〈ノート〉

底質中のベンゾ(a)ピレンの分布と挙動

Distribution and Behavior of Benzo(a)Pyrene in Sea Sediment

吉川 サナエ*, 佐野 仁*, 頭本 藤雄*, 森田 昌敏**
 Sanae YOSHIKAWA, Hitoshi SANO, Fujio KASHIRAMOTO, Masatoshi MORITA

Abstract

An analytical method for benzo(a)pyrene (B(a)P) in sediment was devised by using high performance liquid chromatography with fluorescent detection. Sample was freeze-dried, extracted into acetonitrile with ultra-sonic vibration and analysed by reverse phase chromatography. Detection was made with fluorescence detector by observing emission intensity at 406nm after the excitation at 366nm. A surveillance in Kawasaki Port revealed that B(a)P concentration is high in the vicinity of petroleum chemistry industries. It was also noticed that some kind of heavy metals such as copper and zinc are correlated to B(a)P level in the sediment.

1. 緒言

底質中に、どのような有機汚染物質が、どのような濃度で残留しているかを知ることは、その汚染物質の環境中の動態を知るうえで重要であると同時に、その汚染物質の生分解性や蓄積性についての情報が得られるという点で重要である。

川崎港は、石油化学工業プラントを中心とした各種の工業プラントを内包し、また、多摩川が流入しており、その海底質は、多様な汚染物質を含んでいると思われる興味ある試料である。この底質について、既知汚染物質の定量と分布状態、汚染物質のGC-MSによる検索、あるいは、重金属汚染との関連等を調べることににより有機汚染物質の総合的な調査研究を実施することとした。

最初に取り上げた汚染物質は、ベンゾ(a)ピレン (B(a)P) である。

B(a)Pは、強発がん性物質として知られおり、海域環境中にも広くその存在が認められるようになっている。

^{1) 2)} B(a)Pは、多くのルート、たとえば石油廃油、下水、

工業プラントからの排水、道路からの流水、大気からの降下を通し、海に流れこみ、底質に蓄積されると思われる。したがって、海底質の分析は、海域の環境汚染を知る手がかりとなると考えられる。

今まで用いられてきた分析方法は、ソックスレー抽出、^{3) 4)}あるいは、アルカリ分解法により抽出し、アセチル化セルロースカラムクロマトグラフィー、^{2) 5)}二層一次元薄層クロマトグラフィー³⁾、ゲルクロマトグラフィー⁶⁾、アルミナカラムクロマトグラフィー^{2) 7)}、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等にて分離後、分光蛍光光度計により測定するものであった。一方、高速液体クロマトグラフィーは、最近、多環芳香族炭化水素化合物の分離に威力を発揮することが報告されており、⁸⁾ 適当な波長を選択することによって、蛍光検出器により高感度にB(a)Pを測定することが可能である。

今回、高速液体クロマトグラフィーに蛍光検出器を取りつけ使用した分析方法を検討し、川崎港内の底質を分析し、その分析状態についての知見が得られたので報告

* 川崎市衛生研究所 〒210 川崎市川崎区大島5-13-10 Public Health Research Institute of the City of Kawasaki. (5-13-10 Oshima, Kawasaki-ku Kawasaki-Shi, Japan 210)

** 国立公害研究所 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16-2, National Institute for Environmental Studies. (16-2. Onogawa, Yatabe-machi, Tsukuba-gun Ibaraki, Japan 305)

する。

2. 実験方法

(1)試薬 η -ヘキサン, アセトン, ベンゼン, アセトニトリルは残留農薬分析用, ジメチルスルホキシド (以下DMSOと略す) B(a)Pは特級試薬, アルミナはメルク製 Precoated HF 254. 厚さ 0.25 mm を使用した。

(2)試料の採取 昭和52年4月～6月および昭和54年5月に, グラビティ-コアサンプラーにより採取した。底質の表層 (0 m) と中層 (1 m) で, おおの約10 cm を垂直採取し試料とした。採取場所を Fig. 1 に示す。

(3)装置および器具 高速液体クロマトグラフ: ウォータース社製高速液体クロマトグラフに蛍光検出器 (日立 MPF-4 型) を取り付け使用した。超音波発生装置は, ヤマト科学社製 (超音波出力 100 W, 共振周波数 45 kHz) を用いた。

(4) 試料溶液の調製: (a)液々分配-薄層クロマトグラフィーによるプレクリーンアップ: 凍結乾燥させた試料 1 g を分液漏斗に採り, これに η -ヘキサン-アセトン (1:1) 混液 20 ml を加え 20 分間振とう抽出後, 高速遠心器により遠沈させた。有機溶媒層を KD 濃縮器で 5 ml に濃縮し, それを DMSO 5 ml で 3 回抽出した。これに水 30 ml を加え, η -ヘキサン 10 ml で 2 回抽出し, 抽出液を合せ, 水 20 ml で 3 回洗浄し, 脱水後, 5 ml に濃縮し, さらに窒素ガスを通し 100 μ l に濃縮した。それをアルミナ薄層板にスポットし, η -ヘキサン-ベンゼン (2:1) 混液で展開, かきとり後, アセトニトリル 5 ml で抽出し, それを蛍光検出器付高速液体クロマトグ

ラフに注入した。

(b)液々分配-ゲルクロマトグラフィーによるプレクリーンアップ: (a)法と同様, η -ヘキサン-アセトン混液で抽出, 濃縮後, イソプロパノール 10 ml に溶かし, 1 ml に濃縮後, セファデックス (LH 20) カラムにより展開し, さらに 1 ml に濃縮し蛍光検出器付高速液体クロマトグラフに注入した。

(c)プレクリーンアップを省略した抽出法: 凍結乾燥させた試料 1 g にアセトニトリル 5 ml を加え, 超音波抽出を 10 分間行った。これを濾過し, 残った底質を同様に超音波抽出を行い, 先のアセトニトリル層と合せ 10 ml とし, 蛍光検出器付高速液体クロマトグラフに注入した。

(5)高速液体クロマトグラフィーの条件: カラムは, ウォータース社製マイクロボンダパック C18 (ϕ 3 mm $\times$ 300 mm), 溶離液は, アセトニトリル+水 (70+30) を使用し, 流量 2 ml/min, 圧 1 $\times$ 1000 psi で作動させ, 検出器は励起波長 (Ex. W. L.) 366 nm, 発光波長 (Em. W. L.) 406 nm で作動させた。

(6)重金属の分析: Hg: 硫酸 10 ml, 硝酸 10 ml で分解後, JISK 0102 による還元気化法にて測定。Ni, Zn, Mn, Fe, Cu, As, Pb, Cd, V: 硝酸一過酸化水素 (1:1) 混液で分解後, IN 塩酸で抽出し, Ni, Zn, Mn, Fe, Cu はフレイム原子吸光法, AS は DDTC-銀法, Pb, Cd, V はフレイムレス原子吸光法で測定した。用いた試薬は, すべて特級試薬, 原子吸光は NIPPON Jarrel-Ash AA 8500 および FLA100 を使用した。測定波長は, Ni 232.0 nm, Zn 213.8 nm, Mn 279.5 nm, Fe 248.3 nm, Cu 324.8 nm, Pb 283.3 nm, Cd 228.6 nm,

Fig. 1 Sampling locations of kawasaki Port

Fig. 2 Chromatograms of standard and sediment Sample

Fig. 3 Emission and Excitation Spectra of B(a)P Corresponding Fraction

— Sediment sample
 B(a)P S standard

V 318.5 nm であり、フレイムレス原子吸光法における、乾燥、灰化、原子化の条件は、おのおの Pb 20 A, 20 sec, 50 A, 40 sec, 180 A, 7.5 sec, Cd 20 A, 20 sec, 40 A, 40 sec, 150 A, 7.5 sec, V 30 A, 40 sec, 80 A, 30 sec, 320 A, 12 sec で測定した。

(7) 強熱減量の分析：試料 10 g をるつばに入れ、110℃

で乾燥後、電気炉にて 600℃ 2 時間強熱し、減量を求めた。

3. 結果および考察

3.1 分析法の検討

B(a)P の標準液を高速液体クロマトグラフに注入し、

検量線を作成した結果、検出限界は 10 pg であり、検量線は 10 pg から 5000 pg までの範囲にわたり直線性を示した。

次に、実際の底質試料を高速液体クロマトグラフィーで分析する前に、クリーンアップが必要であるかどうかについて検討した。(4)(a)で述べた分配-TLCを用いたクリーンアップ法の検出限界は 1 ppb で通常の分析充分利用できるものと思われる。しかし、回収率が平均 85 % でかなり値がばらつくという欠点がある。この原因は薄層クロマトグラフィーを用いたため回収が不十分であったと考えられる。また、このために分析に多くの時間を要することになる。このようなクリーンアップを省略できるかどうか若干の検討を加えた。Fig. 2 に粗抽出物(B)とクリーンアップした試料(C, D)のクロマトグラムを示す。実試料では、B(a)Pのピークの立ち上がりがやや太くなっており、少量の成分がピーク位置に混入している可能性を示しているが、このようなパターンはクリーンアップを取り入れてもほとんど同じであった。また、高速液体クロマトグラフィーのB(a)P相当ピークの蛍光スペクトルは、Fig. 3 に示すように極めて類似してい

Table 1 Recoveries of B(a)P added to sediment

Added (Pg)	Found (Pg)	Recovery (%)	
0	260.4		
200	406.3		88.2
200	443.8		96.4
200	458.3		99.5
200	443.4		96.3
200	452.5		98.3
		mean	95.7
		c.v.	4.13 %

た。これらのことは、TLCによるクリーンアップは実際に必要でなく、むしろ超音波振動による抽出液を高速液体クロマトグラフに注入し分析の方が精度の上から良いことを示している。

本法において、底質試料 1 g (乾燥重量) に 200 pg の B(a)P を添加し、(4)(c)法によって回収率を求めた結果を Table 1 に示す。これより、回収率は平均 95.7 %、変動係数 4.13 % で良好であった。したがって、以後の調査には、抽出液をそのまま分析する方法を用いた。

3.2 川崎港内底質中のB(a)P

川崎港内底質の採取地点を 7 つのブロックに分け、B(a)P 濃度の平均値を求めた結果を Table 2 に示す。ブロック 1.6 の表層が平均 144.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ・331.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ で高濃度であった。汚染の認められない堆積物の値は、平

Table 2 Concentration of B(a)P in sediment

Block No.	Location	Concentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	
		Arithmetic mean	(min max)
1	1 2 3 4 5	Om	144.3 (80.5 ~ 188.7)
		-Im	37.1 (21.3 ~ 70.7)
2	6	Om	26.3
		-Im	2.33
3	7 8 9	Om	3.89 (2.41 ~ 5.80)
		-Im	4.10 (2.34 ~ 14.0)
4	10 11 12 13 14 15	Om	1.46 (N.D. ~ 3.52)
		-Im	0.78 (N.D. ~ 2.35)
5	16 17 18 19 20 21	Om	43.8 (5.89 ~ 150.1)
		-Im	3.13 (N.D. ~ 5.87)
6	22 23 24 25 26	Om	331.8 (21.1 ~ 134.7)
		-Im	89.1 (1.06 ~ 305.6)
7	27 28 29 30	Om	91.8 (1.05 ~ 234.2)
		-Im	10.6 (1.06 ~ 22.5)

Table 3 Coefficient of correlation between B(a)P and heavy metals

Heavy Metals		Regression Analysis	
Cu	Om	$r=0.94$	$y = 1.51x - 66.3$
	-Im	0.72	$0.92x - 28.9$
Zn	Om	0.87	$0.53x - 60.9$
	-Im	0.91	$0.38x - 33.7$
Ni	Om	0.73	$8.95x - 202$
Hg	-Im	0.85	$86.1x - 4.89$
Pb	-Im	0.78	$0.89x - 17$
Mn	Om	-0.74	$-0.68x + 416$
Fe	Om	-0.81	$-21.3x + 855$

※ x = heavy metal y = B(a)P

均 3.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ という報告³⁾があるが、それと比較するとこれらの場所では周辺部に特異な汚染源の存在が推定される。また、全体的に中層より表層の濃度が高く、特にブロック 1.5.6.7 においてその差が著しい。このことは、この地域に絶えず多くの B(a)P が供給されているためと考えられる。

次に、B(a)P がどのような化学成分と高い相関性を有しているかを知ることは、底質中の B(a)P の発生源を推定するために重要である。B(a)P と重金属との相関関係を Table 3 に示す。特に Cu, Zn の濃度と高い相関が認められた。また Ni (表層) Hg・Pb (中層) ととも相関が認められ、Mn, Fe (表層) には逆相関が認められた。大気中の B(a)P と Pb・V とは有意な相関を示すという報告^{9) 10)}があるが、Pb に関してはこれと一致した。このこ

とは、Pbの大気放出を伴う燃焼過程等にB(a)Pが一部由来することを示唆している。しかし、その他観察された相関を意味づけることは、B(a)Pと重金属との底質中での、あるいは底質となる過程での分解、蓄積等の挙動が複雑であるため、今後の課題であると考ええる。

4. 結 論

底質中のB(a)Pの分析方法として、アセトニトリルによる超音波抽出、蛍光検出器付高速液体クロマトグラフィーによる分離、定量を試みた結果、検出限界は10 Pg、検量線は10 Pgから5,000 Pgまでの範囲にわたり直線性を示し、また一検体を抽出、定量するための所要時間は約20分と迅速で通常の分析に充分利用できることがわかった。

この方法を用い、川崎港内底質中のB(a)Pの測定を行ったところ浮島町沖が高濃度(80.5～188.7 $\mu\text{g/kg}$)のB(a)Pが検出された。また、全体的に中層より表層の濃度が高かった。重金属との相関を調べた結果、Cu, Zn, Ni, Hg, Pbに有意な相関が認められた。

(原稿受理: 昭和56年10月31日)

— 引 用 文 献 —

- 1) Bruce P. Dunn (1976) Techniques for determination of Benzo(a)Pyrene in marine organisms and sediments. Environmental Science & Technology 10. 1018 - 1021

- 2) R.M.Harrison, R.Perry and R.A.Wellings (1975) Polynuclear aromatic hydrocarbons in raw, potable and waste waters. Water Research, 9. 331 - 346
- 3) 松下秀鶴, 嵐谷奎一, 小谷野道子 (1977) 土砂中の多環芳香族炭化水素の簡易分析法. 大気汚染 11. 352
- 4) 白石慶子, 高島英伍, 白鳥つや子 (1975) 日本薬学会第95年会講演要旨集 p.123
- 5) 富田勲, 斉藤慎一, 中村清治, 村山佳美子 (1977) ベンゾ(a)ピレンに関する研究(第1報) 底質中のベンゾ(a)ピレンの定量, 衛生化学 23. 200
- 6) 沼田一 (1978) 環境汚染物質に対するゲルクロマトグラフィーの応用. 衛生化学 24. 327
- 7) 白石慶子, 白鳥つや子, 坂上米次 (1973) 食品中の多環芳香族炭化水素の定量, 食品衛生学雑誌 14. 173
- 8) 松下秀鶴 (1974) 高速液体クロマトグラフィーおよび薄層クロマトグラフィーの環境中発癌性物質およびその類縁物質分析への応用. 化学の領域 28-2. 118
- 9) 松下秀鶴, 林久緒, 永田正信, 大塚富士雄 (1980) 大気浮遊粒子に含まれる多環芳香族炭化水素と重金属の粒径別組成分布, 大気汚染学会誌 15. 45
- 10) 松下秀鶴, 嵐谷奎一, 林久雄, 永田正信, 市橋正之, 佐藤裕司 (1974) ベンゾ(a)ピレン等による川崎市の大気汚染状況. 大気汚染研究 9. 603

■ 会 告 ■

(p. 63よりつづく)

トリハロメタン生成能を求めた。また、凝集沈殿ろ過、活性炭吸着およびオゾン処理等の浄水プロセスにつき、それぞれの処理水中有機物の分子量分布が異なること、および分子量の大きい物質ほどトリハロメタン生成量が大きいこと、また、浄水処理のためのプロセスをトリハロメタン生成能という見地から選択する必要性を明かにしたもので、浄水方法の選択についての新しい見方を示すとともに、トリハロメタン生成機構に関し多くの知見を

加えた。研究成果の有する意義、論理構成の妥当性からみて受賞に値する論文である。

- 4) 第1回通常総会資料について
通常総会提出資料を審議し、これを決定した。
- 5) IAWPRワークショップの開催について
IAWPRワークショップを1984～85年に開催する方向で検討することとした。