

底質中の多環芳香族炭化水素の抽出法の検討

田原 るり子

要 約

底質試料中の多環芳香族炭化水素の分析法に関して、試料の前処理及び抽出法について検討した。前処理は、試料の乾燥方法について風乾と凍結乾燥の比較を行い、抽出方法については高温抽出法、高圧流体抽出法及び超音波抽出法を用いた場合の抽出効率の比較検討を行った。その結果、乾燥方法は両者とも抽出効率はほぼ同じで低分子量物質の揮発の影響の違いは見られなかった。また、試料中の水分は、抽出効率の低下や測定値の“ばらつき”の原因となることがわかった。抽出方法については、抽出溶媒にトルエンを用いた高圧流体抽出法では、抽出効率は高まったが、分子量の小さいPAHsの測定値に“ばらつき”が認められた。さらに、どの抽出法によっても、ナフタレンの測定値に“ばらつき”が認められた。

Key Words: 高圧流体抽出法、高温抽出法、底質試料、多環芳香族炭化水素

1 はじめに

多環芳香族炭化水素 (PAHs) は、発ガン性物質として知られ、種々の人為活動により非意図的に環境中に放出され、その有害性が懸念されているダイオキシンと比較すると高濃度で検出される物質である。PAHsはその性質上、水環境中では底質に蓄積しやすく、底質中のPAHsを定量した報告は数多くみられる^{1) 3)}。

底質試料よりPAHsを抽出する際には、ソックスレー抽出法¹⁾ やその簡便性から超音波抽出法 (UE)²⁾ が広く用いられている。一方で、環境中の極微量物質を定量する必要性から、いくつかの抽出装置が汎用化されている。ここでは、アメリカ環境保護局EPA Methodにも採用されている高温抽出法 (HE)⁴⁾ 及び高圧流体抽出法 (PFE)⁵⁾ を底質試料中のPAHs分析に適用し、その定量値からUEとの比較検討を行うとともに、抽出前の試料の扱いについても検討を行った。

2 方法

2.1 対象物質

本検討で対象とした物質は、ナフタレン、アセナフチレン、アセナフテン、フルオレン、フェナントレン、アントラセン、フルオランテン、ピレン、ベンゾ[e]フェナントレン、ベンゾ[a]アントラセン、クリセン、ベンゾ[b]フルオランテン、ベンゾ[j]フルオランテン、ベンゾ[k]フルオランテン、ベンゾ[a]ピレン、インデノ[1,2,3-cd]ピレン、ジベンゾ[a,h]アントラセン、ベンゾ[ghi]ペリレン、ジベンゾ[a,h]ピレン、ジベンゾ[a,i]ピレン、ジベンゾ[a,j]ピレンである。このうち、

ベンゾ[b]フルオランテン、ベンゾ[j]フルオランテン、ベンゾ[k]フルオランテンは3つの合計を、ジベンゾ[a,h]ピレン、ジベンゾ[a,i]ピレン、ジベンゾ[a,j]ピレンについても同様に合計値で検討した。

2.2 分析方法

試料には、装置による測定誤差を最小限にするため、北海道内でもPAHs濃度が高濃度である室蘭港の底質試料を用いた。この底質試料の含水率は37.4 %だった。

2.2.1 前処理方法

抽出前の処理として、室温での風乾 (AD)、フリーズドライ (FD) 及び遠心分離による脱水 (SD) を選んだ。SDは3000 rpm、10分間で行った。ADあるいはFD処理された底質試料は粉状に粉碎してから抽出に供した。抽出に供した試料量は、AD及びFD試料で2g、SD試料で5gとした。抽出装置は、PFEにはDionex ASE 300、HEにはBuchi B-811、UEにはPasolina USC-1を用いた。PFEの抽出条件を表1に示す。HEの抽出溶媒には、乾燥試料にはアセトン/n-ヘキサン (1:1, v/v) を用い、SD試料にはアセトンを用い、いずれの場合も約260 mL用いた。ヒーターは上部を3 (約30 °C)、下部を9 (約90 °C) に設定し、抽出時間を3時間とした。UEの抽出溶媒は、HEと同様に乾燥試料にはアセトン/n-ヘキサン (1:1, v/v) を用い、SD試料にはアセトンを用い、いずれの場合も20 mL用いた。抽出時間は10分間とし、繰り返し回数を3回とした。トルエンを用いてPFEで抽出した場合には、n-ヘキサンへの転溶を行った。また、SD試料の抽出液はn-ヘキサンへの転溶と

表1 Dionex ASE 300の抽出条件

抽出溶媒	トルエン	アセトン/ <i>n</i> -ヘキサン(1:1, v/v)
Pressure (psi)	1500	1500
Temperature (°C)	150	100
Static time (min)	15	5
Flush volume (%)	150	100
Purge time (min)	1	1
適応試料	FD 試料	FD 試料 AD 試料

無水硫酸ナトリウムによる脱水を行った。抽出物は濃縮後、5%含水シリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィーで精製を行った⁶⁾。

2.2.2 測定方法

精製試料の濃縮後、内標準物質として、ナフタレン-*d*₆、アセナフテン-*d*₁₀、フェナントレン-*d*₁₀、クリセン-*d*₁₂、ペリレン-*d*₁₂の混合溶液を加えた。測定はGC/MS HP5972で行った。キャピラリーカラムは長さ15m、内径0.25mm、膜厚0.25 μmのHP-5を用いた。注入はスプリットレスモードで行った（スプリットバルブは2分間閉じた）。カラムの温度は初期温度40°C、その後120°Cまで毎分20°Cで、280°Cまで毎分7°Cで上昇させた。注入口の温度は250°Cとし、キャリアガスにはヘリウムを用いた。

3 結果と考察

3.1 試料中のPAHs濃度

底質試料中のPAHs濃度を、①FD処理→PFE(FD-PFE)、②FD処理→HE(FD-HE)、③FD処理→UE(FD-UE)、④抽出溶媒のトルエンを用いたFD-PFE(FD-PFE TI)、⑤AD処理→PFE、⑥AD処理→HE(AD-HE)、⑦SD処理→HE(SD-HE)及び⑧SD処理→UE(SD-UE)の8つの方法で処理を行い測定した。これらの方法で測定したPAHs濃度と繰り返し回数3での相対標準誤差を表2に示す。一部の方法を除いてナフタレンの濃度のばらつきが非常に大きかった。このため、以後、ナフタレンは他のPAHsと分けて検討を行うこととする。抽出効率の比較を行うため、各方法による分析値を①FD-PFEによる分析値で除した値を「抽出率」とし、抽出率の比較とばらつきで前処理方法の検討を行う。

3.2 試料中水分の抽出効率への影響

PAHsは疎水性が高いため、試料中の水分が高いほど、抽出効率が低くなると予想される。このため、試料中の水

分の抽出効率への影響を検討するために、乾燥試料②FD-HE及び③FD-UE、含水試料として、⑦SD-HE及び⑧SD-UEの抽出率の比較を行った。図1に各物質の抽出率を示す。その結果、⑧SD-UEの抽出率が低く特にジベンゾピレンの抽出率が低いことがわかった。抽出にHEを使用した⑦SD-HEは乾燥試料をHEで抽出した場合とほぼ同じ抽出率が得られたが、表2に示すばらつきが他の方法と比べ大きく、水分の影響を受けていると考えられる。また、③FD-UEの結果から、汎用性の高い抽出法であるUEを用いる場合は、乾燥試料を供すること高い抽出率が得られることがわかった。以上の検討から、含水試料に対しては、UE及びHEのどちらも十分な抽出方法とはいえなかった。なお、SD試料をPFEで抽出することは、装置内に水分が残ること、その水分が別の試料の抽出を妨害することを懸念したため検討しなかった。

3.3 試料の乾燥方法の検討

試料の乾燥方法としてFDとADの2つの方法を比較した。FDでは低温かつ短時間で乾燥できる一方で気圧が低く、ADはその逆であり、どちらの方法でも揮発性の高い分子量の小さい物質の揮散による損失が懸念される。④FD-PFE TIではばらつきが大きかったアセナフチレン、アセナフテン及びフルオレンのFD及びAD試料の濃度とばらつきを比較する。比較には①FD-PFE、②FD-HE、⑤AD-PFE及び⑥AD-HEの結果を用いた。表2に示すとおり、これら4つの方法による測定値には違いが見られず、底質試料の乾燥方法は、測定に影響を与えないことがわかった。

3.4 抽出方法の検討

乾燥試料を用いて抽出方法の比較を行った。比較した抽出法は、①FD-PFE、②FD-HE、③FD-UE、④FD-PFE TIの4つとした。トルエンを用いたPFEによる抽出は「底質中のダイオキシン類簡易測定法マニュアル」⁷⁾に採用されている方法である。これら4つの抽出率を図2に示す。抽出溶媒をアセトン/*n*-ヘキサン(1:1, v/v)とした場合、どの方法を用いてもほぼ同じ抽出率が得られた。④FD-PFE TIについては、他の方法より抽出率が分子量に関係なく約1割高くなった。表1に示すとおり、PFEにおける抽出溶媒をトルエンとすることで、抽出条件が大きく変わったが、このうちどのパラメータが抽出率の上昇に寄与しているかは不明である。一方で、表2に示すとおり、分子量の小さいアセナフチレン、アセナフテン及びフルオレンのばらつきが大きくなった。これは、抽出後の濃縮を高温あるいは低圧で行う必要があること、また、その後の精製のために、*n*-ヘキサンへの転溶を確実にを行う必要があること、この両者が分子量の小さい物質の揮散の原因となり、ばらつきが大きくなっていると考えられる。

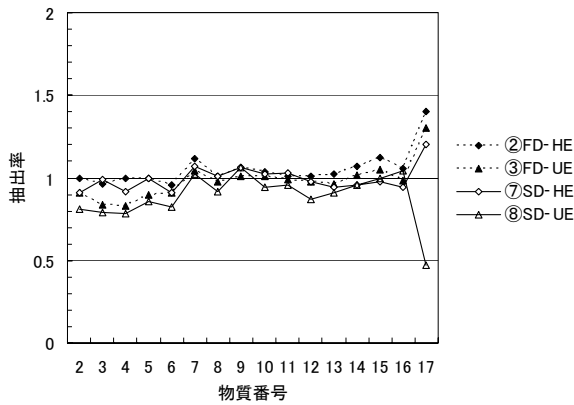


図1 試料中水分の抽出効率への影響

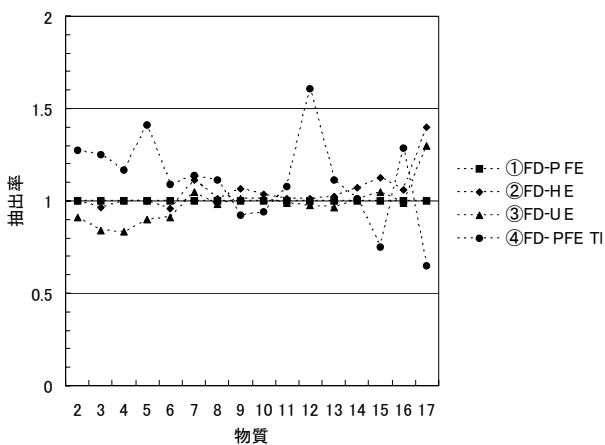


図2 乾燥試料の抽出法の比較

3.5 ナフタレン分析のための操作

以上の検討から、底質試料中のナフタレンを除くPAHsの抽出は、抽出溶媒にアセトン/ n-ヘキサン (1:1, v/v) を用いた場合、どの方法で抽出しても測定値に違いが見られず、ばらつきも小さいことがわかった。しかしながら、ナフタレンは高揮発性の物質であるため、底質試料の乾燥中における揮発による損失が懸念される。表2に示すとおり、ナフタレンの濃度が一番高くばらつきが小さい測定方法は⑥AD-HEだった。しかしながら、この結果は、この方法がナフタレンの分析に最適な方法であることを示しているのか、偶然によるものかは不明である。ナフタレンの分析法については、ナフタレン-d₈をサロゲートに使用し、内標準物質で回収率の確認を行って検討する必要がある。

4 結論

本検討では、室蘭港底質試料を用いて、底質試料中のPAHsの分析法について検討を行った。その結果を次にまとめる。

- ・ 試料中の水分は抽出効率の低下や測定値が大きくばらつく原因となる。
 - ・ 乾燥方法は測定値に影響を与えなかった。
 - ・ 抽出法については、トルエンを用いてPFEで抽出を行った場合、抽出率が高くなったが、分子量の小さいアセナフチレン、アセナフテン及びフルオレンの測定値にばらつきが見られた。
- 以上のことから、底質試料中のPAHsの分析には、乾燥試料を用い、以下の方法で分析することが適当であるという結論を得た。
- ・ 分子量が小さい物質を対象とする場合は、アセトン/ n-ヘキサン (1:1, v/v) を抽出溶媒に用いる（抽出方法は問わない）。
 - ・ 分子量が小さい物質を対象としない場合は、トルエンを抽出溶媒にする（ただし検討した抽出法はPFEのみ）。
- ナフタレンの分析については、今後の検討課題である。

参考文献

- 1) Carton L. and Grimalt J. O.: Gas chromatographic-mass spectrometric characterization of polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures in polluted coastal sediments. J. Chromatogr., 607, pp279-286, 1992
- 2) Kawata K., Tanabe A., Mitobe H., Sakai M. and Yasuhara A.: Screening of volatile organic compounds in river sediment. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58, pp893-900, 1997
- 3) Mai B.X., Fu J. M., Sheng G.Y., Kang Y. H., Lin Z., Zhang G., Min Y. S. and Zeng E. Y.: Chlorinated and polycyclic aromatic hydrocarbons in riverine and estuarine sediments from Pearl River Delta, China. Environ. Pollut., 117, pp 457-474, 2002
- 4) EPA Method 3541, "AUTOMATED SOXHLET EXTRACTION", 1994, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- 5) EPA Method 3545, "PRESSURIZED FLUID EXTRACTION (PFE)", 1996, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- 6) 剣持堅志：多環芳香族炭化水素（PAHs）の分析法，平成10年度化学物質分析法開発調査報告書(その2)，環境庁環境保健部環境安全課，pp 1-70平成12年1月
- 7) 環境省水・大気環境局水環境課：底質中のダイオキシン類簡易測定法マニュアル，平成21年3月

Comparison of extraction methods, the hot soxhlet extraction and the pressurized fluid extraction, with the sonication extraction in the determination of PAHs

Tahara Ruriko

Abstract

Two extraction techniques, the automated soxhlet extraction and pressurized fluid extraction were applied to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) for highly polluted harbor sediment. And the extraction efficiencies were compared with that of ultrasonic extraction, which is widely used for the determination of organic compounds in solid materials. In addition, sample-handling techniques before extraction, air drying, freeze drying and spin drying were compared. Results indicated as follows; (1) In the case of the sediment sample, moisture causes decrease in extraction efficiencies and increase in scattering of the PAHs concentration. (2) The manner of drying the sample does not influence the PAHs determination. (3) Although PFE with toluene as extraction solvent increases extraction efficiencies, it also increases the scattering of the concentration of PAHs with small molecular weight.

表2 各抽出法におけるPAHs濃度と相対標準誤差 (RSD)

No.	化合物名	①FD-PFE		②FD-HE		③FD-UE		④FD-PFE-TI		⑤AD-PFE		⑥AD-HE		⑦SD-HE		⑧SD-UE	
		濃度	RSD	濃度	RSD	濃度	RSD	濃度	RSD	濃度	RSD	濃度	RSD	濃度	RSD	濃度	RSD
1	ナフレン	0.21	12	0.13	22	0.10	25	0.44	47	0.17	63	0.29	3.8	0.19	69	0.14	2.3
2	アセナフルン	0.11	2.0	0.11	1.5	0.10	7.7	0.14	4.5	0.12	11	0.12	0.5	0.10	7.2	0.089	0.8
3	アセナフルン	0.080	2.1	0.077	3.3	0.067	12	0.10	8.6	0.083	8.6	0.088	6.4	0.079	16	0.063	0.4
4	フルオレン	0.12	2.0	0.12	0.5	0.10	11	0.14	6.2	0.12	6.2	0.12	0.8	0.11	8.8	0.094	0.6
5	フルオレン	0.49	1.0	0.49	2.8	0.44	2.3	0.69	4.0	0.53	10	0.51	2.5	0.49	18	0.42	2.6
6	アントラセン	0.23	2.4	0.22	5.4	0.21	9.5	0.25	3.6	0.25	10	0.25	1.1	0.21	10	0.19	1.1
7	フルオレン	0.88	9.5	0.98	3.7	0.92	0.4	1.0	1.9	1.0	8.7	0.99	3.9	0.94	16	0.90	4.7
8	ピレン	0.99	1.4	1.0	2.6	0.97	2.1	1.1	0.3	1.0	5.6	1.0	4.7	1.0	18	0.91	3.3
9	ベンゾ[a]アントラセン	0.078	1.5	0.083	0.2	0.079	1.3	0.072	3.0	0.087	5.6	0.085	4.5	0.083	17	0.083	0.3
10	ベンゾ[a]アントラセン	0.86	2.4	0.89	2.3	0.87	0.05	0.81	2.5	0.95	6.3	0.93	4.0	0.88	17	0.81	3.7
11	フルオレン	0.93	4.2	0.94	4.9	0.92	3.8	1.0	3.7	1.0	4.8	0.99	4.7	0.96	20	0.89	4.9
12	ベンゾ[b]フルオレン	0.87	1.1	0.88	1.0	0.85	2.9	1.4	1.5	0.91	6.6	0.93	1.6	0.85	16	0.76	2.4
13	ベンゾ[k]フルオレン	0.90	2.7	0.92	1.3	0.87	4.6	1.0	1.2	0.93	6.0	0.88	5.7	0.85	18	0.82	7.8
14	ベンゾ[a]ピレン	0.73	5.8	0.78	3.0	0.74	6.5	0.75	1.0	0.82	10	0.80	3.7	0.70	12	0.70	7.2
15	ベンゾ[1,2,3-cd]ピレン	0.40	7.5	0.45	3.4	0.42	7.7	0.30	3.3	0.46	12	0.45	2.8	0.39	9.6	0.40	3.7
16	ベンゾ[ghi]ペリレン	0.70	4.0	0.74	4.1	0.69	5.8	0.90	0.6	0.78	7.5	0.73	3.8	0.66	11	0.73	7.8
17	ベンゾ[a]フルオレン	0.40	48	0.56	8.5	0.52	5.7	0.26	2.8	0.59	14	0.57	5.7	0.48	8.9	0.19	2.0
	ベンゾ[a]フルオレンの合計値																