

一般環境中の化学物質の分析について

柴田康行

独立行政法人国立環境研究所 化学環境研究領域

Major Analytical Methods for Chemicals in the Environment

Yasuyuki SHIBATA

Environmental Chemistry, Division, National Institute for Environmental Studies

抄録

化学物質利用に関わる適正管理を主たる目的とした環境中化学物質の分析方法について、その概要をとりまとめた。分析の主たる目的として、(1)環境のシステムとしての理解と、物質動態の解明、化学物質の運命や影響の予測、(2)生体並びに生態系のシステムとしての理解、化学物質の有害性、かく乱作用等の評価、予測、の2つの考え方に大別し、それぞれに適した手法として機器分析手法と生体反応利用技術を紹介した。また、アプローチの仕方として、(A)既存の知識への立脚とその拡大、(B)予想外、見逃しへの配慮に基づく相補的或いは網羅的アプローチ、の2つに基づき整理を試みた。特に現在主流となっている機器分析手法のGC/MS、LC/MS法について少し詳しく解説したほか、これらに特徴的な利用技術としての安定、放射性同位体分析について概説した。環境分析の推進に欠かせない問題として、分析精度管理手法、並びにデータのトレーサビリティ確保やモニタリングの相補的手法として有効な環境試料保存事業（スペシメンバンク）についても解説した。

キーワード：環境分析，機器分析，生体反応利用技術，質量分析，同位体利用技術

Abstract:

Outline of the environmental analytical methods for appropriate usage of chemicals by human beings were summarized. The methods were separated into two categories, i.e., instrumental analytical methods suitable for understanding environmental systems and chemodynamics of chemicals, and bioanalytical methods suitable for understanding life and ecosystems and their disruption by chemicals. GC/MS and LC/MS methods as well as their application in stable- and radioisotope analyses were described, and importance of QA/QC methods as well as environmental specimen banking were stressed.

Keywords : environmental analysis, instrumental analysis, bioanalytical methods, mass spectrometry, isotope analysis

1. はじめに

人が生産する化学物質はすでに10万種類を超えたともいわれ、化学物質は現代社会のあらゆる局面で我々の生活を支える重要な役割を担っている。これらの適切な利用を図り、環境への有害性発現を未然に防ぎ、或いは効果的に抑えていく上で、分析が果たす役割もますます重要となっている。新規化学物質については生物への蓄積性、環境残留性、毒性が事前に評価され、このような性質を併せ持つ残留性有機汚

染物質（POPs）が環境中に放出されて害を及ぼすことのないよう慎重な取り組みがなされている。しかしながら、こうした体制が整えられる前から作られ利用されてきた数多くの既存化学物質、或いは製造、利用、廃棄の間に意図せず作られてしまう物質の中にも、環境に対する有害性を持つものが隠れている恐れがある。非意図的生成化学物質のダイオキシン類、或いは既存化学物質で最近注目を集めているパーフルオロ化合物PFOSなどはそうした例と言えよう。化学物質の管理から考えると、有害性を持つものを事前に評

価し、その製造、使用を禁止する他に、毒性、蓄積性などに基づいて環境基準、排出基準を設け、定期的な監視、規制を継続することが重要な柱となる。また、非意図的生成物質の場合、その組成上の特徴などから主要な発生源を特定し、有効な削減策の提言を行うことも環境分析の重要な役割になる。一方、多様な生物への個別の様々な毒性影響、さらには地球環境変化にまで至るあらゆる有害性を事前にチェックしつくすことは不可能であり、非意図的生成物質も含め、監視体制の網の目をくぐり抜けて汚染が広がる可能性にも十分な配慮が必要と考えられる。実際、PCBやPFOS等、環境や野生生物、人などにその存在が示されたことが重要な契機となって研究が進み、汚染の確認に至った例もまれではない。既存の知識に基づく環境監視と安全確認、施策の有効性の確認に加えて、未知化学物質の探索や生物側の反応、健康状態の把握などに基づく新規汚染物質の探索も、環境分析の重要な役割となっている。

このように最終的な目標を化学物質利用の適正な管理においた場合、環境分析の目指す方向性として、(1) 環境をシステムとして理解し、物質動態を明らかにし、化学物質の運命や影響を予測できること、(2) 生体並びに生態系をシステムとして理解し、化学物質の有害性、かく乱作用等を評価し予測できること、の2つの流れが浮かび上がってくる。また、アプローチの仕方として、(A) 既存の知識に基づき、さらにそれを補強、拡大していく作業、のほか、既存の知識の不十分さを認識した上で (B) 予想外、見逃しへの配慮に基づく相補的或いは網羅的アプローチ、も必要であろう。本稿では以上のような大枠を考えながら、一般環境中の化学物質の分析についてその概要をまとめたい。

2. 機器分析手法の発展

発生源から大気、水、底質などの環境媒体を通じて生物、人に至る化学物質の流れを定量的に把握しモデル化して、的確な化学物質管理に役立てることを考えると、分析には各環境媒体中の化学物質濃度とその移動の様子を明らかにすることが求められる。特に、ダイオキシン類などのように複数の成分からなる物質の場合、成分毎に毒性や環境動態が異なること、さらに組成の違いが発生源を明らかにする上で重要な手がかりとなることから、精度の高い詳細な異性体、同族体分析の推進が求められる。同様に環境動態の解析の目的で、発生源の明らかな他の物質、元素等との関連を解析して発生源の寄与を推定したり、安定同位体、放射性同位体などを天然のトレーサーとして環境動態や発生源探索を行う手法なども研究、開発されてきている。

こうした目的のためには、感度、精度ともに高い分析手法の開発、利用が必須である。特に同位体は上記の天然トレーサーとしてばかりでなく精度管理のための手法としても極めて有用であり、質量分析を検出系として用いる手法、すなわち揮発性のある化学物質の分析にはガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)が、不揮発性で溶媒にとける物質の分析には液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS)が、それぞ

れ標準的な方法として広く利用されている。また、他にもGC、LC、TLC等を分離手段として、蛍光、吸光、発光などの光分析や電気化学的手法、電子捕獲、さらにはNMRなどを検出手段として、様々な化学物質の機器分析手法が開発され、利用されている。一方、抗体反応や受容体との結合反応等、生体の特異的な認識反応を利用した分析手法の開発、応用も特に近年精力的に進められてきている。こうした生体反応利用法も実際の環境試料では共存物質により様々な妨害を受けることが理解されてきており、適切な前処理法との組み合わせ、或いは迅速スクリーニング法としての開発、確立が最近の主要な課題になっている。

GCについては分離能の高いキャピラリカラムが標準となり、さらにLCやGCと結合した多次元クロマトグラムの研究開発とその応用が一つのトピックスになっている。前に予備分離用の短いGCカラムをつないで前処理をすすめ、検出系をその分簡易化、小型化したり打ち込み試料量を増やして高感度化を図る技術開発のほか、GCを2台並べた本格的な2次元GC、さらには1次元目GCの後ろに短い極性カラムをおいて揮発性成分の2次元分離を行い複雑な組成の混合物の一次分析を行うGC×GC手法なども開発、応用が進められている。特に後者をTOF-MSとつないだGC×GC/TOF-MSは、包括的に極めて多種類の化合物情報を得ることができ、環境分析の視野を一挙に拡大する可能性を秘めている。一方、LCについてはLC/MS、LC/MS/MSの生体成分への応用拡大に伴いマイクロLCの開発、応用が急速に進みつつあり、環境分析分野にも影響を及ぼすものと予想される。そのほかキャピラリ電気泳動、超臨界クロマトグラフ等の分離手段の応用も研究が続けられている。

質量分析法としては四重極型MS(Q-MS)が普及型としてもっとも多く利用されている。特に分離能に劣るLCとの結合では、Q-MSによるタンデムMS(MS/MS)装置の普及も進んできている。イオントラップ型MSはQ-MSと比較して定量性には劣るものの、小型の割に高い質量分解能やMS_n機能等の特色を持ち、化合物の定性面に優れた特徴を有している。最近Q-MSに基づくリニア型のイオントラップが登場し、今後の環境研究推進にむけてそのポテンシャルが注目される。TOF-MSもダイナミックレンジが狭いなどの欠点を有するものの、一次分析能力や高い質量分解能などが注目される。大型の磁場型MSは、ダイオキシン類、PCB、そのほか臭素系難燃剤など多数の成分からなる汚染物質の低濃度環境分析において、標準的な方法として利用されている。GC/磁場型MSによる高分解能SIM分析は有機汚染物質の環境分析において標準原器的な位置づけを持っており、このデータを基礎に比較を行いながら、より簡易的な手法の開発研究が盛んに行われている。

質量分析計の利用に欠かせないイオン化法の研究は特にLC/MSの分野で最近著しい進歩が見られている。極性物質、イオン性物質のイオン化に優れたESI、そのままではイオン化しにくい物質の大気圧化学イオン化を促進するAPCIが、どの機種でも標準的なイオン源として利用可能になってきて

おり、さらに光イオン化イオン源の開発、装備も急速に進められている。LC/MSのイオン源についてはまだ原理的に不明の点も残されており、装置、メーカーによる適用性、性能の開きなども少なくない。今後の原理研究のさらなる発展が期待される。一方、GC/MSについてはEIが標準的な手法としてダイオキシン類分析をはじめ様々な化学物質分析に使われている中で、熱電子捕獲による負イオン生成（ECNI, NCI等と総称）も有機ハロゲンなど一部の有機化合物の選択的イオン化、検出に利用されている。この負イオン源では一般に熱電子化のためにイオン源内にガスを導入する必要があるが、直交する磁場と電場を組み合わせたトロコイド型分光器で低いエネルギーの電子を選別、照射して電子付加を起こさせるエレクトロンモノクロメータと呼ばれる負イオン源が最近市場に登場してきた。他にアルカリ金属付加イオン源など特徴を有するイオン源を持つ装置も市販されている。

そのほか、現場で使える小型可搬分析機器や連続分析システムの開発も重要なテーマとなっている。発電機で使える小型GCやGC/MS、さらには電源のないところでも利用可能な吸収型ポンプを使った可搬GC/MSもすでに市販されて久しい。その一方、適当な場所に設置して長期連続観測を行う監視システムの開発、応用も大気中揮発性化学物質を主たる対象として進められてきている。ダイオキシン類等、低濃度で存在する難揮発性物質については焼却炉煙道など発生源の連続モニタリングを目的に前処理の自動化、簡素化まで視野にいった研究開発が最近盛んに進められており、今後一般環境中への適用性を有する自動連続捕集・分析システムの開発が望まれる。また、原理的には極めて高い選択性と感度が期待される多波長光イオン化手法の研究も、実用化を目指して進められている。

不揮発性で溶媒に溶けない物質、高分子、さらにはエアロゾル、ナノ粒子などの分析技術はまだ未熟な段階にある。熱分解GCによる断片の解析、固体NMRの応用、エアロゾルMSの開発研究など、基礎研究のさらなる発展が期待される。また、環境媒体の境界面に局在化する傾向を持つ界面活性剤など特殊な挙動を示す物質に対して、局所的な分析あるいは局在の様子を明らかにできるサンプリング手法の開発も今後の重要な課題と思われる。さらに、環境試料を化合物の性質、性状に従って、あるいは分取ガスクロマトグラフなどを利用して化合物毎に分離した上で、それぞれの同位体分析を行って起源や環境動態を把握する研究も盛んになりつつある。同位体分析技術については第4節で別途記述する。

なお、各種試料の抽出法、前処理技術については、最近の総説¹⁾等を参照頂きたい。

3. 生体反応利用分析技術の発展

2. にまとめた各種機器分析手法を生物試料に適用する研究も古くから行われてきたが、最近になって生体反応を利用した様々な分析手法が開発され、実際の環境分析に広く適用されるようになってきた²⁾。これらは、2. で説明したように生物の認識反応の高い特異性、感度を利用した簡易、迅速スク

リーニング分析手法としての応用、暴露評価、リスク評価への応用が期待される。さらにDNAチップ（マイクロアレイ）技術の急速な発展と応用推進により、環境生物に対する様々な化学物質暴露の状況把握、リスク評価、さらには毒性発現機構などに関する基礎研究などが今後さらなる展開を見せるものと期待される。

このうち、抗体利用技術については簡易迅速スクリーニング手法としての応用のほか、変異原性、発ガン性化学物質の遺伝子、タンパク質など生体分子との付加体形成状況の把握などにも利用されており、暴露評価、リスク評価への応用などが期待される。一方の受容体利用技術や特異遺伝子誘導を指標とする分析法も急速に進展してきており、特に環境ホルモン関連の研究進展にともなって性ホルモン、甲状腺ホルモンなどいくつかのホルモン受容体を使ったアッセイ系が確立され、化学物質のスクリーニングや環境分析へ応用されるようになってきた。特にダイオキシン類の場合、異性体毎の毒性の違いが、Ah受容体への結合によるP450（Cyp1A1）の誘導能の違いと関連することが示されており、環境試料中のダイオキシン類毒性換算総濃度の分析をAh受容体を用いたアッセイ系によって原理的に実行可能であることが注目される。今後毒性発現機構の解明に伴って、その機構を利用した生体反応利用分析技術の開発、応用がさらに推進されていくものと期待される。

DNAチップ技術の応用も急速に発展しつつある分野である。特に、これまでのように地道な基礎研究を積み重ねながら、鍵となるステップをピンポイントで分析していくかわりに、主要な遺伝子すべての動きを一斉に調べる網羅的な分析手法を確立し応用していくことで、情報の欠落している部分を一つ一つ段階的に埋める努力をせずとも全体像を把握できるようになった点は大きい。当面はパターン認識的な解析とともに実際にどのような遺伝子が動くのかを調べ、毒性発現機構の原理的理解も同時に進めつつ実際の環境研究を実施していくことで、これまでの研究の流れを一挙に加速することができるものと期待される。また、遺伝子間の連関を明らかにし、毒性発現機構の解明にせまるBioinformatics的アプローチも益々盛んになっていくものと予想される。未知の部分の多い研究に乗り出していることを絶えず心にとどめ、成果の基礎研究へのフィードバック、基礎固めを行ってシステムとしての生物の理解の推進を同時に図りながら、着実に研究を進めていくことが必要と思われる。また、種差、個体差、性差、年齢差など様々な因子が影響を及ぼしうるだけに、結果の解析にも慎重な取り組みが必要であること、化学物質過敏症など個人差にも踏み込み究極的には各個人毎の評価にまでつながりうる力を持つ点と、逆に個人情報保護の観点とを両立させながら研究推進を図っていく必要があることなど、遺伝情報の解析にはこれまでにない多くの要素を慎重に考慮した上での研究推進が求められる。さらに、環境試料へ適用した場合のこれらのデータの解釈には様々な化学物質への実際の暴露状況に関する情報も不可欠であり、遺伝子情報の一斉解析に歩調をあわせた化学物質の包括的一斉分析の構築も

重要な課題と考えられる。いずれにしても、これまで毒性発現機構の一部を断片的に利用する段階にとどまっていた生体反応利用技術が、DNAチップの利用により一挙に生体システムとしての全体的な応答を取り扱うレベルに入ってきたことは注目に値され、それだけの展望と覚悟を持った次元の高い研究の推進が期待される。

そのほか、特異的な生体反応を利用し、それを容易に検出できるよう発光機構等を遺伝子に組み込んで作られた化学物質の毒性評価生物や、その一般環境分析への応用なども重要な課題になってきている。今後、生態毒性をどのように捉えていくかについても、研究の進展が期待される³⁾。

4. 同位体利用技術の発展

今日のGC/MS分析、LC/MS分析においては、捕集や前処理過程、さらにはイオン化過程等における様々な妨害の影響を排除して正確な分析結果を得るために、安定同位体¹³Cなどでラベルした内標準物質を添加した同位体分析手法が主流となっている。一方、元々の物質内に存在する元素の中にも複数の同位体を持ち、その比率が生成起源や環境動態を反映して変化してくる場合がある。そのような場合には同位体の精密分析によって化学物質の起源や動態を研究することができる。例えば鉛の安定同位体 (²⁰⁴Pb, ²⁰⁵Pb, ²⁰⁶Pb, ²⁰⁸Pb) には放射性核種の崩壊の最終産物として形成されるものが多く、地球の誕生以後の歴史を反映して地球上のそれぞれの場所で同位体比が異なることから、汚染物質の起源の探索において貴重な手がかりを与えてくれる。一方軽元素である炭素、窒素、酸素やホウ素などは環境中を動く間に速度論的、平衡論的な違いで同位体比が測定可能な程度ずれるため、その精密分析による起源や環境動態研究が進められてきた。最近では塩素の同位体³⁵Clと³⁷Clの比率がその起源や環境中での脱塩素化の影響で微妙に変化するとの仮説にたつて、環境中有機塩素系化合物の塩素同位体比測定なども進められている¹⁾。

こうした同位体利用技術の中で、特に化学物質研究の面から有用と思われるものに放射性炭素¹⁴Cの測定があげられる⁴⁾。¹⁴Cは大気の上層で宇宙線由来の二次中性子により絶えず微量生成され、二酸化炭素に酸化された後、光合成を通じて生態系に入ったり海洋にとけ込んだりしながら、環境中を動いている。我々人間の体を含む現生の生物中には炭素の約1兆分の1の割合で¹⁴Cが含まれており、生物起源物質、或いはバイオマス燃焼由来物質にも同じ割合の¹⁴Cが含まれる。これに対し、太古の生物起源物質と考えられる化石燃料は長い時間がたつ間にその中の¹⁴Cがすべて崩壊してしまい、現在では検出可能なレベルの¹⁴Cは残っていない。従って、ガソリン、重油や石炭など化石燃料の燃焼に由来する物質、或いは石油化学製品には¹⁴Cは含まれておらず、環境化学物質の¹⁴C年代測定によってその主要な起源或いは寄与の割合を推定することができることになる。大気粉じん中の炭素成分について、組成別、或いは粒径別に¹⁴C測定が行われ、自動車排出粒子の寄与などに関する研究が進められている。また、脂肪酸や多環芳香族炭化水素など個別の化合物毎に¹⁴C測定を行

うことで、その発生源を特定したり環境動態の様子を明らかにする研究も進められてきている⁵⁾。環境化学物質の研究において、こうした個別化合物毎の安定・放射性同位体測定も今後ますます重要な課題になっていくものと考えられる。

5. 精度管理と環境試料の長期保存

定常的な環境監視の推進、様々な環境研究の推進ともなつて提出される膨大な数の分析データを利用していく上で、その精度管理を効果的、効率的かつ高いレベルで実施していくことが求められる。GC/MS法やLC/MS法と安定同位体レベルの内標準物質法の併用により、機器分析測定時における日常的な精度管理の実施はかなり容易になった。しかしながら、実際の環境試料からの抽出効率など、添加した内標準では評価しきれない部分もまだ残されている。また同位体手法が利用できない生体反応利用技術にも適用可能な精度管理手法の確立が求められ、環境標準試料の作成、あるいは外部精度管理のためのラウンドロビン事業の推進などが必要となる。日本では、国立環境研究所において長期にわたつて環境標準試料の作成、配布が行われている。また産業技術総合研究所や日本分析化学会等においても、標準物質作成事業の一端として環境分析関連の標準物質の作成が実施されている。また、環境モニタリングで収集した分析試料の一部を長期的に保管し、モニタリングデータのトレーサビリティを確保するとともに、新たな環境汚染の発生などに対処して過去にさかのぼつた分析研究を推進できる体制作り(環境試料バンク)の確立も重要である。日本においては国立環境研究所、(旧)国立公衆衛生院等でこれまで研究レベルで環境試料を長期保存する事業が進められてきたが、最近になり国立環境研究所に新たな環境試料保存施設が建設され、希少生物種の細胞、遺伝資源の保存とあわせて環境試料タイムカプセル事業として発展的な長期継続が図られることとなった。この保存施設には環境省が実施してきた化学物質汚染実態調査のうち生物試料等が保存され、国の環境分析におけるトレーサビリティ確保の上でも重要な役割を担うこととなった。また、愛媛大学においても海洋長寿命生物種を中心に保存施設の建設が予定されており、さらに京都大学で人試料を中心とした試料バンクが設立、運営されるなど、こうした環境関連研究を支える知的基盤に関わる研究体制もようやく整備が進みつつある。

6. おわりに

機器分析と生体反応利用技術の2つを中心に、環境化学物質の分析の概要をとりまとめた。時々この2つの優劣を問われることがあるが、筆者の気持ちとしてはそれぞれシステムとしての環境の理解と化学物質の環境動態の解明、並びに生体・生態系の理解とリスク評価を指向した研究に適した分析手法であり、互いに相補的なものでむしろ相互に補完しあつて環境研究の推進に役立てるべきものと考えられる。化学物質の適正管理を行う上で、発生源の位置や強度、環境媒体に乗つた化学物質の動態、生物蓄積などを地理情報上で定量的に扱い、規制の効果を評価できる統合モデルの開発、作成が極め

て重要な意義を持っており⁶⁾、モデルの検証などのための分析データの提出には今後も機器分析手法が中心的な役割を果たすものと予想される。一方、受け手の生物、生態系側の暴露状態やリスクを評価する上で、生体反応利用技術は新しい評価軸を与えてくれる可能性がある。特にDNAチップは包括的、網羅的、しかしながら現時点ではまだ持つ意味の不明な部分も多い膨大な情報を一度に与えてくれる手法であり、データの解析にもこれまでにないアプローチが必要になってきている。機器分析側でも環境化学物質の包括的な分析体制の構築について、考えるべき時期にきているようにも思われる。

また毒性、生物活性をエンドポイントとする分析技術開発や応用研究も、今後ますます重要になっていくと予想される。連続モニタリングのための各種センサー開発と応用^{7,8)}、小型チップ上への分析システムの構築⁸⁾など、グリーンケミストリーを指向しつつ技術革新に向けた研究も進められており、今後の環境分析のさらなる発展が期待される。

参考文献

- 1) 高澤嘉一, 柴田康行. 残留性有機汚染物質の分析. ぶんせき 2004;2004:94-100.
- 2) 例えば, " Use of bioindicators, biomarkers and analytical methods for the analysis of POPs in developing countries", GEF STAP final report (2004); 国連環境計画ホームページ<http://www.unep.org/stapgef/home/index.htm>からダウンロード可能
- 3) Ecotoxicology Special Issue. Environ Sci Technol. 2004; No.23: 38.
- 4) 米田穰, 内田昌男, 廣田正史, 柴田康行. 加速器質量分析法による環境試料の分析. ぶんせき 2004;2004:473-8.
- 5) 内田昌男, 柴田康行. 地質ニュース 2003; No.585: p.30.
- 6) Suzuki N, Murasawa K, Sakurai T, Nansai K, Matsushashi K, Moriguchi Y, Tanabe K, Nakasugi O, Morita M. Geo-Referenced multimedia environmental fate model (G-CIEMS): Model formulation and comparison to the generic model and monitoring approaches. Environ Sci Technol 2004;38:5682-93.
- 7) Hanrahan G, Patil DG, Wang J. Electrochemical sensors for environmental monitoring: design, development and applications. J Environ Monit 2004;6(8):657-64.
- 8) Sadik OA, Wanekara AK, Andreescu S. Advances in analytical techniques for environmental protection and public safety. J Environ Monit 2004;6(6):513-22.