

粒子状物質に含まれる多環芳香族炭化水素類 (PAHs) の抽出法の検討と高速溶媒抽出装置 (ASE) の適用の可能性

天野 冴子 星 純也 佐々木裕子

要 旨

大気中の粒子状物質に含まれている多環芳香族炭化水素類 (PAHs) についてはジクロロメタンによるソックスレー抽出や超音波抽出が標準手法とされている。今回、これらの手法に加え、高速溶媒抽出装置 (ASE) を用いて粒子状物質中の PAHs の抽出を試みた。試料は沿道大気、トンネル内空気、自動車排出ガスであり、各試料ごとにおける適切な抽出法、抽出溶媒を検討した。

その結果、沿道大気試料は ASE 抽出法を用いれば、抽出溶媒がアセトニトリルでも抽出が可能であった。また、ソックスレー抽出を用いる必要があるトンネル内空気試料や、自動車排出ガス試料はピレン、ベンゾ(c)フェナントレン、ベンゾ(a)アントラセン、ベンゾ(a)ピレンについてはジクロロメタンを用いた ASE 抽出法でも同等の抽出効率が得られた。

適用できる PAHs の種類や抽出溶媒の選定、抽出時間等、検討課題も残るが、ASE を用いた高速溶媒抽出は大気中に含まれている PAHs の分析を迅速かつ安全に行うためにも非常に有効な手段である可能性が示唆された。

キーワード: 多環芳香族炭化水素類 (PAHs)、大気、自動車排出ガス、高速溶媒抽出 (ASE)、抽出方法

Study of Extraction Methods for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in particulate matter and possibility of application of Accelerated Solvent Extraction(ASE) Technique

Saeko AMANO, Junya HOSHI, Yuko SASAKI

Summary

The ultrasonic extraction and the Soxhlet extraction with methylene chloride are standard extraction methods for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in atmospheric particulate matter. Besides these methods, we tried to extract PAHs in particle matter by accelerated solvent extraction (ASE). Samples were PAHs in air of near roadways, traffic tunnels and exhaust from diesel vehicle. Adequate extraction methods and solvents were investigated of each sample.

As a result, not only standard methods and ASE method with methylene chloride, but also ASE method with acetonitrile was enough to extract PAHs in air of near roadways. Pyrene, Benzo(c)phenanthrene, Benzo(a)Anthracene and Benzo(a)Pyrene, which were in air of traffic tunnels and exhaust from diesel vehicle, are known to need Soxhlet extraction. The result suggested that ASE extraction with methylene chloride could replace Soxhlet extraction, however.

The results indicate that the ASE method is effective for rapid and safety analysis for PAHs, although further study on applicable kinds of PAHs, better solvents and extraction time is needed.

Keywords: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), Air, Automobile exhaust gas
Accelerated solvent extraction (ASE), Extraction method

1 はじめに

多環芳香族炭化水素 (PAHs: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) は、石油、石炭等の化石燃料および炭化水素等の有機物の熱分解や燃焼過程で容易に生成し¹⁾、現在その主要汚染源は、ディーゼル車から排出される粒子状物質であると言われている^{1) 3)}。PAHs はガン原性あるいは変異原性を有するものが多く^{1) 2)}、最近では内分泌かく乱作用を示す事も疑われている⁴⁾。

大気中の粒子状物質に含まれている PAHs の分析はジクロロメタンによるソックスレー抽出や超音波抽出が環境省が示した標準手法とされている⁵⁾。しかしながら、ソックスレー抽出法は抽出操作に16時間かかるという問題がある。一方、高速溶媒抽出装置を用いる抽出法(以下「ASE 抽出法」という。)は、ソックスレー抽出法に比べ処理時間の短縮化、使用溶媒の削減、安全性の向上が図れるという点で、また超音波抽出法に比べ安全性の向上、労力の削減が図れるという点で優れた方法である。

ASE 抽出法についてはダイオキシン類の抽出でソックスレーと同等またはそれ以上の結果が得られた報告があり⁶⁾、また、土壌や海洋堆積物試料に含まれている PAHs の抽出も可能であるとした報告がある⁷⁾。しかし、大気中に含まれている PAHs を ASE 抽出法を用いて抽出をした報告はまだない。

今回、沿道大気、自動車排出ガスの影響が大きいトンネル内空気、自動車排出ガスそれぞれに含まれる粒子状物質中の PAHs を、超音波抽出法、ソックスレー抽出法、ASE 抽出法で処理し、抽出効率の比較検討を行ったので報告する。

2 実験方法

(1) 試料

試料は全てハイボリュームエアサンプラーを用いて石英ろ紙に採取後、冷凍保存してあるものを用いた。採取した空気は沿道大気(八幡山自動車排出ガス測定局2000年採取)、自動車専用トンネル内空気(首都高海底トンネル、1988年採取)、自動車(ディーゼル車)排出ガス(1993年採取)である。処理試料量は全て37mm 径のポンチで打ち抜いて円盤状としたもの(10.75cm²)を使用した。

(2) 試薬・標準品

PAHs の標準品については、PAHs の混合標準溶液(Qubec Ministry of Environmental PAHs Mix (SUPELCO))を用いた。また、溶媒についてはベンゼン、エタノール、ジクロロメタンは残留農薬試験用を、アセトニトリルは高速液体クロマトグラフ用を用いた。

(3) 機器

ソックスレー抽出装置は B-811 Extraction System (BUCHI)を、超音波抽出装置は BRANSON 8200 (Yamato)を、高速溶媒抽出装置は ASE-200 (DIONEX)を用いた。また、分析機器には高速液体クロマトグラフー蛍光検出器を用いた。表1に使用機器、分析条件を示す。

(4) 抽出方法

ア ソックスレー抽出法

ソックスレー抽出法は標準手法⁵⁾に準拠した。試料を細切後、円筒ろ紙に入れ、ジクロロメタン200mlを用いて1時間に4回転するような状態で16時間ソックスレー抽出をする。抽出液と抽出容器を洗った洗液を濃縮し、1ml のアセトニトリルに転溶し HPLC 分析をおこなった。

イ 超音波抽出法

超音波抽出法も標準手法⁵⁾に準拠した。試料を細切後、共栓付き遠心沈でん管(10ml)に入れる。これにジクロロメタン 8ml を加え、15分間超音波抽出を行った後、3000rpm で15分間遠心沈でん処理を行った。その上澄み液 6ml を窒素気流中で溶媒を揮散後、アセトニトリルで 1ml に転溶し HPLC 分析をおこなった。

ウ ASE 抽出法

ASE 抽出では試料の入った金属のセルに抽出溶媒を加え、高圧状態にすることで、液体状態を保ったまま沸点以上の高温で試料に接触させることが可能である。この結果抽出効率が向上し、ソックスレー抽出法に比較して大幅に抽出時間が削減できるとともに、使用する抽出溶媒が少量という利点がある。抽出はダイオネクスアプリケーションレポート⁷⁾を参考におこなった。11ml 用セルに円筒ろ紙を入れ、試料を入れた上部にセル内の体積を満たすためにガラスビーズを 7.5g つめ、抽出を行った。図1に ASE フローチャートを、表2に抽出条件を示す。

表 1 使用機器・分析条件

HPLC使用機器	
オートサンブラ	AS-1555 Intelligent Samplar(日本分光)
ポンプ	PU-1580 Intelligent HPLC pump(日本分光)
グラディエントポンプ	LG-2080-02 Ternary Gradient Unit(日本分光)
デガッサー	DG-2080-53 3-Line Degassar(日本分光)
記録計	807-IT Integrator (日本分光)
検出器	RF-10AXL Fluorescence Detctor(島津)

HPLC分析条件		アセトニトリル : 水	
検出波長	励起波長 295nm, 蛍光波長 401nm	0分	60 : 40
カラム	LC-PAH (SUPELCO製) 長さ25cm、内径4.6mm	2.5分	60 : 40
カラム温度	40	12分	90 : 10
流量	1ml / min	20分	100 : 0
試料注入量	2.0ul	50分	100 : 0
		52分	60 : 40

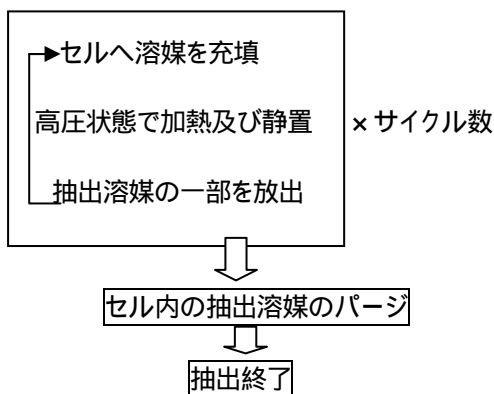


図 1 ASE 抽出フローチャート

表 2 ASE抽出条件

温度	100
圧力	2000psi
静置時間	5分
Flush	120%
サイクル数	2回

上記の抽出条件では、1 試料あたり20分以内の抽出が可能であり、その抽出時間はソックスレー抽出（16 時間）の約45分の 1 に相当する。抽出液は全量を窒素濃縮した後、アセトニトリルで1ml に転溶し、HPLC 分析をおこなった。

なお、予備実験として、ろ紙に PAHs を添加したものを分析し（各 N=3）、85～107%で回収ができていることを確認した。

(5) 分析方法

沿道大気試料では超音波抽出法、ASE 抽出法の 2 種類の方法を、トンネル内空気試料、自動車排出ガス試料では上記 2 種類にソックスレー抽出法を加えた 3 種類の方法を検討した。使用した溶媒はベンゼン：エタノール = 3 : 1 混合溶液（以下「Bz : EtOH」という。）ジクロロメタン（以下「DCM」という。）アセトニトリルである。Bz : EtOH は超音波抽出法のみを用い、エタノールを先に添加し、試料となじませてからベンゼンを添加した。アセトニトリルは超音波抽出法、ASE 抽出法のみを用いた。表 3 にそれぞれの試料に対し、実験を行った抽出法溶媒を示す。

調査した PAH は、表 4 の 9 物質である。

表3 検討をおこなった抽出方法及び溶媒

抽出方法 抽出溶媒		超音波抽出法			ASE抽出法		ソックスレー抽出法
		Bz:EtOH	DCM	AcN	DCM	AcN	DCM
試料	沿道大気						
	自動車専用トンネル内大気						
	ディーゼル車の排出ガス						

は検討をおこなったことを示す

表4 調査したPAHs

調査したPAHs (環数)	略語
ピレン (4)	pyr
ベンゾ(c)フェナントレン(4)	B(c)ph
ベンゾ(a)アントラセン(4)	B(a)A
クリセン (4)	chry
ベンゾ(b)フルオランテン(5)	B(b)F
ベンゾ(k)フルオランテン(5)	B(k)F
ベンゾ(a)ピレン (5)	B(a)P
ジベンゾ (a,h) アントセン (5)	DB(a,h)A
ベンゾ(ghi)ペリレン (6)	B(ghi)P

(6) 統計解析

StatPartner/V4.5 を用いて一元配置分散分析をし、各母平均を推定した後にその差の検定をおこなった⁸⁾。

3 結果

今回用いた3つの試料(沿道大気、トンネル内空気、自動車排出ガス)については、DCMを抽出溶媒とした超音波抽出法(以下「超音波(DCM)」という。)を用いた測定結果ではPAHsの量はいずれも定量下限値以上の濃度を示した。そこで、超音波(DCM)の値を基準として各抽出方法、溶媒毎の抽出効率を比較検討した。

(1) 沿道大気中のPAHsの分析結果

標準手法である超音波(DCM)の値を100%として表した結果が表5である。アセトニトリルを抽出溶媒とした超音波抽出法(以下「超音波(アセトニトリル)」という。)はB(c)phを除き、全て標準手法と有意な差が認められ、PAHsのベンゼン環が多くなるにつれて抽出効率が低下した。また、Bz:EtOHを抽出溶媒とした超音波抽出法(以下「超音波(Bz:EtOH)」という。)については、pyr、B(b)F、B(k)F、B(a)P、DB(a,h)A、B(ghi)Pは標準手法に比べ有意に高い抽出効率を示した。また、DCMを抽出溶媒としたASE法(以下「ASE(DCM)」という。)

アセトニトリルを抽出溶媒としたASE法(以下「ASE(アセトニトリル)」という。)はほぼ標準手法と同等な抽出効率を示した。

表5 沿道大気中のPAHsの抽出効率

(超音波(DCM)を100%とする)

(%)	ASE DCM	ASE アセトニトリル	超音波 Bz:EtOH	超音波 アセトニトリル
pyr	96	121*	140*	81**
B(c)ph	99	89	103	96
B(a)A	97	103	100	72*
chry	94	108	108	73*
B(b)F	110	97	116**	67*
B(k)F	100	86	117**	57*
B(a)P	101	88	122*	49*
DB(a,h)A	116	53*	158*	15*
B(ghi)P	93	87	119*	24*

N=5

(超音波(DCM)と比べ**は5%、*は1%で有意)

(2) トンネル内空気中のPAHsの分析結果

標準手法である超音波(DCM)の値を100%として表した結果が表6である。超音波(Bz:EtOH)は、他の抽出方法と比較すると、PAHのベンゼン環が多くなるにつれて抽出効率の低下が見られた。沿道大気試料では超音波(Bz:EtOH)は標準手法である超音波(DCM)よりも有意に高い抽出効率を示していたが(表5)、トンネル内空気試料では、超音波(Bz:EtOH)は標準手法に比べ有意に抽出効率が低下した。また、ソックスレー抽出法(以下「ソックスレー(DCM)」という。)ASE(DCM)はベンゼン環が多いものは超音波(DCM)よりも有意に抽出効率が上昇した。一方、ASE(アセトニトリル)はpyr、B(c)ph、DB(a,h)Aを除き超音波(DCM)と同等の抽出効率を示した。

表6 トンネル内空気中の PAHs の抽出効率
(超音波(DCM)を100%とする)

(%)	ソックスレー DCM	ASE DCM	ASE アセトニトリル	超音波 Bz:EtOH
pyr	110	105	122**	135*
B(c)ph	128	111	48**	41**
B(a)A	108	108	99	69*
Chry	108	106	111	60*
B(b)F	124*	113**	92	49*
B(k)F	137*	118*	91	37*
B(a)P	109	131**	103	33*
DB(a,h)A	167*	150*	83*	n.d.*
B(ghi)P	242*	200*	94	3*

N=5

(超音波(DCM)と比べ**は5%、*は1%で有意)

表7 自動車排出ガス中の PAHs の抽出効率
(超音波(DCM)を100%とする)

(%)	ソックスレー DCM	ASE DCM	ASE アセトニトリル	超音波 Bz:EtOH
Pyr	101	104	84*	88**
B(c)ph	101	96	86*	97
B(a)A	119*	125*	63*	61*
Chry	117*	95	74*	59*
B(b)F	264*	128*	64*	58*
B(k)F	190*	160*	66*	49*
B(a)P	193*	212*	49**	38*
DB(a,h)A	154*	181*	88	n.d.*
B(ghi)P	315*	260*	70	n.d.**

N=5

(超音波(DCM)と比べ**は5%、*は1%で有意)

(3) 自動車排出ガス中の PAHs の分析結果

標準手法である超音波(DCM)の値を100%として表した結果が表7である。超音波(Bz:EtOH)はB(c)phを除いた全てのPAHsにおいて、またASE(アセトニトリル)はDB(a,h)A、B(ghi)Pを除いた全てのPAHsにおいて超音波(DCM)に比べ、有意に低い値を示した。一方、ソックスレー(DCM)、ASE(DCM)ではベンゼン環が多いPAHsにおいて超音波(DCM)と有意な差が認められ、高い値を示した。その差はトンネル内空気試料よりも顕著であった(表6)。

4 考察

(1) 沿道大気試料の抽出法について

沿道大気試料は超音波(アセトニトリル)で十分な抽出効率を得られなかった。これは、都市部の沿道大気は炭素質が多い⁹⁾ためだと考えられ、「アセトニトリル等の抽出溶媒は炭素質の多い試料では抽出率が不十分になるおそれがある。」といわれている⁵⁾こととも一致した結果となった。一方、ASE(アセトニトリル)は、標準手法とほぼ同等な抽出効率を示した。ASEは溶媒を高温・高圧で試料に接触させるため、アセトニトリルでも十分な抽出効率を得ることができたと考えられる。ASE(アセトニトリル)は、アセトニトリルが人体に与える影響が少ない点、窒素濃縮の手間を省ける点などから、今後有用な手法の一つになる可能性がある。

(2) トンネル内空気試料、自動車排出ガス試料の抽出法について

トンネル内空気試料は自動車排出ガス同様、自動車由来のPAHsが多いと考えられる。自動車の燃料の不完全燃焼で生成したPAHsの一部はそのまま大気中に放出されるが、残りは粒子の表面への吸着や凝縮を通じて、放出される¹⁰⁾。超音波法(DCM)の方が超音波(Bz:EtOH)に比べ、抽出効率が高いため、DCMはBz:EtOHに比べ粒子の表面に吸着した部分や凝集した部分を抽出できていると考えられる。また超音波(DCM)に比べ、抽出効率がASE(DCM)は高く、ASE(アセトニトリル)は低い。抽出方法だけでなく抽出溶媒の選択も重要であることが示唆された。超音波(DCM)とASE(DCM)、ソックスレー(DCM)を比較すると、沿道大気試料とは異なり(表5)、トンネル内空気試料ではASE(DCM)の方が有意に高い抽出効率を示している。「発生源近傍のディーゼル粒子のような炭素質の多い浮遊粉じん試料はソックスレー抽出を用いる必要がある」といわれている⁵⁾ように、超音波(DCM)が自動車排出ガス試料、トンネル内空気試料では十分に抽出ができていない事を示唆している。

なお、超音波抽出法で抽出を2回行ったものと1回行ったものを比較したが、抽出時間による抽出効率の差は認められなかった。超音波抽出をする過程で炭素粒子が破壊され、表面積が大きくなり、炭素へのPAHsの吸着部分を増やしてしまうという報告もある¹¹⁾。そのため抽出時間の問題ではなく、抽出方法自体に限界があるのだろう。そこで、もう一つの標準手法であるソックスレー

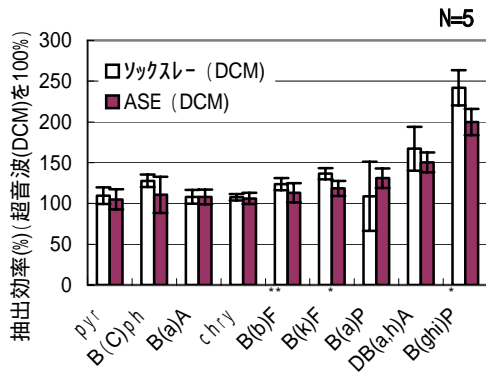


図2 トンネル内空気中のPAHsの抽出効率
(**は5%、*は1%で有意)

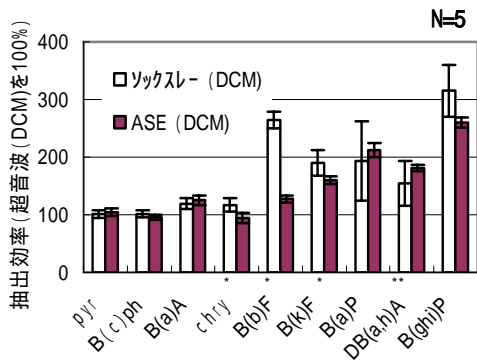


図3 自動車排出ガス中のPAHsの抽出効率
(**は5%、*は1%で有意)

抽出法とASE法(DCM)を比較したグラフが図2、3である。

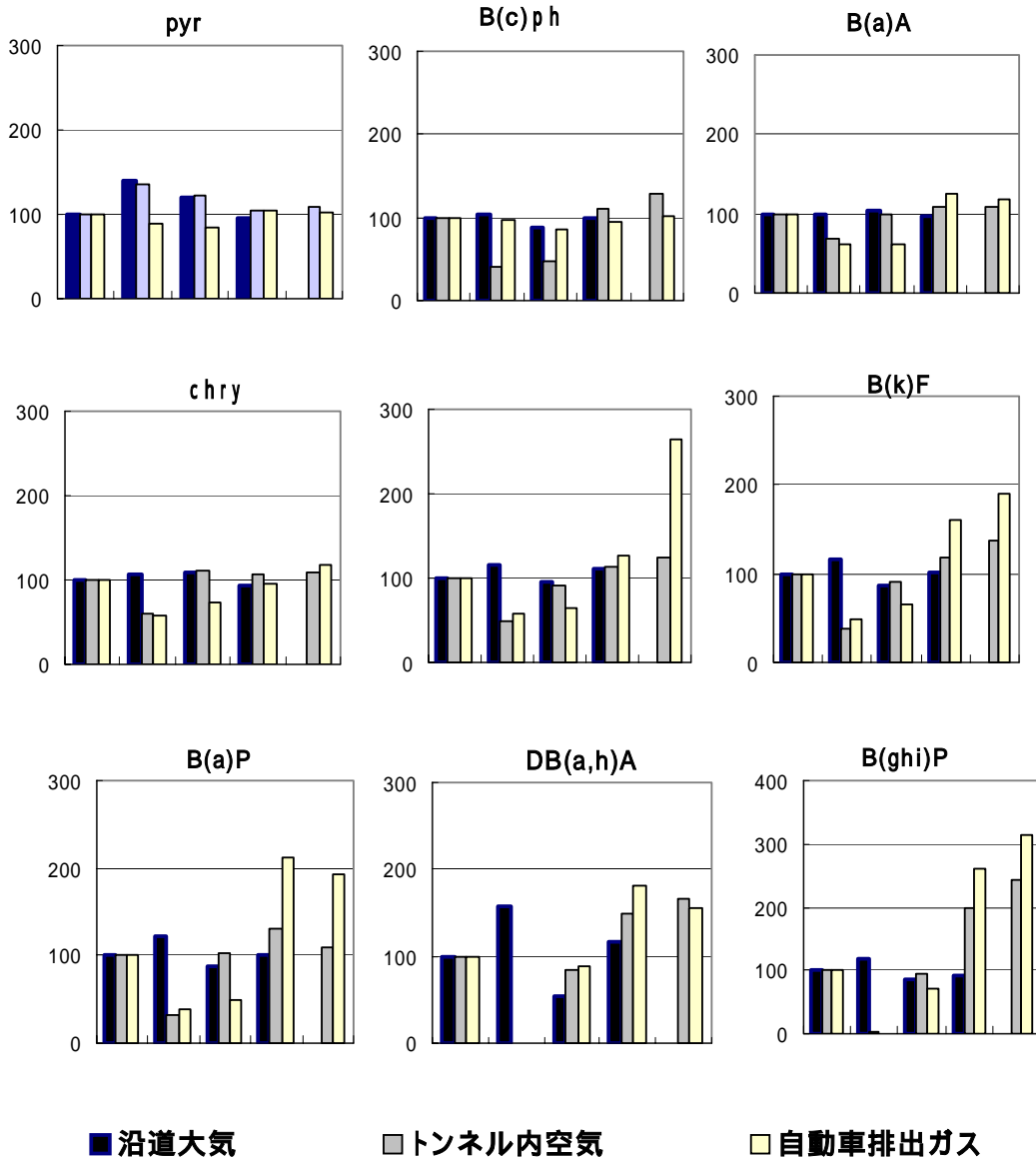
ソックスレー抽出はPAHsの環が多くなるにつれて、ばらつきが大きくなった。両者の母平均を推定し、差の検定をおこなったところ、トンネル内空気試料ではB(b)F、B(k)F、B(ghi)P以外は差を認められず、ソックスレーと同等の抽出効率を得られた。また、自動車排出ガス試料ではchry、B(b)F、B(k)F、DB(a,h)A以外は差を認められず、ソックスレーと同等の抽出効率を得られた。B(b)F、B(k)Fについては海洋堆積物にPAHsを添加した試料では確認値から高い値ではずれたという報告がある⁷⁾。今回おこなった粒子状物質中に含まれるPAHsの分析でも、B(b)F、B(k)Fについて標準手法とASEは差が認められたが、ASE抽出法は標準手法であるソックスレー抽出法より低い値を示した。

(3) 試料、抽出方法の違いによる抽出効率の比較

各PAHsごとに試料、抽出方法の違いによる抽出効率の比較をおこなった。結果を図4に示す。一般的に沿道大気試料、トンネル内空気試料、自動車排出ガス試料は自動車排出ガスの寄与が高くなるほど^{12) 14)}、粒子状物質中の元素状炭素の割合が高くなるほど^{13) 15)-17)}、PAHsの分子量が大きくなるにつれ、それぞれの方法の抽出効率の差が顕著に現れた。大気中においても環数の多いPAHsは粒子に分配しやすいことが知られており¹⁸⁾、粒子への吸着力が強いことが推定される。したがって、環数の多いPAHsは抽出法や抽出溶媒による抽出能力の差が現れやすいと考えられる。ディーゼル粒子から、5環、6環のPAHを抽出する際にはDCMでは抽出力が不十分であり、トルエンのような芳香族系の溶剤あるいは芳香族系溶剤にアルコールを混合したものが良いとの報告もある¹⁹⁾。そのためトンネル内空気試料や自動車排出ガス試料を分析するにはさらなる溶媒の検討も必要であると考えられる。また、ASE抽出法においては抽出時間が不十分であったことも考えられるので、こちらの件に関しても今後検討していきたい。

5 まとめ

- (1) 沿道大気、トンネル内空気、自動車排出ガスの粒子状物質中のPAHsの抽出を効率的に行うためには、それぞれの試料について適切な抽出法、溶媒を選択する必要がある。
- (2) 沿道大気試料については、ASE法ではアセトニトリルを使用しても標準手法と同等の結果が得られた。安全性、時間削減、労力短縮の可能性がある点などから、今後有用な手法の一つになると考えられる。
- (3) トンネル空気試料の抽出では3環、4環PAH(pyr、B(c)ph、B(a)A、chry)とB(a)P、DB(a,h)Aが、また自動車排出ガス試料の抽出ではpyr、B(c)ph、B(a)A、B(a)P、B(ghi)Pが、ソックスレー抽出法の代わりにASE抽出法(DCM)を使うことが可能であった。今後B(a)Pだけでなく、5環、6環のPAHをソックスレー抽出法と同等に抽出できるよう、抽出時間や抽出溶媒等さらなる検討が必要である
- (4) ソックスレー抽出に代えてASE抽出をおこなったところ、大幅な抽出時間の短縮、使用溶媒の削減、コスト、安全性について良好な結果を得られた。



■ 沿道大気 □ トンネル内空気 □ 自動車排出ガス

：抽出効率 (超音波 (DCM)を100%とする)

：超音波 (DCM) □ 超音波 (Bz:EtOH) □ ASE (アセトニトリル)

：ASE (DCM) □ ソックスレー (DCM)

注：沿道大気試料については ソックスレー (DCM) は未測定

図4 試料、抽出方法の違いによる抽出効率の比較

参考文献

- 1) 久松由東：大気環境中の発癌物質，大気環境学会誌，34(6)，pp. A43-A52 (1999)
- 2) 常盤寛：芳香族炭化水素ニトロ誘導体の変異原性、発がん性とその危険度，大気汚染学会誌，27(2)，pp. 73-84 (1992)
- 3) 泉川碩雄ら：ディーゼル車からの多環芳香族炭化

- 水素類の排出量，東京都環境科学研究所年報，pp.27-34 (1995)
- 4) 鈴木忠男：自動車排気と内分泌攪乱物質，自動車研究，22(7)，pp.299-303 (2000)
- 5) 環境庁大気保全局大気規制課：有害大気汚染物質測定方法マニュアル H11. 3
- 6) 東野和雄ら：ダイオキシン類分析における迅速化

- の検討について，東京都環境科学研究所年報，pp. 478 (1988)
187-193 (2000)
- 7) 高速溶媒抽出 (ASE 法) を用いた環境試料中多環芳香族化合物 (PAHs) の抽出，ダイオネクスアブリケーションレポート，AR012GE-0035
 - 8) 藤森利美：分析技術者のための統計的方法 第2版，社団法人日本環境測定分析協会
 - 9) 東京都環境局：平成 13 年度 有害大気汚染物質モニタリング調査報告書 平成 14 年 12 月
 - 10) 松沢貞夫：大気粒子中多環芳香族炭化水素の光化学反応，資源と環境，9(1)，pp.67-77 (2000)
 - 11) Daniel L. Stephens et al.: The Effect of Sonication on the Recovery of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Coal Stach Ash Surfaces，Chemosphere，28(10)，pp.1741-1747 (1994)
 - 12) 岩淵美香ら：GC/MS による大気浮遊粉じん中の多環芳香族炭化水素濃度測定，川崎市公害研究所年報，22，pp.27-33 (1996)
 - 13) 石井康一郎ら：自動車トンネルを利用した排出ガス調査()，東京都環境科学研究所年報，pp.15-23 (2001)
 - 14) Matthew P Fraser et al. : Gas-phase and Particle-phase Organic Compounds Emitted from Moter Vehicle Traffic in a Los Angels Roadway Tunnel，Environ.Sci.Technol，32，pp.2051-2060 (1998)
 - 15) 秋山 薫ら：道路沿道における浮遊粒子状物質中の炭素成分，東京都環境科学研究所年報，pp.12-17 (1998)
 - 16) 竹永祐二ら：大型ディーゼル車汚染物質排出実態について(2)粒子状物質，東京都環境科学研究所年報，pp.158-161(1993)
 - 17) 東京都：ディーゼル車排出ガス関連環境調査 平成 15 年 5 月
 - 18) 吉岡秀俊ら：環境大気における多環芳香族炭化水素の濃度推移と挙動(第 4 報)-ガス・粒子分配及び元素状炭素との関係について-，東京都環境科学研究所年報，pp.9-16(1996)
 - 19) K.Levsen et al. : The Analysis of diesel particle，Fresenius Z Anal Chem，331，pp.467-