

ダイオキシンおよび関連化合物の解析法の開発 ならびに国際共同観測

Analysis of Dioxins and Related Compounds; Detection of Occurrence of Dioxin Compounds in the World.

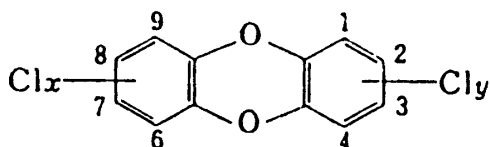
第1報 多塩化ジベンゾパラダイオキシンおよび
多塩化ジベンゾフランの異性体の解析法の開発*

Development of Analytical Methods of Isomers of Polychlorinated-
dibenzo-p-dioxins and -dibenzofurans.

波多野 博 行, 花 井 俊 彦, 藤 原 努
倉 田 茂 昭, 根 岸 秀 幸, F. W. Karasek**,
K. P. Naikwadi**

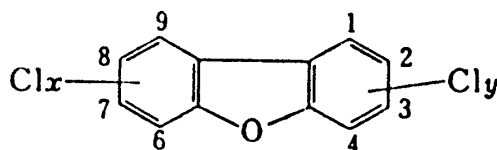
1. 序論

ダイオキシン (Dioxins) とは多塩化ジベンゾ
パラダイオキシン類 (Polychlorinated dibenzo-
p-dioxins) の総称で PCDDs と略称され, 次
に示す構造式で表される。



Dioxins : Polychlorinated dibenzodioxins
(PCDDs)

類似の化合物に多塩化ジベンゾフラン類
(Polychlorinated dibenzofurans) があって
PCDFs と略称され, 次に示す構造式で表され
る。



Polychlorinated dibenzofurans (PCDFs)

これらの構造式において数字で示す各位置の水
素原子が塩素原子で置換されると, その置換され
た位置と数とによって, PCDDs には75個, PCD
Fs には 135 個の異性体が存在することとなる。
例えば表 1 はその異性体の数を示す。

PCDDs も PCDFs も毒性の強い化合物として
知られているが, その毒性の強さは表 2 に示すよ
うに異性体における置換基の位置と数によって
異なっている。表 2 に示すように, 2, 3, 7, 8-
TCDD の毒性が最も強く, 同じ四塩素置換体で

表 1 ダイオキシンの異性体¹⁾

PCDDs	分子式	分子量	異性 の数
Mono-(MCDD)	C ₁₂ H ₇ ClO ₂	218.0133	2
Di-(DCDD)	C ₁₂ H ₆ Cl ₂ O ₂	251.9744	10
Tri-(T ₃ CDD)	C ₁₂ H ₅ Cl ₃ O ₂	286.2865	14
Tetra-(T ₄ CDD)	C ₁₂ H ₄ Cl ₄ O ₂	319.8965	22
Penta-(P ₅ CDD)	C ₁₂ H ₃ Cl ₅ O ₂	353.8577	14
Hexa-(H ₆ CDD)	C ₁₂ H ₂ Cl ₆ O ₂	387.9592	10
Hepta-(H ₇ CDD)	C ₁₂ HCl ₇ O ₂	421.7799	2
Octa-(OCDD)	C ₁₂ Cl ₈ O ₂	455.7410	1

合計 75

* 文部省科学研究費補助金に基づく国際共同研究報告, 第1部
神奈川歯科大学化学教室, **カナダ・ウォータールー大学化学教室

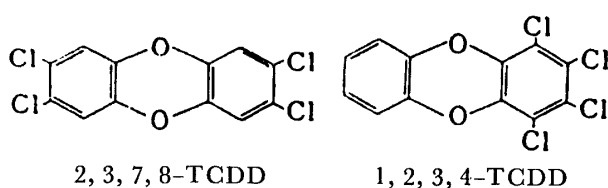
表 2 PCDDs のラットに対する毒性²⁾

ダイオキシン	毒性症状観測限界値* ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)
2, 3, 7, 8-TCDD	0.03
1, 2, 3, 4-TCDD	800
2-Monochlorodioxin(2-MCDD)	2,000
2, 7-Dichlorodioxin(2,7-DCDD)	100,000
Octachlorodioxin(OCDD)	500,000
1, 3, 6, 8-TCDD	3,000,000

*この値以下では症状が現れない限界の値。

NOEL (No observed effect level) という。

も 1, 2, 3, 4-TCDD の毒性は比較的弱い。置換位置のちがいを次の構造式で示す。



また、その毒性の感受性は被毒動物によっても異なり、表 3 に示す結果ではモルモットはその毒

表 3 2, 3, 7, 8-TCDD の毒性 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与)²⁾

被毒動物	LD ₅₀ #
モルモット	0.6
ラット	40
猿	70
兎	1,115
犬	1,150
マウス	200
ハムスター	3,500
食用蛙	1,000以上
人	報告なし

半致死量；100 個体に投与して50個体が死ぬ量 (50% Lethal Dosage という)

性に対する抵抗力が小さく、兎や犬は比較的大きいことが解る。

さらに、その毒性によって現れる症状は被毒量によって異なり、表 4 に示すように発癌性や生殖能に対する影響が最も敏感に現れることが報告されている。

このように、いわゆる「ダイオキシン」は PCDDs の75種の異性体だけではなく、PCDFs の135 種の異性体も含み、さらに多塩化ベンゼン類 (Polychlorinated benzenes ; PCBs) や多塩化フェノール類 (Polychlorinated phenols ; PCPs) のような関連化合物との混合物であるこ

表 4 動物と人間に対して症状が現れる限界値²⁾

病症	発現限界値 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)	被毒50kg人間 (pg/day)
慢性病症	1	100
発生異常	30	3,000
再生異常	1	100
奇形症状	100	10,000
発癌	1	2

TCDDs と TCDFs

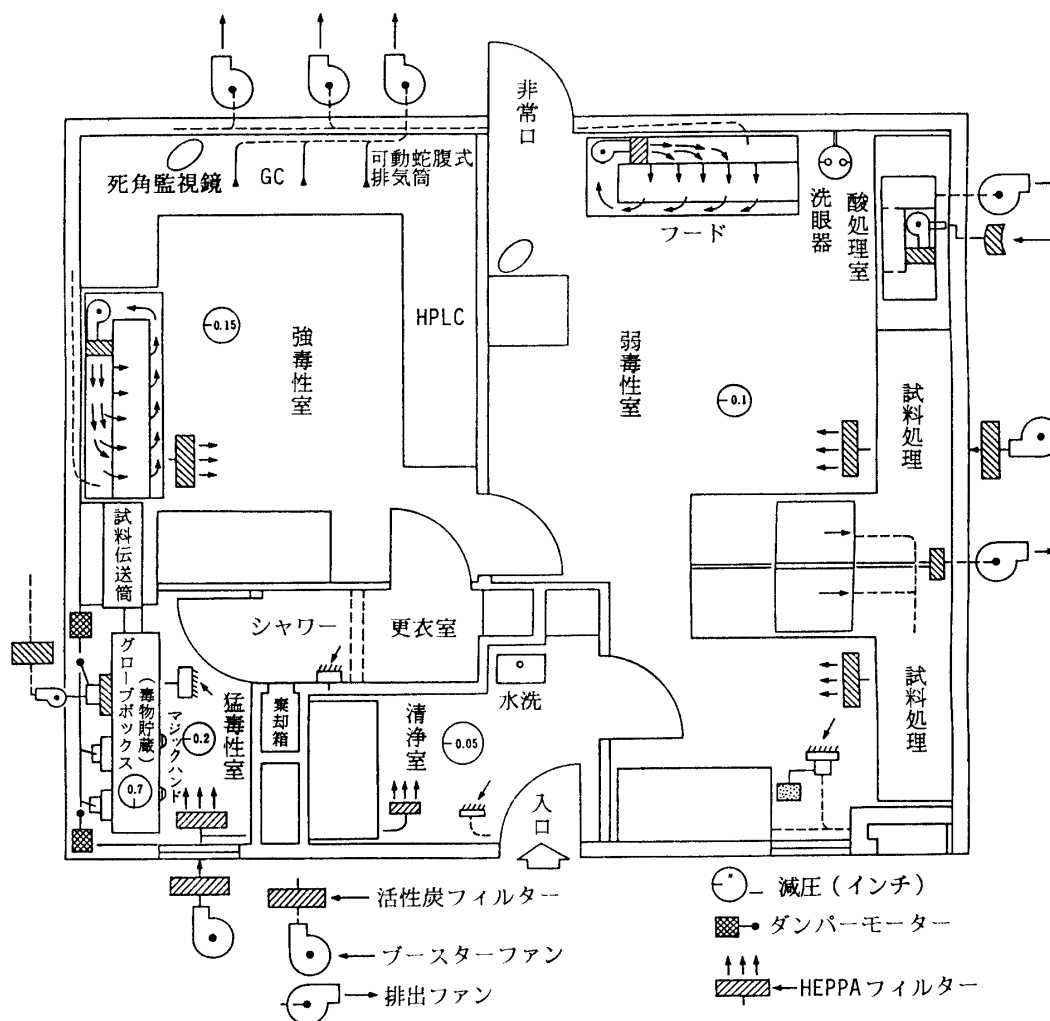
とが多い。したがって、その構造を決定し、その毒性を解析するに当たっては、まず、それらの異性体をそれぞれ純粋な状態に分離する方法を確立する必要がある。さらにそれらの毒性物質を取扱う際の研究者やその周辺の汚染と二次災害を防止するために、毒性物質取扱実験室としての特別の設備と管理・規制とが必要である。

本研究はダイオキシンとその関連化合物の構造、毒性、生成機構、分布などを化学的に解析するために、ダイオキシンに関する毒性物質取扱実験設備、異性体分離法、生成機構などに関する研究を国際共同研究によって行い、地球環境における分布を国際的に観測し、その防除・管理・規制の方策に資することを目的として行ったものである。

2. 毒性物質取扱実験室の設備

毒性化合物を取扱うに当たっては、ピコグラム (pico, 10^{-12} , pg) とかフェムトモル (femto, 10^{-15} , fmol) などという極超微量の物質を取扱うことが多いので、まず第一に微量物質を取扱う場合と同様な設備と管理とが必要である。すなわち、誤差の原因となる不純物や汚染の除去、超純水や最純試薬の調製、実験室の建築材料や壁床の塗料などに由来する汚染の絶滅を期した極超微量分析と超高感度検出を可能とするものでなければならない。このことは半導体実験室に要求される以上の厳しい管理と規制が行われる清浄室の設備を意味している。毒性物質の取扱いには、これに加えて、本来の毒性の強さの決定、被毒症状の観察と治療、解毒法の検索などを行うための設備と管理の面では放射性物質や放射線取扱い、以上の高性能設備が要求される。

本研究の一部はカナダ国立水圏研究所において行われたもので、その毒性物質取扱実験室は図 1



B.K.Afghan, J.Lawrence; Can. Res., Nov/Dec (1981) より引用

図 1 猛毒物質分析室設計図 (カナダ国立水圏研究所)

に示す設計によって以上の要求を満足するよう設備されている³⁾。この実験室に入る空気には揮発性物質も極超微粒子も含まれていてはならないし、また室外へ排気される前には完全に無毒化されなければならないので、壁、床、天井、戸、窓など総てエアタイトになっている。また、内部の機器や装置、机、戸棚などの表面塗装に由来する揮発物、微粉の生成などが無いようにステンレススチールが多く用いられる。室内は各室共毒性の強さに対応して順次気圧が低くなり、最強の毒物貯蔵室が最低圧になっていて毒物の洩出を防いでいる。試料や試薬の処理には高性能フードとドラフトが完備し、実験者の被毒と試料相互の汚染を防ぐために二重エアーカーテンが用いられている。洗滌、汚染除去の設備は各室共完備し、猛毒物質の取扱いにはマジックハンドが設備されている。有毒試料の毒性試薬の移送には伝送筒が用い

られ、各室間の入退室の扉の開閉は自動ロックで行われる。この実験室の使用には防護服、防毒マスク、防護眼鏡、手袋、靴カバーの着用が規定され、シャワー室や更衣室が完備している。内部での危険防止のための外部からの監視装置も設備が行届いている。各室共毒性の強弱に応じて第1室から順次黄、赤、黒の壁面塗装で区別されている。実験者の定期検診と遺伝的影響の長期観察と記録も行われている。

3. PCDDs と PCDFs の異性体分析法

3.1 試料調製

PCDDs と PCDFs の異性体の分析用試料として、町田市の町田リサイクル文化センターの流動床式焼却炉 (石川島播磨重工業製) において生成する塵埃焼却灰を採取した。この試料はその焼却炉の燃焼器から流出する焼却残渣や灰が最初に沈降

するダスト沈降器, 次に冷却される廃熱ボイラー, 続いて最後の電気集塵器の出口, それぞれ X, Y, Z の箇所, 焼却灰を同時に, および電

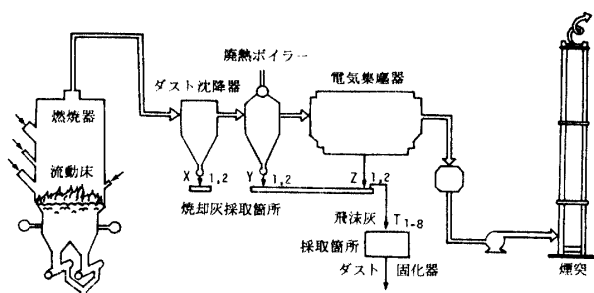


図 2 町田市焼却炉試料灰採取箇所

気集塵器から出てダスト固化器へ入る入口, T の箇所では飛沫灰を各24時間毎に 8 回に亘って採取したものである。

各灰試料40~60 g を別々にソックスレー抽出器により, ベンゼン 350 ml で48時間抽出した。抽出物は回転蒸発器によりアスピレーター減圧下で10 ml に濃縮し, これをさらに茄子型フラスコに移して1 ml にまで濃縮した。この試料を1 ml の反応容器に移し, 高純度窒素を容器の上部に徐々に吹込んで, 最終 150 μ l にまで濃縮したものを次のガスクロマトグラフィー質量分析用試料とした。

3. 2 ガスクロマトグラフィー (GC) およびガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC/MS)

GC は Hewlett Packard 社のフレイムイオン化検出器および冷却カラム注入器を付した HP-5880A GC 装置により, 熔融シリカキャピラリーカラム, 内径0.32mm, 長さ30mのDB-5カラム (米国 J & W Scientific 社製) を用いて行った。

GC/MS は Hewlett Packard 社の電子衝撃 (EI)/化学イオン化 (CI) 二重イオン化源と, HP-1000 型データ処理装置とを付した HP-5887A GC/MS 装置を用いて行った。

3. 3 分析条件

GC の分析条件は, 試料注入器温度 50°C, 初温度 80°C, 昇温プログラム 4°C/分, 終温度 160°C, 以後は 5°C/分で 300°C まで, 10 分間に亘って GC 分離を行った。

標準試料は PCDDs と PCDFs の四, 五, 六, 七, 八各塩化物, 多塩化ベンゼン PCBs は四, 五, 六各塩化物, 多塩化フェノール PCPs は四, 五各塩化物を用いた。

それぞれ 3 種, M, M+2, M+4, または M+6 の異性体イオンを GC/MS の選択的イオン監視法 (SIM) すなわち GC-EI-SIM-MS 法で検出した⁴⁾。

各異性体を確認する条件としては, (1) 各異性体が表示ピークの保持時間が, 一定の異性体群に設けた範囲 (窓) 内に収まっていること, (2) そのピークが検索される特定異性体群に特徴的なイオンに対して少なくとも 2 つの一定以上の強度をもっていること, (3) 信号と雑音の比, S/N 比が 3 より大きいこと, この 3 つで, それらすべてを満足している時にはじめてそのピークはその異性体の示すものであると確認されたものとした。総ての異性体の可能なイオンについてその範囲 (窓) を標準試料を用いて予め決めておいてこの確認を行った⁴⁾。

4. PCDDs と PCDFs の異性体の分析結果

PCDDs と PCDFs の異性体を含む塵埃焼却灰は焼却炉の燃焼器から出てダスト沈降器, 廃熱ボイラー, 電気集塵器と順に流出する間にそれぞれ焼却灰が沈降し, なお浮遊する飛沫灰がダスト固化器へ流出し, あるいは煙突から大気中へ放出される。この際, ダスト固化器へ入る直前の T の箇所において 8 日間に亘り, 各24時間毎に採取された。飛沫灰の分析結果を表 5 に示す。この表 5 に示すとおり, 四塩化ジベンゾパラダイオキシン (T4CDD) と五塩化ジベンゾパラダイオキシン (P5CDD) 異性体の存在量は極めて少なく, 何れの試料においても僅かに 0.9~9 mg/g 灰に過ぎなかった。このことは既に報告されている諸外国都市の焼却炉による結果に比べて, 町田市の焼却炉は毒性物質の生成が少ないことを示すもので注目すべき結果である。この中で採取日によって若干のちがいがみられ, 4 日目のものが最小であった。また, ジベンゾパラダイオキシン類の塩素化の程度は四塩化から八塩化に至り順次増加の傾向を示した。これらの結果が焼却炉の運転条件と関係があるという有意の結果は得られなかったから, PCDDs や PCDFs の生成量に関係のある原因は, 燃焼方式とか塵埃の性質とか, あるいはその他の何らかの要因に求めなければならない。

PCDDs と PCDFs の分析と同時に, これらの化合物が生成する際の前駆物質と考えられる PC

表 5 町田市焼却炉飛沫灰中に検出された PCDDs, PCDFs, PCBs, PCPs

化 合 物	試料 (ng/g 灰)							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
<i>Dioxins</i>								
Tetra-CDD	—	—	0.4	2	—	0.2	0.6	—
Penta-CDD	4	—	2	9	—	0.7	1	1
Hexa-CDD	21	5	12	38	5	5	3	8
Hepta-CDD	49	13	26	77	18	14	5	29
Octa-CDD	89	19	41	171	37	36	11	56
Tosal	163	37	81	297	60	55.9	20.6	82
<i>Furans</i>								
Tetra-CDF	2	—	2	9	0.6	0.5	0.7	1
Penta-CDF	11	5	7	37	4	2	2	5
Hexa-CDF	23	8	11	75	11	7	3	13
Hepta-CDF	62	15	36	177	35	18	12	32
Octa-CDF	87	13	41	181	32	23	9	33
Total	185	41	97	469	82.6	50.5	26.7	84
<i>Chlorobenzenes</i>								
Tri-CBE	4	2	5	28	3	3	2	4
Tetra-CBE	24	17	35	163	15	13	11	16
Penta-CBE	104	44	87	379	524	41	23	53
Hexa-CBE	124	25	71	284	49	40	17	47
Total	252	88	198	854	591	97	53	120
<i>Chlorophenol</i>								
Tri-CP	3	1	2	—	—	—	—	—
Tetra-CP	10	4	3	38	1	0.6	0.6	0.3
Penta-CP	11	7	5	149	2	1	ND	0.3
Total	24	12	10	187	3	1.6	0.6	0.6

CDD=chlorodibenzo-*p*-dioxin ; CDF=chlorodibenzofuran ; CBE=chlorobenzene ;
CP=chlorophenol. ND : Not detected

BEs と PCPs とが分析された。この結果は、次に示す表 6 の結果と共に、PCDDs や PCDFs の生成機構を考える上で重要であると思われる。

PCDDs や PCDFs が生成する過程を解析するために、燃焼室から後のダスト沈降器、廃熱ボイラーおよび電気集塵器のそれぞれの出口で採取した焼却灰について分析した。その結果を表 6 に示す。

この過程の解析はダイオキシンの生成機構を説明し、その生成の防除策を講ずる上で重要な根拠となりうるものである。この表 6 では、両方の組の試料において、PCBEs の全量は $Y > Z > X$ の箇所の試料の順で大きい。ところが PCDDs と PCDFs との量は $Z > Y > X$ の箇所の試料の順に

大きい。このように X, Y, Z の各箇所における PCBs, PCPs, PCDDs, PCDFs の量を比較してみると、X, Y では PCBs の量が極めて大きいのに、Z では著しく小さくなり、PCBs と PCPs との全量は PCDDs と PCDFs との全量より小さくなっている。これらの結果は X や Y において灰の粒子の表面の何らかの触媒作用によって、前駆物質からの酸化や塩素化の反応が進行し、PCDDs や PCDFs が生成していることを示唆するものである。

5. ダイオキシンの生成機構

町田市の焼却炉の試料の分析結果の一つを、カナダのオンタリオ州の焼却炉において採取した飛

表 6 町田市焼却炉の燃焼室を流出後の 3 箇所採取された焼却灰中に検出された PCDDs, PCDFs, PCBs, PCPs

化 合 物	試 料 (ng/g 灰)					
	X ₁	Y ₁	Z ₁	X ₂	Y ₂	Z ₂
<i>Dioxins</i>						
Tetra-CDD	—	0.1	—	—	0.1	—
Penta-CDD	—	0.1	—	—	—	—
Hexa-CDD	—	0.5	2	—	0.6	1
Hepta-CDD	—	0.5	7	—	0.6	4
Octa-CDD	0.1	0.5	15	—	0.7	10
Total	0.1	1.7	24	—	2	15
<i>Furans</i>						
Tetra-CDF	—	0.2	0.3	—	0.2	0.2
Penta-CDF	—	0.5	3	—	0.5	2
Hexa-CDD	—	0.7	6	—	0.9	6
HeptaCDF	—	0.8	14	—	1	11
Octa-CDF	0.1	0.5	14	—	0.6	10
Total	0.1	2.7	37.3	—	3.2	28.2
<i>Chlobenzenes</i>						
Tri-CBE	2	15	2	1	14	1
Tetra-CBE	0.1	30	4	0.1	24	7
Penta-CBE	0.1	22	12	0.2	22	21
Hexa-CBE	0.1	5	9	0.1	5	13
Total	2.3	72	27	1.4	65	42
<i>Chlorophenols</i>						
Tri-CP ₂	—	2	2	—	0.6	0.7
Tetra-CP	—	1	2	—	0.6	0.7
Penta-CP	0.1	4	9	0.1	2	3
Total	0.1	7	13	0.1	3.2	4.4

CDD=chlorodibenxo-*p*-dioxin ; CDF=chorodibenxofuran ;
CBE=chlorobenzene ; CB=chlorophenol. X, Y, Z は図 2 参照

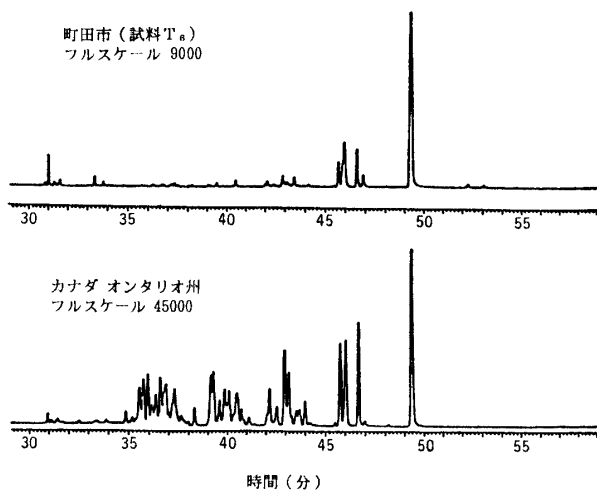


図 3 GC/MSの同一条件で分析された
飛沫灰のマスキロマトグラム

沫灰試料について、全く同一の条件で GC/MS 分析を行った結果と比較して、図 3 に示す。この結果は四塩化から八塩化に至るジベンゾパラダイオキシンとジベンゾフランとについて分析された結果を示したものであるが、オンタリオ州の結果と比較して町田市の結果は、化合物の種類も量も著しく少ないことが示されている。しかも町田市の試料のクロマトグラムの中には毒性の強い四塩化物、五塩化物がダイオキシンもフランも両方共それらのピークが現れていない。八塩化ジベンゾパラダイオキシン OCDD のピークのみが突出して検出されているのみである。

町田市における焼却炉は流動床式燃焼器を備え

ているのが一つの大きな特徴であるが、オンタリオ州はじめ諸外国都市の焼却炉は殆んどが固定床式燃焼器を用いている。この点が両者の著しい相違点であるが、これが両者の結果の著しい相違の原因であるか否かについてはなお多くの比較研究が為されなければならない。

町田市においては焼却廃棄物は収集前に予め不燃性固形物と可燃性物質とに仕分けされ、不燃性固形物はさらに金属類と非金属陶磁器ガラス類とに、また可燃性物質はプラスチック類と布、紙、木片、食品残渣類とに仕分けしたものが収集されている。カナダではこのような仕分けした収集は行われていないので、町田市におけるこの処置がダイオキシン生成の抑制に何らかの有意の原因となっているかもしれない。しかし、これも今後の広汎な研究の結果にまたねばならない。

ダイオキシン生成反応に関する前駆物質の分子種の反応は、遊離基縮合反応、脱塩素反応、脱水素反応、塩素化転移反応、異性化反応など種々の反応が考えられる⁶⁾。しかもこれらの反応は金属、金属酸化物、無機ハロゲン化物、水酸化物などの生成、触媒作用などと密接な関連をもっているものと考えられる。これらの反応中間体が高温の焼却炉の中で生成することは容易に考えられるし、また、それらが触媒となってダイオキシンの生成が促進されることも考えられる。中でも金属類が焼却廃棄物から予め除かれている町田市の場合に、PCDDs や PCDFs の生成量が少ないことは、このことと考え併せて注目に値する結果である。

PCDDs と PCDFs の前駆物質として考えられる PCBes と PCPs は表5の何れの試料においても多量の存在が認められるし、また、何れの場合にも塩素化の進行が認められる。PCBes の量は PCPs の量の10倍もあり、PCDDs と PCDFs との量の和は PCBes と PCPs との量の和より大きい。このことは実験室における結果⁷⁾が示すとおり、PCPs が PCBes から生成し、PCDDs と PCDFs とが PCPs と PCBes とから生成する反応図式として図4が考えられる。

PCBes が PCPs となり、最終的に PCDDs となる反応は温度と触媒の存在に影響される。若し PCBes が PCPs となる反応が PCPs が PCDDs になる反応より遅ければ PCPs の量は PCBes の

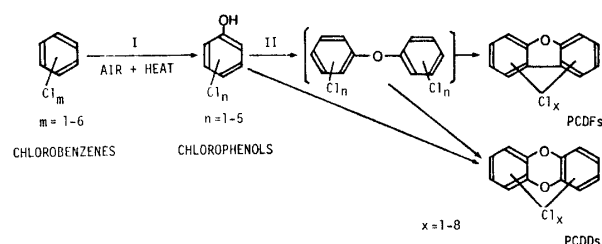


図4 PCBes と PCPs とから PCDDs と PCDFs との生成反応図式

量より少ない筈である。また、PCDDs や PCDFs は PCBes や PCPs より安定であるから PCBes が PCPs となり続いて PCDDs に向かう反応はこの方向に進行し、その結果 PCDDs と PCDFs の量が PCBes と PCPs の量より大きいという結果になる。表5、6の結果は何れもこの反応図式を支持するものである。

これらの結果は PCBes, PCPs, PCDDs, PCDFs に限られているが、実験室で確かめられるとおり⁷⁾、焼却炉中で燃焼器から出て電気集塵器に至るそれぞれの過程において、何らかの表面触媒機構に基づいてこれらの反応が進行して、ダイオキシンが生成する反応機構が裏付けられる。

謝 辞

本研究はその一部が日本学術振興会外国人招聘研究費により、また、カナダ国立科学技術振興財団の援助により、行われた。さらにカナダ国立水圏研究所研究部長 F. I. Onuska 博士、またカナダ環境庁 E. Hay 博士および町田市リサイクル文化センターならびに財団法人体質研究会の協力を得た。以上記して深く感謝の意を表す。

文 献

- 1) F. W. Karasek, F. I. Onuska ; Anal. Chem., 1982, 54 309A (1982)
- 2) F. W. Karasek, O. Hutzinger ; Anal. Chem. 1986 54 633A (1986)
- 3) B. K. Afghan, J. Lawrence, Can. Res., Nov/Dec (1981)
- 4) F. W. Karasek, R. E. Clement ; "Basic Gas Chromatography-Mass Spectrometry" Elsevier, Amsterdam (1988)
- 5) K. P. Naikwadi, C. W. Karasek, in E. Heftmann ed., "Chromatography" Elsevier, Amsterdam, 5th ed., Ch. 24 (1991)
- 6) J. H. Exner, J. D. Johnson, O. D. Ivins,

- M. N. Wass, R. A. Miller, in J. Exner ed., "Detoxication of Hazardous Waste, Ann Arbor Sci. Pul., Ann Arbor, MI, p. 269 (1982)
- 7) G. G. Choudhry, O. Hutzinger, ed., "Mechanistic Aspects of the Thermal Formation of Halogenated Organic Compounds Including Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins, Gorocon & Breach Sci. Pul., London (1983)