ノ ー ト

奈良市近郊における土壌中の多環芳香族炭化水素類の挙動調査

竹田 竜嗣¹, 幾馬 功昌¹, 松本 貞義^{1,2}, 米虫 節夫^{1,2}, 沢辺 昭義^{®1,2}

Field investigation of PAHs in soils around Nara city

Ryuji TAKEDA¹, Yoshimasa IKUMA¹, Sadayoshi MATSUMOTO^{1,2},
Sadao KOMEMUSHI^{1,2} and Akiyoshi SAWABE^{1,2}

¹ Department of Applied Life Science and Chemistry, Graduate School of Agriculture, Kinki University, 3327-204, Nakamachi, Nara-shi, Nara 631-8505

² Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Kinki University, 3327-204, Nakamachi, Nara-shi, Nara 631-8505

(Received 6 May 2004, Accepted 17 June 2004)

PAHs are the general term of the compounds, having two or more benzene rings. These are discharged from diesel motor gas, tanker accidents, oil emissions by cars, and so on. They float in the atmosphere, and it is considered that they are absorbed in soil as a result of rain. Generally, compounds that have two or three benzene rings show only toxicity, whereas these having four or more benzene rings show toxicity, carcinogenicity and mutagenicity. Especially, benzo(a)pyrene was shown to be an agency of an endocrine disrupter. We investigated the action of 16 PAHs specified by the U.S. EPA in soil around Nara city. Soil was collected from different locations involving traffic and vegetation. Soil from three locations around our university were collected every month for investigating seasonal movement. PAHs were extracted from soil by soxhlet extraction with dichloromethane. They were then analyzed quantitatively by HPLC/UV. We classed PAHs by the number of rings, and examined the concentration and seasonal movements. All content of 16 PAHs in soils increased in proportion to traffic volume. At the same locations of traffic volume, the gravitation at a location with a plant with all 16 PAHs in soils was, furthermore, found to have a low concentration. There were different seasonal movements of the 2,3-ring and 4, 5, 6-ring PAHs. 4, 5, 6-ring PAHs have strong correlations each others ($r > 0.79$), but there was no correlation between 2, 3-ring and 4, 5, 6-ring PAHs. As a result, the traffic volumes are exposition sources of 4, 5, 6-ring PAHs in soils.

Keywords : PAHs; soil; HPLC; endocrine disrupter.

1 緒 言

多環芳香族炭化水素類 (PAHs) は、環境中に広く存在する化合物群であり、炭素や水素を含む物質の不完全な酸化や高温での熱分解過程で発生し、主な発生源は化石燃料の不完全燃焼によるものである¹⁾²⁾。これらの化合物は、長期間残留し、土壌中、底質中、表層水や大気を循環して

いると考えられ³⁾、毒性や変異原性、発がん性から憂慮されている⁴⁾⁵⁾。特に benzo(a)pyrene は、環境ホルモンとして知られており⁶⁾、PAHs の中でも 16 種がアメリカ環境保護省 (EPA) の “List of priority pollutants” に指定されている⁷⁾。

PAHs は、疎水性の化合物で、naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene を除いては、揮発性も低く、ほとんど水に溶けないことが知られている (溶解度: 0.001 $\mu\text{g/l}$)⁸⁾⁹⁾。また、土壌有機物である腐植物質とは密接な関係があると考えられている¹⁰⁾¹¹⁾。

PAHs の環境中での挙動として、主な発生源であるディ

¹ 近畿大学大学院農学研究科: 631-8505 奈良県奈良市中町 3327-204

² 近畿大学農学部農芸化学科: 631-8505 奈良県奈良市中町 3327-204

Fig. 1 Sampling sites around Nara city and location site

Table 1 Ring numbers of 16 PAHs

Name	Ring numbers
naphthalene	2
acenaphthylene	3
acenaphthene	3
fluorene	3
phenanthrene	3
anthracene	3
fluoranthene	4
pyrene	4
benzo[<i>a</i>]anthracene	4
chrysene	4
benzo[<i>b</i>]fluoranthene	5
benzo[<i>k</i>]fluoranthene	5
benzo[<i>a</i>]pyrene	5
dibenz[<i>a,h</i>]anthracene	5
benzo[<i>ghi</i>]perylene	6
indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrene	6

一ゼル排ガス中や大気浮遊物質群などは盛んに測定されており, 近年急激な都市化が進んでいる中国での大気浮遊物質群中の PAHs の経年変化をモニタリングした例もある¹²⁾. 更に San Francisco Estuary の底質中においても PAHs の濃度が測られる¹³⁾など, あらゆる生活環境下においての挙動が調べられている.

近年日本において, 土壌汚染対策基本法が制定されるなど, 土壌汚染への関心が高まりつつある. PAHs は特定有害物質には現在のところ指定されていないが, 石油化合物に多く含まれることや, 土壌中にも残留すると考えられることから今後も注視されるべきである. しかし, 土壌中での PAHs の挙動を測定した例はあまりない. そこで, 本研究ではこれらの土壌中での挙動を調べるために, PAHs のなかでも EPA 指定の 16 種を選定し, 特に汚染地を指定せず, 奈良市近郊の土壌中での存在量を調査した.

2 実 験

2.1 装置及び試薬

高速液体クロマトグラフは, 島津製 LC-10AT を用い, 検出器には島津製 SPD-10A を用いた. 使用したカラムは Supelco 製 SUPELCOSIL LC-PAH (5 μm , 4.6 mm i.d. $\times$ 25 cm) を用いた. また, 16 種の PAHs の標準液には, Supelco 製の PAH Calibration Mix を用い, 移動相であるアセトニトリル及び抽出溶媒であるジクロロメタンは和光純薬製をそれぞれ用いた. また, ソックスレー抽出用円筒濾紙には, ADVANTEC 製 28 mm i.d. $\times$ 10 cm を用いた.

2.2 試料の採取

2003 年 2 月から 2004 年 1 月まで, 近畿大学農学部近郊(奈良市中町)の 3 か所(大学進入路, 大学構内, 第二阪

奈有料道路近辺)で 1 か月置きに表層 5 cm 以内の土壌を風乾後, ガラス製容器に採取し, 分析に供するまで冷蔵庫で保管した. また, 立地条件の違いを調査するために 2003 年 10 月に奈良市及び隣接の奈良県生駒市, 京都府相楽郡精華町, 山城町内の 8 か所の道路付近でも表層土壌を採取した. 先の大学近郊の 3 か所を含め, 採取地は道路から 1 m 以内の範囲内とした. 採取地点は以下及び Fig. 1 に示す.

(1) 奈良県生駒市県道 2 号線付近 (Sample No. 1), (2) 奈良市高畑町県道 1 号線付近 (Sample No. 2), (3) 奈良市富雄富雄川河川敷県道 7 号線付近 (Sample No. 3), (4) 奈良県斑鳩町県道 9 号線付近 (Sample No. 4), (5) 京都府精華町府道 72 号線付近 (Sample No. 5), (6) 京都府精華町打越台環境センター付近 (Sample No. 6), (7) 京都府山城町椿井農業道路沿い (Sample No. 7), (8) 京都府山城町椿井山林付近 (Sample No. 8), (9) 奈良市中町近畿大学農学部構内 (Sample No. 9), (10) 奈良市中町近畿大学農学部大学進入路付近 (Sample No. 10), (11) 奈良市中町第二阪奈有料道路付近 (Sample No. 11).

2.3 土壌からの PAHs の抽出

採取した土壌は 1.0 mm メッシュのステンレス製ふるいを用いて, 植物残渣及びレキ部分を取り除いた. その後, 5.0 g の土壌を量り取り, ジクロロメタン 120 ml を用いて 24 時間ソックスレー抽出を行った ($n = 3$). ソックスレー抽出後, 抽出液はエバポレーター, 窒素濃縮により 1.0 ml に定容し分析に供した.

2.4 分析方法

高速液体クロマトグラフィーを用いた. 移動相にアセトニトリル (A 相) と水 (B 相) を用い, 初期濃度 A : B = 40 : 60, 分析開始 5 分後からグラジェントをかけ, 30 分後には A : B = 100 : 0 になるように行った. カラム温度は 23°C, 移動相の流量は 1.0 ml/min とし, 検出波長は 254 nm に設定し, 試料の導入量は 5 μl として実施した. 検出下限は 0.01 mg kg⁻¹ である.

2.5 縮合環数別 PAHs 濃度の算出

16 種の PAHs を 2~6 の縮合環 (-ring) PAHs に分類し, 試料ごとに PAHs の土壌中濃度から縮合環数別 PAHs 濃度を算出した. 縮合環別グループを Table 1 に示した.

3 結果及び考察

3.1 立地条件の異なる土壌中での PAHs の分布量の違い

Table 2 に 2003 年 10 月に同時に採取した 8 か所の採取地の 16 種 PAHs の合計量 (total PAHs), 縮合環の環数ご

Fig. 2 Variation of total and ring number of PAHs concentration in soils since Feb 2003 to Jan. 2004
 ■: Sample No. 9; ▲: Sample No. 10; ▼: Sample No. 11 DATA represent mean $\pm$ S.D.

Table 2 Concentration of total and rings number of PAHs (mean $\pm$ S.D.) at different sites (S. No. 1~8)

Sample No.	Traffic ^{a)}	Vegetation ^{b)}	Concentration (mg/kg soil)					
			Total PAHs	2-ring	3-ring	4-ring	5-ring	6-ring
1	++	—	4.25 $\pm$ 1.18	0.29 $\pm$ 0.07	1.06 $\pm$ 0.29	0.53 $\pm$ 0.17	1.21 $\pm$ 0.27	1.16 $\pm$ 0.39
2	++	—	3.86 $\pm$ 1.31	0.29 $\pm$ 0.05	1.13 $\pm$ 0.32	0.66 $\pm$ 0.44	0.90 $\pm$ 0.15	0.90 $\pm$ 0.36
3	++	+	2.59 $\pm$ 1.53	0.38 $\pm$ 0.22	0.82 $\pm$ 0.69	0.50 $\pm$ 0.29	0.54 $\pm$ 0.30	0.35 $\pm$ 0.25
4	+	+	0.51 $\pm$ 0.13	0.11 $\pm$ 0.02	0.26 $\pm$ 0.04	0.10 $\pm$ 0.03	0.03 $\pm$ 0.04	0.01 $\pm$ 0.01
5	+	+	0.37 $\pm$ 0.12	0.03 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.02	0.08 $\pm$ 0.01	0.15 $\pm$ 0.05	0.05 $\pm$ 0.01
6	—	++	0.25 $\pm$ 0.12	0.06 $\pm$ 0.05	0.08 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.04	0.05 $\pm$ 0.09	0.02 $\pm$ 0.03
7	—	ND	1.07 $\pm$ 0.38	0.35 $\pm$ 0.01	0.47 $\pm$ 0.20	0.12 $\pm$ 0.08	0.10 $\pm$ 0.09	0.03 $\pm$ 0.05
8	—	—	1.05 $\pm$ 0.26	0.20 $\pm$ 0.16	0.63 $\pm$ 0.04	0.10 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.00	0.04 $\pm$ 0.04

a) ++: >5000 cars/day, +: 500~5000 cars/day, -: <500cars/day; b) ++: It is covered the whole surface vegetation, +: 70 % are covered vegetation, -: Less than 50% are covered vegetation, ND: No vegetation

との含有量とそれぞれの地点の交通量, 植生の状況を記号で示した. 交通量が非常に多い都市幹線道路沿いで, total PAHsが多いことが分かる. また, 交通量が多い環境でも植生の有無により大きく total PAHs が異なっていた. 環数ごとの含有量については, 2, 3 環類の分布の大きな特徴はなかった. これは, 揮発性の高い物質群が 2, 3 環類には多く含まれることから土壌への残留性が低く, 大気と土壌を循環しているのではないかと考えられる. 一方, 4 環類以上においては, 交通量が多く, 植生が乏しいほど含有量が多いことが示された. このことは, 4 環以上は土壌への残留性が高いことと, 植物や微生物などの作用で分解されることが示唆される.

3.2 定期採取地での季節変動

次に 1 か月おきの定期採取を行っている近畿大学農学部近郊の 3 か所 (Sample No. 9, 10, 11) における total PAHs 及び環数別に見た PAHs の変動を Fig. 2 に示す. 3 か所とも大きな差はないが, 11 月においては, 第二阪奈有料道路沿い (Sample No. 11) が他の 2 地点と比べ total PAHs が少ない. ($p < 0.01$) これは, 採取地において, 落葉や草本植物の枯死により, 植物遺体が蓄積し始め大気降下物や, 道路粉じんなどが, 直接土壌に接触しにくくなったためではないかと思われる. それらが季節風などの物理的作用や, 微生物などの生物による分解作用により, 除去され始める 1 月にはまた, 他の 2 か所と同じ水準まで戻っている. 環数ごとに見た変化では, 2 環は, 10 月以降に大きく変動しているほかは 3 か所とも大きな差はないのに対し, 4 環及び 5 環類では, 4 月から 7 月と 10 月から 12 月に変動が観察された. また, 3 環類においては, 季節に関係なく他の環数のものに比べ変動が大きかった. これらの結果を踏まえ, 2003 年 2 月から 2004 年 1 月までのそれぞれの環数ごとの含有量について相関係数を算出したものを Table 3 に示す. 4, 5, 6 環類の間にはそれぞれ 0.79 以上の強い正相関があり, 逆に 2, 3 環類と 4, 5, 6

Table 3 Correlation coefficients of different numbers of PAHs (S. No. 8~11)

	2-ring	3-ring	4-ring	5-ring	6-ring
2-ring	—	0.650 ^{a)}	0.348	0.431 ^{a)}	0.414
3-ring		—	0.618 ^{a)}	0.635 ^{a)}	0.592 ^{a)}
4-ring			—	0.796 ^{a)}	0.810 ^{a)}
5-ring				—	0.926 ^{a)}

a) $p < 0.01$

環類との間にはそれほど強い正相関は見られなかった. このことは, 2, 3 環類と 4, 5, 6 環類とは, 別由来, すなわち, 暴露源が異なることを示唆している. 立地条件の異なる環境下での調査 (Sample No. 1~8) では, 4 環以上が交通量の多い地点で含有量が高かったことから, 4 環以上の主な暴露源に関しては自動車などの排気ガス由来ではないかと考えられる. また, 2, 3 環類に関しては揮発性の高さなどから大気由来が多いとは考えられるが, 3 環類と 4, 5 環類との間で 0.6 程度の正相関を示していることから, 3 環類については, 1 つの暴露源だけではなく, 土壌中の有機物の分解過程¹⁴⁾など様々な経路を通して土壌中に残留するのではないかと考えられた.

文 献

- 1) J. V. Pothuluri, C. E. Cerniglia: "Microbial metabolism of cyclic aromatic hydrocarbon", Edited by G. R. Chaundry, p. 92 (1994), (Dioscorides Press, Portland).
- 2) P. M. Pheko, E. C. Thomas: *Int. Biodeterio. Biodeg.*, **50**, 107 (2002).
- 3) A. Dugay, C. Herrenknecht, M. Czok, F. Guyon, N. Pages: *J. Chromatogr. A*, **958**, 1 (2002).
- 4) R. E. LaFlamme, R. A. Hite: *Geochim. Cosmochim. Acta*, **42**, 289 (1978).
- 5) R. Perlmann, O. Pelkonen: *Carcinogenesis*, **8**, 773 (1987).
- 6) X. Leu, T. Korenaga: *J. Heal. Sci.*, **47**, 446 (2001).
- 7) J. W. Hodgeson: "EPA Method 550. 1", p. 143 (1990), (US Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH).

- 8) Z. A. Grosser, J. F. Ryan, J. Dong: *J. Chromatogr. A*, **642**, 75 (1993).
- 9) H. G. Kicinski, S. Adamek, A. Kettrup: *Chromatographia*, **28**, 203 (1989).
- 10) V. B. Manilal, M. Alexander: *Appl. Microbio. Biotech.*, **35**, 401 (1991).
- 11) W. D. Weissenfiels, H. J. Klewer, J. Langhoff: *Appl. Microbio. Biotech.*, **36**, 689 (1992).
- 12) 小田淳子, 西川雅高, 黄業茹, 金浩: 環境化学, **13**, 653 (2003).
- 13) R. O. Daniel, R. M. R. John: *Mar. Chem.*, **86**, 169 (2004).
- 14) 熊田恭一: “土壤有機物の化学”, 第2版, p. 52 (1981), (学会出版センター).