

酸化多層カーボンナノチューブを
固相抽出剤とする多環式芳香族炭化水素類の
予備濃縮・定量法の開発

平成 22 年度
三重大学大学院 工学研究科
博士前期課程 分子素材工学専攻
生物機能工学講座 409M317
研究領域 F：先進物質・先進材料
分析環境化学研究室
大野 広喜

目次

第1章 序論	
1-1 多環式芳香族炭化水素類(PAHs)	1
1-2 予備濃縮法	3
1-3 固相抽出剤	3
1-4 分析機器	5
1-5 本研究の意義・目的	5
第2章 実験	
2-1 試薬	6
2-2 実験装置	7
2-3 分析機器	7
2-4 実験操作	8
第3章 結果と考察	
3-1 固相剤(MWCNTs)量の影響	12
3-2 バックフラッシュ法における固相剤(MWCNTs)の量の影響	19
3-3 表面処理を施した固相剤の影響	26
3-4 溶出液の影響	28
3-5 pHの影響	35
3-6 検量線	49
3-7 本法の特性	55
3-8 実試料への応用	57
3-9 吸着機構	61
第4章 結論	62
参考文献	63
謝辞	65

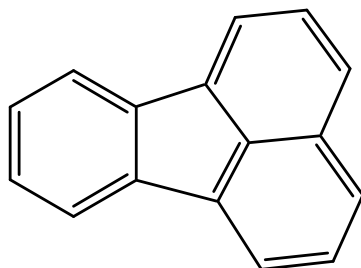
第 1 章 序論

1-1 多環式芳香族炭化水素類(PAHs)

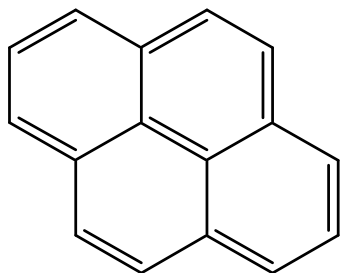
PAHs は 2 つ、もしくはそれ以上の芳香環を含む有機化合物である。またいくつかの種類は可溶性を示すが、その大半は不溶性であり、環境中では、浮遊物質とされている。水系と陸系の両方の食物鎖を通じ、人体に濃縮されることができ¹⁾²⁾、発ガン性³⁾や DNA を損傷させるといった変異原性⁴⁾⁵⁾⁶⁾をもたらす特性があることから、世界中で注意が払われている。特に芳香環の数が 4 以上になると分解性が低くなり、人体に悪影響を及ぼすとされている。PAHs は、有機物質(化石燃料など)の不完全燃焼や熱分解により形成することから、どこにでも存在する偏在的な汚染物質とされている。PAHs は 100 以上あるが、その中でもアメリカ環境保護局(EPA)は 16 の多環式芳香族炭化水素類を重要汚染物質と選択している⁷⁾⁸⁾。それは、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[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[k]フルオランテン、ベンゾ[a]ピレン、ジベンゾ[a,h]アントラセン、インデノ[1,2,3-cd]ピレン、ベンゾ[g,h,i]、ペリレンである。その中から、本研究ではフルオランテン、ピレン、ベンゾ[a]アントラセン、ベンゾ[b]フルオランテン、ベンゾ[k]フルオランテンを目的物質として選んだ。

以下に本研究で目的物質とした PAHs の構造を 1-1-1 から 1-1-5 に示す。

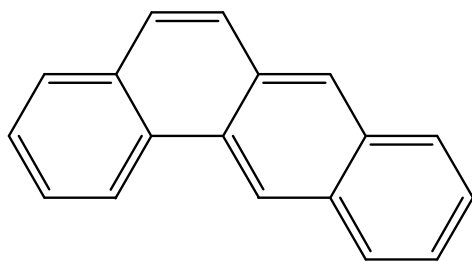
1-1-1 フルオランテン(Fl)



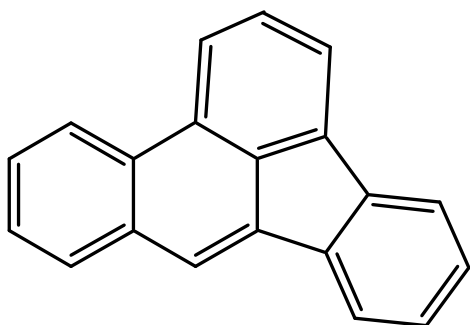
1-1-2 ピレン(Py)



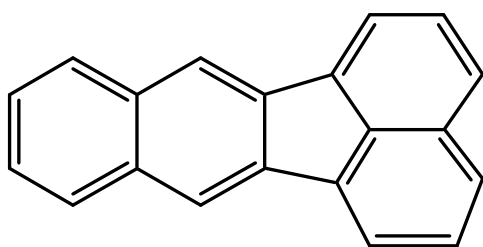
1-1-3 ベンゾ[a]アントラセン (BaA)



1-1-4 ベンゾ[b]フルオランテン (BbF)



1-1-5 ベンゾ[k]フルオランテン (BkF)



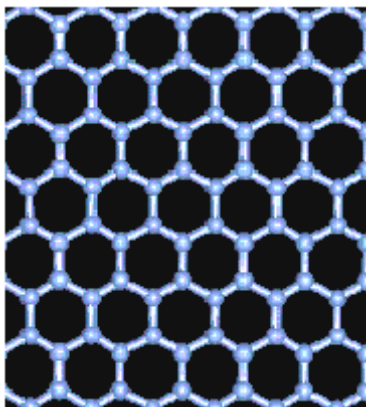
1-2 予備濃縮法

環境中に微量レベルでしか存在しない PAHs を定量するためには、測定の前に前処理として試料の濃縮を行い、濃度を高める必要がある。その手法には、液-液抽出⁹⁾¹⁰⁾、液相マイクロ抽出(LPME)¹¹⁾¹²⁾、連続フローマイクロ抽出¹³⁾、メンブラン-溶媒抽出¹⁴⁾、半浸透膜装置(SPMD)¹⁵⁾、曇り点抽出(CPE)¹⁶⁾¹⁷⁾、固相抽出(SPE)¹⁸⁻²¹⁾、固相マイクロ抽出(SPME)²²⁻²⁴⁾、スターバー抽出(SBSE)²⁵⁾²⁶⁾がある。その中で最も一般的に用いられている手法は SPE である。それは高い回収率、抽出時間が短いこと、高い濃縮係数、少ない有機溶媒で実験を行えること、操作が単純で容易なことといった利点があるためである。そのため、本研究でも抽出法に SPE を選んだ。

1-3 固相抽出剤

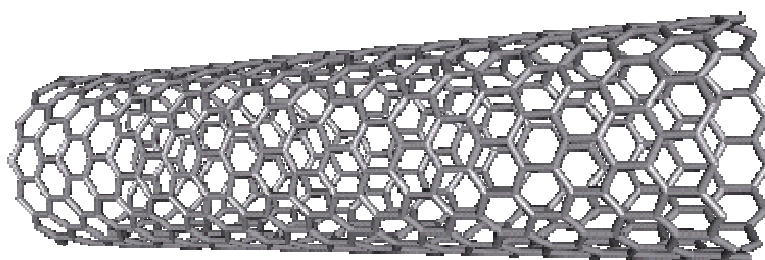
従来、固相吸着剤にはシリカ、アルミナ、フロリジル、ポーラスポリマー、炭素系、シリカ、シリカ含有の濾紙やガラス濾紙などが用いられている。また現在も SPE 予備濃縮の応用のために新しい物質の研究が注目を集めている。その中で、炭素系で特異的な特性を持つカーボンナノ物質に焦点が当てられている。

カーボンナノチューブは(CNTs)は 1991 年に飯島氏によって初めて発見された。それは、フラーレン作製でのアーク放電の陰極に注目したためであった。CNTs はグラフェンを丸め、円筒状にした構造であり、単層 CNTs(SWCNTs)と多層 CNTs(MWCNTs)に分けられる。SWCNTs はグラフェンを丸めた一層の構造をしていて、MWCNTs はバームクーヘンのように何層も重なっている。Fig. 1-3(a)にグラフェン、Fig. 1-3(b)に SWCNTs を示す。その中で、MWCNTs は、フェノール化合物²⁷⁾²⁸⁾、フタル酸エステル²⁹⁾、除草剤³⁰⁻³²⁾、殺虫剤³³⁻³⁷⁾、スルホンアミド類³⁸⁾、ポリ臭化ジフェニルエーテル³⁹⁾、PAHs⁴⁰⁾の有機汚染物質の濃縮にすでに潜在力を発揮している⁴¹⁾。つい最近になり、MWCNTs の表面処理をし、吸着・脱着能力などの特性を改良する研究がされ始めている。



引用 : K.SATOH's official website

Fig. 1-3(a) Graphite structure



引用 : K.SATOH's official website

Fig. 1-3(b) SWCNTs and MWCNTs structure

1-4 分析機器

多くの予備濃縮法は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いている。HPLC は GC-MS に比べて安価でありメンテナンスも GC-MS より容易である。HPLC でも GC-MS でも多数の化合物の同時同定、定量が可能である。しかし、本研究では PAHs が環境中にとっても低濃度で存在すること、また GC-MS が揮発性有機化合物の測定に最適な機器であること、HPLC と比べて ppb や ppt まで検出できるほど高感度であり、はるかに小さい溶出液体積で測定が出来るため濃縮係数を高めることができるという利点を持つ。このような、理由から本研究では GC-MS を用いた。また GC-MS による PAHs の分析に対し、固相抽出剤に硝酸により表面処理を行った OMWCNTs を用いる報告はない。

1-5 本研究の意義・目的

固相剤には、従来シリカ系、アルミナ、活性炭や C18 など炭素系のものが用いられている。また MWCNTs を固相剤として用いた定量法の開発は数多くあり、近年では表面処理をすることで特性を変化させることができると考えられている。そのため、本研究では MWCNTs の表面を硝酸で処理した酸化多層カーボンナノチューブ(OMWCNTs)を固相抽出剤として用い、高感度で簡便かつ迅速な PAHs の予備濃縮、定量法の開発を行った。PAHs の抽出に MWCNTs を用いた報告されているが、OMWCNTs を用いた手法は提案されていない。さらに、現在のところ報告されている PAHs の抽出法は濃縮係数が 100 倍程度であることから、本研ではそれ以上の濃縮係数を得ることを目的とした。

第2章 実験

2-1 試薬

- ・多層カーボンナノチューブ : 東京化成工業 (株)
(diam. 60-100 nm, length 5-15 μm)
(Surface Area \cdots MWCNTs; 43.3 m^2/g , OMWCNTs;47.4 m^2/g)
- ・フルオランテン : 和光純薬工業 (株)
- ・ピレン : 和光純薬工業 (株)
- ・ベンゾ[a]アントラセン : 和光純薬工業 (株)
- ・ベンゾ[b]フルオランテン : 和光純薬工業 (株)
- ・ベンゾ[k]フルオランテン : 和光純薬工業 (株)
- ・D体ピレン : 和光純薬工業 (株)
- ・メタノール : 和光純薬工業 (株)
- ・THF : 関東化学 (株)
- ・ジクロロメタン : ナカライテスク (株)
- ・ヘキササン : 和光純薬工業 (株)
- ・酢酸エチル : 和光純薬工業 (株)
- ・アセトニトリル : ナカライテスク (株)
- ・アセトン : ナカライテスク (株)
- ・メタノール : ナカライテスク (株)
- ・塩酸 : ナカライテスク (株)
- ・硝酸 : ナカライテスク (株)
- ・硫酸 : ナカライテスク (株)
- ・水酸化ナトリウム : ナカライテスク (株)

2-2 実験装置・器具

・マグネティックスターラー		SR50 : (株)東洋製作所
・吸引ポンプ	FTP-10A	: 岩城硝子(株)
・減圧容器	VP-500	: 東洋濾紙(株)
・電子天秤		: (株)島津製作所
・ガラス電極式水素イオン濃度計		: (株)堀場製作所
・47 mm PTFE メンブランフィルター		: 東洋濾紙(株)
・47 mm Mixed cellulose ester フィルター		: 東洋濾紙(株)
・アクアローダー		: ジーエルサイエンス(株)
・エンプティリーザーバー 3 mL		: ジーエルサイエンス(株)
・3 mL リザーバー用フリット		: ジーエルサイエンス(株)
・パスツールピペット		: 岩城硝子 (株)
・47 mm ポリサルホンホルダー		: 東洋濾紙(株)

2-3 分析機器

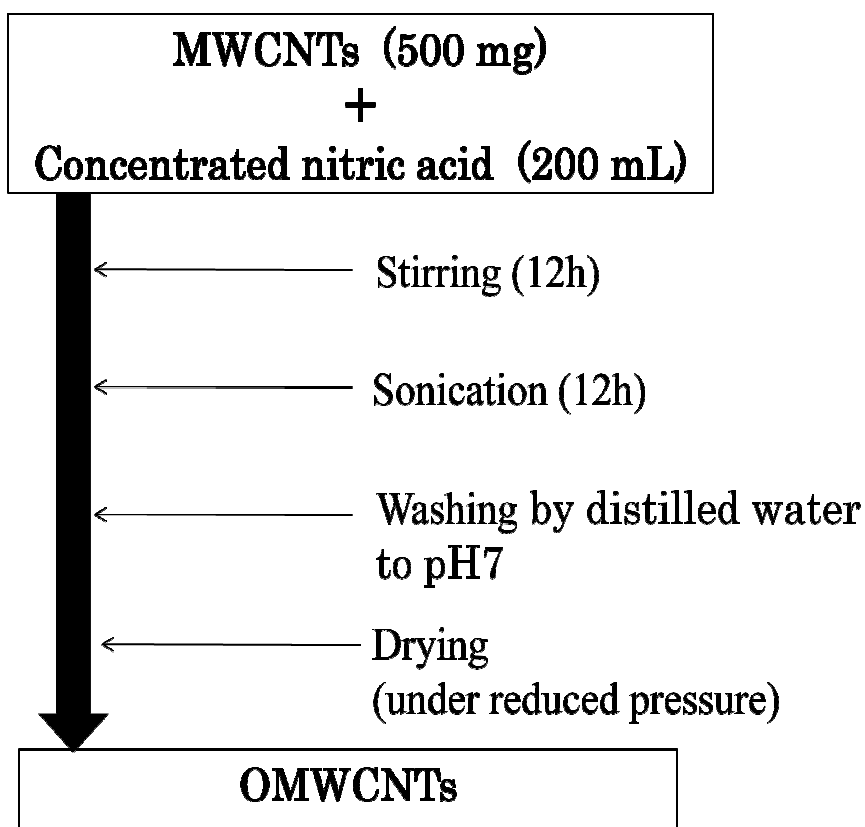
・GC-MS	5050A	: (株) 島津製作所
--------	-------	-------------

2-4 実験操作

2-4-1 酸化多層カーボンナノチューブ

500 mg の MWCNTs を 200 mL の濃硝酸に入れた。その混合溶液を、12 時間攪拌機で拡散させ、さらに 12 時間超音波で拡散させた。その後、47 mm ポリサルホンホルダーと 47 mm PTFE メンブランフィルターでろ過を行いながら、同時にろ液が蒸留水と同等の pH となるまで水洗浄を行った。最後に、一昼夜、減圧乾燥をさせ調整した。そのフローチャートを Fig.2-4-1 に示す。

酸処理を行うことで、C-C 結合が部分的に切れカルボキシル基を形成する⁴²⁾⁴³⁾。



2-4-2 予備濃縮

固相抽出を行う前に、OMWCNTs を充填したカートリッジ(Fig. 2-4-2(a))を、メタノール 5 mL、蒸留水 15 mL で洗浄した。その後、PAHs 試料溶液をカートリッジに一定流速で通水した(Fig. 2-4-2(b))。1 時間、減圧乾燥し、THF で OMWCNTs に吸着した PAHs を逆溶出(バックフラッシュ)させた。溶出液は、さらに窒素気流下で 200 μ L まで濃縮し、分析試料とした。

本濃縮手法では、試料溶液 200mL を最終的に、200 μ L に濃縮するので、OMWCNTs に全ての PAH が吸着し、脱着したとすると最大でそれらの濃縮係数は 1000 となる。

従来の溶出方法である順溶出を Fig.2-4-2(c)、逆溶出であるバックフラッシュ法を Fig.2-4-2(d)に示した。

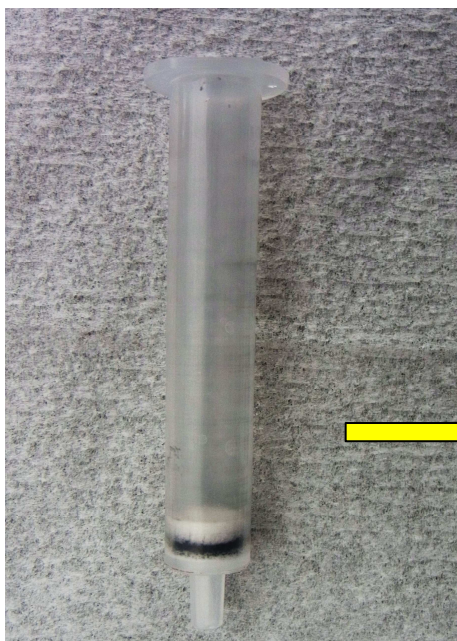


Fig. 2-4-2(a) OMWCNTs cartridge

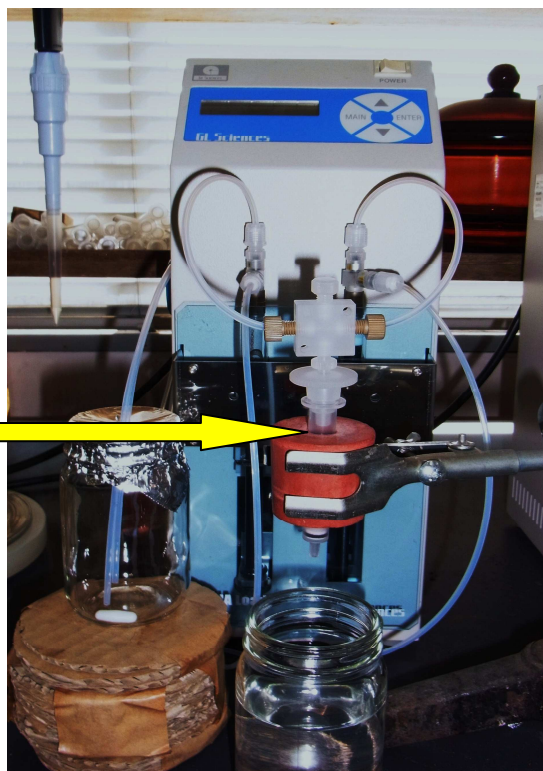
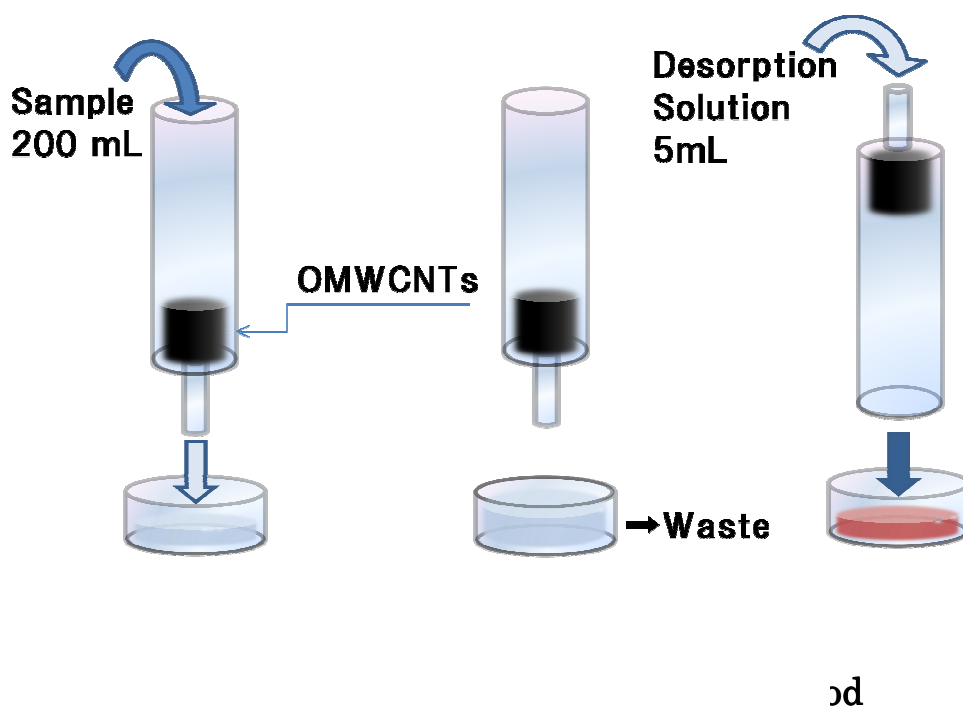
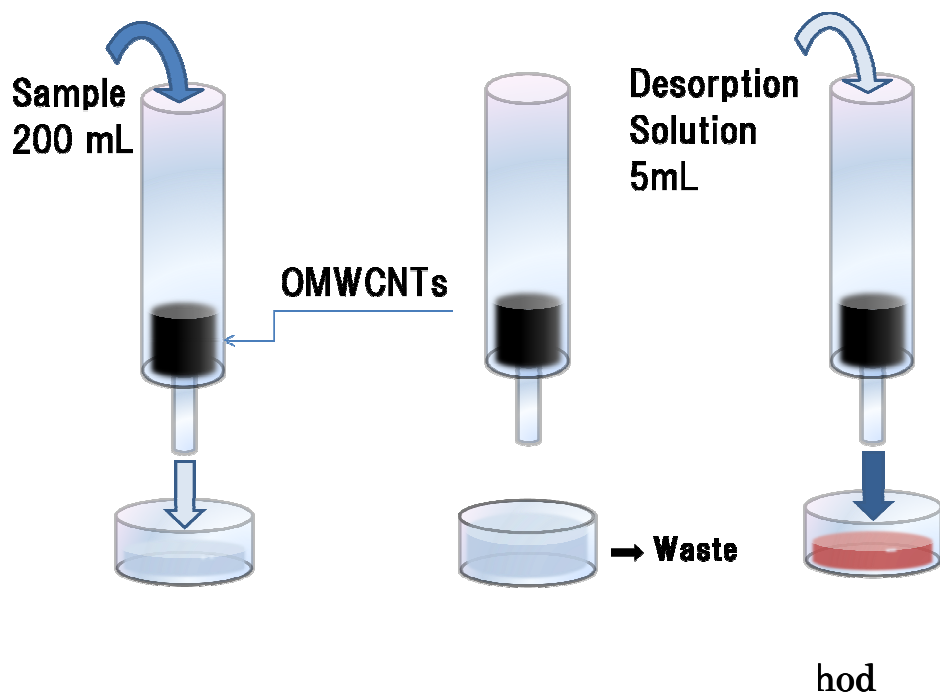


Fig. 2-4-2(b) SPE equipment



2-4-3 分析

得られた分析試料を GC-MS で測定した。この時の分析条件を以下に示す。また、Table.2-4-3 に各 PAHs の同定パラメーターを示し、記載している保持時間、定量イオン質量数、確認イオン質量数を測定に用いました。

GC-MS の測定の際に、同じ試料を測定しても強度に毎回著しい差が見られたため内標準物質として D 体ピレンを用い、目標検体の PAHs と D 体ピレンの強度比で実験を進めた。

分析対象物	: フルオランテン(FI)、ピレン(Py)、ベンゾ[a]アントラセン(BaA) ベンゾ[b]フルオランテン(BbF)、ベンゾ[k]フルオランテン(BkF)
溶離液	: THF
試料注入量	: 1 μ L

Table.2-4-3 Identification parameter of PAHs.

PAHs	Retention time (min)	Quantification ions (m/z)	Confirmation ions (m/z)
FI	18.70	202	101
Py	19.73	202	101
BaA	25.60	228	114
BbF	30.52	252	162
BkF	30.64	252	162
*Py-d10	19.64	212	-

* * * internal standard

第三章 結果と考察

3-1 固相剤(MWCNTs)量の影響

固相剤の量(10、20、30、40、50 mg)と変化させた場合の PAHs の濃縮係数への影響を検討した。実験条件を Table 3-1-(a)に、実験結果を Fig. 3-1-(b)に示す。Fig.3-1-1、Fig.3-1-2、 Fig.3-1-3 、Fig.3-1-4、 Fig.3-1-5 は Fig. 3-1-(b)を見やすく各 PAHs に分けたものとなる(実験条件は Table 3-1-(a)である)。

濃縮係数は Fl と Py が似た傾向を示し、20 mg の時に高い濃縮係数が得られた(Fig. 3-1-1、 Fig. 3-1-2)。また BaA、BbF、BkF の場合、10 mg の時に高い濃縮係数が得られる傾向となった(Fig.3-1-3 、 Fig.3-1-4 、 Fig.3-1-5)。

アセトンを通した時、吸脱着を繰り返し、溶出液として採取することから、固相剤の量が増加することでカラムの層が厚くなり、完全に PAHs を取り除くことが出来なかったと考えられる。また、MWCNTs の層や孔の間に入りこんでしまったのではないかと考えられる。固相剤の量が少ない 10、20 mg では、カラムに充填した MWCNTs の層の厚さが薄いことから吸着が不完全であった。完全に吸着したのは、30 mg からであった。これは、試料をカラムに通水した後の試料溶液を液-液抽出し測定した結果から考えられる。

Table 3-1-(a). Experimental conditions.

Sample solution	: 1 ng/mL, 200 mL
pH	: 6.8
Adsorbent	: MWCNTs, 10-50 mg
Temperature	: Ambient temperature
Flow rate	: 5 mL/min
Eluent	: Aceton, 5 mL

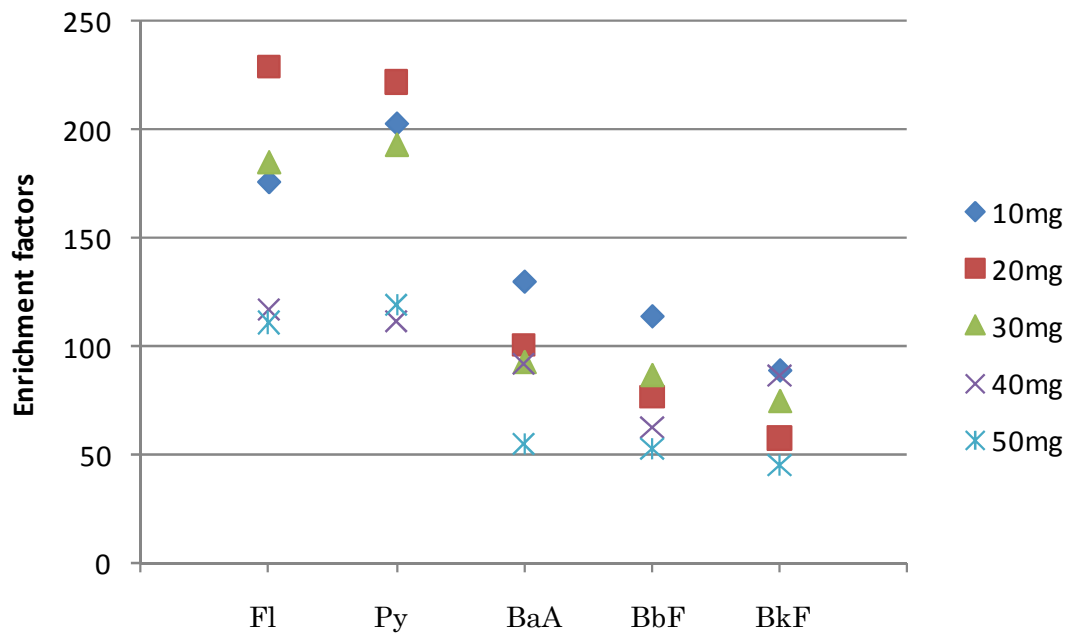


Fig. 3-1-(b). Effect of adsorbent amount.

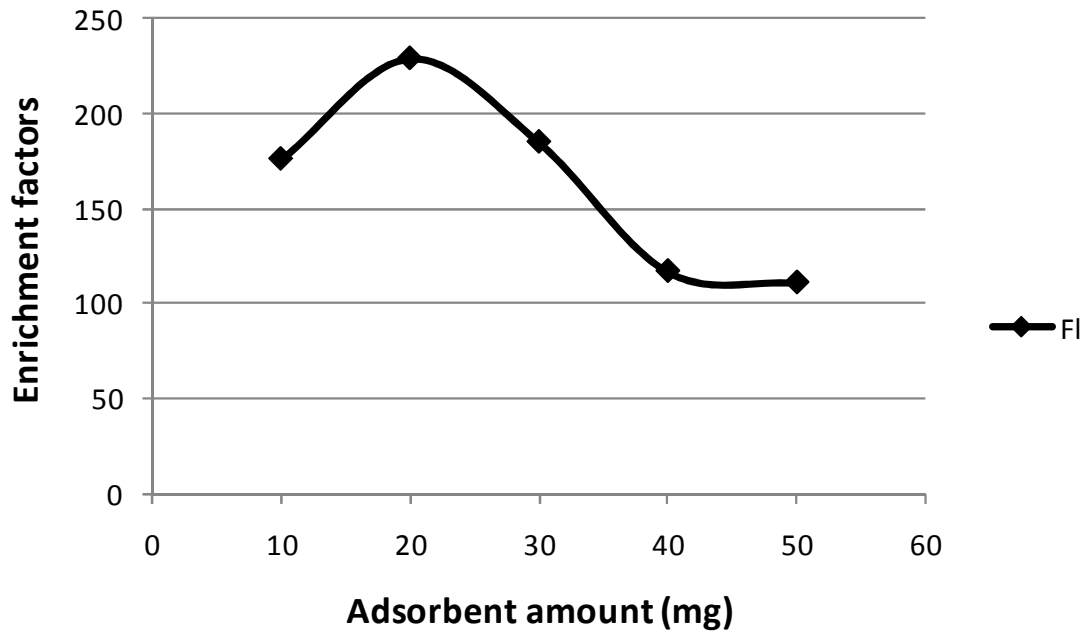


Fig. 3-1-1. Effect of adsorbent amount (FI).

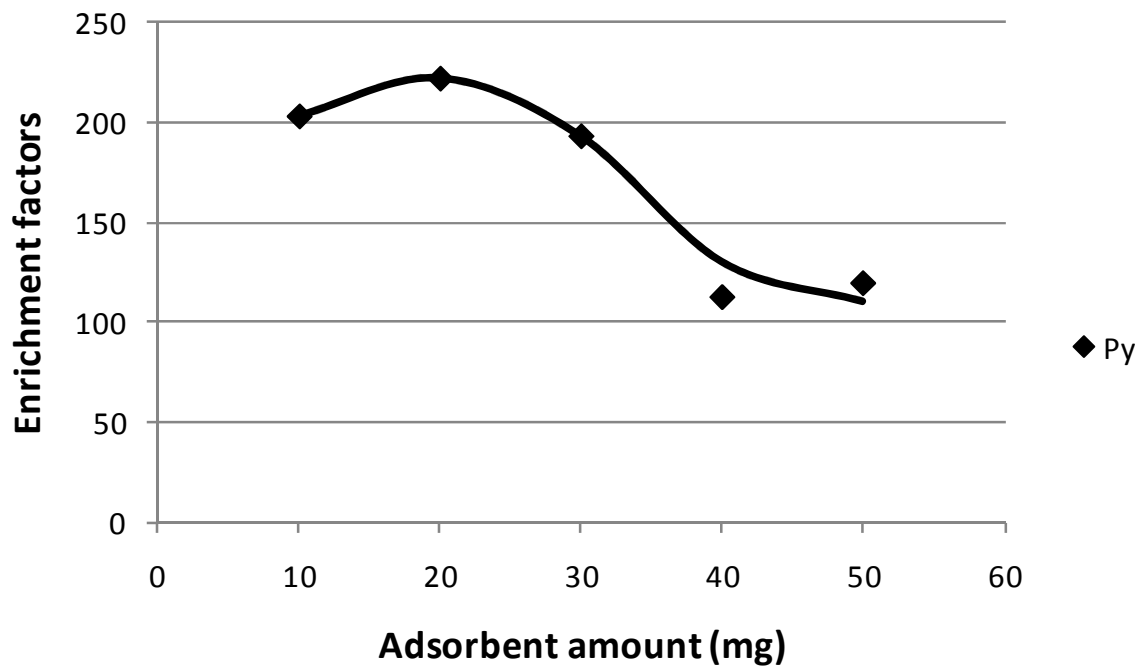


Fig. 3-1-2. Effect of adsorbent amount (Py).

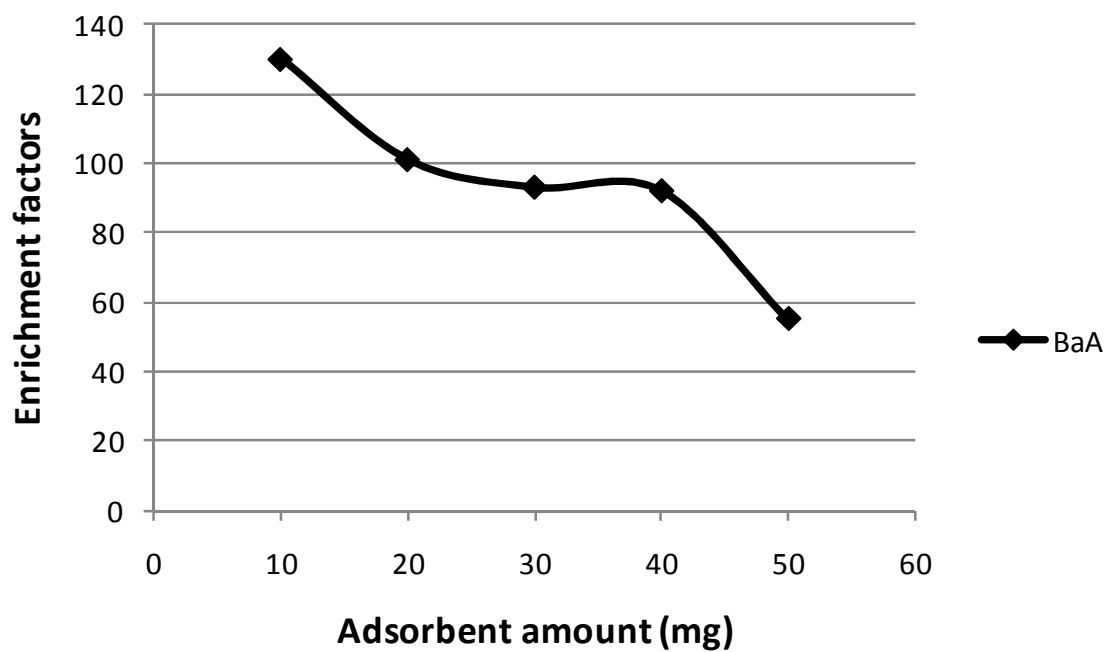


Fig. 3-1-3. Effect of adsorbent amount (BaA).

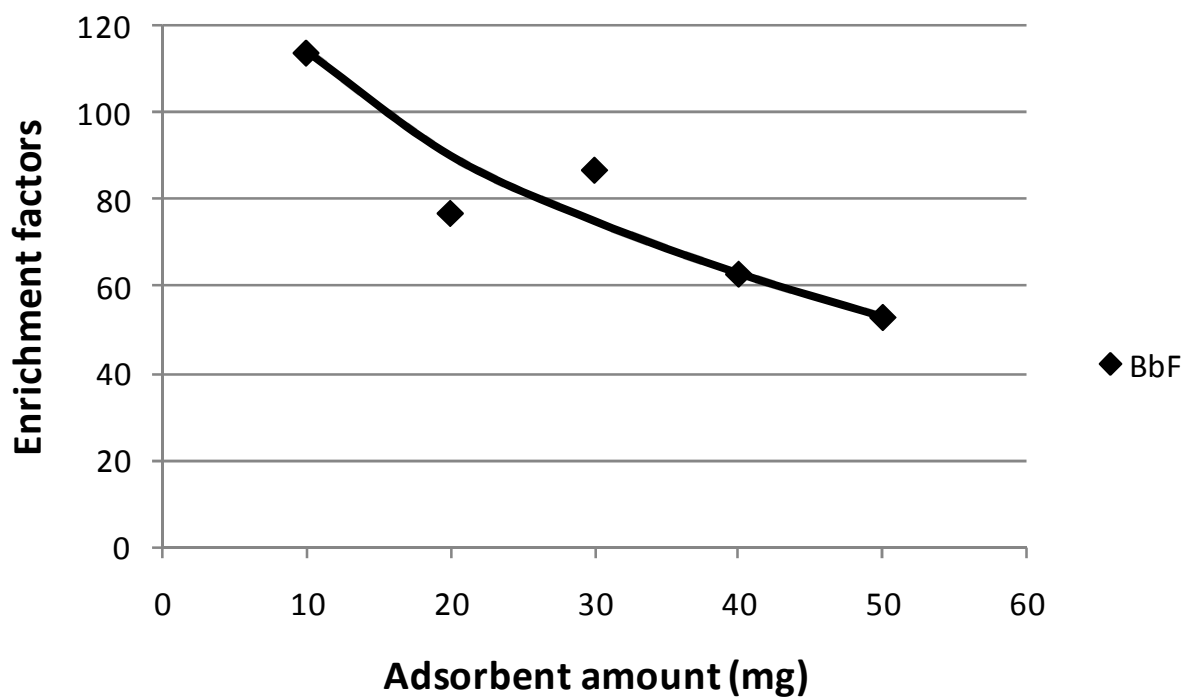


Fig. 3-1-4. Effect of adsorbent amount (BbF).

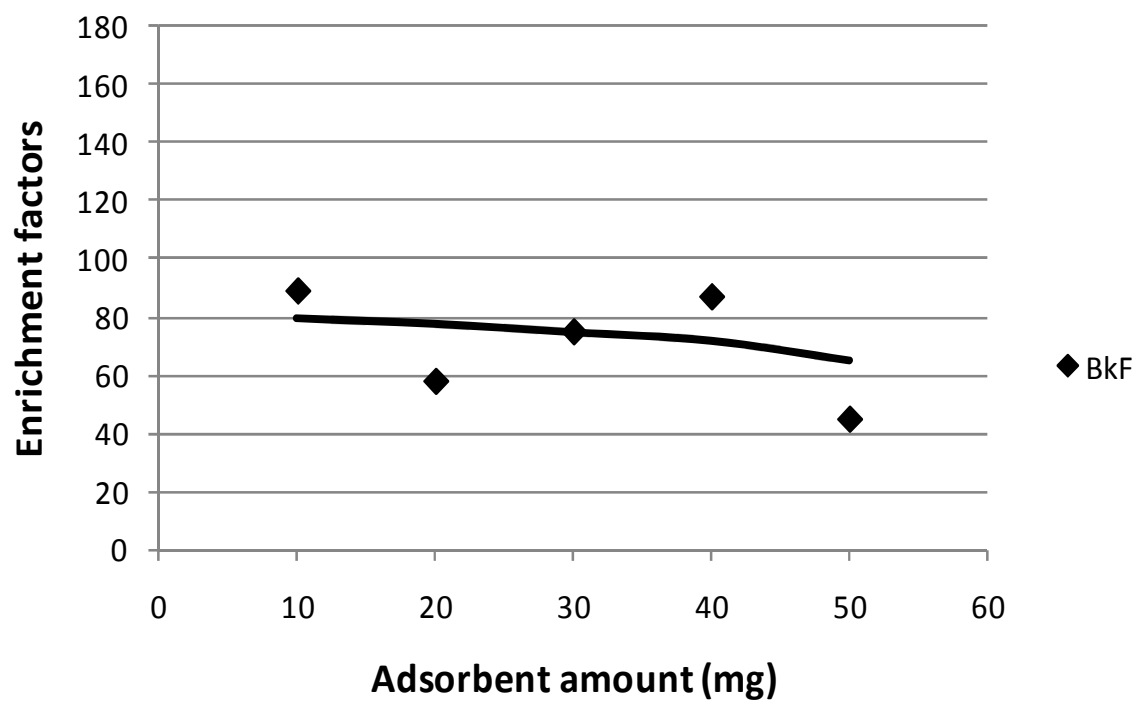


Fig. 3-1-5. Effect of adsorbent amount (BkF).

3-2 バックフラッシュ法における固相剤(MWCNTs)の量の影響

バックフラッシュ法を用い、固相剤の量(10、20、30、40、50 mg)と変化させた場合の PAHs の濃縮係数への影響を検討した。実験条件を Table 3-2-(a)に、実験結果を Fig. 3-2-(b)に示す。また実験条件は Table 3-2-(a)と同じである。Fig.3-2-1、Fig.3-2-2、Fig.3-2-3、Fig.3-2-4、Fig.3-2-5 は Fig. 3-2-(b)を見やすく各 PAHs に分けたものとなる(実験条件は Table 3-2-(b)である)。

この結果、全ての PAH で 3-1 の順溶出の濃縮係数を遥かに上回る結果となった。また、濃縮係数は全て同じ傾向を示し、10-30 mg の時に高い濃縮係数が得られた(Fig. 3-1-1、Fig. 3-1-2、Fig. 3-1-3、Fig.3-2-4、Fig.3-2-5)。

このとき、固相剤の量が増加する(40、50 mg)と濃縮係数が低い値を示した。これは 3-1 で述べたようアセトンを MWCNTs に通した時、吸脱着を繰り返し、溶出液として採取することから、固相剤の量が増加することでカラムの層が厚くなり、完全に PAHs を取り除くことが出来なかったと考えられる。

3-1 の結果と考察も踏まえ、最適な脱着方法と固相剤量はバックフラッシュ法を用いた場合の 30 mg とした。

Table 3-2-(a). Experimental conditions.

Sample solution	: 1 ng/mL, 200 mL
pH	: 6.8
Adsorbent	: MWCNTs, 10-50 mg
Temperature	: Ambient temperature
Flow rate	: 5 mL/min
Eluent	: Aceton, 5 mL

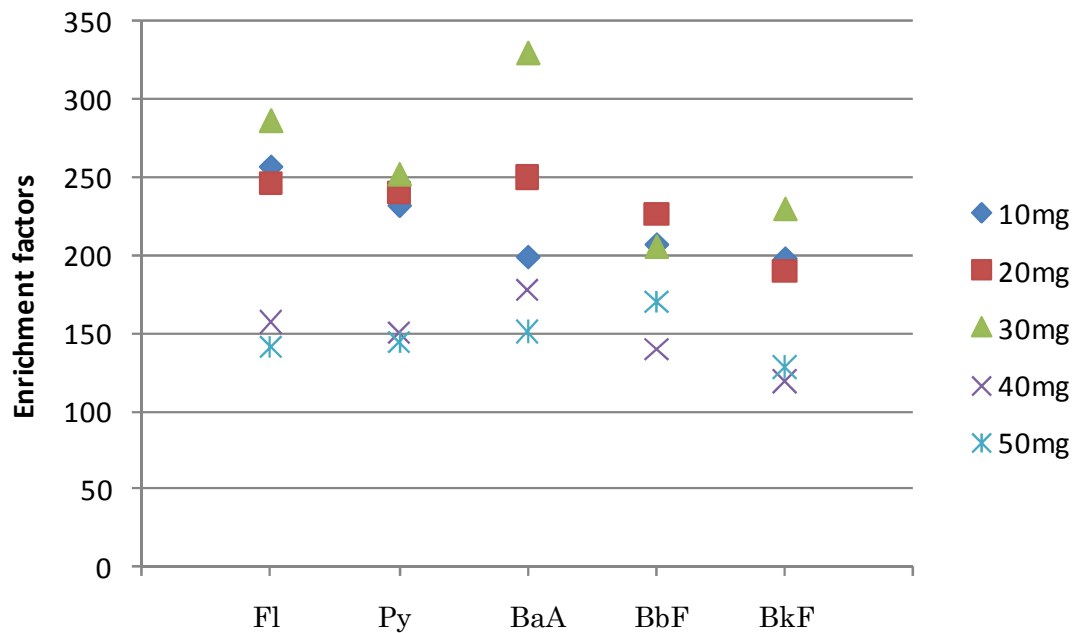


Fig. 3-2-(b). Effect of adsorbent amount by back flash.

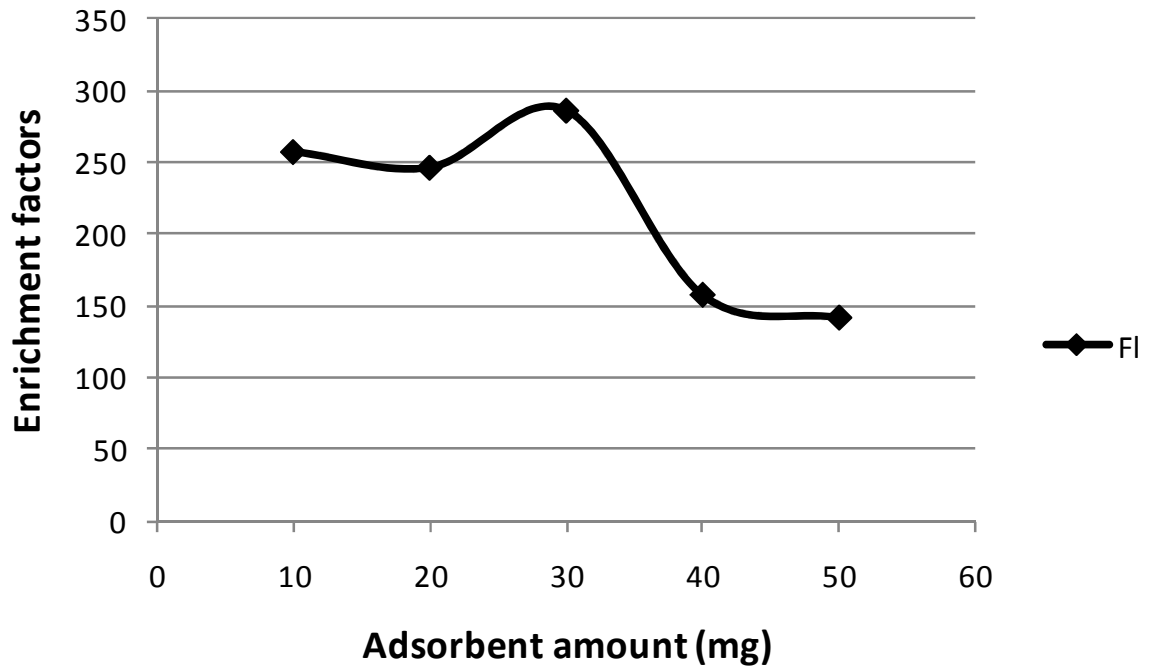


Fig. 3-2-1. Effect of adsorbent amount by back flash (Fl).

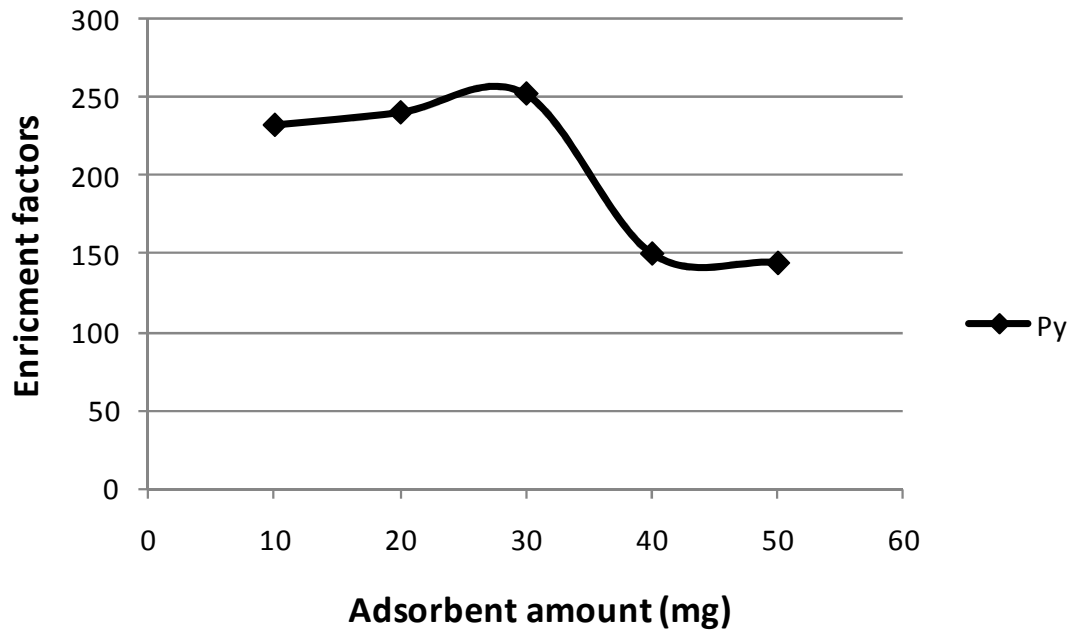


Fig. 3-2-2. Effect of adsorbent amount by back flash (Py).

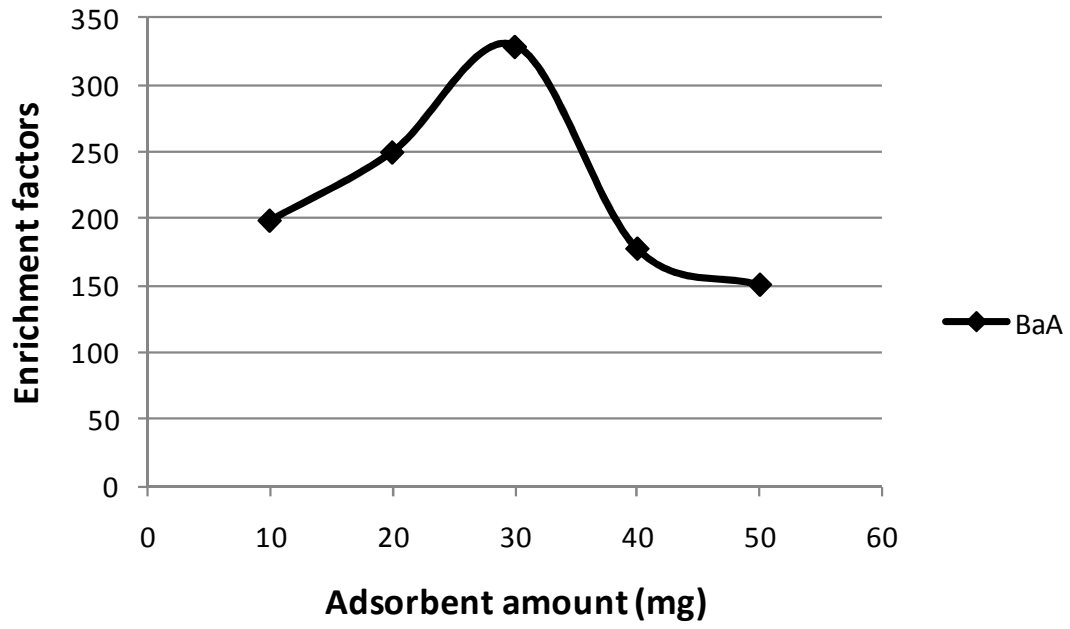


Fig. 3-2-3. Effect of adsorbent amount by back flash (BaA).

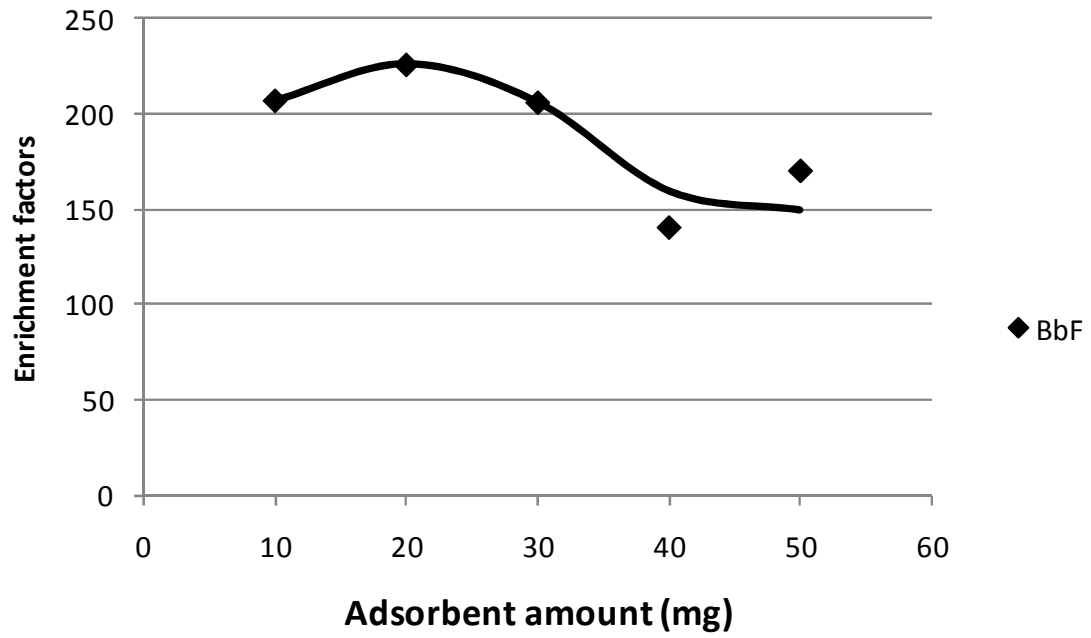


Fig. 3-2-4. Effect of adsorbent amount by back flash (BbF).

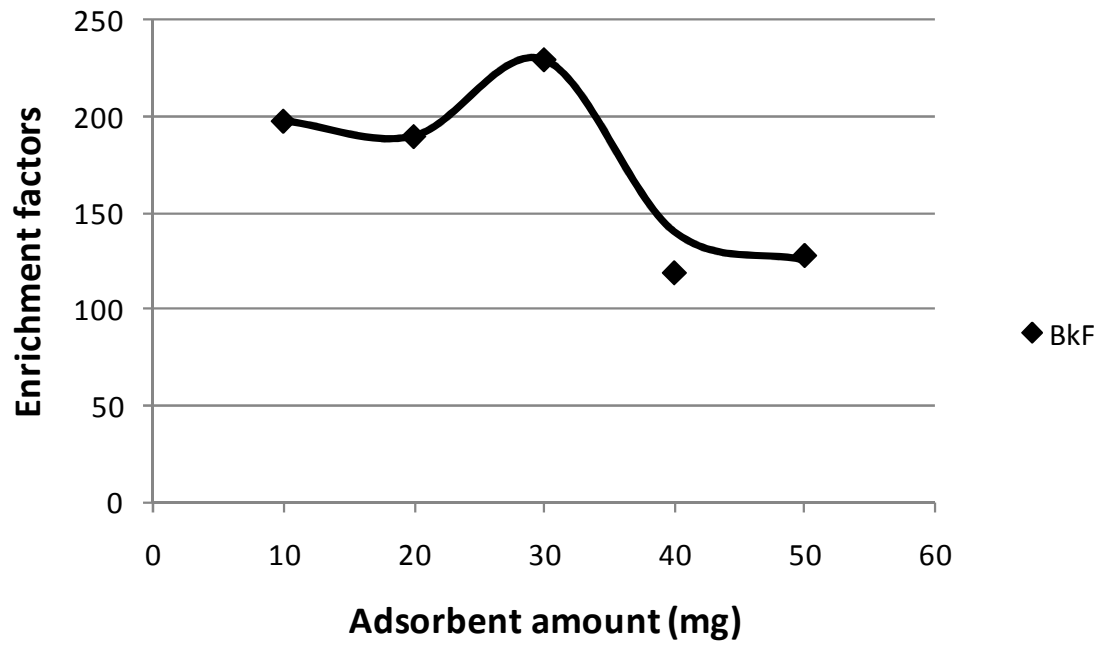


Fig. 3-2-5. Effect of adsorbent amount by back flash (BkF).

3-3 表面処理を施した固相剤の影響

バックフラッシュ法を用い、固相剤を MWCNTs と OMWCNTs を比較し、PAHs の濃縮係数への影響を検討した。固相剤は 10、20、30、40、50 mg と変化させた。実験条件は Table 3-3-(a)に、実験結果を Fig. 3-3-(b)に示す。

この結果、全ての MWCNTs を固相剤として用いた場合よりも OMWCNTs を用いた場合の方が、PAH の濃縮係数を高めることができた。

MWCNTs に試料溶液通水後の試料溶液を液-液抽出で調べたところ、PAHs は完全に吸着しているとわかった。OMWCNTs でも同じ液-液抽出を行ったところ、PAHs は完全に吸着していることがわかった。よって、MWCNTs は吸着力が強く、溶出液であるアセトンでうまく溶出が行われていないと考えられる。それに比べ、OMWCNTs は上記で述べたように、完全に吸着し、脱着後の濃縮係数も MWCNTs を上回っている。このことより、OMWCNTs は MWCNTs に吸着能力が匹敵し、脱着能力を上げることができると考えられる。

以上より、最適な固相剤を OMWCNTs とした。

Table 3-3-(a). Experimental conditions.

Sample solution	: 1 ng/mL, 200 mL
pH	: 6.8
Adsorbent	: MWCNTs, 30 mg OMWCNTs, 30 mg
Temperature	: Ambient temperature
Flow rate	: 5 mL/min
Eluent	: Aceton, 5 mL, Back flash

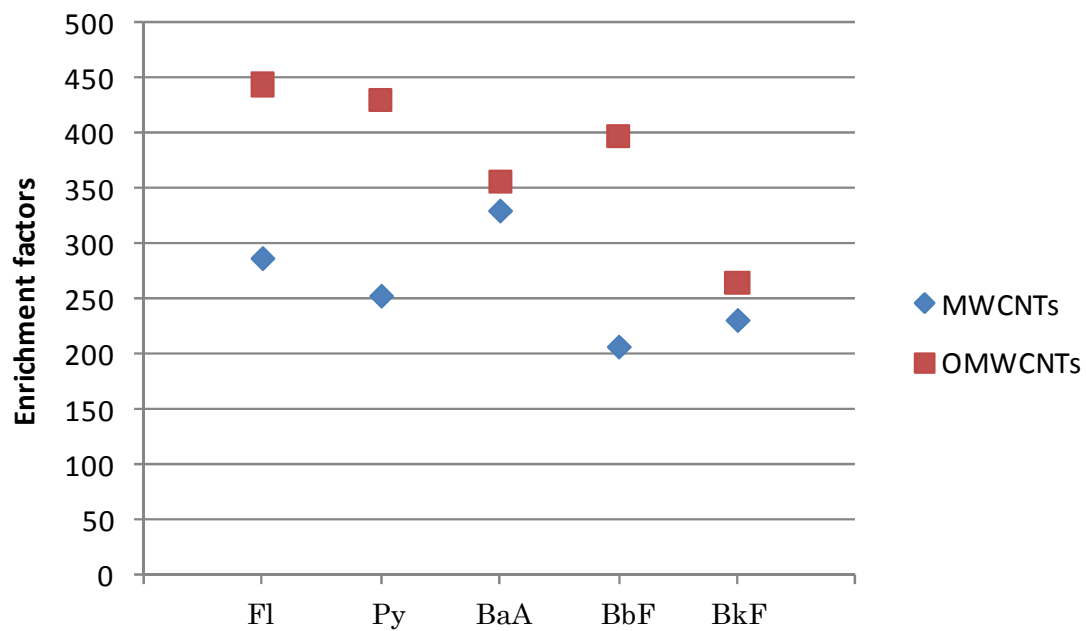


Fig. 3-3-(b). Effect of oxidation treatment of MWCNTs.

3-4 溶出液の影響

溶出液の種類を変化させた場合の PAHs の濃縮係数への影響を検討した。実験条件を Table 3-4-(a)に、実験結果を Fig. 3-4-(b)に示す。各 PAHs に対する溶出液の影響を別々に分けたものを Fig.3-4-1、Fig.3-4-2、 Fig.3-4-3 、Fig.3-4-4、 Fig.3-4-5 に示す(実験条件は Table 3-4-(a)である)。

この結果、THF を溶出液として用いた場合、PAHs の濃縮係数は最も高い数値を示した。また、順にヘキサン、ジクロロメタンで高い濃縮係数が得られた。

この結果から、概ね逆相タイプで良く用いられる THF、アセトンなどが高い濃縮係数が得られる傾向にあり、順相タイプのジクロロメタン、酢酸エチルにおいては濃縮係数が比較的低い濃縮係数であった。しかし、逆相タイプであるアセトニトリルの場合に低い濃縮係数であることや、順相タイプのヘキサンの場合に濃縮係数が高いことから、極性の高低や PAHs との溶解性などの他に OMWCNTs との親和性が関係してくると考えられる。よって、PAHs の濃縮係数が最も高く得られた THF を最適溶出液として選択した。

Table 3-4-(a). Experimental conditions.

Sample solution	: 1 ng/mL, 200 mL
pH	: 6.8
Adsorbent	: OMWCNTs, 30 mg
Temperature	: Ambient temperature
Flow rate	: 5 mL/min
Eluent	: Aceton, 5 mL、 Back flash

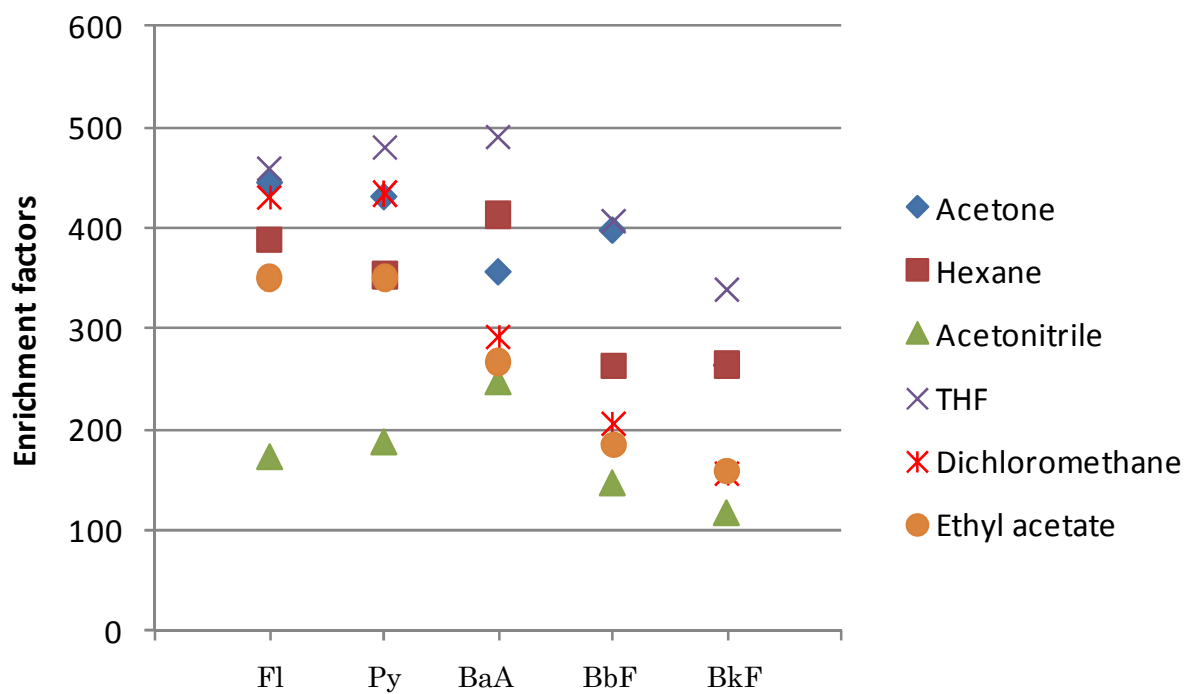


Fig. 3-4-(b). Effect of eluent.

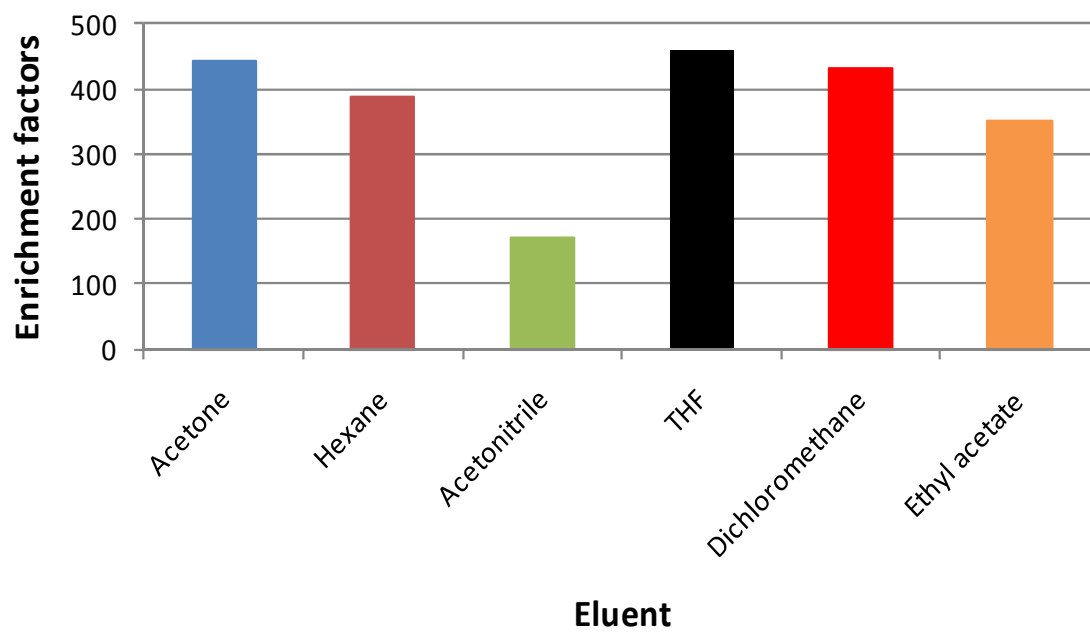


Fig. 3-4-1. Effect of eluent (F1).

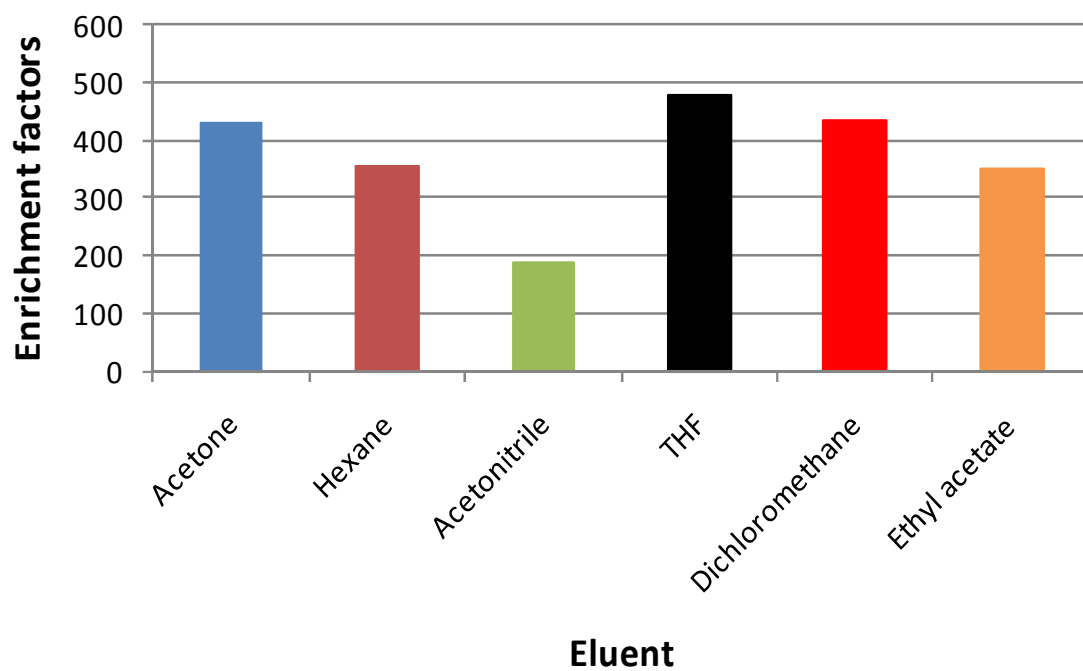


Fig. 3-4-2. Effect of eluent (Py).

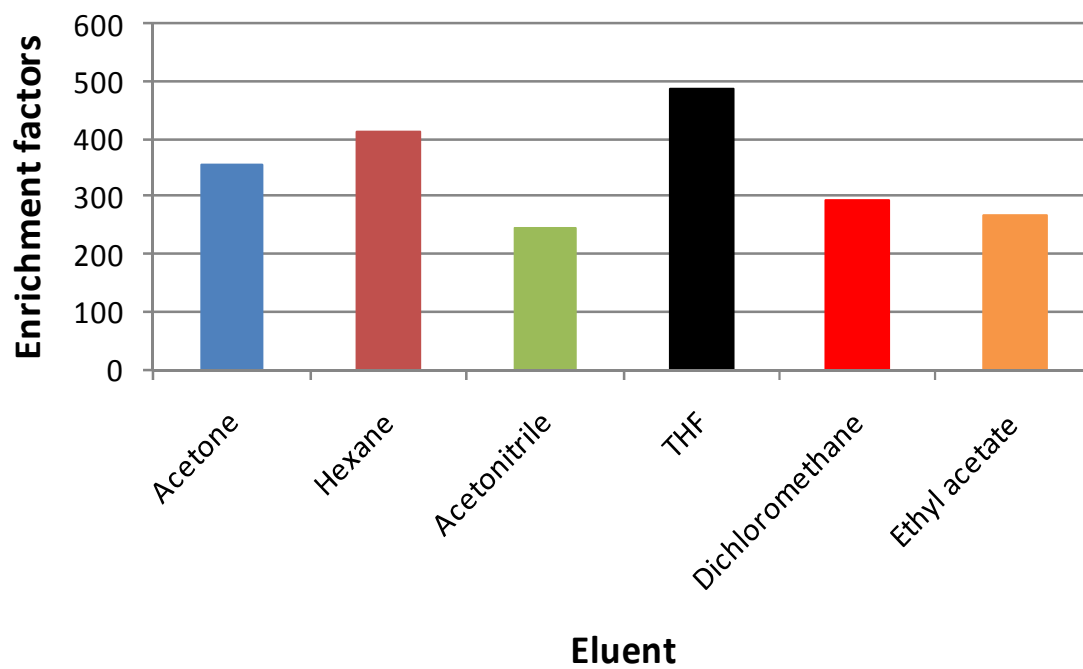


Fig. 3-4-3. Effect of eluent (BaA).

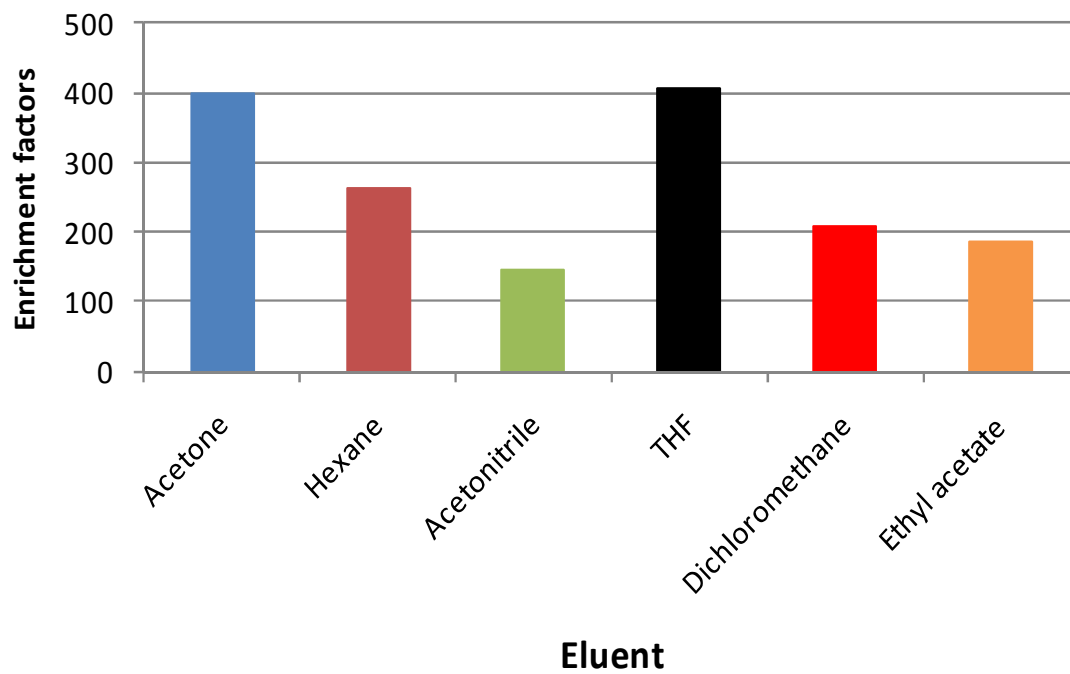


Fig. 3-4-4. Effect of eluent (BbF).

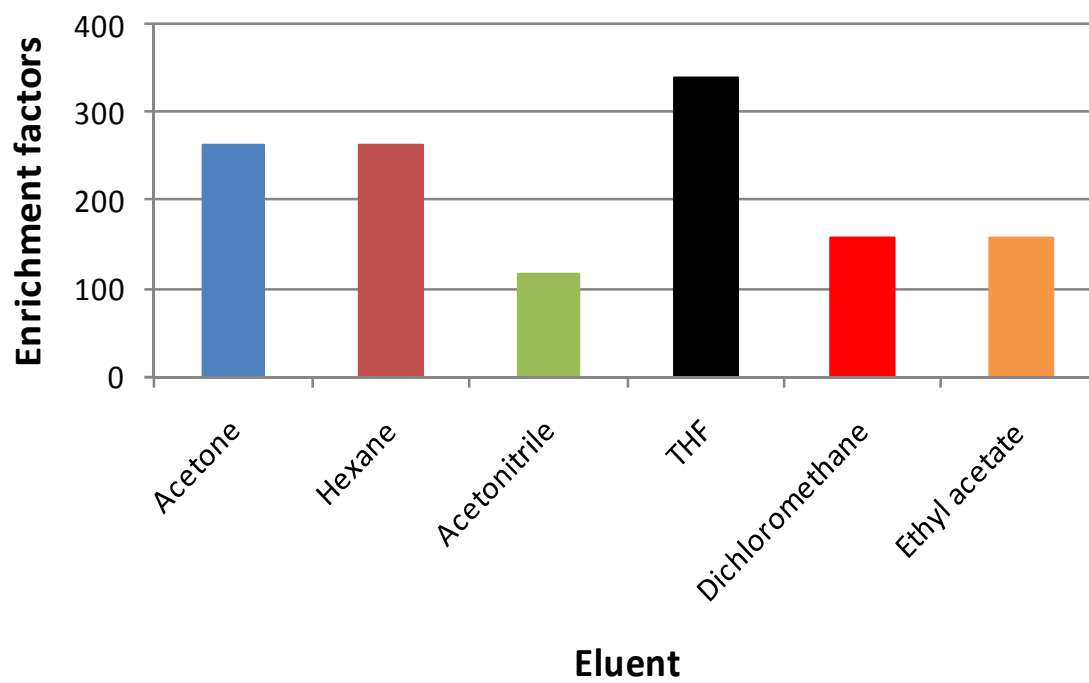


Fig. 3-4-5. Effect of eluent (BkF).

3-5 pH の影響

3-5-1 酸の選択

3-5-2 で試料 pH を変化させた時の濃縮係数の影響を検討するため、ここでは pH 調整液について PAHs の濃縮係数の影響を検討した。pH 調整液には塩酸、硝酸、硫酸を用いた。その他の実験条件を Table 3-5-1-(a)に、実験結果を Fig. 3-5-1-(b)に示した。また、酸の種類に対する各 PAHs への影響を別々に Fig. 3-5-1-(b)-1、Fig. 3-5-1-(b)-2、Fig. 3-5-1-(b)-3、Fig. 3-5-1-(b)-4、Fig. 3-5-1-(b)-5 に示す (実験条件は Table 3-5-(a) である)。

Fl と Py に関しては、濃縮係数に大きな影響は出なかった。しかし、BaA、BbF、そして BkF では塩酸の場合で高い濃縮係数が得られたが、硝酸と硫酸の場合では塩酸より濃縮係数は約 200 倍低くなった。よって、塩酸を pH 調整液として選択した。

Table 3-5-1-(a). Experimental conditions.

Sample solution	: 1 ng/mL, 200 mL
pH	: 5.0
Adsorbent	: OMWCNTs, 30 mg
Temperature	: Ambient temperature
Flow rate	: 5 mL/min
Eluent	: THF, 5 mL、Back flash

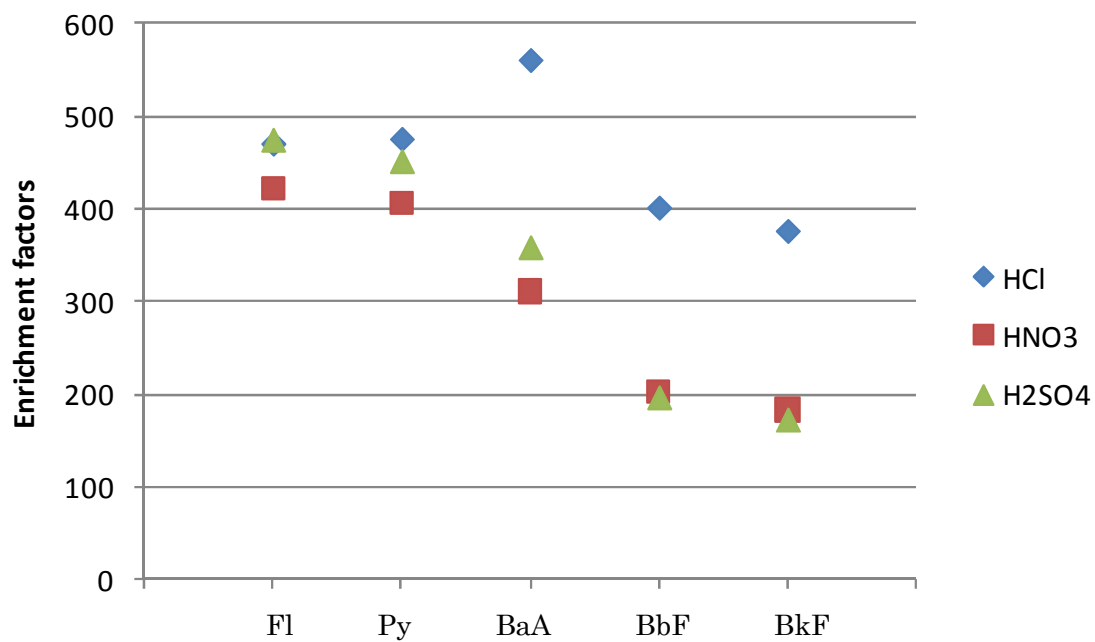


Fig. 3-5-1-(b). Effect of Acid.

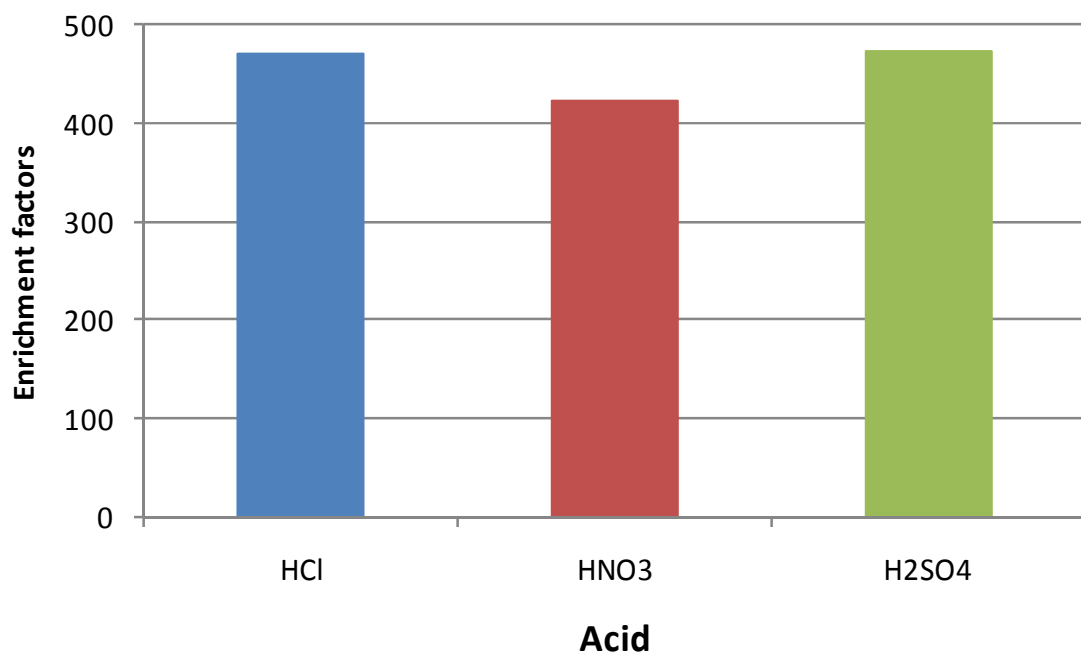


Fig. 3-5-1-(b)-1. Effect of Acid (F1).

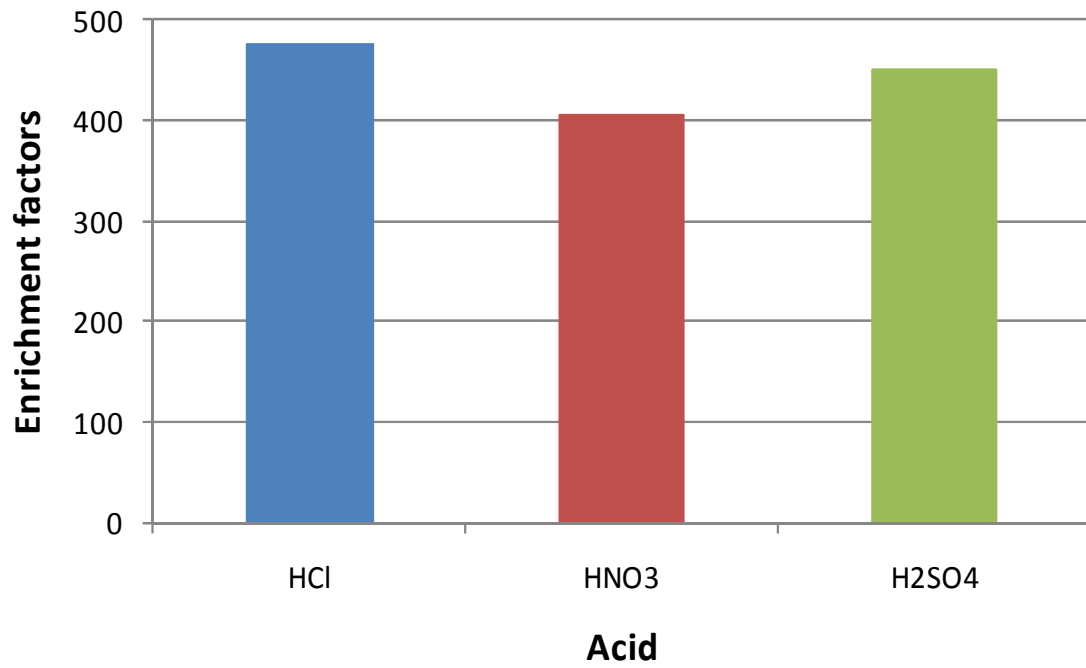


Fig. 3-5-1-(b)-2. Effect of Acid (Py).

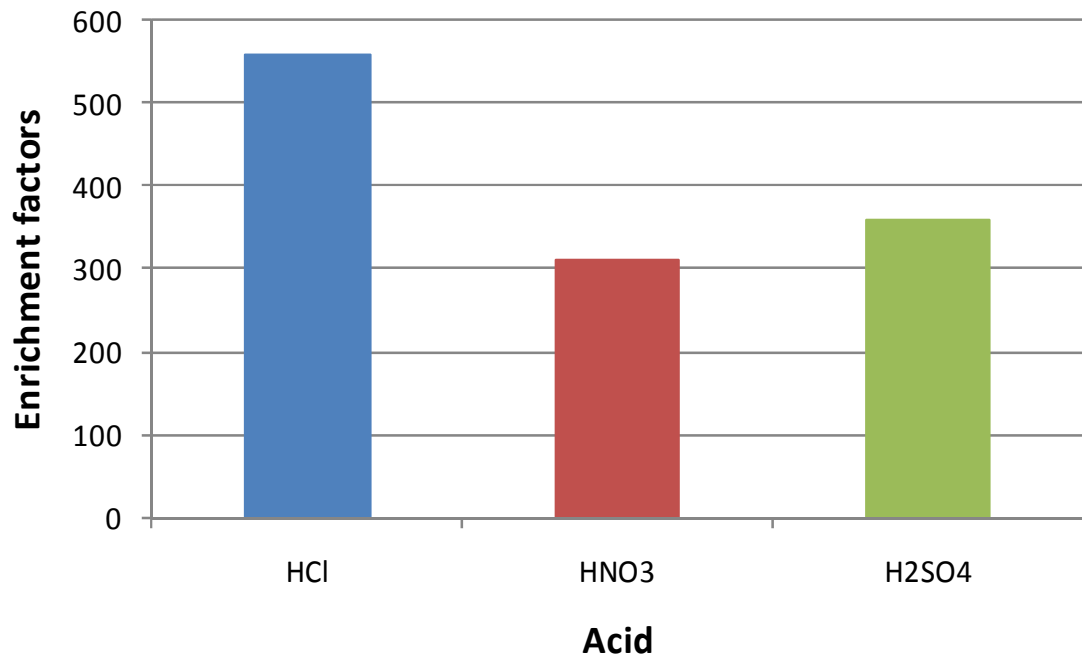


Fig. 3-5-1-(b)-3. Effect of Acid (BaA).

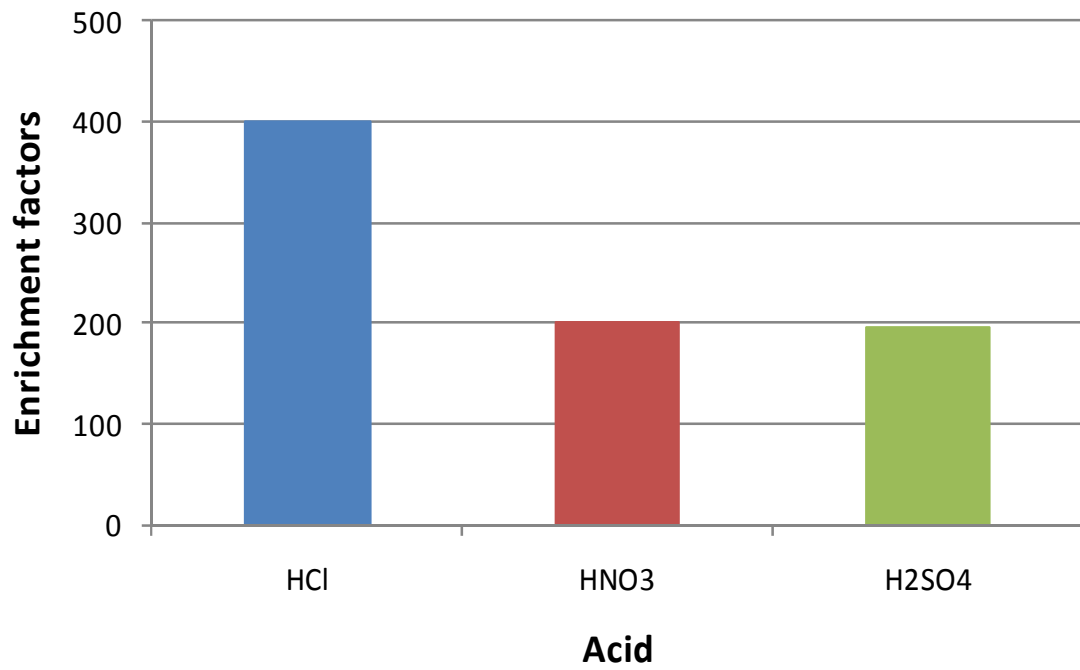


Fig. 3-5-1-(b)-4. Effect of Acid (BbF).

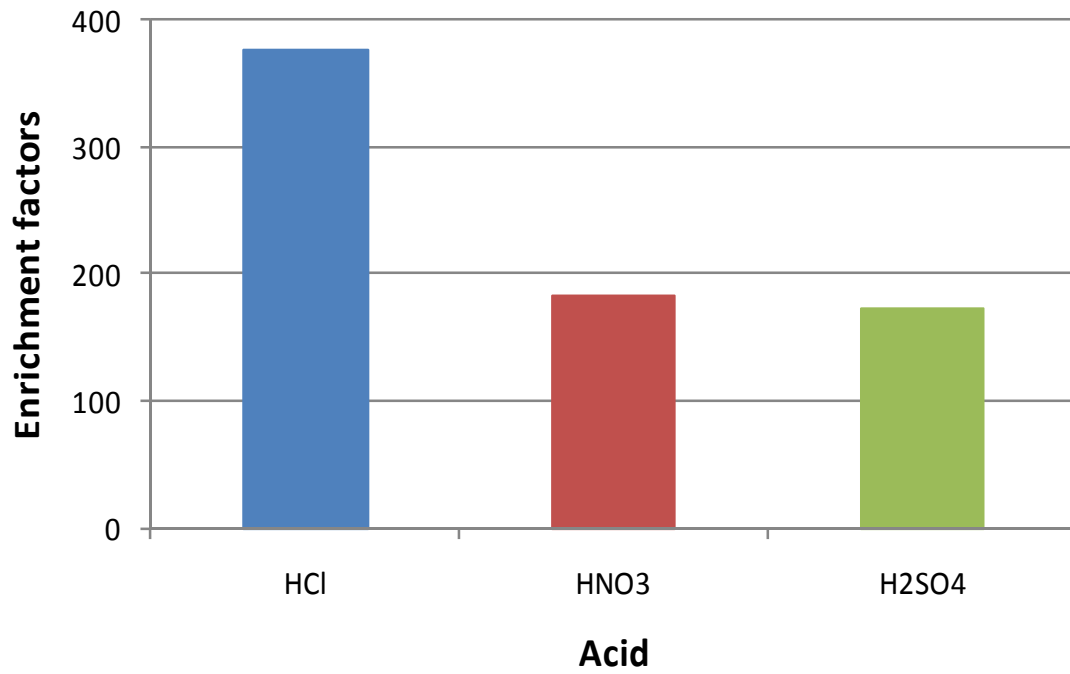


Fig. 3-5-1-(b)-5. Effect of Acid (BkF).

3-5-2 pHの影響

試料 pH を変化させた場合の PAHs の濃縮係数への影響を検討した。pH は 2 から 9 までの間で行った。pH 調整には塩酸と水酸化ナトリウム溶液を用いた。実験条件を Table 3-5-2-(a)に、実験結果を Fig. 3-5-2-(b)に示す。Fig. 3-5-2-(b)-1、Fig. 3-5-2-(b)-2、Fig. 3-5-2-(b)-3、Fig. 3-5-2-(b)-4、Fig. 3-5-2-(b)-5 は Fig. 3-5-2-(b)を見やすく各 PAHs に分けたものとなる(実験条件は Table 3-5-2-(a)である)。

この結果、試料 pH3 の場合、PAHs の濃縮係数が最も相対的に得られた。pH5 の場合、BaA、BbF、BkF の濃縮係数は pH3 の場合とほぼ同程度の数値を示したが、Fl と Py では pH3 より低い濃縮係数を示した。よって、最適な pH を 3 とした。

Table 3-5-2-(a). Experimental conditions.

Sample solution	: 1 ng/mL, 200 mL
pH	: 2-9
Adsorbent	: OMWCNTs, 30 mg
Temperature	: Ambient temperature
Flow rate	: 5 mL/min
Eluent	: THF, 5 mL、Back flash

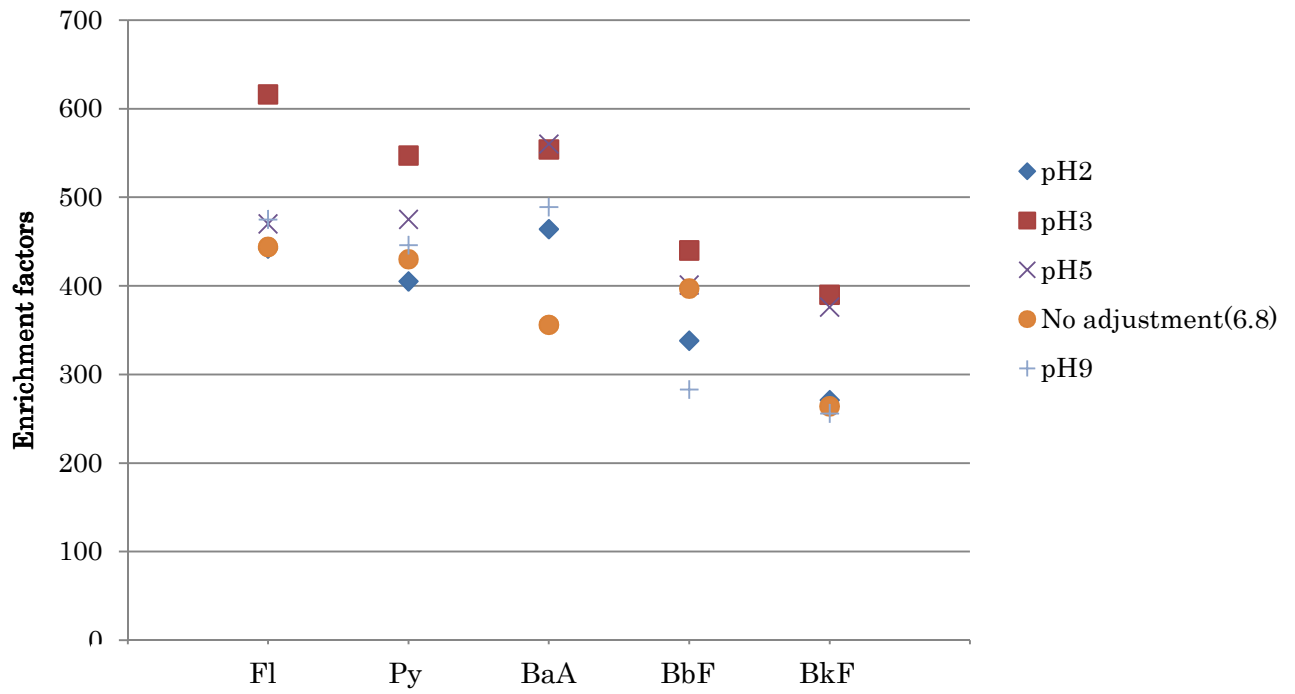


Fig. 3-5-2-(b). Effect of pH.

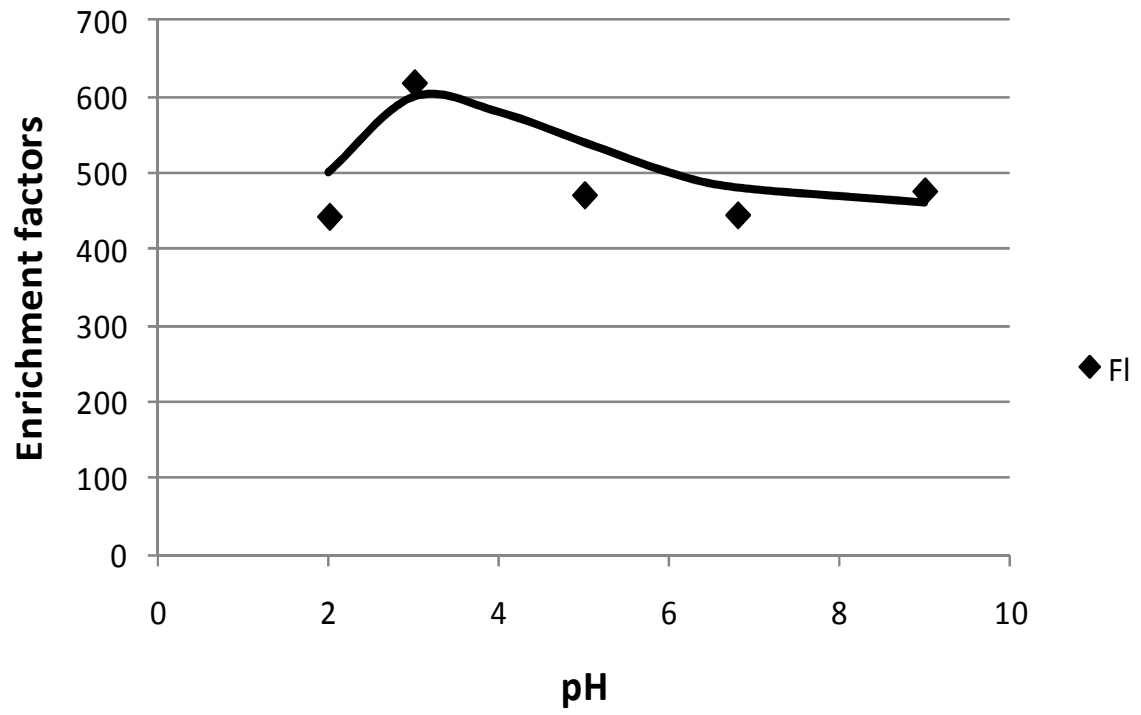


Fig. 3-5-2-(b)-1. Effect of pH (FI).

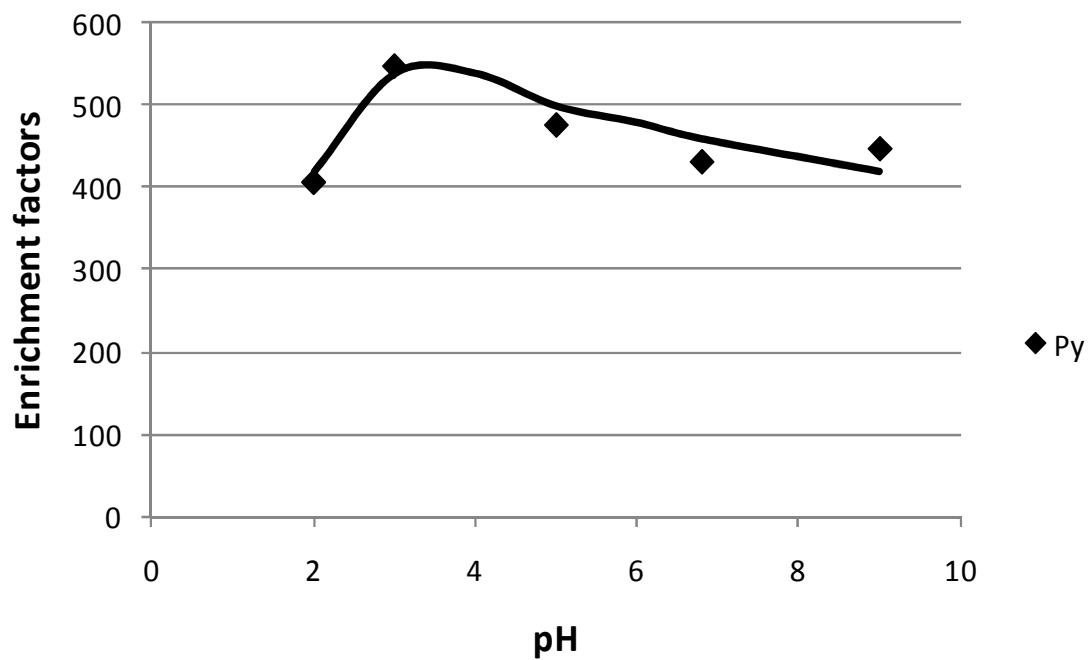


Fig. 3-5-2-(b)-2. Effect of pH (Py).

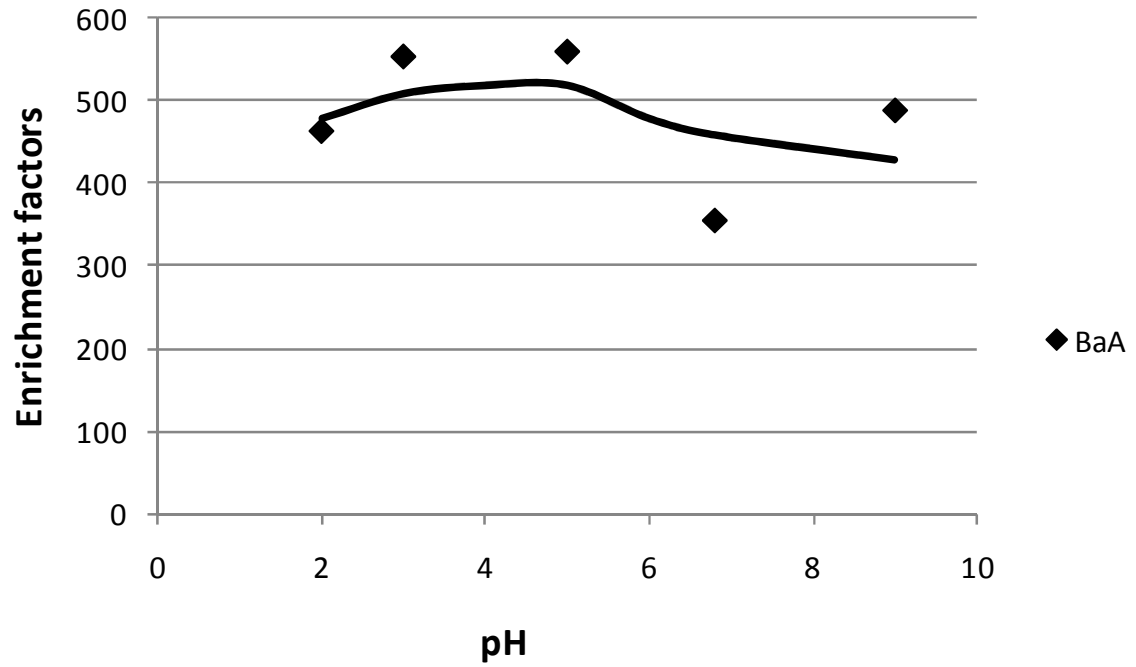


Fig. 3-5-2-(b)-3. Effect of pH (BaA).

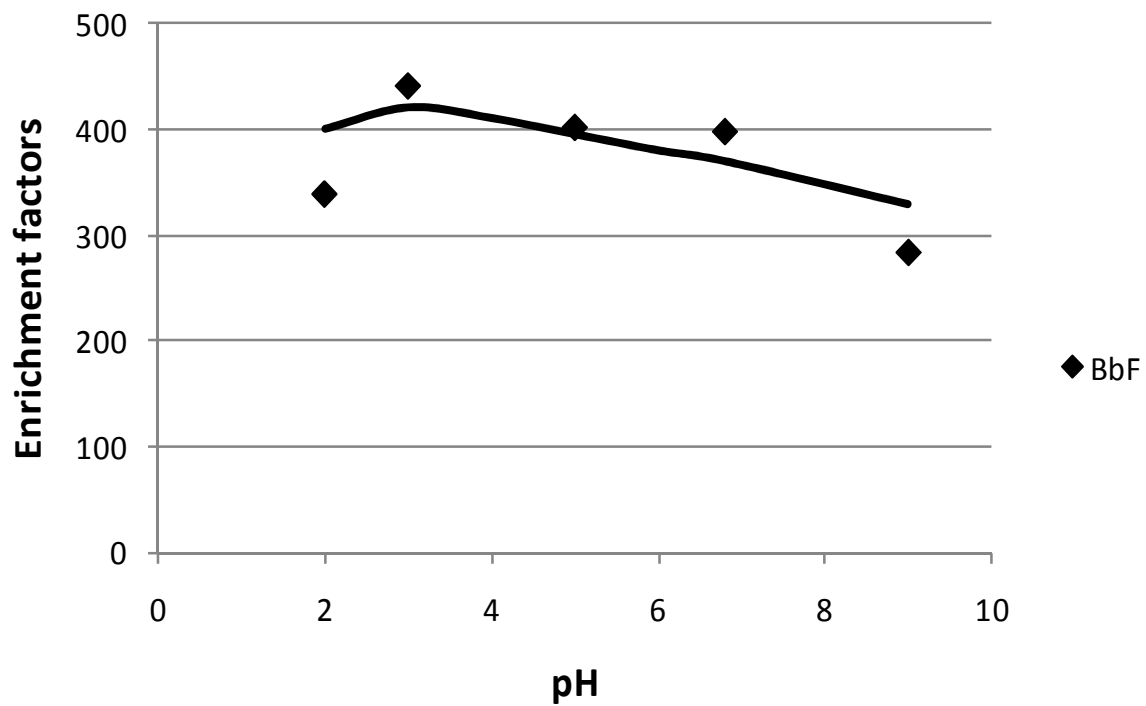


Fig. 3-5-2-(b)-4. Effect of pH (BbF).

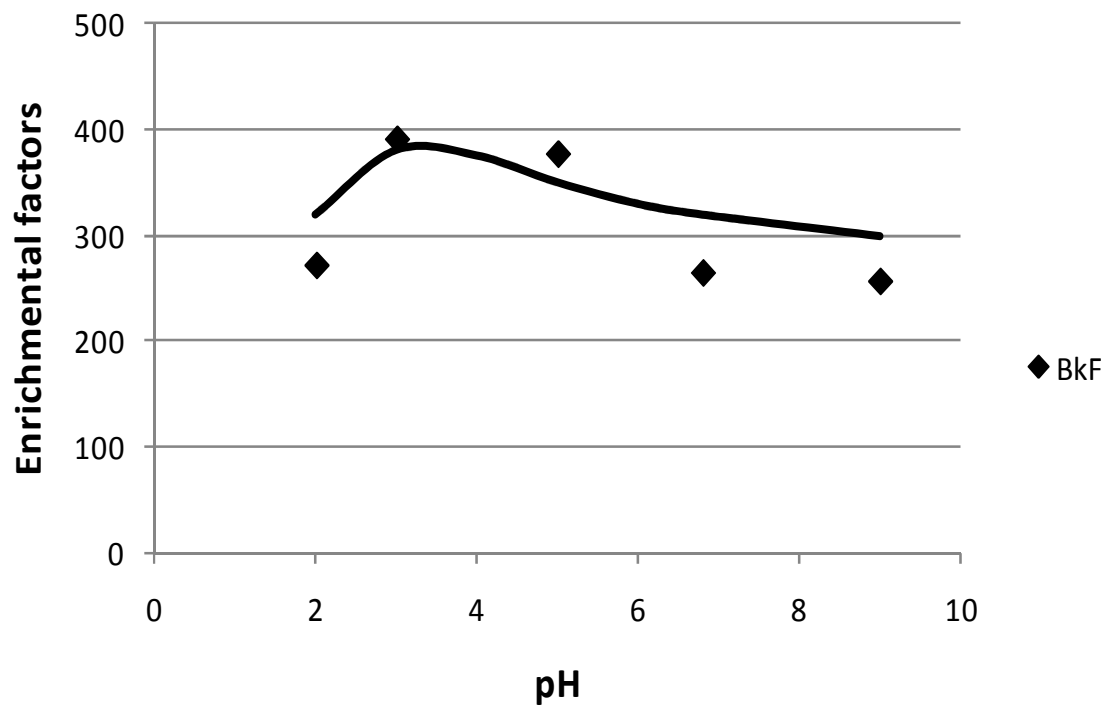


Fig. 3-5-2-(b)-5. Effect of pH (BkF).

3-6 検量線

以上の最適条件下における PAHs の検量線について調べた。実験条件を Table 3-6 に、検量線とその相関係数を Fl は Fig. 3-6-1、Py は Fig. 3-6-2、BaA は Fig. 3-6-3、BbF は Fig. 3-6-4、Fig. 3-6-5 に示す。

直線範囲は全ての PAHs で 0.1-10ng/mL の範囲で幅広いものであった。また相関係数は Fl で 0.998、Py が 0.996、BaA が 0.992、BbF が 0.992、BkF が 0.991 と全て 0.99 以上であった。

Table 3-6. Experimental conditions.

Sample solution	: 0.1-10 ng/mL, 200 mL
pH	: 3.0
Adsorbent	: OMWCNTs, 30 mg
Temperature	: Ambient temperature
Flow rate	: 5 mL/min
Eluent	: THF, 5 mL、Back flash

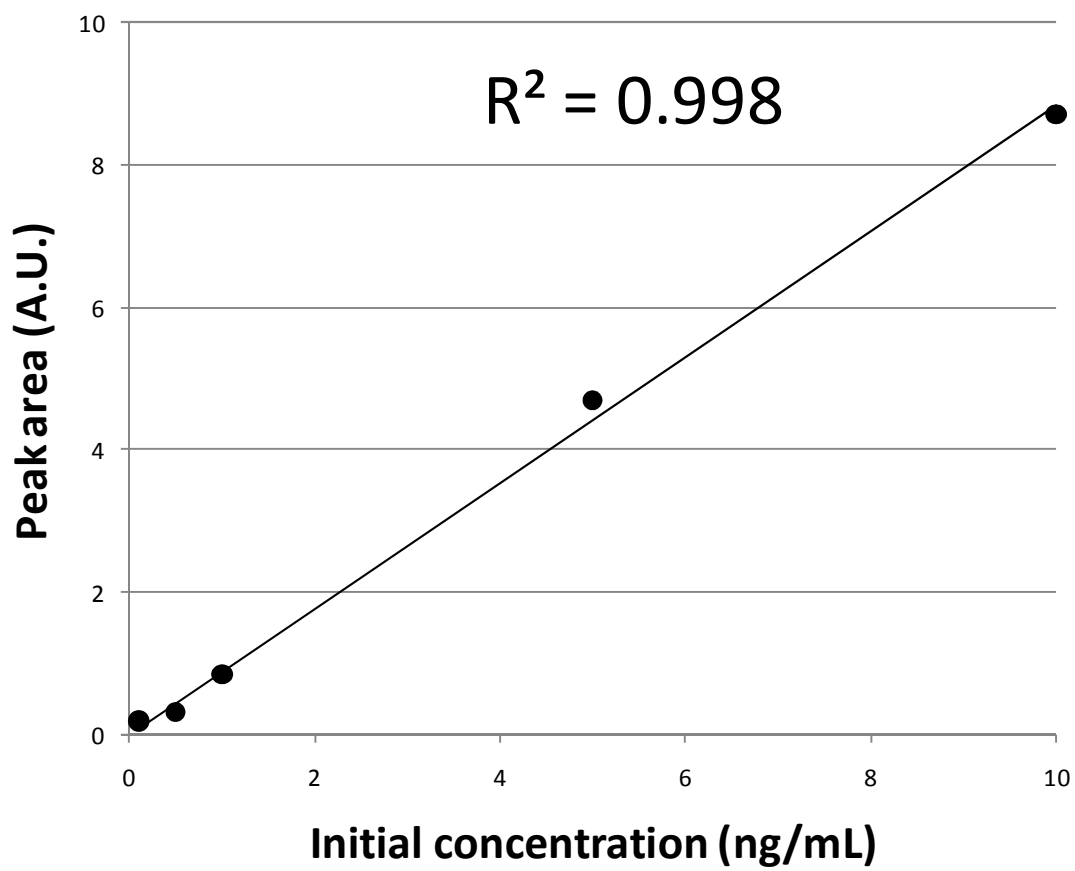


Fig. 3-6-1. Calibration curve of Fl.

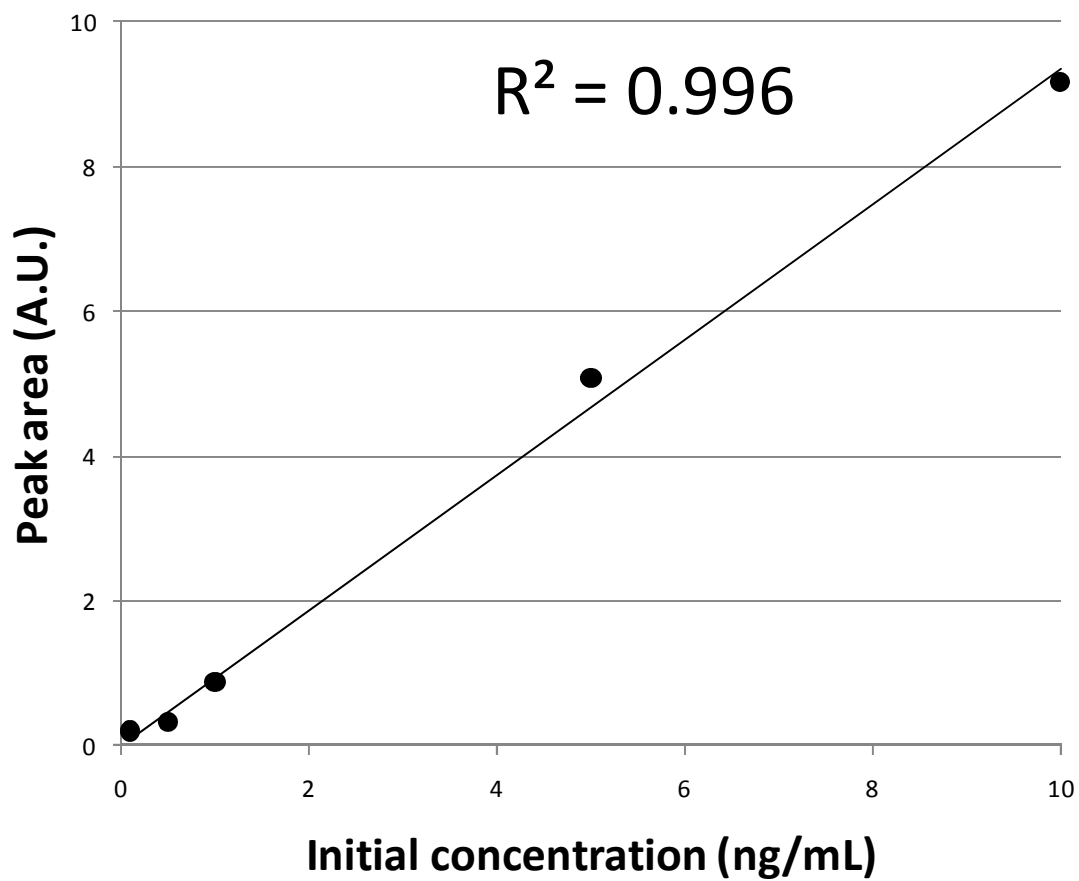


Fig. 3-6-2. Calibration curve of Py.

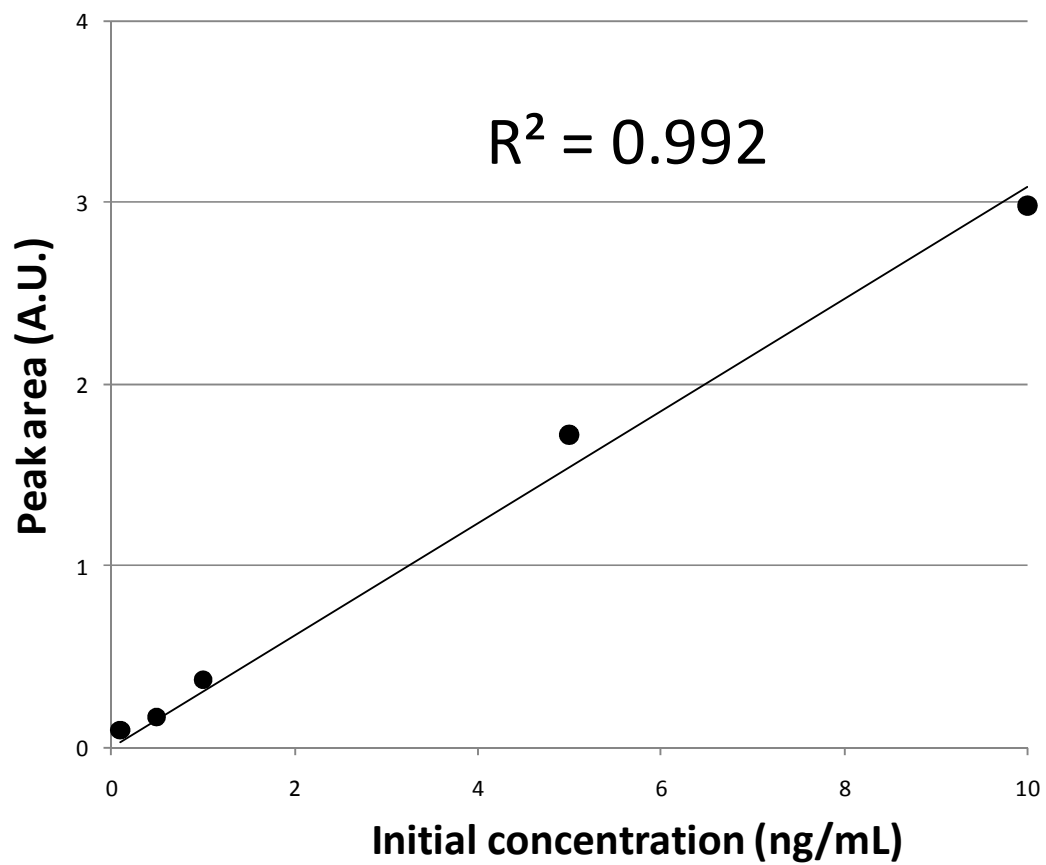


Fig. 3-6-3. Calibration curve of BaA.

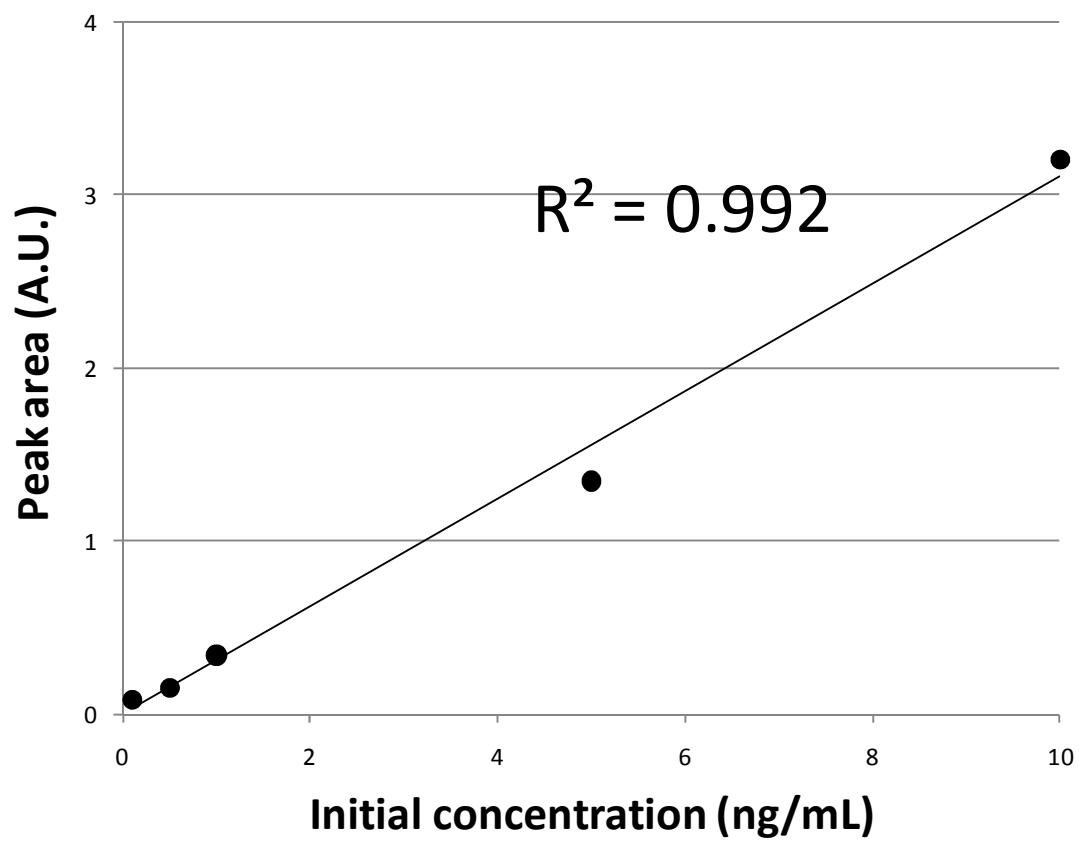


Fig. 3-6-4. Calibration curve of BbF.

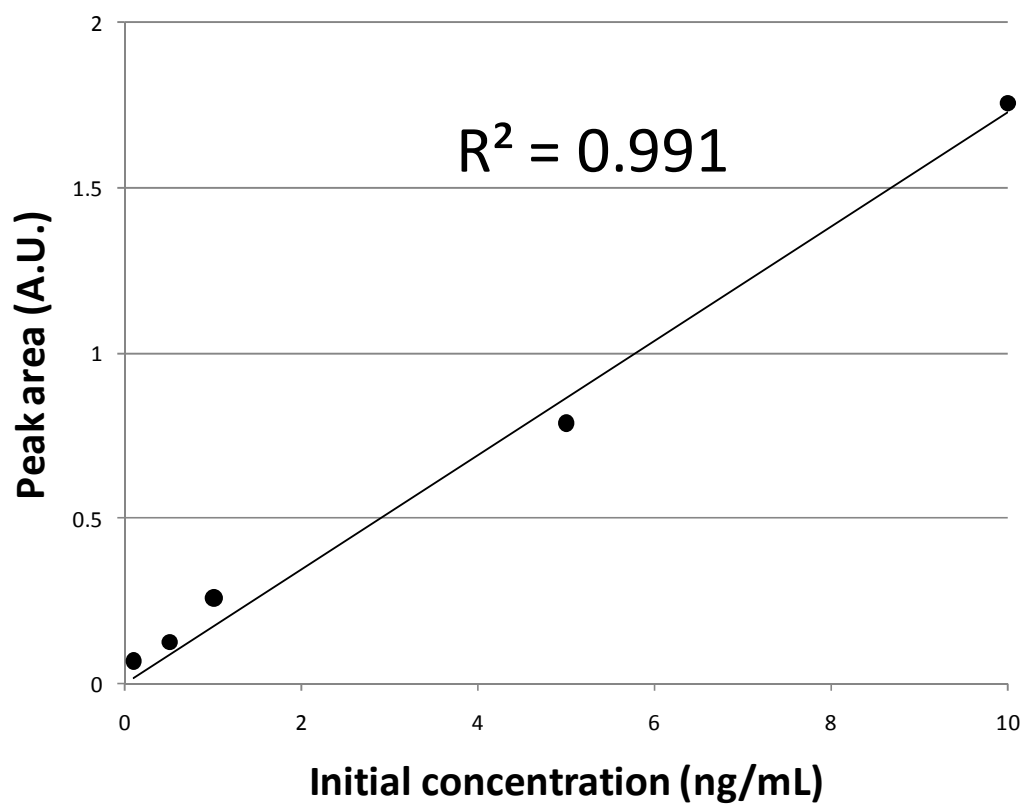


Fig. 3-6-5. Calibration curve of BkF.

3-7 本法の特性

3-5 までに検討した最適条件を用い、本法の精度を調べた。実験条件を Table 3-7(a) に示す。本法を用いて 1ng/mL の PAHs 溶液の濃縮、定量を 5 回行い、検出限界、直線範囲、相関係数、濃縮係数、相対標準偏差を Table 3-7(b) に示す。検出限界は S/N=3 として求めた。

検出限界は、Fl が 0.57 pg/mL、Py が 0.61 pg/mL、BaA が 2.0 pg/mL、BbF が 23 pg/mL、BkF 26 pg/mL であり、高感度であった。検量線の直線範囲は、全ての PAHs で 0.1-10ng/mL と幅広い直線性を示した。その相関係数は Fl で 0.998、Py が 0.996、BaA が 0.992、BbF が 0.992、BkF が 0.991 と全て 0.99 以上であった。平均濃縮係数は、Fl が 590、Py が 550、BaA が 510、BbF が 440、BkF が 390 と高い数値を示し、相対標準偏差(R.S.D)も全て 15 %と精度、再現性も良好といえる数値となった。このことから本法は PAHs の定量に適していると言える。

MWCNTs を用い、検出器に GC-MS を用いた Hong Wu⁴²⁾らによる研究の検出限界は 3 pg/mL(Fl)、3 pg/mL(Py)、30 pg/mL(BaA)、60 pg/mL(BbF)、30 pg/mL(BkF) であり、実験条件から最大濃縮係数は 125 であった。

C18 を用い、分析装置に HPLC を用いた Wei-Dong Wang⁴³⁾らによる研究の検出限界は 49 pg/mL(Fl)、41 pg/mL(Py)、24 pg/mL(BaA)、17 pg/mL(BbF)、33 pg/mL(BkF) であり、最大濃縮係数は 125 であった。

上記の研究者と比較しても、検出限界は低い。また、濃縮係数も高いことから本法が優れた手法であると言える。

Table 3-7(a). Experimental conditions.

Sample solution	: 0.1-10 ng/mL, 200 mL
pH	: 3.0
Adsorbent	: OMWCNTs, 30 mg
Temperature	: Ambient temperature
Flow rate	: 5 mL/min
Eluent	: THF, 5 mL, Back flash

Table 3.7(b) Characteristics of this method.

	Detection limit ^(a) (pg/mL)	Linear range of calibration curve (Correlation coefficient)	Enrichment factor	R.S.D ^{b)} (%)
F1	0.57	0.1 – 10 ng/mL (R ² =0.998)	590 ± 66	11
Py	0.61	0.1 – 10 ng/mL (R ² =0.996)	550 ± 58	10
BaA	2.0	0.1 – 10 ng/mL (R ² =0.992)	510 ± 63	12
BbF	23	0.1 – 10 ng/mL (R ² =0.992)	440 ± 63	14
BkF	26	0.1 – 10 ng/mL (R ² =0.991)	390 ± 54	14

a) S/N = 3 , b) n = 5

3-8 実在環境試料への応用

本法を用いて河川水試料(三重県津市・志登茂川下流)の濃縮、定量を行った。実験条件を Table 3-8(a)に、実験結果を Table 3-8(f)に示す。

まず PAHs を添加せずに濃縮、定量を行った。BbF は検出されなかったが、その他の PAHs は Fl が 0.20 ± 0.037 ng/mL、Py が 0.46 ± 0.042 ng/mL、BbF と BkF は微量であり定量限界以下であった。また、その R.S.D は Fl が 18%、Py が 9%であった。次に、実在環境水試料に 1 ng/mL の PAHs を添加し行った結果、Fl が 1.2 ± 0.13 ng/mL、Py が 1.5 ± 0.13 ng/mL、BaA が 1.0 ± 0.1 ng/mL、BbF が 0.95 ± 0.12 ng/mL、BkF が 0.97 ± 0.085 ng/mL であった。その R.S.D は順に 10%、7.1%、10%、12%、9.9%であった。以上の結果は、ほぼ満足のいく結果であった。これにより、本法が河川水中の PAHs の定量に適用可能であると言える。

参考までに、様々な河川中の PAHs の報告を紹介する。Table 3-8(b)に千葉野田市の江戸川から採取された河川水中の Fl、Py の検出濃度を示す⁴⁴⁾。Table 3-8(c)に東京・多摩川から採取された河川水中の Fl、BbF、BkF の検出濃度を示す⁴⁵⁾。Table 3-8(d)にフランスのローヌ川から採取された河川水中の PAHs の検出濃度を示す⁴⁶⁾。ただし、BbF と BkF はベンゾフルオランテン(BF)と合算されている。Table 3-8(e)に銭塘江から採取された河川水中の PAHs の検出濃度を示す⁴⁷⁾。

また、Fig. 3-8-1 に PAHs を添加していない河川水のクロマトグラム、Fig. 3-8-2 に PAHs を添加した河川水のクロマトグラム、Fig. 3-8-3 には予備濃縮工程を行わず、1 ng/mL に調整した PAHs 溶液のクロマトグラムを示す。

Table 3-8(b). Concentration of Fl and Py in Edo river.

PAHs	Range of concentrations (ng/L)
Fl	2.8 - 10.3
Py	2.5 - 4.7

Table 3-8(c). Concentration of Fl, BbF and BkF in Tama river.

PAHs	Range of concentrations (pg/mL)	
	Clear day	Rainy day
Fl	13	19
BbF	<5	<11
BkF	<5	<5

Table 3-8(d). Concentration of PAHs in Rhone river.

PAHs	Range of concentrations (ng/L)
Fl	1 - 469
Py	2 - 410
BaA	1 - 211
BF	1 - 479

Table 3-8(e). Concentration of PAHs in Qiantang river.

PAHs	Range of concentrations (ng/L)
Fl	0.9 - 71.7
Py	1.1 - 373.8
BaA	*nd - 190.1
BbF	nd - 44.4
BkF	nd - 52.7

*nd...not detected

Table 3-8(a). Experimental conditions.

Sample solution	: 0 or 1 ng/mL, 200 mL
pH	: 3.0
Adsorbent	: OMWCNTs, 30 mg
Temperature	: Ambient temperature
Flow rate	: 5 mL/min
Eluent	: THF, 5 mL, Back flash

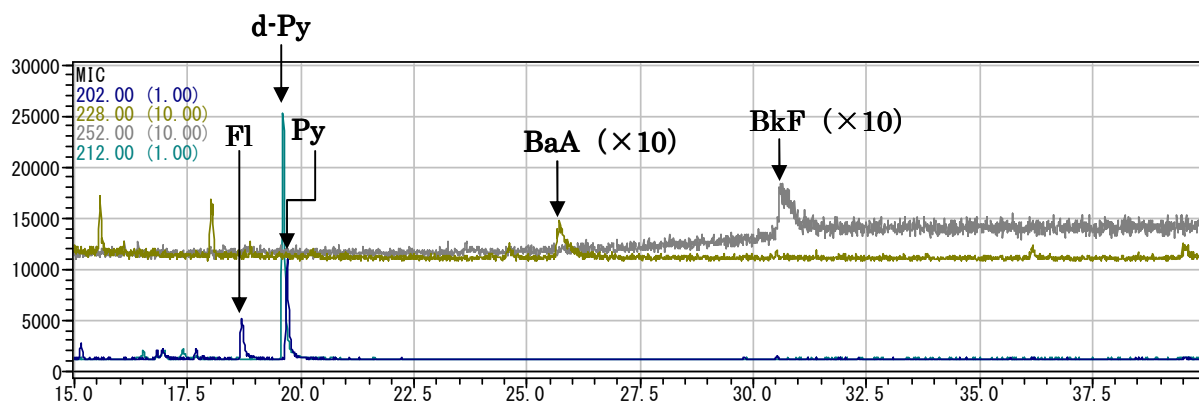


Fig. 3-8-1. Chromatogram obtained from blank river water.

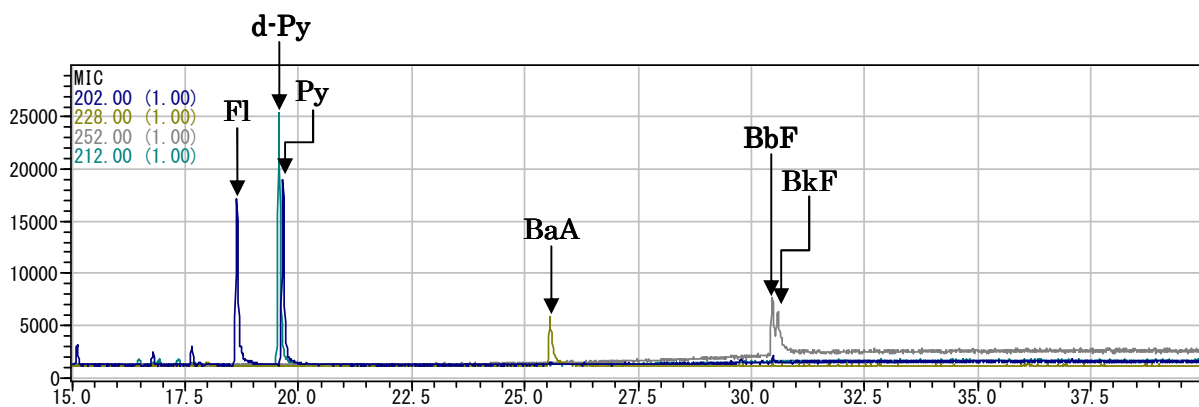


Fig. 3-8-2. Chromatogram obtained from river water spiked PAHs.

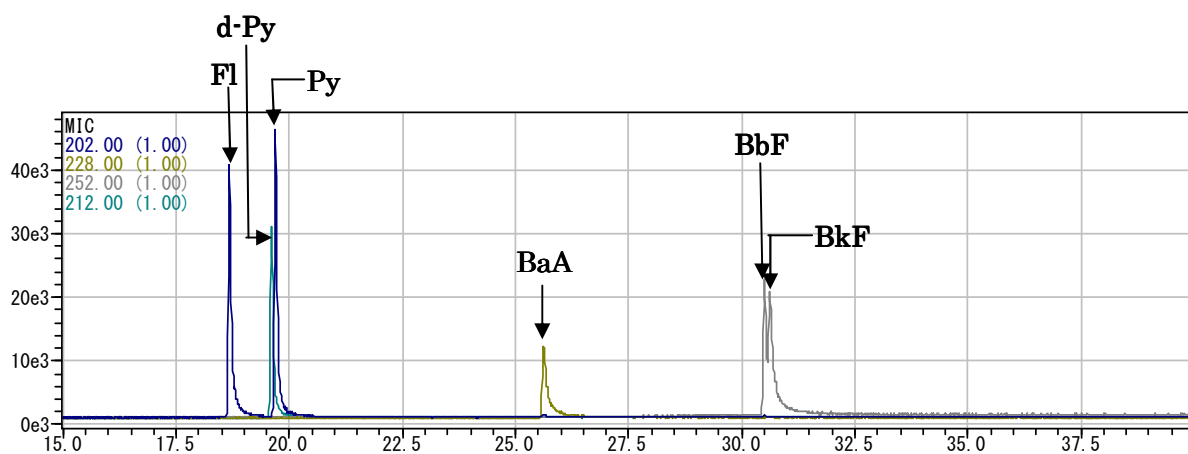


Fig. 3-8-3. Chromatogram obtained from PAHs.

Table 3-8(f). Determination of PAHs in river water.

PAHs	Spiked(ng/mL)	Found(ng/mL)*	Recovery (%)
Fl	—	0.20±0.04	
	1.0	1.2±0.1	100±13
Py	—	0.46±0.04	
	1.0	1.5±0.1	104±11
BaA	—	trace	
	1.0	1.0±0.1	99±10
BbF	—	**n.d.	
	1.0	0.95±0.12	95±12
BkF	—	trace	
	1.0	0.97±0.09	88±9

*n=3 , **n.d.···Not detected

3-9 吸着機構

本法で吸着剤として用いた OMWCNTs は、表面に C 原子を多数持つものであり、それが環状構造を作り積層された構造をとっている。さらに硝酸により表面処理を行ったことから部分的にカルボキシル基を持つ構造となっている。一方、本法で用いた PAHs はヘテロ原子や置換基を含まない芳香環が縮合した炭化水素である。このことから、物理的吸着のファンデルワールス力が吸着の主な要因となっていると考えられる。また OMWCNTs が多層状になっていることから、その層の隙間に分子が入り込み吸着が起こっている、OMWCNTs の多孔質なことから、その孔に分子が入り込み吸着しているということが考えられる。

第4章 結論

OMWCNTs を固相抽出剤として予備濃縮法へ適用したところ、PAHs の迅速かつ簡便な定量を可能にした。最適条件下での検出限界は Fl が 0.57 pg/mL、Py が 0.61 pg/mL、BaA が 2.0 pg/mL、BbF が 23 pg/mL、BkF が 26 pg/mL であった。1 ng/mL の試料溶液 200 mL を本法で 5 回測定したところ濃縮係数は Fl が 590 ± 66 、Py が 550 ± 58 、BaA が 510 ± 63 、BbF が 440 ± 63 、Py が 390 ± 54 であり、相対標準偏差は Fl が 11%、Py が 10%、BaA が 12%、BbF が 14%、BkF が 14% であった。本法を実在河川水に応用したところ、PAHs を添加せず予備濃縮・定量した場合、Fl は 0.20 ng/mL、Py は 0.46 ng/mL、BaA と BkF は定量限界以下であり、BkF は検出されなかった。そして、1 ppb 添加し、その濃縮係数を調べた結果、それぞれ 1.2 ng/mL、1.5 ng/mL、1.0 ng/mL、0.95 ng/mL、0.97 ng/mL であった。河川水における予備濃縮・定量においてほぼ満足のいく結果が得られた。また、この実在試料への応用も可能であることが証明できた。さらに、濃縮係数も 100 をはるかに超える数値となり、満足のいく結果となった。

参考文献

- 1) Selected Non-heterocyclic Aromatic Hydrocarbons. Environmental Health Criteria, World Health Organization(WHO), Geneva,1998, p. 202.
- 2) L.Z.Zhu, X.F.Cai, J.Wang, J. Environ. Sci. 17(2005) 748.
- 3) International Agency for Research on Cancer (IARC), Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: An Updating of IARC Monographs, vols. 1–42 (Suppl. 7), World Health Organization, Lyon France,1987, p. 252.
- 4) T. Wenzl, R. Simon, J. Kleiner, E. Anklam, Trends Anal. Chem. 25 (2006) 716.
- 5) Summary and Conclusions of the 64th Meeting of the Joint FAO/Who Expert Committee on Food Additives, Rome, World Health Organization(WHO), Geneva,2005, p. 47.
- 6) A.Valavanidis, T.Vlachogianni, S.Triantafillaki, M.Dassenakis, F. Androutsos, M.Scullos, Estuar. Coast, Shelf Sci. 79(2008)733.
- 7) U.S.EPA Method 61040 CFR Part 136, App.A-National Environment Methods, 2004.
- 8) US Environmental Protection Agency, Guidelines Establishing Test Procedures for the Analysis of Pollutants. Proposed Regulations. Federal Register, EPA, Washington, DC, vol.49, No.209, 1984.
- 9) D.M. Brum, R.J. Cassella, A.D.P. Netto, Talanta 74 (2008) 1392.
- 10) L. Tavakoli, Y. Yamini, H. Ebrahimzadeh, S. Shariati, J. Chromatogr. A 1196–1197 (2008) 133.
- 11) J. Liu, G. Jiang, Y. Chi, Y. Cai, Q. Zhou, J. Hu, Anal. Chem. 75 (2003) 5870.
- 12) L. Zhao, H.K. Lee, Anal. Chem. 74 (2002) 2486.
- 13) Y. Liu, Y. Hashi, J.M. Lin, Anal. Chim. Acta 585 (2007) 294.
- 14) R. Rodil, M. Schellin, P. Popp, J. Chromatogr. A 1163 (2007) 288.
- 15) J.D. Petty, C.E. Orazio, J.N. Huckins, R.W. Gale, J.A. Lebo, J.C. Meadows, K.R. Echols, W.L. Cranor, J. Chromatogr. A 879 (2000) 83.
- 16) B. Delgado, V. Pino, J.H. Ayala, V. Gonzalez, A.M. Afonso, Anal. Chim. Acta 518 (2004) 165.
- 17) T.I. Sikalos, E.K. Paleologos, Anal. Chem. 77 (2005) 2544.
- 18) R.M. Marce, F. Borrull, J. Chromatogr. A 885 (2000) 273.
- 19) N. Li, H.K. Lee, J. Chromatogr. A 921 (2001) 255.
- 20) Y.-Y. Zhou, X.-P. Yan, K.-N. Kim, S.-W. Wang, M.-G. Liu, J. Chromatogr. A 1116 (2006) 172.
- 21) L. Oliferova, M. Statkus, G. Tsysin, O. Shpigun, Y. Zolotov, Anal. Chim. Acta 538 (2005) 35.

- 22) I. Bruheim, X. Liu, J. Pawliszyn, *Anal. Chem.* 75 (2003) 1002.
- 23) Y.-N. Hsieh, P.-C. Huang, I.-W. Sun, T.-J. Whang, C.-Y. Hsu, H.-H. Huang, C.-H. Kuei, *Anal. Chim. Acta* 557 (2006) 321.
- 24) V. Fernandez-Gonzalez, E. Concha-Graña, S. Muniategui-Lorenzo, P. Lopez-Mahia, D. Prada-Rodriguez, *J. Chromatogr. A* 1176 (2007) 48.
- 25) E. Perez-Carrera, V.M.L. Leon, A.G. Parra, *J. Chromatogr. A* 1170 (2007) 82.
- 26) Z. Qin, L. Bragg, G. Ouyang, J. Pawliszyn, *J. Chromatogr. A* 1196–1197 (2008) 89.
- 27) Y.-Q. Cai, G.-B. Jiang, J.-F. Liu, Q.-X. Zhou, *Anal. Chem.* 75 (2003) 2517.
- 28) Y.-Q. Cai, Y.-E. Cai, S.-F. Mou, Y.-Q. Lu, *J. Chromatogr. A* 1081 (2005) 245.
- 29) Y.-Q. Cai, G.-B. Jiang, J.-F. Liu, Q.-X. Zhou, *Anal. Chim. Acta* 494 (2003) 149.
- 30) Q.-X. Zhou, W.-D. Wang, J.-P. Xiao, *Anal. Chim. Acta* 559 (2006) 200.
- 31) M. Biesaga, K. Pyrzynska, *J. Sep. Sci.* 29 (2006) 2241.
- 32) Q.-X. Zhou, J.-P. Xiao, W.-D. Wang, G.-G. Liu, Q.-Z. Shi, J.-H. Wang, *Talanta* 68 (2006) 1309.
- 33) Q.-X. Zhou, J.-P. Xiao, W.-D. Wang, *J. Chromatogr. A* 1125 (2006) 152.
- 34) G. Liu, J. Wang, Y. Zhu, X. Zhang, *Anal. Lett.* 37 (2004) 3085.
- 35) C. Basheer, A.A. Alnedhary, B.S.M. Rao, S. Valliyaveetil, H.K. Lee, *Anal. Chem.* 78 (2006) 2853.
- 36) Q.X. Zhou, Y.J. Ding, J.P. Xia, *Chromatographia* 65 (2007) 25.
- 37) S. Wang, P. Zhao, G. Min, G.-Z. Fang, *J. Chromatogr. A* 1165 (2007) 166.
- 38) G.-Z. Fang, J.-X. He, S. Wang, *J. Chromatogr. A* 1127 (2006) 12.
- 39) J.-X. Wang, D.-Q. Jiang, Z.-Y. Gu, X.-P. Yan, *J. Chromatogr. A* 1137 (2006) 8.
- 40) W.-D. Wang, Y.-M. Huang, W.-Q. Shu, J. Cao, *J. Chromatogr. A* 1173 (2007) 27.
- 41) Hong Wu, Xuecui Wang, Bing Liu, Jie Lu, Baixiang Du, Luxin Zhang, Jingjing Ji, Qiaoyu Yue, Baoping Han, *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 2911-2917.
- 42) Amjad H. El-Sheikh, Ahmad A. Insisi, Jamal A. Sweileh, *Journal of Chromatography A*, 1164 (2007) 25-32
- 43) Lu Li, Y. Huang, Y. Wang, W. Wang, *Analytica Chimica Acta* 631 (2009) 182-188
- 44) Ayako Kanno, Iwaki Nishi, Tomohiro Kishi, Tsuyoshi Kawakami, Yasuo Takahashi, Sukeo Onodera, *The Journal of Toxicological Sciences* Vol.35, No.6, 817-826, 2010
- 45) Yumiko Ishii, Ken Kawaguchi, Rie Ito, Yusuke Iwasaki, Koichi Saito, Hiroyuki Nakazawa, *BUNSEKI KAGAKU*, Vol.55, No.12, pp.949-954 (2006)
- 46) Marie-Alexandrine Sicre, Milena B. Fernandes, Didier Pont, *Marine Pollution Bulletin* 56 (2008) 1935-1942
- 47) Yuyun Chen, Lizhong Zhu, Rongbing Zhou, *Journal of Hazardous Materials* 141 (2007) 148-155

謝辞

本研究を行うにあたり、終始熱心に御指導並びに御教授を賜りました太田清久教授、金子聡准教授、鈴木透助教、勝又英之助教、中口敏技術専門員に厚く御礼申し上げます。また、三重県科学技術振興センター工業研究部員の増山和晃様、三重県産業支援センター研究員の今井大蔵様、三重大学工学部分子素材工学科特別研究員の岡野賢治様には的確な助言と指示をいただき感謝申し上げます。

また、公私共にお世話になり、御指導して下さった、Ahmed Dabwan さん、河本結香さん、李干さん、梅下陽平さん、北永裕章さん、小林拓也さん、中岡優亮さんに感謝申し上げます。

また、三年間共に研究室生活のみならず公私共にお世話になった大矢真也さん、岸卓摩さんに感謝します。

また、学部を卒業後も私生活で交流して下さった伊藤太一さん、岡崎祐一さん、小池峻也さん、佐々木美希さん、高部圭祐さん、水谷健次郎さんに感謝します。

また、二年間又は一年間共に研究室生活を過ごし、研究室を常に明るく楽しくしてくれた青山幸寛さん、市野愛弓さん、大濱悠太さん、小川悟さん、小田雄一さん、小島広士さん、近藤欣正さん、柴田莉紗さん、蜂須賀功真さん、藤井志帆さん、山内善博さん、久野弘貴さん、安保裕太さん、大橋未佳さん、岡崎敢さん、小田悠太さん、川瀬 愛子さん、河村嗣也さん、杉山智紀さん、田中康貴さん、松浦裕樹さんに感謝します。

最後に学生生活を送るにあたり、ご支援していただき、温かく見守ってくれた両親に深く感謝申し上げます。