

高速液体クロマトグラフィーを用いた多環芳香族炭化水素の迅速分析法とその測定例

菅 邦子 青木 一幸 泉川 視雄
石 黒 辰 吉

1 はじめに

浮遊粉じん中に含まれる多環芳香族炭化水素(以下、PAHsと略す)には、Benzo(a) Pyrene (以下BaP)の様に古くから発ガン物質として知られているものや、発ガン促進物質¹⁾も種々含まれている。近年都市部で肺ガンが増加している²⁾ことから、環境大気中のPAHsをモニタリングすることは意義深い。

PAHsを分析する方法としては、古くから薄層クロマトグラフィー(以下TLC)やカラムクロマトグラフィーがあり、最近ではガラスキャピラリーを用いたガスクロマトグラフィー(以下GC)、質量分析計(以下MS)とGCを接続したGC-MSおよび高速液体クロマトグラフィー(以下HPLC)がある。

当研究所では、従来2層1次元薄層クロマトグラフィーでPAHsを分析してきたが、分析操作が複雑であることから、HPLCでPAHsを迅速に分析する方法を検討することにした。実験例^{3), 4)}ではPAHsの抽出をソックスレー法で行ったり、前処理としてTLCを利用しており、HPLCの簡便さが生かされていない。そこで迅速分析するには、HPLCの試料の前処理を工夫する必要がある。

従来浮遊粉じんからPAHsを抽出するためには、一般にシクロヘキサンやベンゼン^{5), 6)}が使用されてきた。これらの溶媒で抽出した試料をODS系カラムに注入する場合、多量に注入できず、環境大気のような低い濃度の試料を分析する際には、濃縮操作を必要とした。この点を改良するために、筆者らが抽出溶媒としてアセトニトリルを用いた結果、多量の試料注入が可能となり、簡単な操作で感度よくPAHsを測定できることを見出したので、以下報告する。

さらにこの分析方法を用いた測定例として、昭和48年から当所で継続的に定期調査をしている都内の環境

大気中のBaP測定のうち、昭和53年度および54年度の測定に適用した結果について述べる。また従来PAHsの捕集方法として広く利用されてきたハイボリュームエアサンプラーによる試料採取の際、温度やオゾンの影響がかなり大きいと、最近Lane⁷⁾やPeters⁸⁾らによって主張されているので、その点に関しても若干の検討を加えた。

2 実験方法

(1) 試料採取

全天候型ハイボリュームエアサンプラー(紀本電子製、HV-GM, Model 120)を吸引ガス量1130ℓ/min、連続24時間の条件で作動させ、ガラス繊維濾紙(東洋濾紙GB-100R)上に浮遊粉じんを採取し、試料とした。

(2) 測定場所

東京都公害研究所屋上(千代田区)、都立衛生研究所(新宿区)、立川合同庁舎屋上(立川市)、糀谷保健所屋上(大田区)、江戸川区役所屋上(江戸川区)

(3) 抽出・分離および定量

浮遊粉じん中のPAHsの抽出・分離および定量は、すでに分析法として確立している真空昇華・薄層クロマトグラフィー・けい光分光法^{5), 9)}と筆者らが検討した方法の2種類の方法によって行った。

ア 真空昇華・薄層クロマトグラフィー・けい光分光法
松下らの方法に従って行った。なお分析装置は、島津RF-501けい光分光光度計を用い、励起波長370nmけい光波長410nmの条件でBaPを測定した。

イ アセトニトリル抽出・高速液体クロマトグラフィー
PAHの抽出は、直径5.5cmの円形に切り取った濾紙を10mlの遠心沈殿管に入れ、アセトニトリル5mlを加えて1分間激しく振とうした。そのあと回転数

3000 r. p. m.で10分間遠心分離をし、その上澄液を分析に用いた。

分離および定量は次のように行った。日本分光TRI-ROTAR高速液体クロマトグラフに、充填剤ODS-S-C-01外径4.6mm長さ125mmのステンレスカラムを接続し、移動相にアセトニトリルを用いて、0.7 ml/minの流速に設定し、20°Cの恒温で分離した。検出には日本分光FP-550けい光分光光度計を使用し、励起波長295nmけい光波長410nmの条件で、ピーク高さにより定量した。

3 結果および考察

(1) 分析方法の検討

ア 抽出溶媒の選択

汚紙上に捕集した試料からPAHsを抽出する溶媒として、ベンゼンとアセトニトリルとの比較を行った。ベンゼンとアセトニトリルの2種類のBaP標準溶液をHPLCに注入し、注入量とピーク高さの関係を求めた(図1)。その結果、ベンゼン溶液では注入量が20μlを過ぎると直線性が失われるのに対し、アセトニトリル溶液では250μlまで直線性が成立することが確認できた。ベンゼン溶液で20μlの注入量を過ぎると直線性が失われるのは、ピーク巾が増大するためであるが、これはベンゼンが弱いながらも固定相に吸着されるためと考えられる。

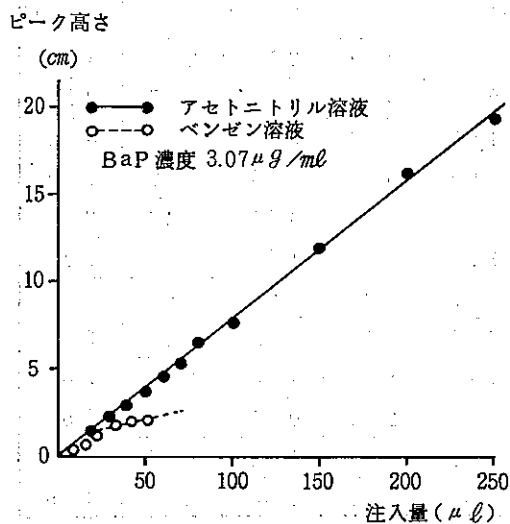


図1 注入量とピーク高さの関係

次にアセトニトリル抽出・高速液体クロマトグラフィーによる分析法を、真空昇華・薄層クロマトグラフィー・けい光分光法と比較する目的で、実試料を分析した結果が図2である。BaP濃度が(大気を1584 m³吸引した汚紙の1/17.1の面積あたり)40 ng~600 ngとかなり広い濃度範囲で真空昇華法とよく一致しており、相関係数も0.996と高い値を示している。以上の結果、本分析法を用いることにより、抽出に約1時間程度要する真空昇華法と比較してかなり短時間に、かつ簡便に精度よく測定できることがわかった。

また約100の実試料測定時におけるBaPの保持時間は、平均7.31 min、変動係数は2%と安定性はよく、カラムの劣化はほとんど認められなかった。

イ HPLCの測定条件

迅速分析をする目的のため、移動相をアセトニトリル100%・流速0.7 ml/minにして流出時間を早めた。その結果数種のPAHsの保持時間は表1のようになり、BaPとBenzo(b) Fluoranthene(BbF)+ Benzo(k) Fluoranthene(BkF)が充分分離でき、1試料分析するのに約20分程度で分析できるようになった。

BaPをけい光分光法で定量する場合、他の物質の妨害を考慮して、励起波長を370 nmに、けい光波長

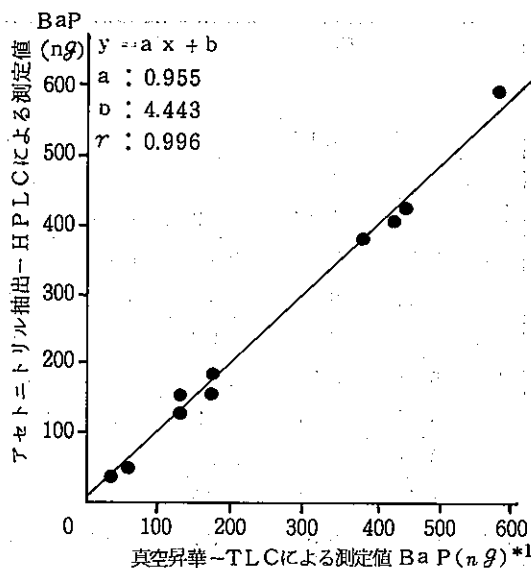


図2 分析法の比較

注) BaP濃度は、大気を1584 m³吸引して、粒子状物質を捕集した汚紙の1/17.1の面積あたりのものである。

表1 PAHsの保持時間

物質名	保持時間 (min)	ピークNo	保持時間 (min)
Benzo(b)Fluoranthene	6.20	2	6.27
Benzo(k)Fluoranthene	6.40		
Benzo(a)Pyrene	7.31	3	7.31
Benzo(ghi)Perylene	9.98	4	9.98

ODS-SC-01カラム充填剤, 4.6mmφ×125mm アセニトリル100%を0.7ml/minで流し, 20°Cの定温で分析した。

を410nmに設定している。しかしHPLCに接続するためにけい光分光光度計にフローセルを取付けた場合、励起波長370nmでは散乱光のために検出感度が低下する。そこで励起波長を295nmとし散乱光を少なくしたところ感度が数倍向上することがわかったので、HPLCの場合にはこの波長を使用することとした。なお励起波長を295nmにすることによって、他の物質による妨害が懸念されるが、実試料を用いた従来法との比較の結果、よい一致を見ていることから無視できよう。

(2) 本分析法による測定例

当研究所で昭和48年からBaPの継続調査をしているが、この試料を本分析法で分析した結果の一部を表2に示す。いずれの年度も夏季に低濃度となり、冬季に高濃度となる傾向が見られた。

(3) 捕集法の問題点

環境大気中のPAHsを捕集する方法として、広く利用されているハイボリュームエアサンプラーについて、次のような指摘^{7), 8), 10), 11), 12), 13), 14)}が最近なされている。Peters⁸⁾らは¹⁴Cでラベルした7.10-¹⁴C-BaPを用い、これを含浸させた濾紙をハイボリュームエアサンプラーに装着し、24時間採気した結果、9回の実験で平均7.5%のBaPがオゾンによって失なわれ、オゾン濃度が高い程BaPが低い濃度になる傾向が見られると述べている。また紫外線の影響についても報告している。

Lane⁷⁾はチャンバー実験で、BaP等のヘキサン溶液を用いて、試料採取時の紫外線とオゾンの影響について検討しており、その結果は、0.19ppmのオゾンで紫外線のない場合、BaPの半減期は約37分であり、オゾン濃度が高いとさらに短時間で分解しているとされている。照射した場合は、オゾンが存在しない時の

表2 本分析法による環境大気中のBaP測定結果

(ng/m³)

	昭和53年度					昭和54年度				
	公害研究所	衛生研究所	注2) 立川合同庁舎	梶谷保健所	江戸川区役所	公害研究所	衛生研究所	立川合同庁舎	梶谷保健所	江戸川区役所
5月	0.85	1.17	0.18	2.64	1.08	2.34	3.10	2.80	2.39	1.90
6月	1.19	1.28	0.77	2.80	1.26	0.53	0.61	0.50	1.27	0.27
7月	0.88	1.24	0.82	1.10	0.70	1.05	1.39	0.77	1.18	0.76
8月	3.10	0.48	0.49	1.45	0.56	0.90	0.52	0.46	0.99	0.49
9月	3.27	0.91	0.65	0.99	1.31	1.47	1.95	4.34	2.18	2.85
10月	4.96	2.54	1.93	2.12	0.62	1.23	2.08	1.25	-	2.06
11月	5.65	3.73	2.20	5.65	3.07	1.02	4.31	2.02	-	1.04
12月	8.87	4.78	4.13	3.62	12.02	2.22	2.50	4.02	7.94	3.59
1月	3.99	7.78	2.23	5.51	3.06	1.15	1.52	1.76	6.40	3.68
2月	1.76	2.03	3.35	1.74	6.06	1.12	2.24	0.82	1.90	2.52
3月	0.82	0.82	2.87	2.03	1.19	1.39	0.84	1.08	0.96	1.20
平均	3.21	2.43	1.78	2.70	2.81	1.31	1.91	1.80	2.80	1.85

注1) 測定は原則として月2回行っている。

注2) 昭和53年度の立川合同庁舎のデータは、簡易分析法(超音波抽出-TLC)によって行った。

半減期は5.3時間、0.19ppmのオゾンが存在するときの半減期は約3.4分と、照射の影響は大きくないという結果である。

Puppらは、BaPやBkF等の6種類のPAHsと三酸化ヒ素の平衡蒸気濃度の測定をしており、BaPについては温度が10°Cから30°Cに上昇した場合、平衡蒸気濃度は2.7倍も高くなり、30°Cでは約200 $\mu\text{g}/1000\text{m}^3$ となることを示した。ところが都内におけるBaPの測定値は、最高濃度が20 $\mu\text{g}/1000\text{m}^3$ 程度であることから、夏季にはBaPは気体として存在するか、または他の粒子に吸着した状態で浮紙に捕集されたとしても、気体となりかなりの部分が消失する可能性があると考えられる。

そこで測定結果とオゾンや温度との関係を知るために図3に浮遊粉じん中のBaP含量と、オキシダントの日最高値および気温の日平均値をプロットした。

大気中のBaP濃度をとらずに浮遊粉じん中のBaP含量をとったのは、後者の方が気象条件の影響を受けにくいと考えたからである。

BaP含量を日平均気温およびBaP含量とオキシ

ダントの日最高値の間の相関係数は、それぞれ-0.484、-0.304といずれも負の相関を示している。

このこととPuppらの平衡蒸気濃度の結果や、前述のPetersらの浮紙上で75%の損失があるという結果から、夏季において捕集中に損失が生じている可能性は大きいと思われる。今後捕集法について検討する必要がある。

4 結 語

① 高速液体クロマトグラフィー(ODS系カラム)で多環芳香族炭化水素を分析する場合、ベンゼンからアセトニトリルに抽出溶媒を変えることにより、注入量を10倍以上とすることができた。そのことにより感度が10倍以上になり濃縮する必要がなくなり、短時間に分析できるようになった。また従来法である真空昇華法とよい一致を見た。

② 夏季において、ハイボリュームエアサンプラーでPAHsを捕集する際、サンプリング損失の生じる可能性が示唆された。そこで今後捕集法について検討する必要がある。

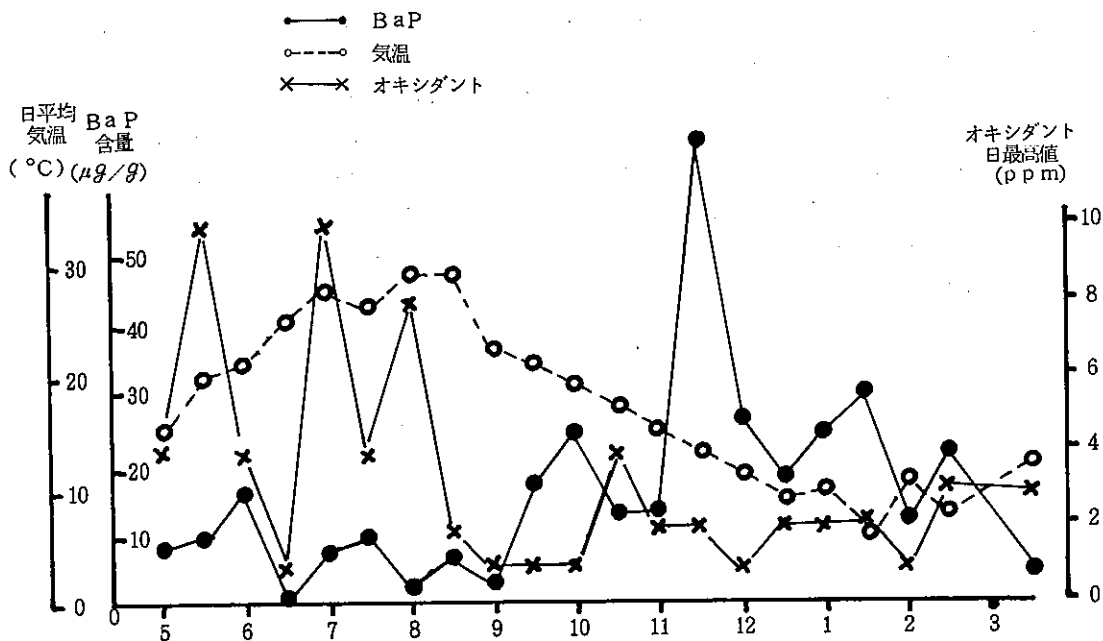


図3 BaP含量とオキシダント濃度および気温の関係

参 考 文 献

- 1) 松下秀鶴：環境空気中の多環芳香族炭化水素の分析法, 大気汚染研究, 10, 6, P1 (1976).
- 2) 竹本和夫：大気汚染による肺の病変, 特に肺ガンについて, 大気汚染研究, 10, 6, P43 (1976).
- 3) Das, B. S., G. H. Thomas: Fluorescence Detection in High Performance Liquid Chromatographic Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Anal. Chem.*, 50, 7, P967 (1978).
- 4) Nielsen, T.: Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Automobile Exhaust by Means of High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence detection, *J. Chromato.*, 170, P147 (1979).
- 5) 松下秀鶴ほか：大気汚染物中のベンゾ(a)ピレンの迅速分析法, 分析化学, 21, P772 (1972).
- 6) Pierce, R. C., M. Katz: Dependency of Polynuclear Aromatic Hydrocarbon Content on Size Distribution of Atmospheric Aerosols, *Environ. Sci. Technol.*, 9, 4, P347 (1975).
- 7) Lane, D.A., M. Katz: The Photomodification of Benzo(a)Pyrene, Benzo(b)Fluoranthene and Benzo(k)Fluoranthene Under Simulated Atmospheric Conditions, *Adv. Environ. Sci. Technol.*, 8, P137 (1977).
- 8) Peters, J., B. Seifert: Losses of Benzo(a)Pyrene under The Conditions of High-Volume Sampling, *Atmos. Environ.*, 14, P117 (1980).
- 9) 松下秀鶴ほか：超音波抽出法を用いた大気浮遊粉じん中のベンゾ(a)ピレンの簡易微量分析法, 25, 4, P263 (1976).
- 10) Handa, T. et al.: Correlation between the Concentrations of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons and Those of Particulates in an Urban Atmosphere, *Environ. Sci. Technol.*, 14, 4, P416 (1980).
- 11) König, J. et al.: Testing a High Volume Air Sampler for Quantitative Collection of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Atmos. Environ.*, 14, P609 (1979).
- 12) Miguel, A. H., S. K. Friedlander: Distribution of Benzo(a)Pyrene and Coronene with Respect to Particle size in Pasadena Aerosols in the Submicron Range, *Atmos. Environ.*, 12, P2407 (1978).
- 13) Pupp, C. et al.: Equilibrium Vapour Concentrations of Some Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, As₄O₆ and SeO₂ and the Collection Efficiencies of These Air Pollutants, *Atmos. Environ.*, 8, P915 (1974).
- 14) Pierce, R. C., M. Katz: Chromatographic Isolation and Spectral Analysis of Polycyclic Quinones Application to Air Pollution Analysis, *Environ. Sci. Technol.*, 10, 1, P45 (1976).