

# ダイオキシン類分析法の検討

本多 隆, 植野康成, 田中秀二

## Analytical Method for Dioxins

Takashi HONDA, Yasunari UENO, and Syuji TANAKA

Key word: Dioxins, Co-PCBs, Analytical Method

キーワード: ダイオキシン類, コプラナーPCB, 分析法

### はじめに

平成12年1月15日「ダイオキシン類対策特別措置法」(特別措置法)が施行され、ダイオキシン類とは従来のポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン(PCDD)とポリ塩化ジベンゾフラン(PCDF)に加え、コプラナーポリ塩化ビフェニル(Co-PCB)を含めたものの総称であることが定義された。Co-PCBは、PCBのうち特に平面構造でダイオキシン様の毒性を持つものである。PCDD、PCDF及びPCBの構造式を図1に示す。これらの同族体及び異性体は表1に示すとおり多数のものが存在する。また、ダイオキシン類29種類の毒性等価係数(TEF)を表2に示す。

特別措置法施行以前のPCDDとPCDFのみの分析においては、長い工程ではあるが、1系列の操作で最終サンプルが完成する。この工程にCo-PCBの測定が追加されると、途中で系列を分ける必要があり、より一層の時間と手間がかかることとなる。しかも、煙道排ガス及び排出水の分析についてはJIS法も定義され、他の環境媒体もこれに順ずる方法に変更されており、より精度管理等に注意をはらわなくてはならなくなっている。

今回は、環境大気、煙道排ガス及び土壌試料におけるCo-PCBを含めたダイオキシン類分析法の注意点、課題等について検討を行ったので報告する。

### 分析の概要

簡単な分析の流れは図2のとおりである。最後の測定機器が高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計(HRGC/HRMS)を使用することを除けば、別

段他の化学物質分析と変わっていないことはない。ただし、分析に使用する有機溶媒の選択、ガラス器具及びろ紙等の洗浄には注意が必要である。事前の溶媒洗浄やソックスレー抽出装置による洗浄(16時間以上)を行い、ブランク値を十分抑えなければならぬ。特にPCBについては、種々な工程段階からコンタミネーションを起こす可能性が高い。

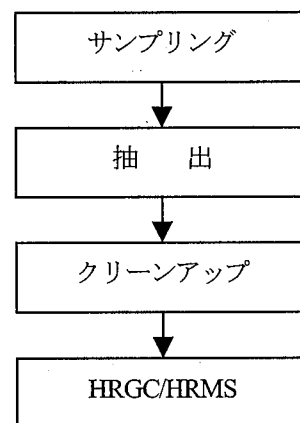


図2 分析の流れ

### 抽出

抽出方法は表3のとおりである。ダイオキシン類分析における固形成分からの抽出はソックスレー抽出というクラシカルな方法が採用されている。抽出溶媒はトルエンで、抽出時間は16時間以上行っている。唯一の例外は、環境大気試料のポリウレタンフォーム(PUF)の抽出はアセトンを使用する。ソックスレー抽出装置の使用前の洗浄は重要であり、アセトン:トルエン=1:1の溶媒で半日から一昼夜の通常運転で洗浄を行っている。

また、ソックスレー抽出前の試料の風乾も十分に行うことが望ましい。水分が含まれていると抽出効率が

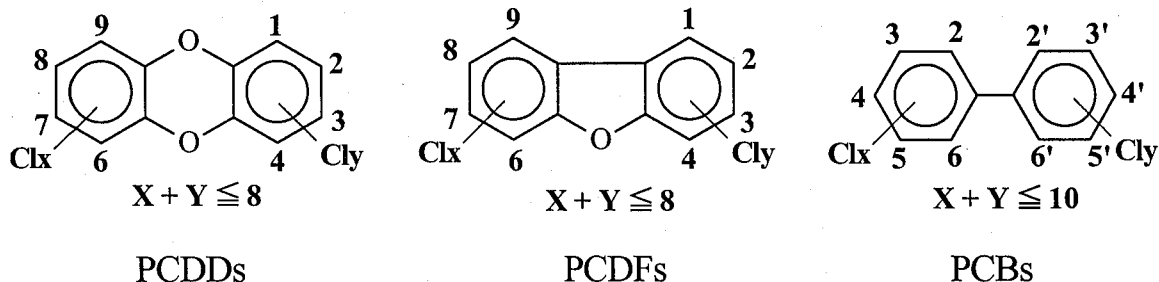


図1 ダイオキシン類の構造式

悪くなり、突沸を起こし冷却部分を汚染してしまうこともある。現在、ソックスレー抽出筒の上部にディンスタークアダプターを装着し、可能な限りの水分除去を行うようにしている。

なお、灰中のダイオキシン類はアルカリ性で粒子に吸着しているため、酸性にして粒子から離すために排ガスや灰試料の塩酸処理を行う。抽出の詳細分析フローを図3-1～3に示す。

表 1 ダイオキシン類の同族体と異性体

	PCDD	PCDF	Co-PCB	PCB
同族体	異性体数			
1 塩化体	2	4		3
2 塩化体	10	16		12
3 塩化体	14	28		24
4 塩化体	22	38	2	42
5 塩化体	14	28	5	46
6 塩化体	10	16	4	42
7 塩化体	2	4	1	24
8 塩化体	1	1		12
計	49 種類	87 種類	12 種類	
9 塩化体				3
10 塩化体				1
合計	75 種類	135 種類	12 種類	209 種類

注) ダイオキシン類としての定量対象物質は網掛け部分である。

表 2 ダイオキシン類の毒性等価係数

		異性体名	毒性等価係数 (TEF)
PCDD		2,3,7,8-TeCDD	1
		1,2,3,7,8-PeCDD	1
		1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1
		1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1
		1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01
		OCDD	0.0001
		PCDF	
		1,2,3,7,8-PeCDF	0.05
		2,3,4,7,8-PeCDF	0.5
		1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1
		1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1
		1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1
		2,3,4,7,8,9-HxCDF	0.1
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01
		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01
		OCDF	0.0001
Co-PCB	Mono-ortho	3,4,4',5'-TeCB(#81)	0.0001
		3,3',4,4'-TeCB(#77)	0.0001
		3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	0.1
		3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.01
		2',3,4,4',5'-PeCB(#123)	0.0001
		2,3',4,4',5'-PeCB(#118)	0.0001
		Di-ortho	2,3,3',4,4',5'-PeCB(#105)
		2,3,4,4',5'-PeCB(#114)	0.0005
		2,3,3',4,4',5'-HxCB(#167)	0.00001
		2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)	0.0005
		2,3',4,4',5,5'-HxCB(#157)	0.0005
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	0.0001

注) TEF は、WHO-TEF (1998) を適用

表 3 各試料媒体からの抽出法

試料名		処理及び抽出方法
排ガス	円筒ろ紙	塩酸処理及び風乾後、トルエンソックスレー抽出
	ドレイン	ジクロロメタン抽出
	XAD-II樹脂	トルエンソックスレー抽出
	ジエチレングリコール	同量の水を加え、ジクロロメタン抽出
灰試料	飛灰	塩酸処理及び風乾後、トルエンソックスレー抽出
	焼却灰	
水試料	残渣	風乾後、トルエンソックスレー抽出
	ろ液 (20L)	ジクロロメタン抽出または、固相抽出
環境大気	石英フィルター	トルエンソックスレー抽出
	ポリウレタンフォーム	アセトンソックスレー抽出
	土壌	風乾後、トルエンソックスレー抽出
	底質	風乾後、トルエンソックスレー抽出

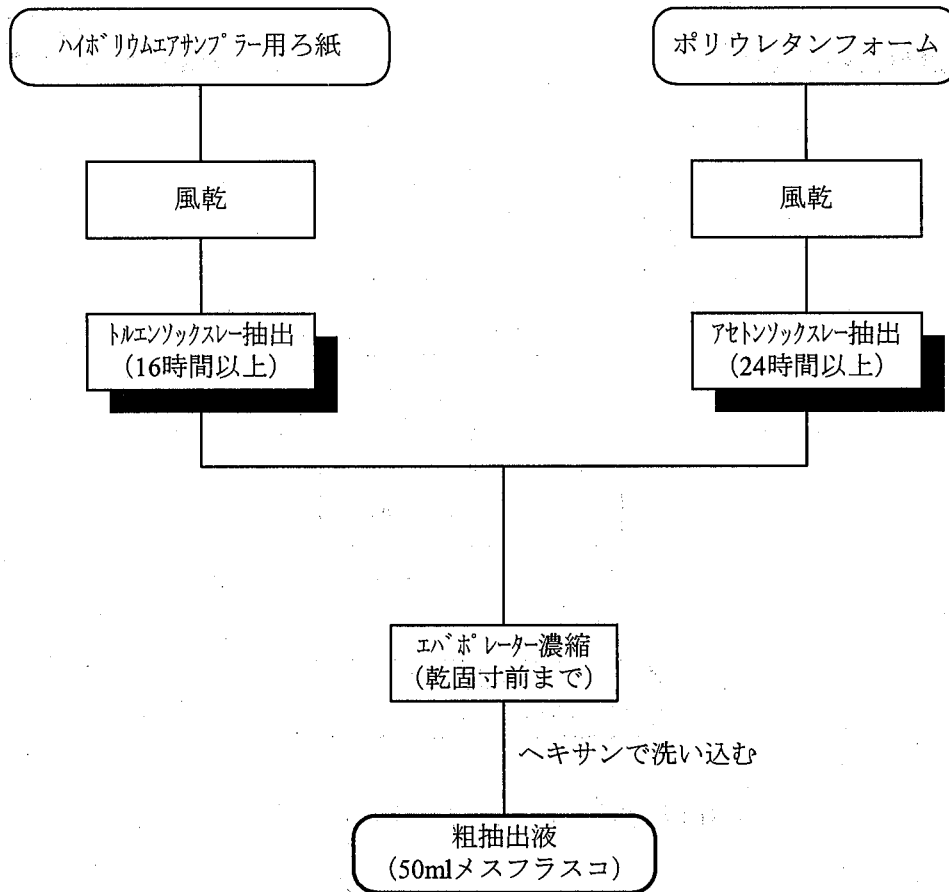


図 3-1 環境大気の抽出分析フロー

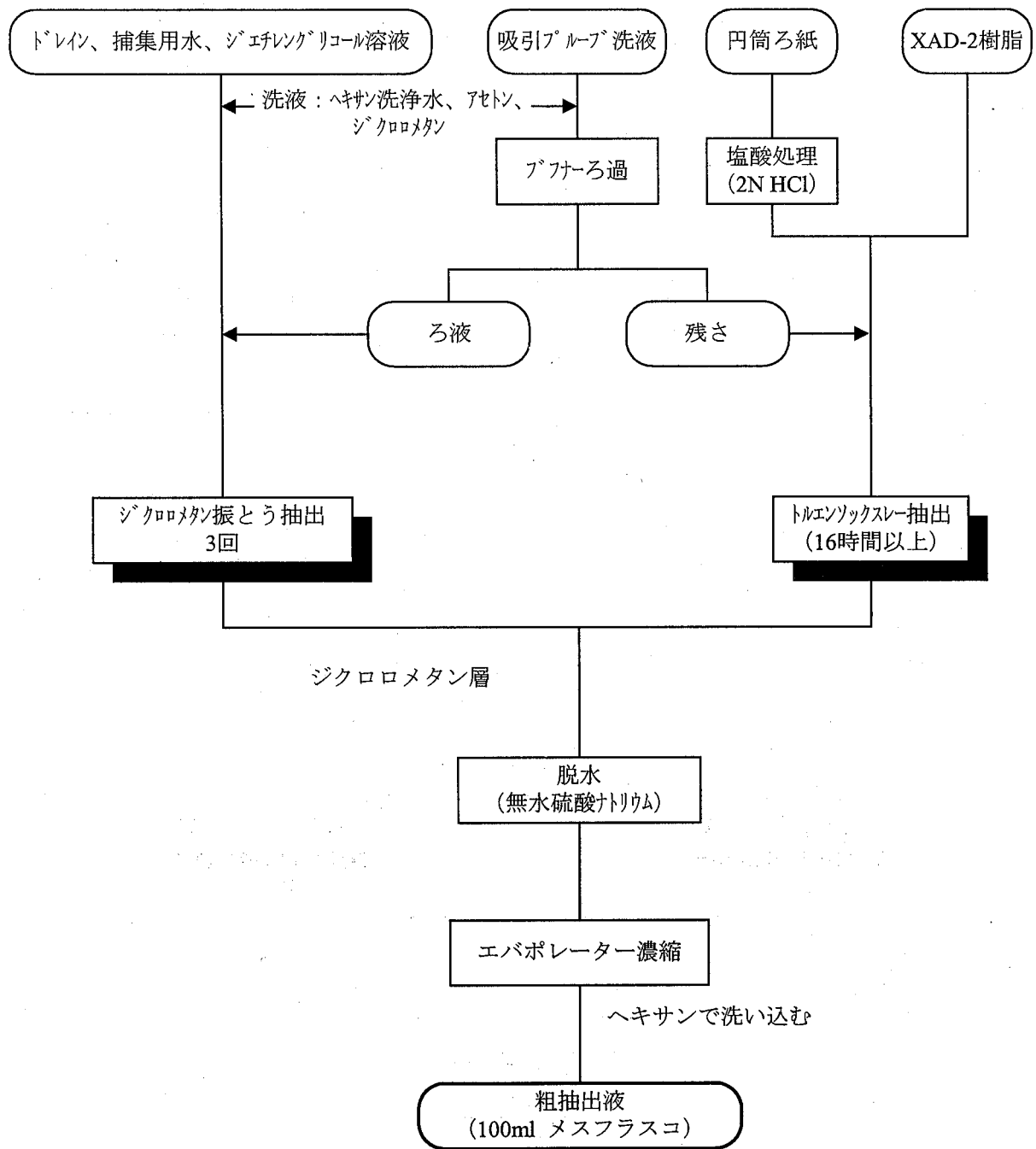


図 3-2 煙道排ガスの抽出分析フロー

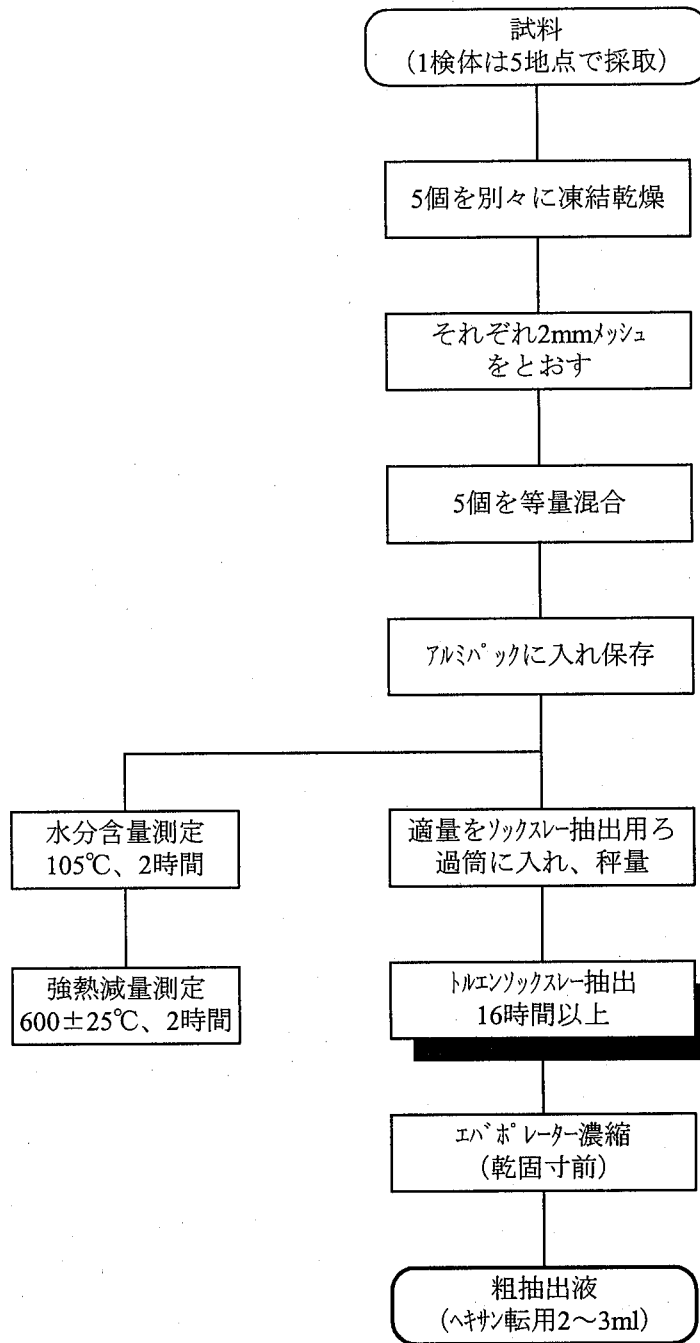


図3-3 土壌の抽出分析フロー

### クリーンアップ

抽出しただけでは、夾雑物(マトリックス)が多く、高感度なGC/MSの使用によっても測定が不可能であるため、いくつかのクリーンアップを行い、測定対象物以外の妨害成分を取り除く必要がある。表4に各種クリーンアップ方法の例と主たる除去対象物質をまとめた。これらを試料の状況に応じ、適切に組み合わせ、また、選択し、クリーンアップを行う必要がある。いずれにしても、処理条件を十分検討しなければならない

い。

現在、クリーンアップ法として採用しているのは以下のとおりである。

#### ① 硫酸処理

粗抽出液の一部又は全量をヘキサンで分液漏斗に洗い込み、濃硫酸10~15mlを静かに添加し、ゆっくり振とう後静置する。(最低1時間は静置した方がよい。)これをヘキサン層及び硫酸層の色が透明になるまで繰り返す。この硫酸処理が最も

手間がかかり、念入りに行わなければならない。硫酸処理が終了すると、ヘキサン洗浄水で水洗を繰り返し、洗浄水が中性になることを確認する。なお、この硫酸処理の行う直前に、定量に使用する内標準物質 (<sup>13</sup>C で標識されたダイオキシン類でクリーンアップスパイクという。) を一定量、正確に添加する。

② AgNO<sub>3</sub>/シリカゲル及びシリカゲルカラムクロマトグラフィー

硫酸処理が終了すると、AgNO<sub>3</sub>/シリカゲル及び 160°C、16 時間以上の乾燥により活性化したシリカゲルをそれぞれ 1g、2g を積層したカラムによるクロマトグラフィーを行う。溶出溶媒はヘキサンである。AgNO<sub>3</sub>/シリカゲルをシリカゲルの上に乗せることにより、イオウ化合物の除去ができる。イオウの存在により、最後の GC/MS 測定時に高極性のキャピラリーカラムが使用不可となり、ピークが消失してしまう。シリカゲルに限らずカラムクロマトグラフィーは事前に分画試験を行い、溶出量を確認しなければならない。製造ロットによって溶出量が異なる。また、PCDD/Fs と Co-PCBs の分析操作はこの工程まで共通で、これ以降操作が分かれることとなる。

③ アルミナクロマトグラフィー

この操作は PCDD/Fs を GC/MS で分析するとき、主に試料中に存在する PCB による GC/MS への妨害を取り除く目的で行うものである。アルミナの活性度を一定に維持するのが難しいため活性化済みのもを購入し、分析の際は活性化せずにそのまま使用している。シリカゲルカラムクロマトグラフィーが終了すると、濃縮後、アルミナ 10g でクロマトグラフィーを行う。まず、2%ジクロロメタン/ヘキサン (v/v%) (前段) で PCB 成分を溶出させ、次に 50%ジクロロメタン/ヘキサン (v/v%) (後段) で PCDD/Fs を溶出させる。PCDD/Fs は全異性体を分析しなければならないので、この分画試験は特に重要である。後段のみ

が、PCDD/Fs の試料となる。

④ 活性炭分散シリカゲルカラムクロマトグラフィー

シリカゲルカラムクロマトグラフィーやアルミナカラムクロマトグラフィーで試料のクリーンアップがうまくいかない場合がある。「クリーンアップがうまくいかない」とは、最終的に GC/MS 測定で、妨害ピーク等により定量が不可能な場合である。そのときは、活性炭分散シリカゲルクロマトグラフィーを行う。方法は、乾式で、活性炭分散シリカゲル 1g を無水硫酸ナトリウムでサンドイッチする。試料をアプライし 30 分間吸着時間を取り、ヘキサンで夾雑物を溶出させ、その後トルエンで PCDD/Fs 及び Co-PCB を溶出させている。現在このクリーンアップ操作は、溶出溶媒が高沸点のトルエンであり、濃縮に時間がかかるという欠点があるため、基本的には GC/MS でうまく定量ができない場合にのみ行うようにしている。

一通りのクリーンアップ操作が終了すると、GC/MS 用のバイアルに試料を入れるという前処理の最終段階に入ることになる。クリーンアップ終了後は試料をスピッツ管に移し、窒素吹き付け装置により試料を乾固させる。これにノナン溶液を 50-100 μl 添加し、あらかじめシンリンジスパイクという <sup>13</sup>C<sub>12</sub> でラベルしたクリーンアップスパイクとは別のダイオキシン類異性体の内標準物質を一定量入れたガスクロマトグラフ用バイアルに移し込む。スピッツ管は、少量のジクロロメタンにより数回内壁を洗い、バイアルに移す。内壁洗浄用に添加したジクロロメタンが蒸発してなくなるまでバイアルのフタをせず放置する。ジクロロメタンが蒸発してしまったら、フタをして GC/MS 用試料の完成となる。クリーンアップの詳細分析フローを図 4-1~2 に示す。

表 4 各種クリーンアップ手法の例と主たる除去対象物質

クリーンアップ手法例	主たる除去対象物質
硫酸処理 (液-液洗浄, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /シリカゲル)	大部分のマトリックスの分解除去, 着色物質, PAHs
アルカリ処理 (液-液洗浄, KOH/シリカゲル)	フェノール類, 酸性物質, 脂質, タンパク質
AgNO <sub>3</sub> /シリカゲル	含 S 化合物 (S8), DDE, 脂肪族炭化水素類
シリカゲルカラムクロマトグラフィー	強極性物質, 着色物質
アルミナカラムクロマトグラフィー	低極性物質, PCB, PCN, 有機塩素系農薬
活性炭埋蔵 (分散) シリカゲルカラムクロマトグラフィー	Planar な化合物の選択的分取, 塩素化フェニルエーテル類, 生体由来成分, 多くの妨害成分
活性炭カラム HPLC	高精度のクリーンアップ, 分取

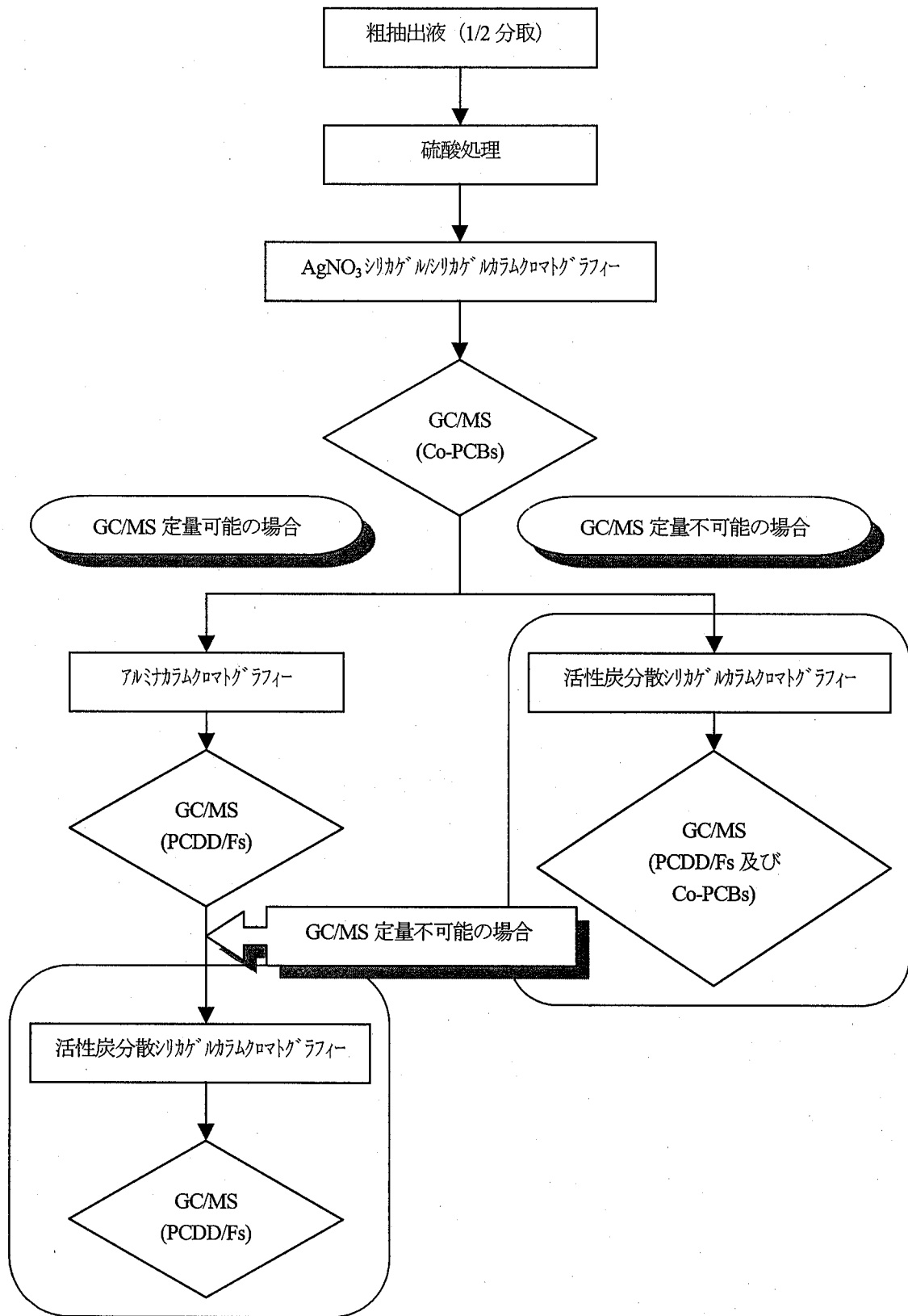


図4-1 環境大気のクリーンアップフロー

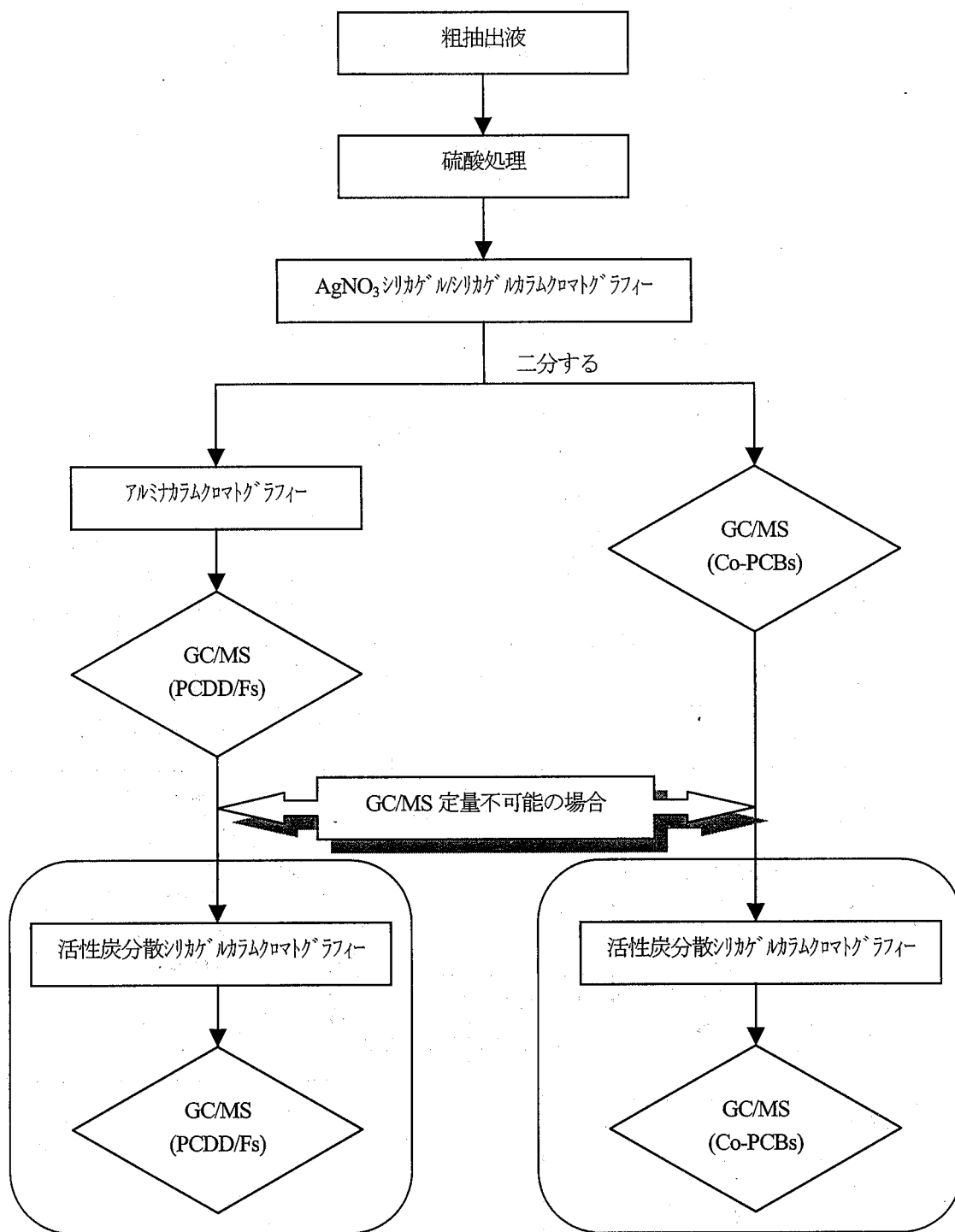


図4-2 煙道排ガス及び土壌のクリーンアップフロー



**GC/MS測定**

ダイオキシン類の最終的な定量分析には分解能10,000以上 (R>10,000) の高分解能 GC/MS 測定を行う。高分解能測定とは小数点以下3~4桁までの精密質量を求める手法である。ミリマス測定, 精密質量測定とも呼ばれている。測定方法としては試料測定時にパーフルオロケロセン (PFK) という標準物質も同時に導入し, 精密質量のズレを補正しながら測定するロックマス法で行う。

高分解能測定を行う理由は, 定量に際し夾雑物の影響を除けることが第一である。これにより, ノイズが減少し, 結果的には S/N の向上につながる。第二は, 元素の天然同位体存在比によるチェックができるということである。また, ダイオキシン類の測定は通常の低分解能測定とは異なり, 基準ピーク測定ではなく, 分子イオンピークの測定を行うようになっているため, イオン化効率を高めても, 分子イオンの開裂が多くなり定量する分子イオンピークの強度が小さくなる。したがって, 分子イオンの開裂をできるだけ抑え, なおかつ感度よく分析できる条件にする必要がある。

TeCDD/F 及び PeCDD/F を測定する GC/MS 装置の検出限界として最低 100fg が必要とされ, GC/MS の性能を維持するための保守には労力を要することとなる。MS のイオン源洗浄や GC 注入口消耗品の交換, GC 用キャピラリーカラムのエージングや分離能チェック等が重要である。

図5に GC/MS 測定の流れを, 表 5-1~3 に測定条件を示す。GC/MS によるダイオキシン類測定は, キャピラリーカラムを交換し, 最低3回の測定が必要となってくる。そのため, 測定自体にも長時間を要し, 同時にデータの解析にも多くの時間を必要とする。

**データ解析及び同定・定量方法**

試料測定時には, 必ず検量線用標準物質の中間濃度 (10pg/μl) も測定する。GC/MS の測定データをパーソナルコンピュータ (PC) に取り込み, PC 用のダイオキシン用ピーク解析ソフト (JEOL Diok) で解析を行っている。定量対象物質の Native 標準物質と <sup>13</sup>C<sub>12</sub> でラベルされた内標準物質 (クリーンアップスパイク:C.S.) の濃度とピーク面積から相対感度係数 (RRF) を求める。同様に試料においても定量対象物質及びクリーンアップスパイクのピーク面積を求め, 次式により定量する。定量した実測値に毒性等価係数 (TEF) を乗じて, それらの合計が毒性当量 TEQ となる。なお, 1物質について2つのイオンでモニターしているが, この2つのピーク面積値の比が天然同位体存在比との比較で±15%以内のものを定量するようになっている。

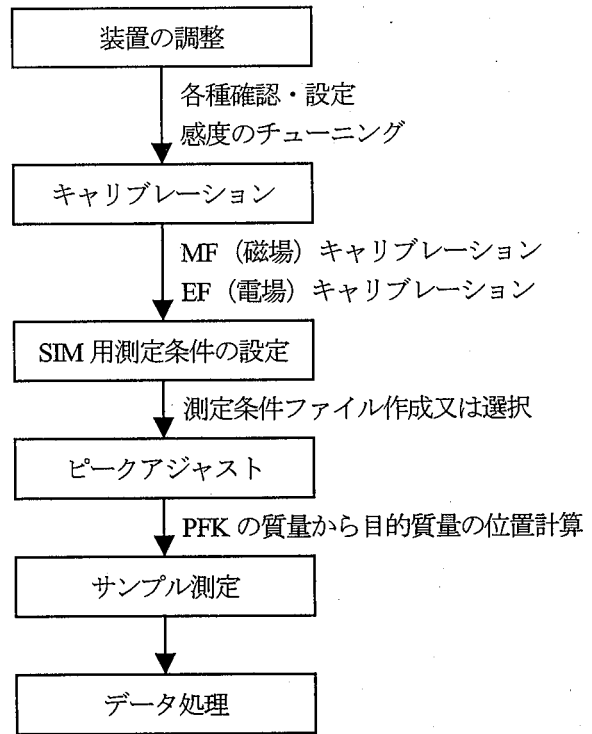


図5 GC/MS 測定の流れ

$$RRFcs = \frac{As \times Cis}{Ais \times Cs}$$

RRFcs : 相対感度係数

As : 分析対象物質のピーク面積

Ais : 内標準物質 (C.S.) のピーク面積

Cs : 標準液中の分析対象物質の濃度

Cis : 標準液中の C.S. の濃度

$$C = \frac{As \times Is \times Tm}{Ais \times RRFcs} \times \frac{1}{W}$$

C : 分析対象物質の濃度

As : 分析対象物質のピーク面積

Ais : As に対応する C.S. のピーク面積

Is : 分析試料中の C.S. の添加量 (pg)

RRFcs : 相対感度係数

Tm : 試料抽出液分取ファクター

W : 試料採取量

クリーンアップスパイク (C.S.) については, GC/MS 測定直前に添加するシリジンスパイク (Sy.S.) から, 次式により回収率を計算し, 50%以上 120%以下の範囲か

らはずれるときは再度前処理を行い、再測定をする。また、サンプリング時に別の内標準物質（サンプリングスパイク）を添加し、サンプリングによるロスをチェックする場合があるが、これについてもクリーンアップスパイクと同様の計算を行い、回収率が70%以上130%以下の範囲からはずれる場合は、再サンプリングを行う。

$$RRFrs = \frac{Qrs \times Acs}{Qcs \times Ars}$$

RRFrs : C.S.のSy.S.との相対感度

Qrs : 標準液中のSy.S.の量(pg)

Qcs : 標準液中のC.S.の量(pg)

Acs : 標準液中のC.S.のピーク面積

Ars : 標準液中のSy.S.のピーク面積

$$Rc = \frac{Acsi \times Qrsi}{Arsi \times RRFrs} \times \frac{100}{Qcsi}$$

Rc : C.S.回収率(%)

Acsi : C.S.のピーク面積

Arsi : 対応するSy.S.のピーク面積

Qrsi : 対応するSy.S.の添加量(pg)

RRFrs : 対応するSy.S.との相対感度係数

Qcsi : 対応するC.S.の添加量(pg)

## おわりに

ここまで、ダイオキシン類分析法の注意点、改善点等を検討してきたが、環境大気、煙道排ガス及び土壤試料については一応の分析法の確立はできたと思われる。しかし、これが最良の方法であるとは限らず、多くの課題点が残る。分析対象物質が多く、異性体を持ち、さらには極微量の濃度を測定しなければならず、サンプル量も限られているものが多く非常に困難を伴う分析である。分析法マニュアルは存在するが、そのとおりやれば問題なしという分析ではない。マニュアルに書かれていない注意事項もかなりある。ここまで試行錯誤を繰り返してきたが、ますます精度管理が厳しくなっており、前処理を含めた詳細な検出下限、定量下限の算出等検討する事項は多い。今後は、さらに低濃度となる環境水や不純物の多い底質の分析法の確立と今回確立した分析法のさらなる改良を課題としたい。

最後に、分析法の確立に際し、多くの御助言、御指導いただいた(財)日本品質保証機構 関西試験センター 分析課の下野氏、前岡氏の両氏には深く感謝申し上げます。

## 参考文献等

1. ダイオキシン類対策特別措置法（法律第105号、平成11年7月）
2. 環境庁大気保全局大気規制課、ダイオキシン類に係る大気環境調査マニュアル（平成12年5月）
3. 環境庁水質保全局土壌農薬課、ダイオキシン類に係る土壌調査測定マニュアル（平成12年1月）
4. 日本工業規格 JIS K 0311 : 排ガス中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法（平成11年9月）
5. 日本工業規格 JIS K 0312 : 工業用水・工場排水中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法（平成11年9月）
6. 高菅卓三, 井上 毅, 大井悦雅 : 各種クリーンアップ法と HRGC/HRMS を用いたポリ塩化ビフェニル (PCBs) の全異性体詳細分析方法, 環境化学, 5, 647-675 (1995)
7. 高菅卓三, ダイオキシン類の測定・分析技術—試料前処理, 機器分析及び精度管理を主として—, 俣島津総合科学研究所セミナー資料, 39-71, (1998)

表 5-1 GC/MS 測定条件 (4~6CDD/Fs)

Instrument:	HP6890 GC System PLUS / JEOL JMS-700	
GC Column:	SP-2331(SUPELCO) 60m(length)×0.32mm(i.d.), 0.20 μm(film)	
Column Temp.:	100°C(1.5min), 20°C/min to 180°C, 3°C/min to 260°C(25min)	
Injection:	Splitless Injection mode by Auto Injector	
Ion Source:	EI ion source, positive	
Source Temp:	260°C	
Interface Temp.:	265°C	
Ionization Voltage:	38V	
Trap Current:	500 μA	
Accel. Voltage:	10kV	
Resolution:	>10,000(10% valley)	
Monitor Ions		
TeCDDs	319.8965	321.8936
PeCDDs	353.8576	355.8546
HeCDDs	389.8157	391.8127
TeCDFs	303.9016	305.8987
PeCDFs	339.8597	341.8567
HxCDFs	373.8208	375.8178
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -TeCDD	333.9339	
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -PeCDD	367.8949	
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HxCDD	401.8559	
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -TeCDF	317.9389	
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -PeCDF	351.9000	
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HxCDF	385.8610	

表 5-2 GC/MS 測定条件 (7~8CDD/Fs)

Instrument:	HP6890 GC System PLUS / JEOL JMS-700	
GC Column:	DB-17(J&W) 30m(length)×0.32mm(i.d.), 0.15 μm(film)	
Column Temp.:	100°C(1min), 20°C/min to 280°C(12min)	
Injection:	Splitless Injection mode by Auto Injector	
Ion Source:	EI ion source, positive	
Source Temp:	270°C	
Interface Temp.:	280°C	
Ionization Voltage:	38V	
Trap Current:	500 μA	
Accel. Voltage:	10kV	
Resolution:	>10,000(10% valley)	
Monitor Ions		
HpCDDs	423.7766	425.7737
OCDD	457.7380	459.7350
HpCDFs	407.7818	409.7788
OCDF	441.7431	443.7400
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HpCDD	435.8169	437.8140
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -OCDD	469.7779	471.7753
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HpCDF	419.8220	421.8191
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -OCDF	453.7830	455.7801

表 5-3 GC/MS 測定条件 (Co-PCBs)

Instrument:	HP6890 GC System PLUS / JEOL JMS-700	
GC Column:	DB-5MS(J&W) 60m(length) × 0.32mm(i.d.), 0.25 μm(film)	
Column Temp.:	150°C(1min), 20°C/min to 180°C, 2°C/min to 245°C(3min), 6°C/min to 290°C(10min)	
Injection:	Splitless Injection mode by Auto Injector	
Ion Source:	EI ion source, positive	
Source Temp:	270°C	
Interface Temp.:	290°C	
Ionization Voltage:	38V	
Trap Current:	500 μA	
Accel. Voltage:	10kV	
Resolution:	>10,000(10% valley)	
Monitor Ions		
TeCBs	289.9224	291.9194
PeCBs	325.8804	327.8775
HxCBs	359.8415	361.8385
HpCBs	393.8025	395.7995
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -TeCB	301.9626	303.9597
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -PeCB	337.9207	339.9178
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HxCB	371.8817	373.8788
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HpCB	405.8428	407.8398