, 3', 4, 4', 5, 5' - HxCB	167	46	5	50	110	35	100
	2, 3, 3', 4, 4', 5 - HxCB	156	48	3	50	300	2	270
	2, 3, 3', 4, 4', 5' - HxCB	157	49	2	50	130	14	89
	2, 3, 3', 4, 4', 5, 5' - HpCB	189	42	7	50	58	4	55

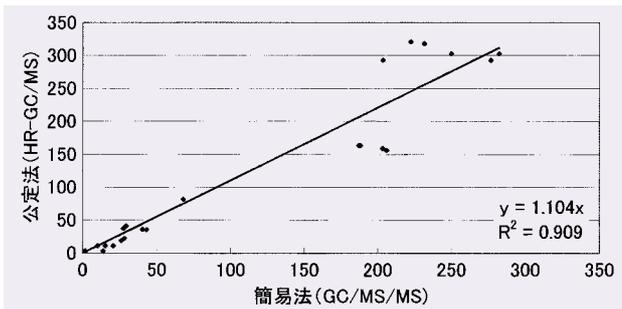


図7 簡易法と公定法でのTEQ値相関

くなるもののHR-GC/MS測定値と比べてもごく一部を除いて大きな違いは無く、ダイオキシン類濃度の概要調査法として有効であるといえる。TEQ値の相関をみても(図

定を行っている。この方法では図5のように直線性の良い検量線が作成できる。

5 実測例紹介

簡易法で測定した土壌の測定結果の一例を図6と表2に示す。標準物質の測定結果は理論値に良く合っており、バラツキ(変動係数)も比較的小さい。実試料の測定ではバラツキがやや大き

7) やや高濃度側でバラつくような傾向があるが、およそ直線状に分布している。ただし、コプラナーポリ塩化ビフェニルの一部の異性体については、装置の性能上、現在の方法では測定できない異性体がある。

6 おわりに

ダイオキシン類の測定は、汚染実態の

調査、発生源の抑制・防止するため、更には人類の健康的な生活を維持するために必要不可欠なものである。今回のイオントラップ型MS/MSによる簡易測定法では、公定法よりも安価に短期間で多数の測定が可能であり、しかもバイオアッセイ法では困難であった各種異性体についても情報が得られるという特徴がある。これらの利点を生かし、スクリーニング法として幅広いユーザーの要望に答えると共に、地球修復の一助となる活動をしていきたいと考えている。

文 献

- 1) 森田昌敏(監訳)財団法人日本環境衛生センター ダイオキシン入門(1991)
- 2) 社団法人産業環境管理協会 公害防止の技術と法規(ダイオキシン類編)(2002)
- 3) 清水剛夫・関西新技術研究所(監訳)ダイオキシン 化学・分析・毒性(1999)
- 4) 藪下尚智 平成14年度日環協・環境セミナー 全国大会要旨集 p114-117(2002)
- 5) 品田利彦・工業技術会 ダイオキシン汚染問題解決への展望(1992)
- 6) 土屋正彦ら・東京化学同人 質量分析法の新展開(現代化学・増刊15)(1988)
- 7) 剣持ら 第11回廃棄物学会研究発表会講演論文集 p1268-1270(2000)
- 8) 剣持ら エバラ時報第185号 p21-26(1999)
- 9) 剣持ら エバラ時報第193号 p33-40(2001)
- 10) 中村ら 第10回環境化学討論会講演要旨集 p310-311(2001)
- 11) 先山ら 第9回環境化学討論会講演要旨集 p246-247(2000)



山科 清  
(やましな きよし)  
愛媛事業所



横堀 尚之  
(よこぼり なおゆき)  
愛媛事業所