

厚生省平成10年度厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

研究課題名（課題番号）：

簡易ダイオキシン検出システムに関する研究（H10-生活-015）

クロロフェノール類／金属錯体の蛍光発光を
利用した簡易ダイオキシン検出システム

—総括研究報告書版—

新日鐵化学株式会社総合研究所

和田 恵一郎

1. 研究要旨.....	2
2. 研究目的	
2-1. 従来の分析方法と問題点.....	3
1) 測定に用いる溶媒や器具.....	3
2) 試料採取.....	4
3) 抽出と精製.....	4
4) 従来の測定法の問題点.....	5
5) マニュアルの問題点.....	5
6) ダイオキシン測定機関一覧.....	7
2-2. 代替測定法	
1) ダイオキシンを直接測定する方法	
a. 超音速ジェット分光分析法.....	8
b. 酵素免疫測定法.....	9
2) ダイオキシン関連物質を間接測定する方法	
a. 難揮発性有機ハロゲン（ダイオキシン代替指標）測定法.....	10
b. 一酸化炭素測定法.....	10
3. 研究方法	
3-1. 8-オキシキノリンアルミニウム（ALQ3）の合成方法.....	11
3-2. 蛍光測定.....	11
4. 結果及び考察	
4-1. 錯体の選択.....	12
4-2. 溶媒の検討.....	12
4-3. ダイオキシン測定範囲.....	13
4-4. クロロフェノール添加による蛍光強度増大効果の確認.....	16
4-5. 蛍光強度の経時変化.....	20
5. ダイオキシン類とクロロフェノール類との相関.....	24
6. 結論.....	27

1. 研究要旨

我々は以下のような画期的ダイオキシン測定方法を提案している。

すなわち、

ある種の金属錯体溶液にクロロフェノール類が混在していると、もともとの金属錯体溶液が発する蛍光強度が高くなる、という現象（勝田正一 分析化学44(12)1001-1012(1995))を利用して、ダイオキシンの前駆体のひとつであるクロロフェノール類を蛍光分析で測定することにより、ダイオキシン量を間接的に検出しようというものである。

クロロフェノール類はダイオキシン類の中間体のひとつであるから、クロロフェノール類を検出することができれば、ダイオキシン類濃度をある程度推定できるのではないかと考えた。

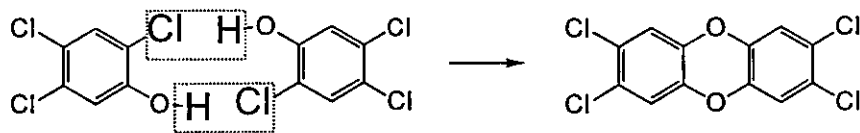


図. 1 ダイオキシンの生成機構例

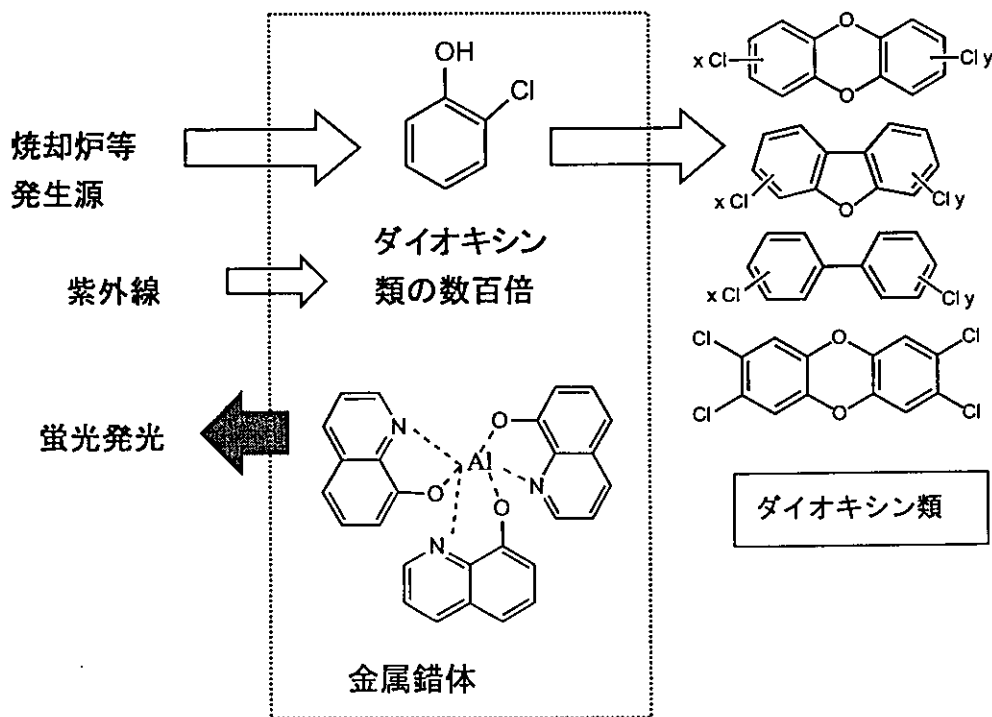


図. 2 測定原理

この原理をダイオキシン測定に利用するためには、次の2つの相関関係を事前に明らかにする必要がある。その上で、実サンプルでのクロロフェノール類と蛍光発光強度あるいは波長変化を測定したり、阻害因子の影響の有無を確認する必要がある。

- (1) クロロフェノール類濃度とダイオキシン類濃度
- (2) 試薬レベルでのクロロフェノール類と蛍光発光強度あるいは波長変化

今年度の研究では、次のような結論に至った。

今年度の研究では、8-オキシキノリンアルミ/クロロホルム系でクロロフェノール類を代替指標とする蛍光分析でダイオキシン類濃度を推定しうるかどうか確認した。

今年度、次のような研究成果が得られ、簡易測定法探索に大きな前進があった。

- (1) 特定の焼却炉での排ガス中のクロロフェノール類濃度とダイオキシン類濃度とはほぼ比例関係にあった。
- (2) クロロフェノール類<8-オキシキノリンアルミの場合は、クロロフェノールの種類によらず比例関係がある。比例係数はクロロフェノール類の塩素数や置換位置の違いはなかった。クロロフェノール類>8-オキシキノリンアルミの場合は、クロロフェノールの種類、量によらず発光強度はほぼ一定だった。
- (3) 測定下限は 10^{-9} mol/l程度である。
- (4) クロロホルム溶媒では再現性に課題がある。

以上の結果から、クロロフェノール類を代替指標としてダイオキシン量を推定できる可能性はあると判断した。次年度には、8-オキシキノリンアルミ/クロロホルム系に代わる錯体系の探索を行なう予定である。また、測定対象を土壌や焼却灰に広げて、クロロフェノール類との関連調査を行ない、実用化検討を進めたいと考えている。

1. 研究目的

ダイオキシンの汚染の程度を簡便に測定できる手法の開発を目的としている。

通常ダイオキシンの測定には1回あたり数十万円の費用がかかり、国民的関心事でありながら、身近な環境の測定すらできないのが実状である。このような状況が国民の不安をさらに掻き立てている。安価に簡便に測定できる手法を開発することで、例えば、資金を投入してでも通常の測定をやるべきかどうかを判断するための予備検査として利用されることを期待している。

2-1. 従来の分析方法と問題点

ダイオキシンは一体どんな方法で測定されているのか？あるいは、ダイオキシン類がどのくらい存在するのか？を測定しようと思えば、食品、土壌、人体では 0.1 pg/g 以下、焼却場などの排気ガスでは 10 pg/m^3 以下でも測定できる超微量分析が必要である。このような低濃度領域では、環境中のダイオキシン類の影響を除くのが大変である。しかも、ダイオキシン「類」というように、単独物質ではなく、毒性評価対象になっている30種類（厚生省の規制ではC_o-PCB13種類を除く、17種類が対象）の異性体を正確に定量しなければならない。

厚生省生活衛生局水道環境部環境整備課が平成9年2月に発行した「廃棄物処理におけるダイオキシン類標準測定分析マニュアル」を参考にして紹介します。

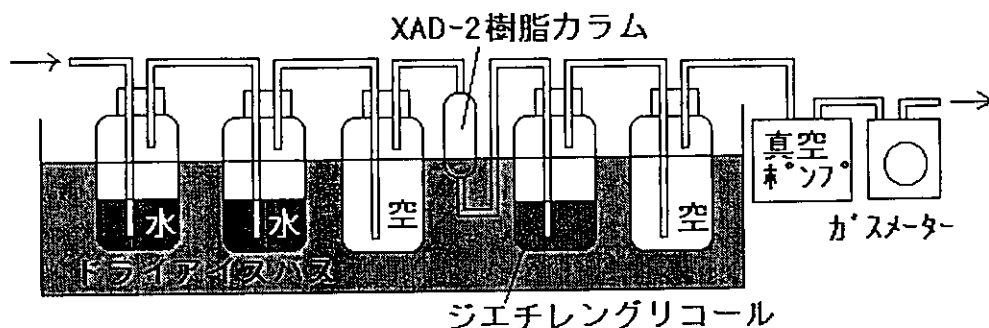
1) 測定に用いる溶媒や器具

なんといってもすでにいたるところにダイオキシンが溢れている。測定に用いる溶媒や試薬、それに測定装置、容器すべてにダイオキシンが付着していないかチェックしなければならない。溶媒はダイオキシンを含まない特級以上の特殊なグレードのものを使用する。用いる器具はその特殊なグレードの溶剤で洗浄してから使う。測定のために「汚染されていない環境をつくる」必要がある。

2) 試料採取

ダイオキシンが含まれているのは、焼却場の煙だけではなく、高濃度で検出される焼却灰あるいは焼却場周辺の土の採取なら簡単です。しかし、煙になるととっても難しくなります。1996年に「改良測定マニュアル」が公表された。ダスト捕集部と排ガス捕集部の一例を下に示す。捕集時間は4時間。

取管とダスト捕集部



排ガス捕集部（この部分で捕集されたものを集めて分析する）

図. 3 排ガス中のダイオキシンサンプリング装置

2-3. 抽出と精製

生体（血液とか母乳）や食品は脂肪成分が多い。焼却場の排ガスにも同じことがいえる。色々な夾雑物が含まれている。酸やアルカリで分解させたり、ソックスレー抽出と呼ばれる方法で脂肪分を洗浄、除去する。

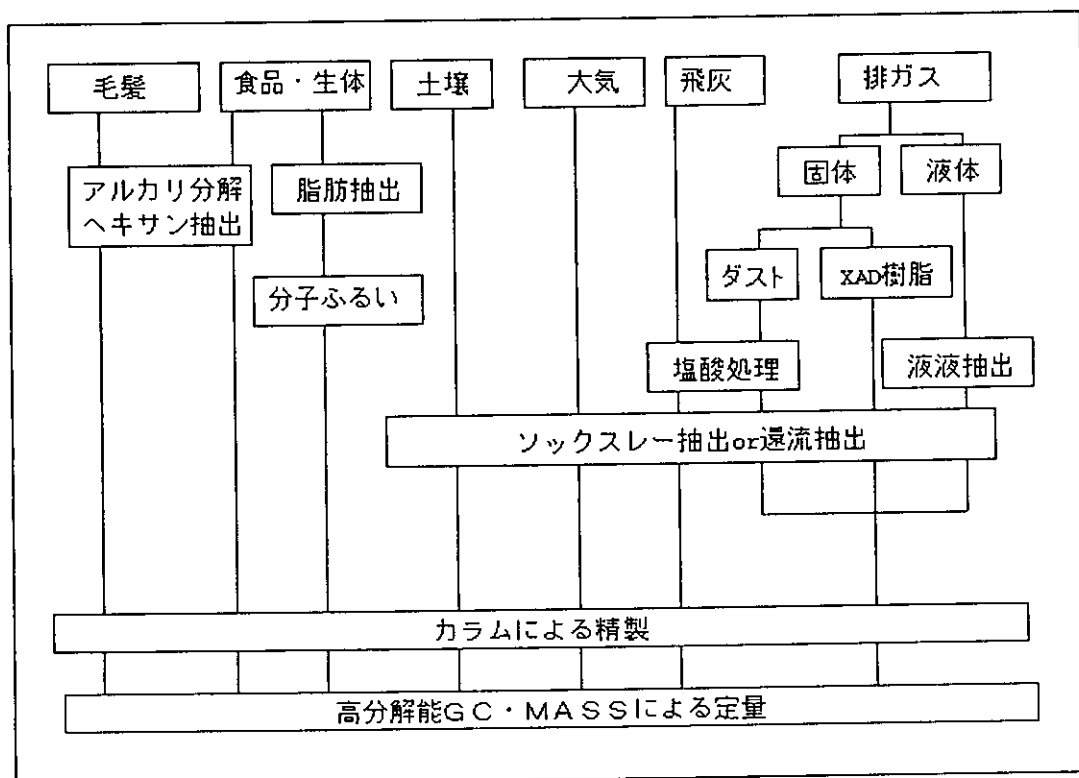


図. 4 試料別分析方法の概要

4) 従来の測定法の問題点

問題点は次のようなことが挙げられる。

(1) 測定機関が少ない。(参考：ダイオキシン測定機関一覧)

(2) 費用が高い。

(サンプル1つ当たりサンプリング費用含めて70-100万円&時間で3ヶ月はかかる。)

ということにつける。なぜ、簡単にできないかと言うと、

* 煙の中の成分が多すぎる(測定前によけいなモノを除去しなければならない)

* 問題となるダイオキシン濃度が極めて低い(濃縮が必要&特殊な分析装置が必要)

* ダイオキシンだけでも成分数が多い(数十種類の類似物質を分離しなければならない)

* ダイオキシンが猛毒(猛毒を扱える技術者の養成と、安全設備→高価)

特に測定者の育成には時間がかかるので、測定機関は急激に増やせない。設備だけでも初期投資に2億円近いコストがかかる。にもかかわらず測定の実用性はどんどん高まっている。今後さらに結果判明までの時間はかかるようになるだろう。

測定対象になっている数十種類のダイオキシンは、それぞれ毒性の強さが異なる。そのため、それぞれを分離して、それぞれに決められた毒性等価係数(最も毒性が高い2,3,7,8-TCDDの係数を1とする)で換算し、毒性等量(TEQ)として評価しています。新聞報道などで見かける「摂取量10ng-TEQ/kg/day」などというのは、もっとも危険な2,3,7,8-TCDDに換算して、10ngという意味である。

5) マニュアルの問題点

厚生省生活衛生局水道環境部環境整備課が平成9年2月に発行した「廃棄物処理におけるダイオキシン類標準測定分析マニュアル」は膨大、かつ細部に亘って詳述したもののだが、課題も残されている。

それをまとめたのが下の表である。

表にかかげた項目はいずれも分析データの客観的信頼性を保証するのに是非とも必要なものばかりである。それが義務付けられておらず、しかも実践もされていないということは、分析データが公開されたとしてもデータ自体が信頼できるものかどうか第三者が確認できないということである。

さらに大きな問題は、このような、第三者に判定不能な分析報告書をもとに、焼却炉の改善や建設の決定がなされるということである。(故意か否かを問わず)誤って高いダイオキシン濃度を報告された焼却施設は不必要な施設の改善や新設炉の早期導入を迫られ、逆に誤って低いダイオキシン濃度を報告された地域住民はダイオキシン汚染からの影響を過小評価して、健康リスクを負うことになる。いずれも正しいデータに基づいて下される判断に比べ大きな社会的不利益をもたらすことになる。

6) ダイオキシン測定機関一覧

【民間】

都道府県	事業者
茨城県	日立協和エンジニアリング(株)【準備中】
埼玉県	(株)環境総合研究所 (株)熊谷環境分析センター 東邦化研(株)
東京都	石川島播磨重工業(株) (株)オーテック (株)環境管理センター グリーンプルー(株)【代理店】 新日本気象海洋(株) (株)住化分析センター 帝人エコサイエンス(株) 東和科学(株) 東京テクニカルサービス(株)
神奈川県	(株)荏原総合研究所 栗田工業(株) 鋼管計測(株) 菱日エンジニアリング(株)
滋賀県	(株)東レリサーチセンター
京都府	(株)島津テクノリサーチ (株)ユニチカ環境技術センター
大阪	(株)関西テック【準備中】 日本検査(株)
兵庫県	(株)カネカテクノリサーチ 川重テクノサービス(株) (株)コベルコ科研 (株)タクマ (株)ニッテクリサーチ
広島県	中外テクノス(株) (株)中国環境指導センター (株)日本総合科学
愛媛県	(株)西日本環境技術センター 三浦工業(株)

【公益法人】

東京都	(財)化学品検査協会 (財)日本食品分析センター
神奈川県	(財)日本環境衛生センター【準備中】
大阪府	(財)日本品質保証機構
広島県	(財)広島県環境保健協会

【大 学】

東京大学
東京薬科大学
明治薬科大学
横浜国立大学
京都大学
金沢工業大学
摂南大学
愛媛大学

官公庁研究所

国立環境研究所
工業技術院物質工学工業技術研究所
埼玉県公害センター
大阪府公衆衛生研究所
大阪府環境監視センター
大阪市環境科学研究所
兵庫県公害研究所
香川県環境研究センター
福岡県保健環境研究所

上記リストは、「資源環境対策」97年7月号より作成

このように、測定機関が少ないのは初期投資が過大であるという問題もさることながら、ダイオキシンを扱える人材が少ない、養成するには時間も費用もかかるということがさらに問題である。それでも需要がある限り測定機関は増えてはいくと思われる。それにともない測定費用も低下傾向にあるとは思われるが、一般市民のニーズに応えられる状態ではない。そこに簡易測定法、予備検査法のような手法が求められる所以がある。

2-2. 代替測定法

これまでに提案されている従来法（GC-MS）とは異なる測定手段を紹介する。

1) ダイオキシンを直接測定する方法

a. 超音速ジェット分光分析法

気体資料を真空中に噴出させると、瞬時に絶対零度付近まで冷却することができる。この超音速分子ジェットの状態で計測を行なうと鋭いスペクトルが観測され、試料分子の電子・振動・回転遷移に関する知見が得られる。この分析方法は混合物の微量成分分析に有用なことから、ダイオキシン分析への応用が試みられている。最近、塩素数の少ないダイオキシン類についての研究が報告されるようになった。この方式の検出限界はppb及びフェムトグラムレベルであることが示唆されている。

実際にダイオキシン分析に有用であるかどうかは今後の研究を待たなければならない。現在わかっている問題点は、理論精度がでない、測定費用・日常管理コストが高い、ということがある。

b. 酵素免疫測定法

いわゆるイムノアッセイ法である。抗原抗体反応の高い特異性と検出感度を利用して抗原または抗体を同定、定量する方法で、酵素を標識として利用したものが酵素免疫測定法（EIA）である。EIAは簡単な分光光度計があれば実施できるという利点に加え、近年の技術開発の進歩によって高感度が得られるようになったことから、さらに多様な化学物質への応用が図られるようになりました。

異物が生体内に侵入したときに生体はこれを抗原と認識し、排除するために特定の抗原に対して結合能をもつ、それぞれの抗体を産出する。抗体は特定の抗体のみを認識するため、他の物質がどれほど入っていても原理的には抗体と反応しないため、妨害とはなりません。

測定方法を説明します。

(1) 2, 3, 7, 8-TCDD (▼) を含む試料を抗体 (Y) チューブに加え、1 時間反応させる。

(2) 抗原抗体反応により 2, 3, 7, 8-TCDD が特異的に結合する。(a)

共存するその他の物質は抗体との親和性が低いため、抗体との結合は起こりにくい。

(3) 酵素 (□→) を抗体チューブに加え、5 分間反応させると 2, 3, 7, 8-TCDD と結合していない抗体が酵素と結合して標識される。(b)

(4) 抗体と結合していない余分な酵素を洗い流す。その後基質液 2 種を加える。◎

(5) 2 種の基質が酵素と反応すると有色になる。停止液を加えて黄色に呈色した反応液の 450nm の吸光度（色の濃さ）を測定することで、2, 3, 7, 8-TCDD 濃度を測定することができる。(d)

ダイオキシンの分析でもイムノアッセイ法が応用できれば GC-MS 法での煩雑な前処理なしに簡単に検査できることが期待されます。しかし、まだ十分な実用段階にはないようです。

理由

1) ダイオキシン類には類似化合物が多い。

2) 抗原としてはダイオキシンは分子量が小さすぎる。かつ抗体との溶解性（ダイオキシンは脂溶性、抗体は水溶性）が違いすぎる。

すでに 2 社から販売されているダイオキシン測定キットは交差反応性が異なる。RISC は 2, 3, 7, 8-TCDD 及び 2, 3, 7-TriCCD への特異性が高いが、エンバイロガードは 2, 3, 7, 8-TCDD だけでなく、1, 2, 3, 7, 8-PeCCD、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF など RISC に比べ高い反応性を示す。そして、ダイオキシン検査の資料調整方法は、まだ酵素免疫測定法（EIA 法）としては確立されていないのが実状である。

米国で測定キットが試作されているが実用性は残念ながら、まだ確立されていないというところである。（10 検体分で 18 万円とか）

イムノアッセイ法は原理的に、精度・正確さ・再現性などの点で GC-MS 法に劣る分析法であるが、多数の検体を短時間で分析できるという利点を持っている。また、GC-MS 法では 2, 3, 7, 8-TCDD を標準品として用いる必要があるが、本イムノアッセイ法では、これを必要としないため、多数の検体のスクリーニング法として適している。従って、2, 3, 7, 8-TCDD の分析においては、いずれか一方の分析法のみではなく、目的に応じてこれらの分析方法を使い分けることにより、測定の利便を図ることができると期待される。

2) ダイオキシン関連物質を間接測定する方法

a. 難揮発性有機ハロゲン（ダイオキシン代替指標）測定法

三菱化学株式会社が提案している方法です。

この方法はダイオキシン類の濃度と相関がある物質を探し、その濃度を測定・管理する方法で、この相関のある物質が代替指標と呼ばれています。

代替指標としては、ダイオキシン類発生メカニズムから、前駆体と思われる物質が提案されています。

代替指標に関する報告は、

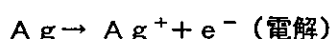
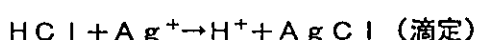
クロロフェノール類やクロロベンゼン類（第8回廃棄物学会研究発表会講演要旨集 P562 等）

低級ハロゲン化炭化水素類（第8回廃棄物学会研究発表会講演要旨集 P552）

難揮発性有機ハロゲン類（第7回廃棄物学会研究発表会講演要旨集 P578）

三菱化学の場合は、もともと全有機ハロゲン分析装置を販売していました。この装置に焼却場の排ガスをサンプリングできるキットを組み合わせたものです。

測定原理は、資料をアルゴン/酸素気流中で燃焼し、塩化水素を発生させます。これを滴定セルに導き、電量的に発生させた銀イオンで自動的に滴定します。滴定に要した電気量から塩素量を計算するというものです。



三菱化学では受託分析も行っていて、1回あたり数万円（サンプリング作業含まず）で受託するとのこと。

自前で装置を購入すると数百万円になる。

ダイオキシン類との相関について、最近測定を始めている。

b. 一酸化炭素測定法

京都大学（当時）の平岡教授が提唱された方法で、不完全燃焼の場合にダイオキシンが発生しやすいことから、一酸化炭素を測定することで、ある程度のダイオキシン発生量を推定できるのではないかと考えた方法です。

一酸化炭素ならばリアルタイムに測定できるので、焼却場の燃焼管理に十分使える。しかしながら、一酸化炭素発生量とダイオキシン発生量との相関があまりとれてなく、また一酸化炭素が低濃度領域ではダイオキシン発生量を推定できるような相関関係がないことが問題としてある。

安価に、簡便に、という場合は、それぞれの測定方法の特徴をよく理解した上で、合目的な方法を選択することが必要である。

そもそも、超微量分析なので、より正確に検出しようとするればコストがかかり、安く検査しようと思えば、精度は犠牲にしなければならない。

一連の測定方法を比較すると次のようになる。

表. 2 簡易測定法の比較

	分析法	精度	測定対象	費用
直接法	GC-MS 免疫測定法 超音速ジェット 分光分析	◎成分毎に分析 ○前処理の影響大 ◎成分毎に分析	ダイオキシン	×20-50万円/回 △数万円/回 ×100万円以上/回
間接法	一酸化炭素 有機塩素化合物	×低濃度領域で× △	CO 有機塩素化合物	◎ ○数万円/回
	本法	△	クロロフェノール	○

いずれも決定版というものはなく、目的と測定対象及びコストによって使い分けるということになるだろう。

3. 研究方法

3-1. 8-オキシキノリンアルミニウム (ALQ3) の合成方法

使用試薬：硫酸アンモニウムアルミニウム12水 80.9g
蒸留8-オキシキノリン 8.02g
苛性ソーダ 22g

合成方法：

1リットル反応釜に硫酸アンモニウムアルミニウム12水を80.9g、水552gを入れる。

(硫酸アンモニウムアルミニウム12水の水に対する溶解度 50℃ 7.27wt%)

反応釜に攪拌翼、熱電対をとりつけ、200rpmの攪拌を行ない、50℃まで昇温して内容物を溶解させる。このときpHを測定する。

400rpmで攪拌しながら、ガラスロートで釜内に蒸留8-オキシキノリン8.02gを徐々に滴下する。

NaOHaqの滴下を開始し(2N水溶液とする)、1時間毎にサンプリングする。

ガスクロ分析にて8-オキシキノリンの残存量を確認し反応経過を把握する。

未反応の8-オキシキノリン残存量を確認して反応を終了する。

ヌッチェを用いて生成した8-オキシキノリンアルミニウムをろ過する。

大量の水及びベンゼンで洗浄し、ろ過後、60℃で真空乾燥する。

用いた錯体は通常の昇華装置を用いて減圧下、320度で昇華精製した。

3-2. 蛍光測定

ALQ3を45.9mg(0.1mmol)計り取り、クロロホルム100mlで希釈する。

希釈溶液1mlをクロロホルムで10mlに希釈する。(1mmol/l)

さらに、希釈溶液1mlをクロロホルムで10mlに希釈する。(0.1mmol/l)

さらに、希釈溶液1mlをクロロホルムで10mlに希釈する。(0.01mmol/l)

さらに、希釈溶液1mlをクロロホルムで10mlに希釈する。(0.001mmol/l)

クロロホルムは揮発しやすいので手早く計り取ることが必要である。

4. 結果及び考察

測定条件を以下に示す。

PL分析(溶液)

使用機器：F-3000形 分光蛍光光度計 日立製作所製

使用溶媒：クロロホルム（蛍光分析用）

ブランク：同上

励起波長：350 nm

測定波長：400-700 nm

溶液濃度：0.1 mM

表. 3 測定結果

試料名	溶 液			固 体		
	励起波長 (Ex)	蛍光波長 (Em)	強 度	励起波長 (Ex)	蛍光波長 (Em)	強 度
ブランク	350	—	—	321	—	—
ALQ3	350	517	194.7	321	503.2	498.7

UV分析（溶液）

使用機器：F-3210形 自記分光光度計 日立製作所製

使用溶媒：クロロホルム（蛍光分析用）

ブランク：同上

溶液濃度：0.1 mM

表. 4 測定結果

試料名	測定波長 (nm)	吸光度 (abs)	測定波長 (nm)	吸光度 (abs)	測定波長 (nm)	吸光度 (abs)
ブランク	390	0.0003	—	—	—	—
ALQ3	390	0.6620	334.4	0.3524	318.8	0.3336

4-1. 錯体の選択

上と同様の合成方法により、中心金属を銅、亜鉛、カルシウム、ストロンチウムと変化させて合成した。8-オキシキノリン亜鉛は蛍光を発したが、銅、カルシウム、ストロンチウム錯体はほとんど光らなかった。8-オキシキノリン亜鉛は溶解度が低いことから、今回は8-オキシキノリンアルミを使用した。

4-2. 溶媒の検討

溶媒はMIBK、ヘプタン、クロロホルム、四塩化炭素で比較した。

クロロホルムの場合がもっとも溶解度が高かった。会合のしやすさから考えると次の表のようにヘプタンが最もよいことがわかるが、ヘプタンは消光効果も大きいので発光しないことが懸念される。また、ALQ3はほとんど溶解しなかったため候補から除外した。次によいのは四塩化炭素であると思われるが、これも溶解度が低いという問題がある。

それで、今回の実験ではクロロホルムを溶媒とすることにした。

希薄溶液の調製

ALQ3を45.9 mg (0.1 mmol) 計り取り、クロロホルム100 mlで希釈する。

(1 mmol/l)

希釈溶液1 mlをクロロホルムで10 mlに希釈する。(100 μmol/l)

さらに、希釈溶液1 mlをクロロホルムで10 mlに希釈する。(10 μmol/l)

さらに、希釈溶液1mlをクロロホルムで10mlに希釈する。(1 μ mol/l)

さらに、希釈溶液1mlをクロロホルムで10mlに希釈する。(0.1 μ mol/l)

クロロホルムは揮発しやすいので手早く計り取ることが必要である。

クロロフェノール溶液の調製

調製方法の一例を示す。

o-クロロフェノールを25.7mg(0.2mmol)計り取り、クロロホルム100mlで希釈する。(2mmol/l)

希釈溶液1mlをクロロホルムで10mlに希釈する。(200 μ mol/l)

さらに、希釈溶液1mlをクロロホルムで10mlに希釈する。(20 μ mol/l)

さらに、希釈溶液1mlをクロロホルムで10mlに希釈する。(2 μ mol/l)

さらに、希釈溶液1mlをクロロホルムで10mlに希釈する。(0.2 μ mol/l)

クロロホルムは揮発しやすいので手早く計り取ることが必要である。

錯体溶液とクロロフェノール溶液とを、たとえば各2 μ mol/lの溶液を1:1で混合した場合、錯体濃度は1.0 μ mol/lとなる。このようにして、錯体濃度とクロロフェノール濃度とを調整して実験を行った。

錯体溶液測定範囲の決定

蛍光物質はある濃度以上では「濃度消光」という現象を示し、蛍光強度(量子収率)が低下する。これは励起された分子と未励起分子との衝突による動的消光や、基底状態の分子の会合による静的消光などによって起きる。このような現象がおきる濃度範囲では濃度による蛍光の増減が「濃度消光」により逆転する可能性がある。従って、濃度測定を目的とした測定では、「濃度消光」が起きない十分低い濃度領域で測定しなければならない。その領域を測定した。

以上の結果から、ALQ3濃度は1~10 μ mol/l以下、0.01 μ mol/l以上であることが望ましいことがわかった。

4-3. ダイオキシン測定範囲

ダイオキシンの濃度範囲が蛍光分析の測定可能範囲に入っている必要がある。

その範囲でなければ、本方法では検出できないことになる。

暫定措置ではあるが、既設焼却場の排ガスの基準値は80ng-TEQ/Nm³、2003年以降新設焼却場の排ガスの基準値は0.1ng-TEQ/Nm³であり、TEQ換算することで元のダイオキシン類実質量は約100倍、ダイオキシンに対してクロロフェノール類が10-100倍というデータがあることから、クロロフェノールを代替指標とした場合、以下のような濃度が検出できることが一応の目安と考えられる。

表. 5 測定濃度の目安

	既設	新設
基準値 (ng-TEQ/Nm ³)	80	0.1
ダイオキシンモル換算値 (mol-TEQ/Nm ³)	2.5 $\times 10^{-10}$	3.1 $\times 10^{-13}$
クロロフェノール換算値 (mol/Nm ³)	10 ⁻⁶ ~10 ⁻⁷	10 ⁻⁹ ~10 ⁻¹⁰

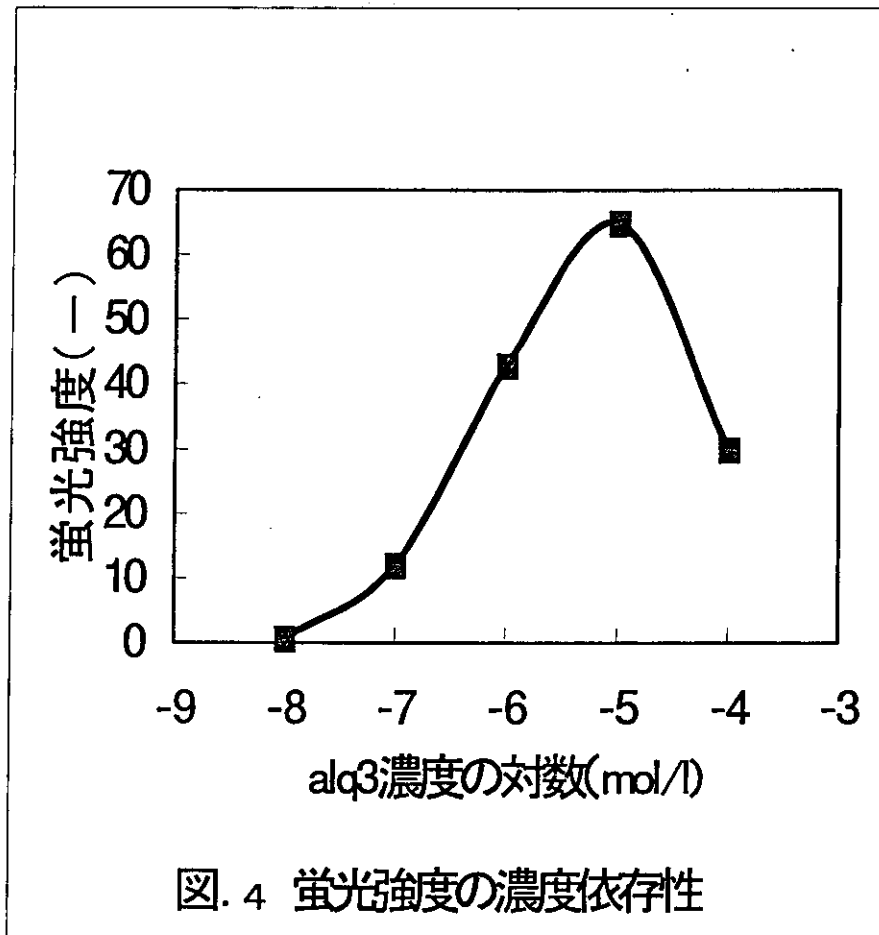
焼却場の排ガスを基準に考えると既設設備の基準では測定可能範囲内、新設設備の基準では100m³程度のサンプリングが必要となると推定されるが濃縮することで測定可能と考えられる。

蛍光が測定できる最低濃度を知るために濃度の異なる希薄溶液を用いて蛍光強度を測定した。

測定条件は室温で、入射光370nm、発光強度は最も高い強度が観察された516nmで比較した。

濃度と発光強度の関係を調べると、10⁻⁶mol/l付近に最大値があることがわかった。これ以上の濃度では濃度消光が起きることがわかった。また、10⁻⁹以下の濃度では蛍光が観察されないこともわかった。

今回の実験は10⁻⁷~10⁻⁸mol/lオーダーの濃度の溶液を使うことにした。



4-4. クロロフェノール添加による蛍光強度増大効果の確認

蛍光強度増大効果を次の方法で確認した。

蛍光強度変化とクロロフェノール

ALQ3 0.02 gをはかりとり、それをまず200mlのクロロホルムで溶解し、それを1ml計り取りさらに10倍希釈、さらに10倍希釈というふうにしてALQ3の希薄溶液を調製した。

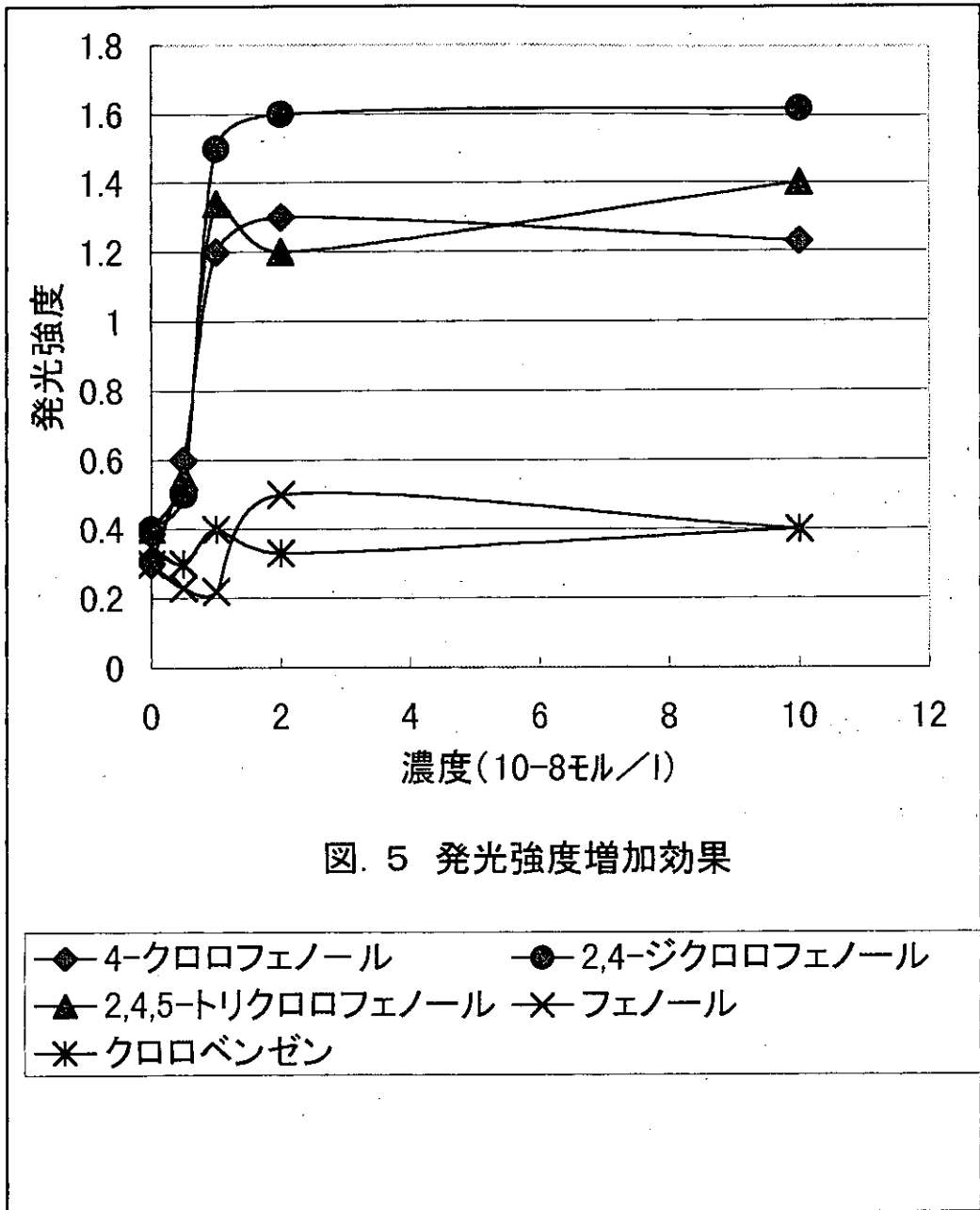
同様に希釈したクロロフェノール類の希薄溶液と1:1で混合した直後に蛍光分析計で蛍光強度を測定した。

これと、ALQ3溶液をクロロホルムで2倍に希釈したALQ3希薄溶液の蛍光強度とを比較した。

これらの比較データを図. 5 ~ 図. 6 に示す。

特徴は次の通り。

- (1) クロロフェノール/錯体=1以下では、クロロフェノール類を添加すると溶液の発光強度が濃度に比例して増加する。
- (2) クロロフェノール/錯体=1以上では、クロロフェノールの種類に関係なく、発光強度は増加しなくなった。また、発光強度の差もほとんど見られなかった。
- (3) フェノール添加の場合には蛍光強度の変化が非常に小さい。
- (4) クロロベンゼンでは蛍光強度の変化が見られない。
- (5) クロロフェノール類の塩素数の違いは蛍光強度変化の違いとして現れにくい。
- (6) 発光波長は変化しない。



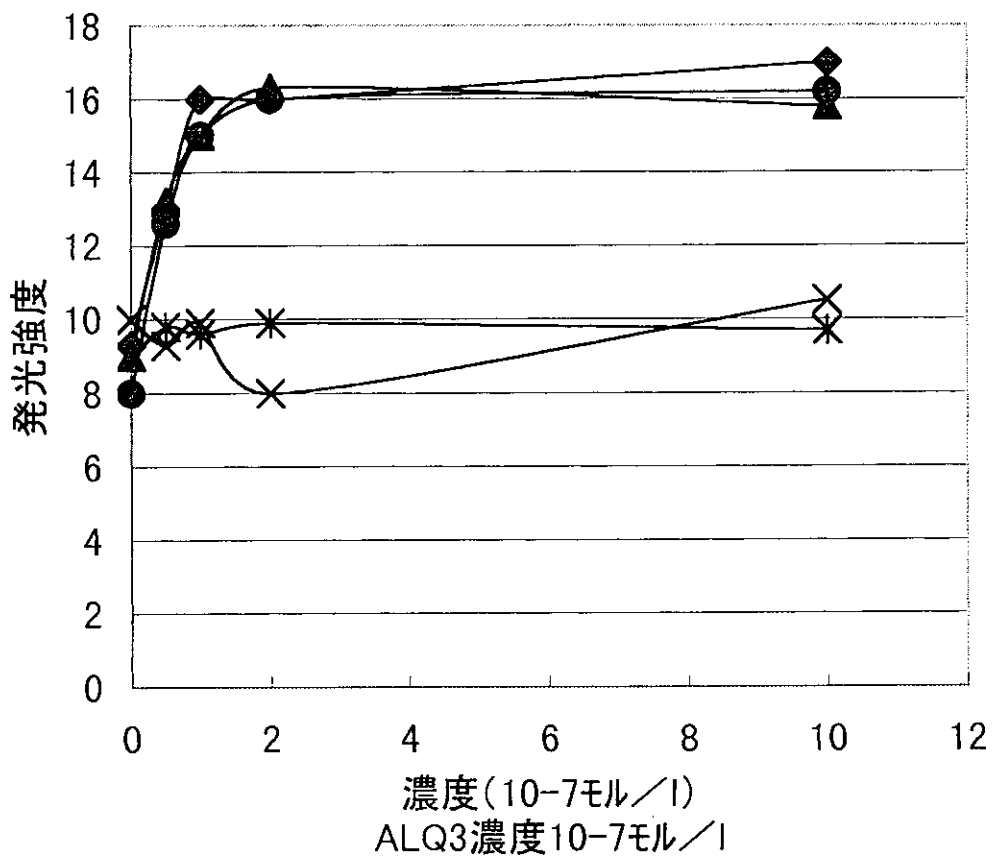


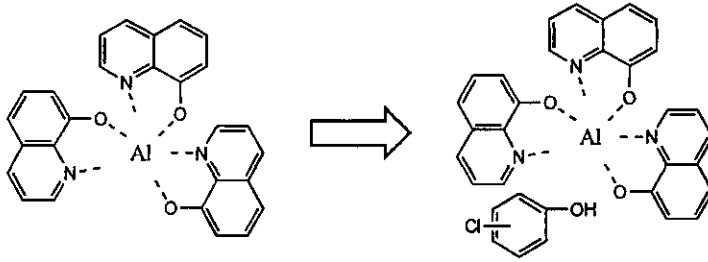
図. 6 発光強度増加効果

- ◆ 4-クロロフェノール
- 2,4-ジクロロフェノール
- ▲ 2,4,5-トリクロロフェノール
- × フェノール
- * クロロベンゼン

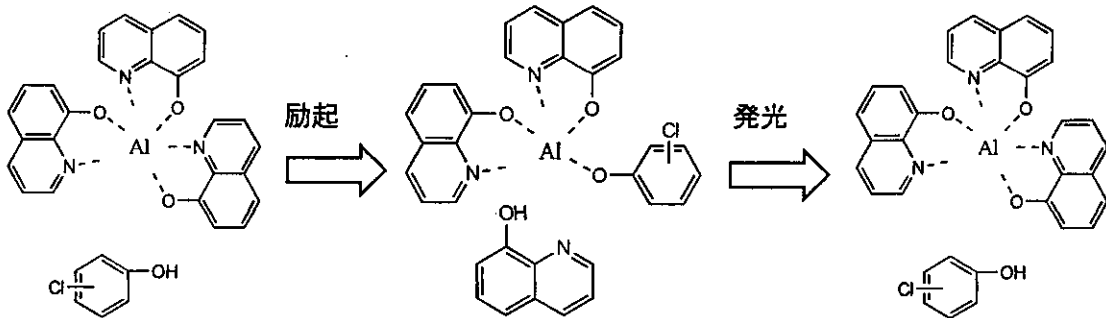
なぜ、このような現象が起きるのかについて考察してみた。

蛍光強度が増大する理由として次のことが考えられる。

(1) クロロフェノールが会合するとALQ3分子の電子状態が変化する。



(2) 会合ではなくて、短時間のうちに配位子交換が起きている。



「会合」では、アセチルアセトネート錯体の場合であるが、次のことがわかっている。(図. 7 参照)

(1) フェノールのOH基に隣接する塩素数が同一の中で比較すると、塩素数が多いほど会合数が多い。

(2) 単純に塩素数だけで比較しても会合定数と比例しない。

以上のことから、フェノールより電子吸引性の強いクロロフェノール類の方が会合力が強いために、蛍光強度も強くなると想像される。

それでフェノール添加しても蛍光強度に変化が少ないのは電子吸引性が弱く、会合しにくいために蛍光強度の変化が小さかった（観察されなかった）と考えられる。前駆体ではないフェノールが検出されないという事実はダイオキシン測定の特長と考えることができる。

クロロベンゼン添加が蛍光強度増加に影響しなかったのは「会合」でも「配位子交換」でもクロロベンゼンではおきえないからであると考えたと説明できる。

一方、塩素数は蛍光強度に影響しなかった理由は、会合数や会合エネルギーは蛍光強度に違いをもたらすほどクロロフェノール類間に大きな差がないのかもしれない。

これは1分子のALQ3に対してクロロフェノールは1分子しか会合（あるいは配位子置換）できないことを物語っていると思われる。

あるいは、2分子が会合していても1分子めの会合クロロフェノールが吸収できるエネルギーに比べ、2分子目の会合クロロフェノールの吸収エネルギーは無視できるほど小さいのかもしれない。

ダイオキシン類濃度測定に応用する場合、測定可能な範囲はALQ3の分子数以下の範囲ということになる。