

河川水中の多環芳香族炭化水素の分析

Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in River Water

鈴木 欣哉 佐藤 泰昌 市川 修三 高杉 信男

Kin-ya Suzuki, Yasumasa Sato, Shyuzo Ichikawa,
and Nobuo Takasugi

河川水中の12種の多環芳香族炭化水素 (PAH) を高速液体クロマトグラフィーで定量する方法について検討した。UV検出器とけい光検出器を接続し、それぞれ波長を変化させ、1試料につき2回注入することによって各PAHがより正確に同定できた。また妨害物質除去のため、市販のSEP-PAK Silica Cartridgeを用いた結果、初期溶出成分が簡便に除去でき、各PAHの定量が容易になった。河川水への添加回収率は、各PAHについてそれぞれ88~104%と良好であった。本法を市内の河川水へ応用した結果、数ng/lのPAHが精度よく定量できた。

1 緒 言

多環芳香族炭化水素 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons; 以下PAHという) には、発がん性や変異原性を有するものが多く、それらは環境中に微量ながらも広く存在することが知られている¹⁾。PAHの分離分析法には薄層クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー等があるが、PAHの多くは高沸点物質であるため、近年、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による方法が多く報告されてきている²⁾⁻¹⁴⁾。HPLCによる環境試料中のPAH分析法については、大気浮遊粉じんを扱ったものが多く²⁾⁻⁷⁾、河川水^{9), 10)}、湖水¹³⁾、工場排水^{8)-10), 14)}、その他の水試料^{11), 12)}に関する報告は非常に少ない。河川は市民生活と密接な関係にあり、有害化学物質による汚染の実態を知るうえでも、河川水中のPAHの正確で簡便な定量法を確立することが急務である。

そこで、本法ではHPLCのピークをより正確に同定するため、UV検出器とけい光検出器を接

続し、それぞれ波長を変化させ、試料の注入を2回ずつ行う方法と、PAHの定量の際に妨害となる初期溶出成分の除去を簡便に行うため、SEP-PAK Silica Cartridge (シリカ充てん済みミニカラム) を用いる方法について検討した。その結果、河川水中の微量のPAH12物質を精度よく定量できることが認められたので報告する。

2 方 法

2-1 試 薬

2-1-1 PAH標準物質

PAH標準物質として、以下に示す12物質を用いた。フルオランテン (Ft) (和光純薬工業製)、ピレン (Py)、トリフェニレン (TrP)、アクセン (Chr)、ベンゾ [a] アントラセン (BaA)、ペリレン (Per)、ベンゾ [a] ピレン (BaP)、ジベンゾ [ah] アントラセン (dBahA) (以上ガスクロ工業製)、ベンゾ [j] フルオランテン (BjF)、ベンゾ [b] フルオランテン (BbF)、ベンゾ [k] フルオラ

(k)フルオランテン(BkF)(以上R.K.Chemical製),ペン
ゾ(ghi)ペリレン(Bghipe)(Aldrich Chemical製)。

これらを液体クロマトグラフ用アセトニトリル
に溶かして標準混合液とした。

2-1-2 抽出及び前処理用試薬

ジクロロメタン及びn-ヘキサンは残留農薬試
験用を用いた。無水硫酸ナトリウムは残留農薬試
験用にジクロロメタンを加えて振り混ぜ、ろ別後
風乾したものを用いた。

2-1-3 HPLC用移動相

移動相にはアセトニトリル-水混合溶液(65
v/v%)を用いた。アセトニトリルは液体クロマ
トグラフ用、水はMilli-Q純水製造装置(Mill-
ipore製)より製造したものを用いた。

2-2 器具及び装置

妨害物質の除去にはSEP-PAK Silica Car-
tridge(Waters製)を用いた。

高速液体クロマトグラフはWaters 510型高圧
ポンプを用いた。操作条件を以下に示す。

カラム: Waters NOVA-PAK C₁₈

(3.9 mmφ × 15 cm, 5 μm)

カラム温度: 40°C(島津CTO-2A 恒温槽)

移動相: アセトニトリル-水(65:35)

流速: 1 ml/min

検出器: 日立638-41型UVモニタ

(0.005 AUFS)

日本分光FP-110型けい光検出器

2-3 操作手順

2-3-1 試料採取及び濃縮

約800~1,000 mlの河川水(試料)をあらかじめ
ジクロロメタンで洗浄した1 lガラスびんに採
取する。その全量を1 l分液漏斗に移し、30 mlの
ジクロロメタンを加え、シェーカーで5分間振り
混ぜて抽出する。エマルジョンが生成した場合は
遠心分離によって相分離する。抽出を3回繰り返
し、抽出液を合わせて無水硫酸ナトリウム10 gの
カラムに通し脱水する。これをクデルナダニッシ

ユによって約5 mlに濃縮し、さらに窒素ガスを吹
きつけて0.3 mlまで濃縮する。

2-3-2 妨害物質の除去操作

SEP-PAK Silica Cartridgeの洗浄は、7:
3ヘキサン-ジクロロメタン混合液5 mlで行った。
5 mlシリンジに取付けたSEP-PAK Silica Car-
tridgeに濃縮試料を注入し、さらに溶離液として7
:3ヘキサン-ジクロロメタン混合液を注入し、最
初の1 mlは捨て、次の3 mlを分取する。これに窒素
ガスを吹きつけて溶媒を留去し、200 μlのアセトニ
トリルで残査を溶解し、これをHPLC試料溶液とした。

3 結果及び考察

3-1 HPLC検出器とその波長

UV検出器はほぼすべてのPAHを検出できる
が、妨害物質の影響を受けやすく、また感度の低
いものが多いため、微量のPAHを定量できない
場合がある。一方、けい光検出器は、多くのPA
Hがけい光をもつため、他の妨害物質の影響を受
けることなく検出できるが、単一の励起、けい光
波長ですべてのPAHを高感度で測定することは
困難である。また、質量数の等しい異性体のPA
Hは保持時間が接近しているため、定量の際に互
いに妨害となる。

従って、UV検出器とけい光検出器を接続し、
それぞれ波長を変化させ、各試料を2回ずつ注入
してピークを同定した。

個々のPAHのUVスペクトルは分光光度計を
用いて測定し、励起及びけい光スペクトルはHP
LCに標準液を注入し、けい光検出器のピークが
最大となったところでポンプを止めて測定した。
この結果、UV検出器の波長は260 nmと240 nm
に、けい光検出器の励起波長(Ex)-けい光波
長(Em)は290 nm-415 nm, 335 nm-415 nm,
400 nm-465 nmとに分けることによってPAH
12物質を定量した。

UVの260 nmではTrp, Chrを、240 nmでは

Ft, Py, BjF を高感度で測定できた。また、けい光検出器の Ex-Em が 290 nm-415 nm では Ft, BaA, BbF, BkF, BaP, dBahA, BghiPe を、335 nm-415 nm では Py を、400 nm-465 nm では Per をそれぞれ高感度で測定できた。BbF と Per は保持時間が極めて接近しているため、どちらか一方が検出されるように、けい光検出器の波長を設定した (Table 1)。

Table 1 Wavelengths of Detectors

Detector	Inject	Wavelength (nm)	Compound
UV	1 st	260	Trp, Chr
	2 nd	240	Ft, Py, BjF
Fluorescence	1 st	Ex 290 Em 415	Ft, BaA, BbF, BkF BaP, dBahA, BghiPe
		Ex 335 Em 415	Py
	2 nd	Ex 400 Em 465	Per

3-2 妨害物質の除去

河川水のジクロロメタン抽出液 (一般に褐色を呈する) をそのままアセトニトリルにおきかえて HPLC に注入すると、溶媒ピーク直後に妨害物質成分が溶出する。そのテイリングによって比較的早く溶出する Ft, Py は UV, けい光両検出器とも妨害を受けた。また抽出液を直接注入することによって HPLC カラムの目詰りが起こりやすくなった。そこで簡便に妨害物質を除去するため、SEP-PAK Silica Cartridge を用いた。PAH の溶出範囲を調べるため、Silica Cartridge の溶出試験を以下に示す方法で行った。PAH 標準混合液を Silica Cartridge に注入し、7:3 ヘキサン-ジクロロメタン混合液を溶離液として、溶出液のフラクションをとり、PAH 含量を測定した。その結果、注入した溶離液量が 2~3 ml の範囲でいずれの PAH もほぼ 100% 溶出することがわかった。また河川水に PAH 標準混合液を添加し、

その抽出液について溶出試験を行ったが、同様の結果であった。

従って、0.3 ml の濃縮試料に続いて 4 ml の溶離液を加え、溶出液の最初の 1 ml は捨て、次の 3 ml を分取することとした。SEP-PAK Silica Cartridge の溶出液はほぼ無色透明となり、クロマトグラム上の初期溶出成分による妨害は除去され、PAH の定量が容易になり、カラムの目詰りも防ぐことができた。

3-3 河川水中の PAH の同定・定量

河川水のピークの同定は試料と PAH 標準物質との保持時間を比較して行った。1 試料につき波長を変えて 2 度注入することにより、各 PAH の同定は容易になった。PAH の定量は、ピーク高さによる検量線を作成して行った。検量線はいずれの PAH も原点を通る良好な直線になった。本法による検出下限を Table 2 に示した。BjF を除く他の 11 物質は 100 pg 以下で検出でき、河川水中の微量の PAH を定量することが可能であった。純水を用いたブランク試験では、各 PAH の保持時間に相当する位置に検出下限の 2 分の 1 以上の高さのピークは認められなかった。

PAH 標準混合液及び河川水試料のクロマトグラムを示す (Fig. 1, 2)。

Table 2 Detection limits of PAH

Compound	Detector	Detection limit (pg) *
Ft	FL **	70
Py	FL	35
Trp	UV	67
Chr	UV	87
BaA	FL	10
BjF	UV	220
Per	FL	27
BbF	FL	50
BkF	FL	7
BaP	FL	13
dBahA	FL	22
BghiPe	FL	32

* S/N = 5 ** Fluorescence

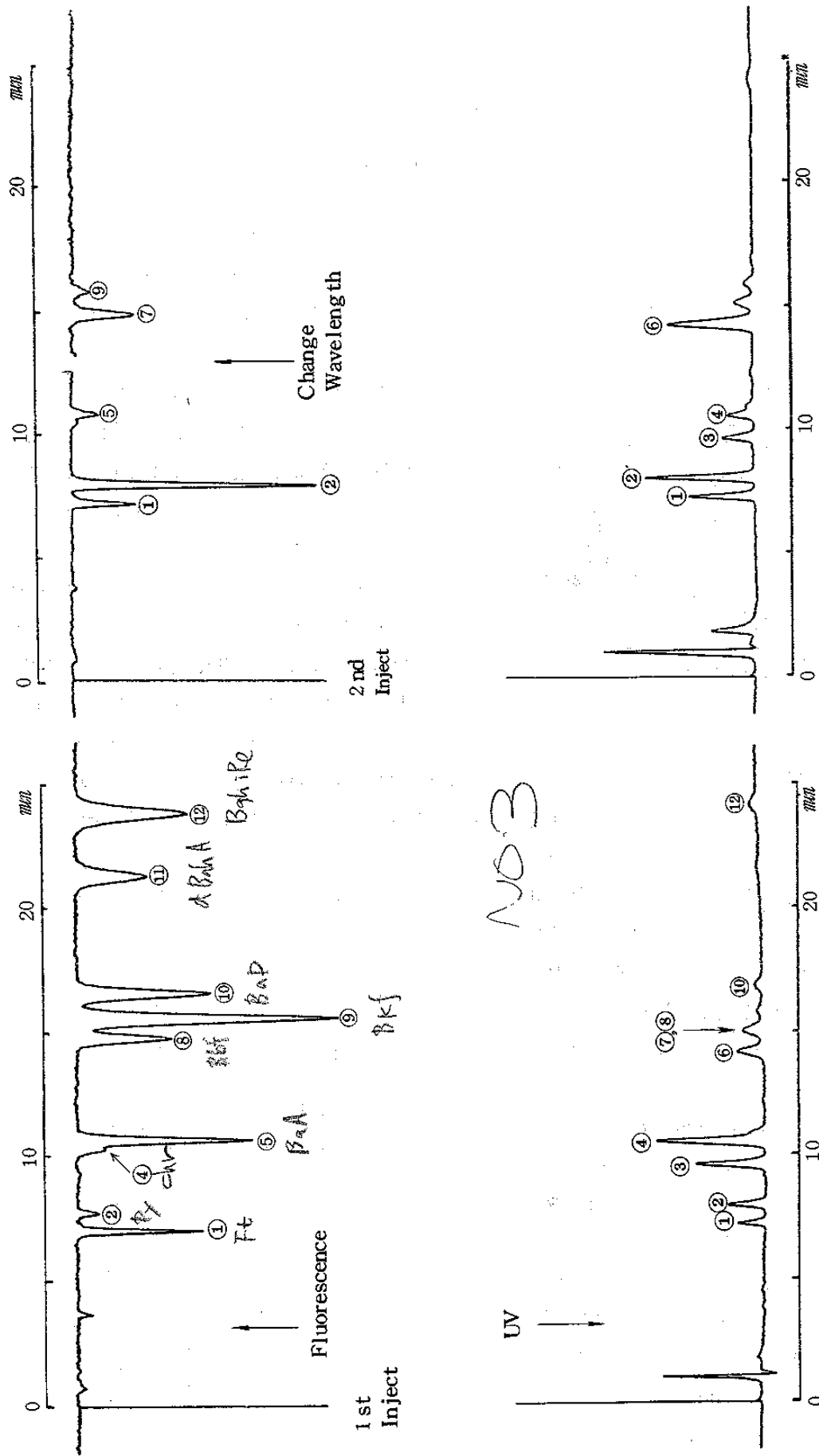


Fig. 1 Chromatograms of 12 PAH Standards

Peak Identity (pg)

- ① Ft (500) ② Py (500) ③ Trp (250) ④ Chr (500) ⑤ BaA (100) ⑥ BbF (1000) ⑦ Per (100) ⑧ BbF (250) ⑨ BkF (100)
- ⑩ BaP (100) ⑪ dBaA (100) ⑫ BghiPe (250)

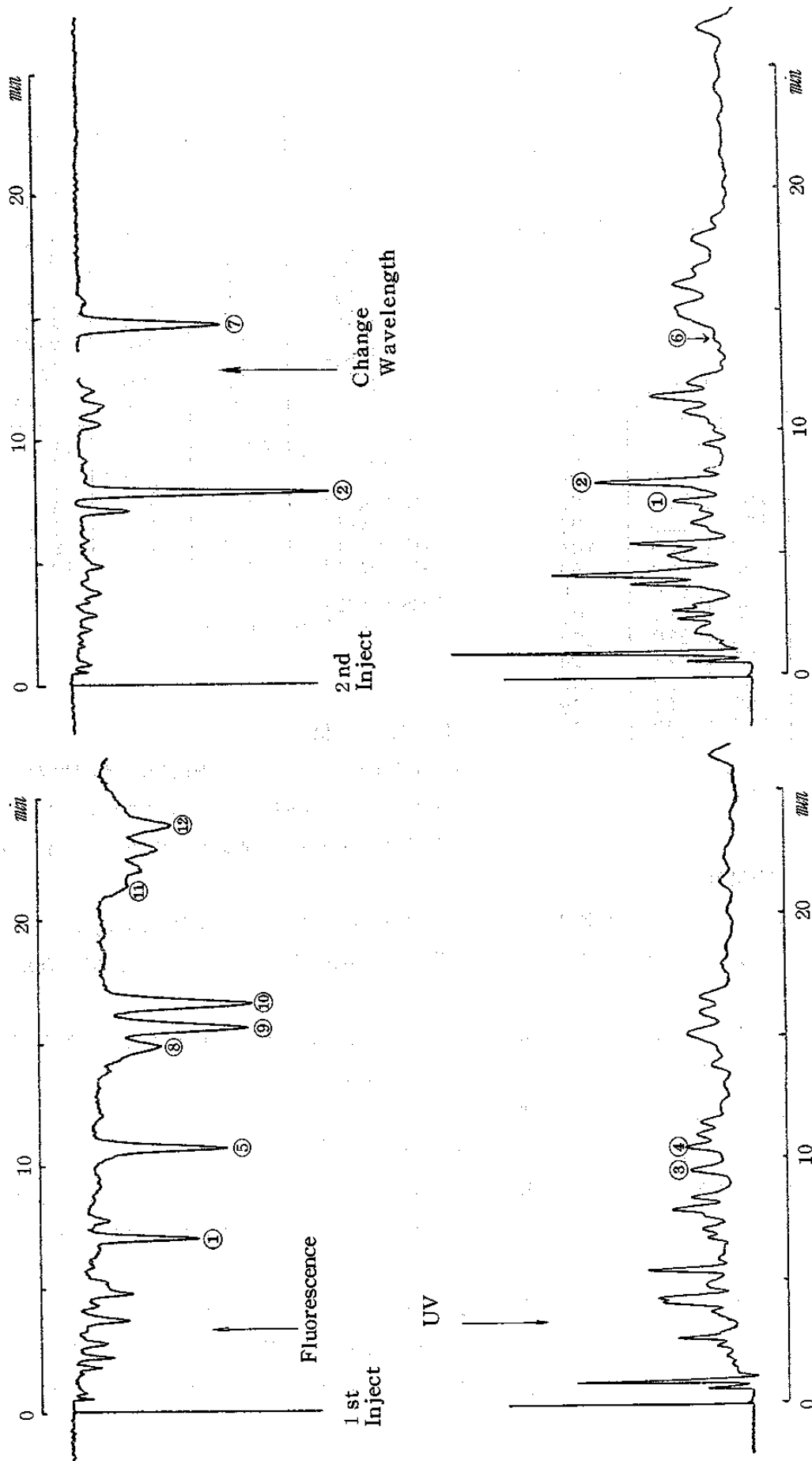


Fig. 2 Chromatograms of River Water

Inject : 20 μ l

Peak Identity

- ① Ft
- ② Py
- ③ Trp
- ④ Chr
- ⑤ BaA
- ⑥ B_jF
- ⑦ Per
- ⑧ BbF
- ⑨ BkF
- ⑩ BaP
- ⑪ dBaA
- ⑫ BghiPe

3-4 回収率

河川水試料にPAH標準混合液を添加して回収試験を行った。2つの同一試料を用意し、その一方に50~500pgのPAH標準液を添加し、操作手順に従って定量し回収率を求めた。その結果、12種のPAHの回収率は88~104%といずれも良好であった (Table 3)。

Table 3 Recovery of PAH

Compound	River Water (pg)	PAH added (pg)	PAH found (pg)	Recovery (%)
Ft	260	250	480	88
Py	320	250	560	96
Trp	ND*	125	125	100
Chr	ND	250	260	104
BaA	35	50	87	104
BjF	ND	500	500	100
Per	41	50	91	100
BbF	100	125	230	104
BkF	29	50	76	94
BaP	48	50	100	104
dBahA	ND	50	46	92
BghiPe	63	125	180	94

* Not detected
Sample: River water
Inject: 20 μ l

3-5 河川水中のPAH濃度

本法の応用例として、札幌市内の河川水中のPAH濃度を測定した。測定河川の環境要因も合わせて示した (Table 4)。

A川の採水地点は市街地に入る前の人為的汚染の少ない場所である。B川の採水地点は住宅密集地で家庭排水が流入している場所で、C川は住宅地を貫流した後の下流域である。A川はFt, Py, BaA 以外のPAHが検出されなかったが、市街地及び住宅地を貫流しているB川, C川では9 PAHが検出された。

これらの結果、本法は河川水中のPAHの挙動を検討するのに十分な感度を有することがわかった。

Table 4 Analytical Results of PAH in River Water

Item	River A	River B	River C	
PAH (ng/l)	Ft	2.3	2.6	4.3
	Py	1.3	2.2	5.2
	Trp	ND	ND	1.3
	Chr	ND	1.2	1.4
	BaA	0.16	0.56	0.79
	BjF	ND	ND	ND
	Per	ND	3.6	2.2
	BbF	ND	1.4	1.3
	BkF	ND	0.62	0.51
	BaP	ND	0.81	1.1
	dBahA	ND	ND	ND
	BghiPe	ND	0.70	0.93
Temp. (°C)	18.8	21.5	22.0	
Trans. (cm)*	>50	41	35	
pH	7.3	8.4	7.3	
DO (mg/l)	10	9.1	4.3	
BOD (mg/l)	1.8	2.2	3.2	
COD (mg/l)	1.9	4.8	8.4	
SS (mg/l)	3	15	12	

Date: 1984. 7. 24

*Degree of Transparency

4 結 語

- HPLCのUV, けい光両検出器を接続し、波長を変えた2回のクロマトグラフィーから、PAH12物質をより正確に同定することができた。
- 定量の際に妨害となる初期溶出成分は, SEP-PAK Silica Cartridgeによって簡便に除去できた。
- 河川水中に含まれる微量のPAH12物質を精度よく定量できた。

5 文 献

- 松下秀鶴: "化学の領域増刊129号 環境汚染物質と毒性 有機物質篇" p. 115~134 (1980) 南江堂
- M. Dong, D. C. Locke, E. Ferrand: Anal. Chem., 48, 368~372 (1976)
- B. P. Dunn, R. J. Armour: Anal.

- Chem., 52, 2027 ~ 2031 (1980)
- 4) 松下秀鶴, 塩崎卓哉, 加藤幸彦, 後藤純雄:
分析化学, 30, 362 ~ 368 (1981)
- 5) 管 邦子, 石黒辰吉, 松下秀鶴: 大気汚染学
会誌, 17, 117 ~ 125 (1982)
- 6) W E May, S A Wise: Anal. Chem.,
56, 225 ~ 232 (1984)
- 7) 塩崎卓哉, 田辺 潔, 松下秀鶴: 大気汚染学
会誌, 19, 300 ~ 307 (1984)
- 8) B S Das, G H Thomas: Anal. Chem.,
50, 967 ~ 973 (1978)
- 9) D. Kasiske, K. D. Klinkmüller,
M Sonneborn: J Chromatogr., 149,
703 ~ 710 (1978)
- 10) K. Ogan, E. Katz, W. Slavin: Anal
Chem., 51, 1315 ~ 1320 (1979)
- 11) R. K. Sorrell, R. Reding:
J. Chromatogr., 185, 655 ~ 670 (1979)
- 12) N T Crosby, D C Hunt, L A Philp,
I Patel: Analyst, 106, 135 ~ 145 (1981)
- 13) N. Furuta, A Othuki: Anal. Chem.,
55, 2407 ~ 2413 (1983)
- 14) R. W. Walters, R. G. Luthy: Water
Res., 18, 795 ~ 809 (1984)