

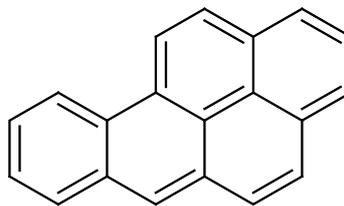
ベンゾ[a]ピレン

Benzo[a]pyrene

IUPAC名：ベンゾ[*pqr*]テトラフェン

別名：3,4-ベンゾピレン、3,4-ベンツピレン、BaP、B[a]P

【対象物質の構造】



CAS番号：50-32-8

分子式：C₂₀H₁₂

【物理化学的性状】

項目	値	出典
分子量 (モノイットピック質量)	252.31 (252.0939)	-
融点	177 ~ 180°C	1
沸点	495°C	1
比重	1.351 g/cm ³	2
蒸気圧	7.00 × 10 ⁻⁷ Pa (25°C)	3
水溶解度	1.61 × 10 ⁻³ mg/L (25°C)	4
log P _{ow}	6.35 (実測値)	5
	6.11 (計算値)	6
解離定数	解離基なし	7

【毒性、用途】

[毒性]

健康	急性毒性	ラット (経口) TD _{Lo} : 25 mg/kg ⁸⁾
影響		マウス (経口) TD _{Lo} : 100 mg/kg ⁸⁾

反復投与毒性	120 mg/kg , 6ヶ月経口投与 マウス：再生不良性貧血、汎血球減少症、生存期間の短縮 ²⁾
変異原性	代謝活性化法により陽性を示す ²⁾
発癌性	疫学的に肺癌発症の報告があり、特にタバコによる肺癌の要因とされている。また、皮膚癌の報告もある ²⁾

〔用途〕 非意図的生成物⁹⁾

〔適用令〕 大気汚染防止法 有害大気汚染物質優先取組物質

出典

- 1) 有機合成化学会編、有機化合物辞典、講談社 (1985)
- 2) ATSDR, Draft Toxicological Profile for Benzo [a] pyrene (1990)
- 3) Mackay, Do., Shiu, W.Y., and Ma, K.C. ed. (1992): Illustrated Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals, Vol II, Polynuclear Aromatic Hydrocarbons, Polychlorinated Dioxins, and Dibenzofurans, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, Lewis Publishers: 251
- 4) Yalkowsky, S. H. and R. M. Dannenfelser (1994): Aquasol Database of Aqueous Solubility. Version 5. College of Pharmacy, University of Arizona.
- 5) Richardson, M. L. et. al., The Dictionary of Substances and their Effects, Royal Society of Chemistry (1993)
- 6) EPI Suite™ Version 4.11
- 7) 財団法人化学物質評価研究機構 (1997) 化学物質安全性 (ハザード) 評価シート
- 8) US National Institute for Occupational Safety and Health Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS) Database.
- 9) 独立行政法人製品評価技術基盤機構ホームページ「化学物質総合情報提供システム (CHRIP)」

§1 分析法

(1) 分析法の概要

底質試料にサロゲート内標準を添加し、高速溶媒抽出(ASE)を行ったあと、へ

キサン転溶、シリカゲルクリーンアップ処理し、濃縮後にシリンジスパイク内標準を添加した後にGC/HRMS-SIM法で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

ベンゾ[a]ピレン	: AccuStandard 製 (1000 µg/mL、純度 99.9%、アセトン溶液)
ベンゾ[a]ピレン- ¹³ C ₄	: Cambridge Isotope Laboratories 製 (100 µg/mL、純度 99.0%、ノナン溶液)
ベンゾ[a]ピレン-d ₁₂	: Cambridge Isotope Laboratories 製 (200 µg/mL、純度 98.0%、イソオクタン溶液)
ヘキサン	: 関東化学製 (ダイオキシン用)
アセトン	: 和光純薬工業製 (ダイオキシン類分析用)
塩化ナトリウム	: 和光純薬工業製 (残留農薬・PCB 試験用)
硫酸ナトリウム (無水)	: 関東化学製 (残留農薬・PCB 試験用)
精製水	: Milli-Q 水 (注 1)
還元銅、粒状	: キンダ化学製 (有機元素分析用)
ヒドロマトリックス	: アジレント製
シリカゲルカートリッジ	: Waters 製 Sep-Pak Vac 12 cc (2 g) Silica Cartridge

【器具】 (注 2)

高速溶媒抽出装置	: Thermo SCIENTIFIC 製 ASE 350
ロータリーエバポレーター	: 濃縮に用いる
マイクロピペット (注 3)	: サロゲート内標準液やシリンジスパイク内標準液の添加などに用いる

【標準液の調製】

〔標準液〕

市販のベンゾ[a]ピレン標準液 (1000 µg/mL、アセトン溶液) を標準原液とする。ヘキサンで希釈して 100 µg/mL の標準液を調製する。ただし、添加回収試験用にはアセトンで希釈して 100 µg/mL の標準液を調製する。

〔サロゲート内標準液〕

市販のベンゾ[a]ピレン-¹³C₄サロゲート標準液 (100 µg/mL、ノナン溶液) をサロゲート内標準原液とする。アセトンで希釈して 1.0 µg/mL のサロゲート内標準

液を調製する。

〔シリンジスパイク内標準液〕

市販のベンゾ[a]ピレン- d_{12} 標準液（200 $\mu\text{g/mL}$ 、イソオクタン溶液）をシリンジスパイク内標準原液とする。ヘキサンで希釈して1.0 $\mu\text{g/mL}$ のシリンジスパイク内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準液をヘキサンで希釈して、対象物質の濃度が 0.50 ～ 1000 ng/mL になるように検量線用標準液を作製する。各濃度の検量線用標準液にはサロゲート内標準液を20 ng/mL及びシリンジスパイク内標準液を20 ng/mLの濃度になるように添加する。

(3) 分析法

【試料の捕集及び保存等】

環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」（平成 28 年 3 月）に従う。ベンゾ[a]ピレンは光分解性が確認されており¹⁾、試料採取容器はアルミホイルなどをして遮光する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

底質試料20 g-wet（10 g-dry 相当）をビーカーに量り取り（注4）、ハイドロマトリックス13 gと還元銅（粒状）5 g（注5）を加えて、スパチュラ等で均一になるようによく混合し、99 mL ASEセルへ移し入れる（注6）。セルにすき間がある場合はハイドロマトリックスを入れてセル内を満たす。ASEセルにサロゲート内標準液（1000 ng/mL）を80 μL 添加し（注7）、アセトン/ヘキサン(1:1)、100°C、1500psi で3回、高速溶媒抽出（ASE）を行う（注8）。得られた抽出液（約180 mL）を、あらかじめ精製水300 mLと塩化ナトリウム15 gを入れた500 mLの分液ロートに加える。ASEセルをアセトン数mLで洗いこんで分液ロートに入れる。10分間振とうした後、10分間静置し、水層を500 mLビーカーに移す。分液ロートを傾けて、ヘキサン層を分液ロートの上部から別の200 mLビーカーに移す。分液ロートにさきほどの水層と新たなヘキサン50 mLを加えて再度10分間振とうした後、10分間静置する（注9）。分液ロートの下部から水層を捨てた後、ヘキサン層を先の抽出液（ヘキサン）と合わせた後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ナン型フラスコに移し入れ、ロータリーエバポレーター（水浴温度 30°C）で3 mL程度まで濃縮する（注10）。濃縮液を試験管に移し替え、ヘキサンで4 mL に定

容し、粗抽出液とする。あらかじめ10 mLのヘキサンで洗浄したシリカゲルカートリッジ(Sep-Pak Vac 12 cc (2 g) Silica Cartridge)に粗抽出液1 mLを負荷し、ヘキサン8 mLで通液（廃棄）する（注11）。ジクロロメタン/ヘキサン(5:95)15 mLで溶出し、ナシ型フラスコに移し入れ、ロータリーエバポレーターで3~4 mL程度まで濃縮する。濃縮液を10 mLスピッツ管に移し替え、窒素気流下で濃縮（注12）、ヘキサンで1 mL に定容し、シリンジスパイク内標準液（1000 ng/mL）20 μ Lを添加して試験液とする（注7）。

【空試験液の調製】

実試料が含有すると推定される量の精製水を用い、【試料の前処理及び試験液の調製】の項に従って操作し、得られた試験液を空試験液とする。

【測定】

〔GC/MS 測定条件〕

GC/MS 機器	: GC:Agilent 製 6890N, MS:日本電子製 JMS-800D
使用カラム	: Agilent 製 DB-EUPAH (20 m \times 0.18 mm, 0.14 μ m) ²⁾
カラム温度	:60°C (1 min) \rightarrow 10°C/min \rightarrow 250°C (0 min) \rightarrow 5°C/min \rightarrow 300°C (0 min) \rightarrow 25°C/min \rightarrow 320°C (5 min)
注入口温度	: 325°C
注入方法	: スプリットレス (パージ開始時間 0.8 min)
注入量	: 0.5 μ L
キャリアーガス	: ヘリウム 1.5 mL/min (定流量)
インターフェース温度	: 330°C
イオン源温度	: 300°C
イオン化電圧	: 38 eV
イオン化電流	: 400 μ A
イオン化法	: EI
検出器電圧	: 0.300 kV
検出モード	: SIM (分解能 >10000)
モニターイオン	: ベンゾ[a]ピレン m/z 252.0939 (定量) m/z 250.0782 (確認 1) (注 13) m/z 253.0973 (確認 2) (注 13) : ベンゾ[a]ピレン- ¹³ C ₄ m/z 256.1078 : ベンゾ[a]ピレン-d ₁₂ m/z 264.1692 (定量)、 m/z 265.1726 (確認) : ロックマス m/z 230.9856

〔検量線〕

検量線用標準液 0.5 μL を GC/MS に注入し、対象物質とサロゲート内標準の濃度比及び得られたピーク面積比から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 0.5 μL を GC/MS に注入し、対象物質とサロゲート内標準の濃度及びピーク面積の比を検量線に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

試料中の対象物質濃度 C (μg/g-dry) は、次式により算出する。

$$C = R \times Q/V$$

R : 検量線から求めたサロゲート内標準濃度に対する対象物質濃度の比

Q : 試料中に添加したサロゲート内標準質の量 (μg)

(= 添加するサロゲート内標準の濃度 (μg/μL) × 添加するサロゲート内標準の容量 (μL))

V : 試料量 (g-dry)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$$Q = 0.08 \text{ (}\mu\text{g)}$$

(= 添加するサロゲート内標準の濃度 (1.0 ng/μL) × 添加するサロゲート内標準の容量 (80 μL))

$$V = 10 \text{ g-dry}$$

即ち、

$$C = R \times 0.008 \text{ (}\mu\text{g/ g-dry)}$$

である。

〔装置検出下限値(IDL)〕

本分析装置での IDL を表 1 に示す (注 14)。

物質名	IDL (pg)	試料量 (g-dry)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/g-dry)
ベンゾ[a]ピレン	0.057	10	4.0	0.047

〔分析方法の検出下限値 (MDL) 及び定量下限値 (MQL)〕

本分析方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す (注 15)。

表 2 MDL 及び MQL 算出の結果

物質名	試料量 (g-dry)	最終液量 (mL)	MDL (ng/g-dry)	MQL (ng/g-dry)
ベンゾ[a]ピレン	4.1	4.0	0.19	0.48

注 解

- (注1) 使用する精製水は、精製水由来のブランクが十分に低いことを予め確認して使用する。
- (注2) 計量器具については JIS R 3505 に記載のクラス A のガラス器具を使用する。
- (注3) マイクロピペットを使用する場合には精度管理ないしはバリデーションされたものを用いることを基本とし、測定誤差 2%以下となることを担保しておくのが望ましい。
- (注4) シルト質の場合は遠心分離により固まっているので、数 mL の精製水でスラリー状にするとよい。
- (注5) ハイドロマトリックスは脱水と分散の目的で添加している。ブランク値が変わらなかったためアセトン洗浄を行わなかったが、ブランク値が高く検出される場合は事前にアセトンなどで洗浄し³⁾、ドラフト等で乾燥させてから使用する。また、硫黄分の少ない底質は還元銅を減らしても差し支えない³⁾。
- (注6) シルト質の場合はベンゾ[a]ピレンの濃度が比較的高く、試料量を減らして、33 mL や 66 mL の ASE セルでも十分定量できる。
- (注7) 機器の感度や試料濃度を考慮して、添加量は適宜変更すること。例えば、洞海湾の底質から高濃度のベンゾ[a]ピレンが検出されているが⁴⁾、高濃度が予想される地点の検体は希釈することを前提に添加量を増やすこと。
- (注8) その他のパラメータは HEAT 5 分、STATIC TIME 10 分、RINSE VOLUME 60%、PURGE 60 秒、CYCLES 3 回でおこなった。
- (注9) ここでは、便宜上 1 つの分液ロートを用いて操作したが、別の分液ロートに水層を分取し、新たなヘキサン 50 mL を加えて再度 10 分間振とうした後、10 分間静置、という操作でもよい。
- (注10) 乾固させないこと。
- (注11) 事前に溶出パターンを確認しておくこと。なお、ナフタレンを同時分

析する場合はヘキサン 6 mL で通液（廃棄）し、硫黄の除去⁵⁾を確認しておくことが望ましい。

- (注12) 乾固させると回収率の低下が認められた。乾固させないように気をつける。
- (注13) 定量イオンのピークが飽和した時は、確認イオン 1 または確認イオン 2 を用いて定量することができる。

(注14) IDLは、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成28年3月)に従って算出した。算出結果を表3に、測定時のクロマトグラムを図1に示す。

表3 IDLの算出結果

対象物質名	ベンゾ[a]ピレン
試料量 (g-dry)	10
最終液量 (mL)	4.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.50
注入量 (pg)	0.25
装置注入液量 (μL)	0.50
結果1 (pg)	0.335
結果2 (pg)	0.329
結果3 (pg)	0.323
結果4 (pg)	0.311
結果5 (pg)	0.324
結果6 (pg)	0.320
結果7 (pg)	0.290
平均値 (pg)	0.3189
標準偏差 (pg)	0.0147
IDL (pg)*	0.057
IDL 試料換算値 (ng/g-dry)	0.047
S/N 比	13
CV (%)	4.7

* $IDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

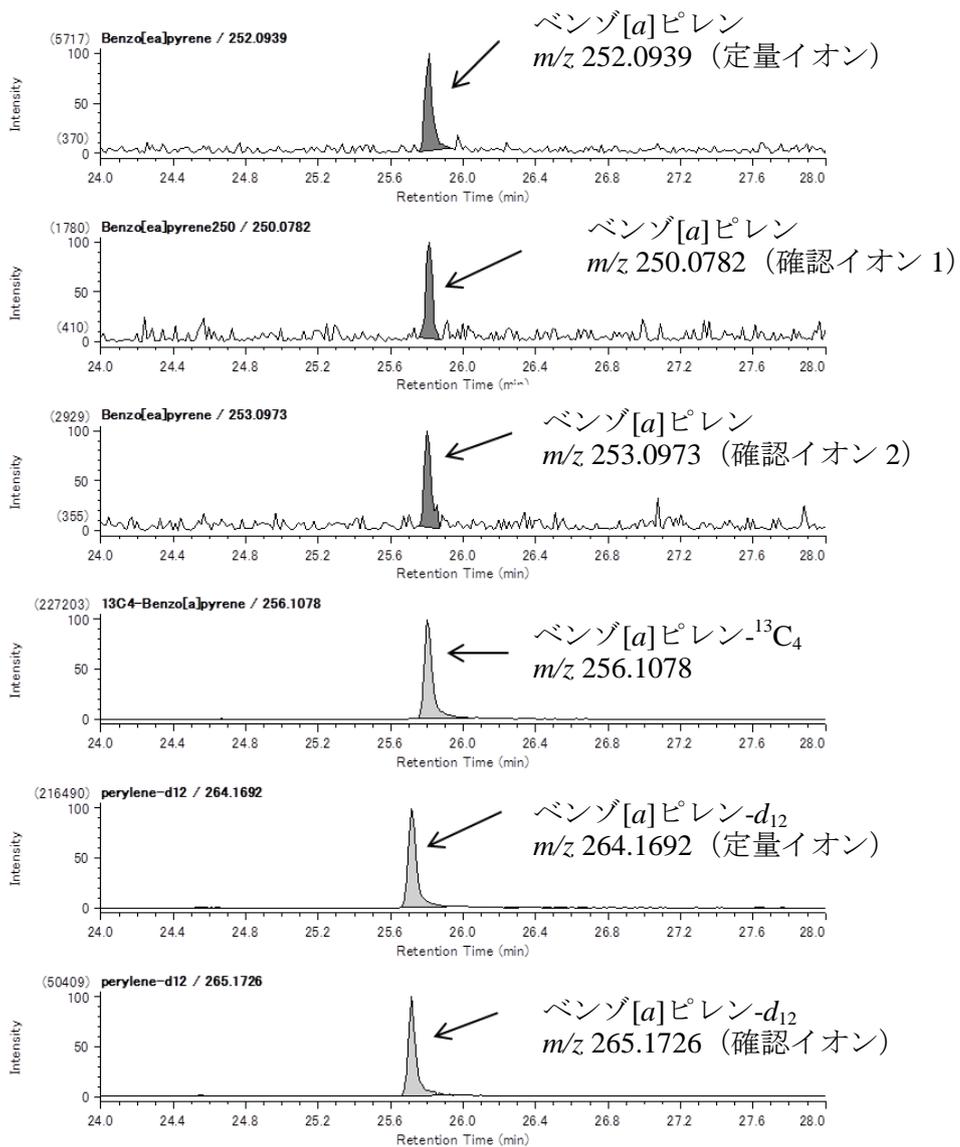


図1 IDL測定時のクロマトグラム
 (ベンゾ[a]ピレン (0.50 ng/mL)、ベンゾ[a]ピレン-¹³C₄ (20 ng/mL)、
 ベンゾ[a]ピレン-d₁₂ (20 ng/mL))

(注 15) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って算出した。環境試料から検出されるため、標準物質を添加せず、試料量を減らして MDL 及び MQL を算出した。算出結果を表 4 に、測定時のクロマトグラムを図 2 に示す。

また、操作ブランク試験においてベンゾ[a]ピレンが検出されることから、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って操作ブランク試料を用いて MDL 及び MQL を算出した。操作ブランクによる算出結果を表 5 に、測定時のクロマトグラムを図 3 に示す。底質試料から算出した MDL は 0.19 ng/g-dry、操作ブランクから算出した MDL は 0.074 ng/g-dry であったことから、より値の大きい底質試料から算出した MDL を採用した。

表4 MDL 及び MQL の算出結果

対象物質名	ベンゾ[a]ピレン
試料	底質
試料量 (g-dry)	4.1
標準添加量 (ng)	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	-
最終液量 (mL)	4.0
注入液濃度 (ng/mL)	-
装置注入量 (μL)	0.5
操作ブランク平均 (ng/g-dry) ^{*1}	0.101 (96)
無添加平均(ng/g-dry) ^{*2}	0.586 (94)
結果 1 (ng/g-dry)	0.521 (93)
結果 2 (ng/g-dry)	0.634 (87)
結果 3 (ng/g-dry)	0.620 (100)
結果 4 (ng/g-dry)	0.600 (99)
結果 5 (ng/g-dry)	0.614 (97)
結果 6 (ng/g-dry)	0.595 (88)
結果 7 (ng/g-dry)	0.516 (96)
平均値 (ng/g-dry)	0.5857 (94)
標準偏差 (ng/g-dry)	0.048
MDL (ng/g-dry) ^{*3}	0.19
MQL (ng/g-dry) ^{*4}	0.48
S/N 比	11
CV (%)	8.1

*1 空試験液を測定した値の平均値 (n = 7)

*2 MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値(n = 7)

*3 $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

*4 $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

*5 括弧内の数値はサロゲート回収率(%)

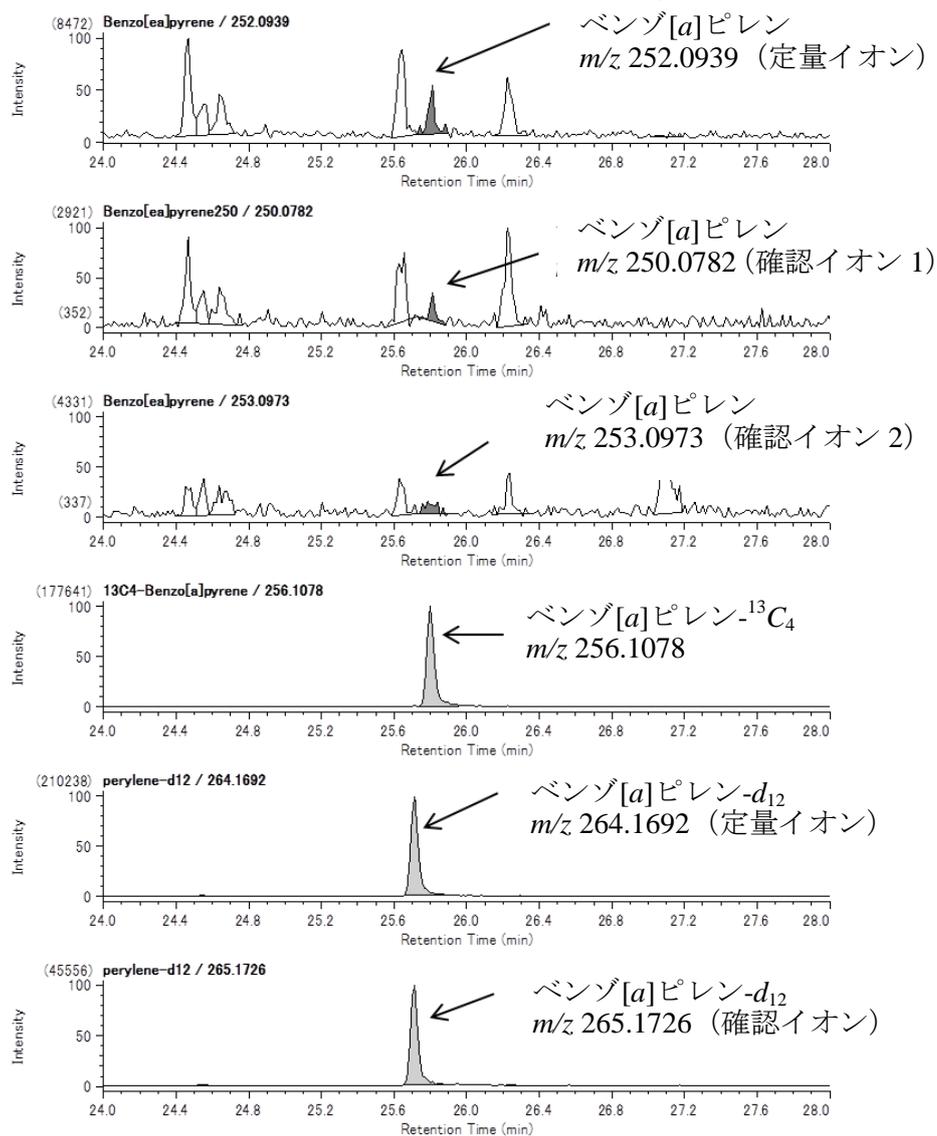


図2 MDL測定時のクロマトグラム(底質無添加)
(ベンゾ[a]ピレン-¹³C₄ (20 ng/mL)、ベンゾ[a]ピレン-d₁₂ (20 ng/mL))

表 5 MDL 及び MQL の算出結果 (操作ブランク)

対象物質名	ベンゾ[a]ピレン
試料	精製水
試料量 (g)	10
最終液量 (mL)	4.0
装置注入量 (μL)	0.5
結果 1 (ng/g-dry)	0.111 (103)
結果 2 (ng/g-dry)	0.117 (102)
結果 3 (ng/g-dry)	0.126 (98)
結果 4 (ng/g-dry)	0.0964 (93)
結果 5 (ng/g-dry)	0.0783 (90)
結果 6 (ng/g-dry)	0.0748 (95)
結果 7 (ng/g-dry)	0.0999 (93)
平均値 (ng/g-dry)	0.1005 (96)
標準偏差 (ng/g-dry)	0.0192
MDL (ng/g-dry) ^{*1}	0.074
MQL (ng/g-dry) ^{*2}	0.19
S/N 比	5.0
CV (%)	19

*1 $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

*2 $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

*3 括弧内の数値はサロゲート回収率(%)

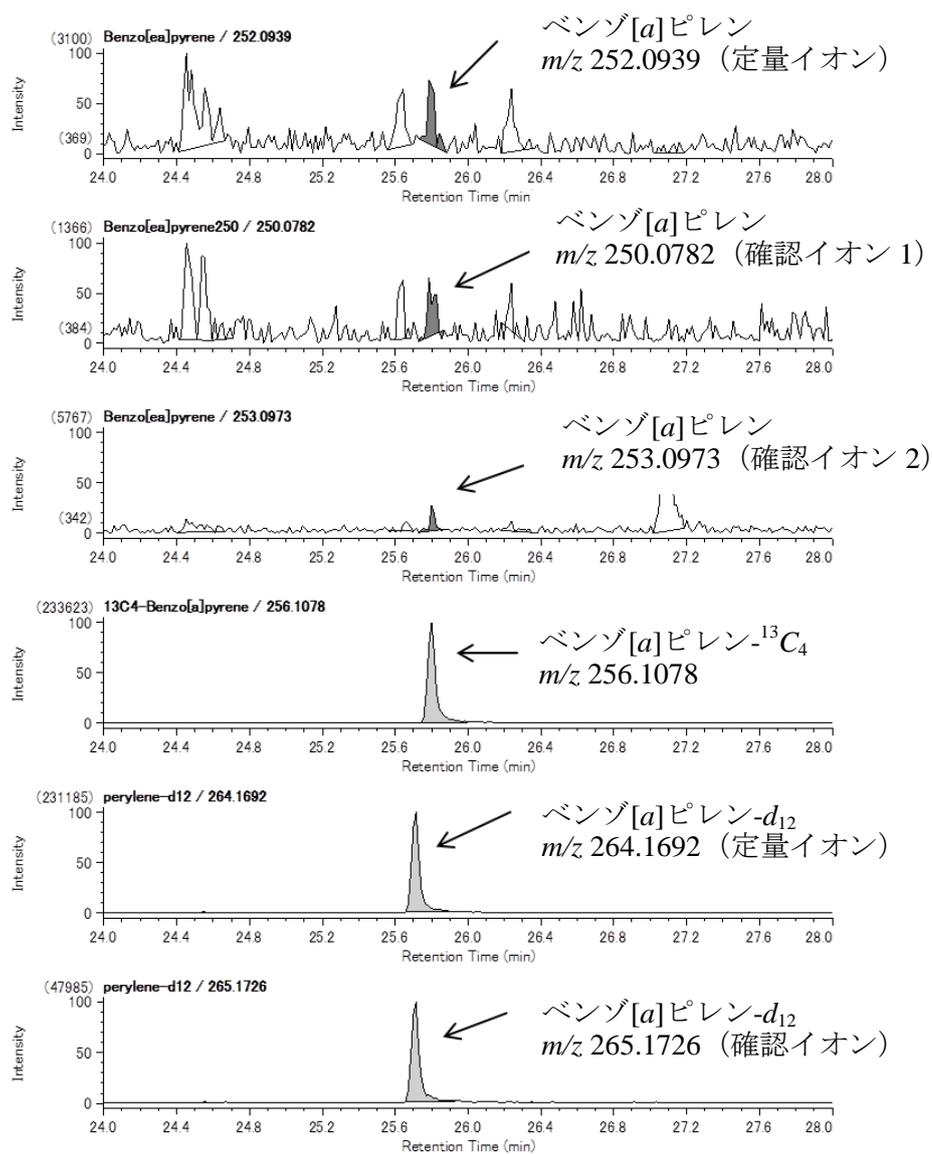


図3 操作ブランク測定時のクロマトグラム
(ベンゾ[a]ピレン-¹³C₄ (20 ng/mL)、ベンゾ[a]ピレン-d₁₂ (20 ng/mL))

§2 解説

【分析法】

〔フローチャート〕

分析法のフローチャートを図4に示す。

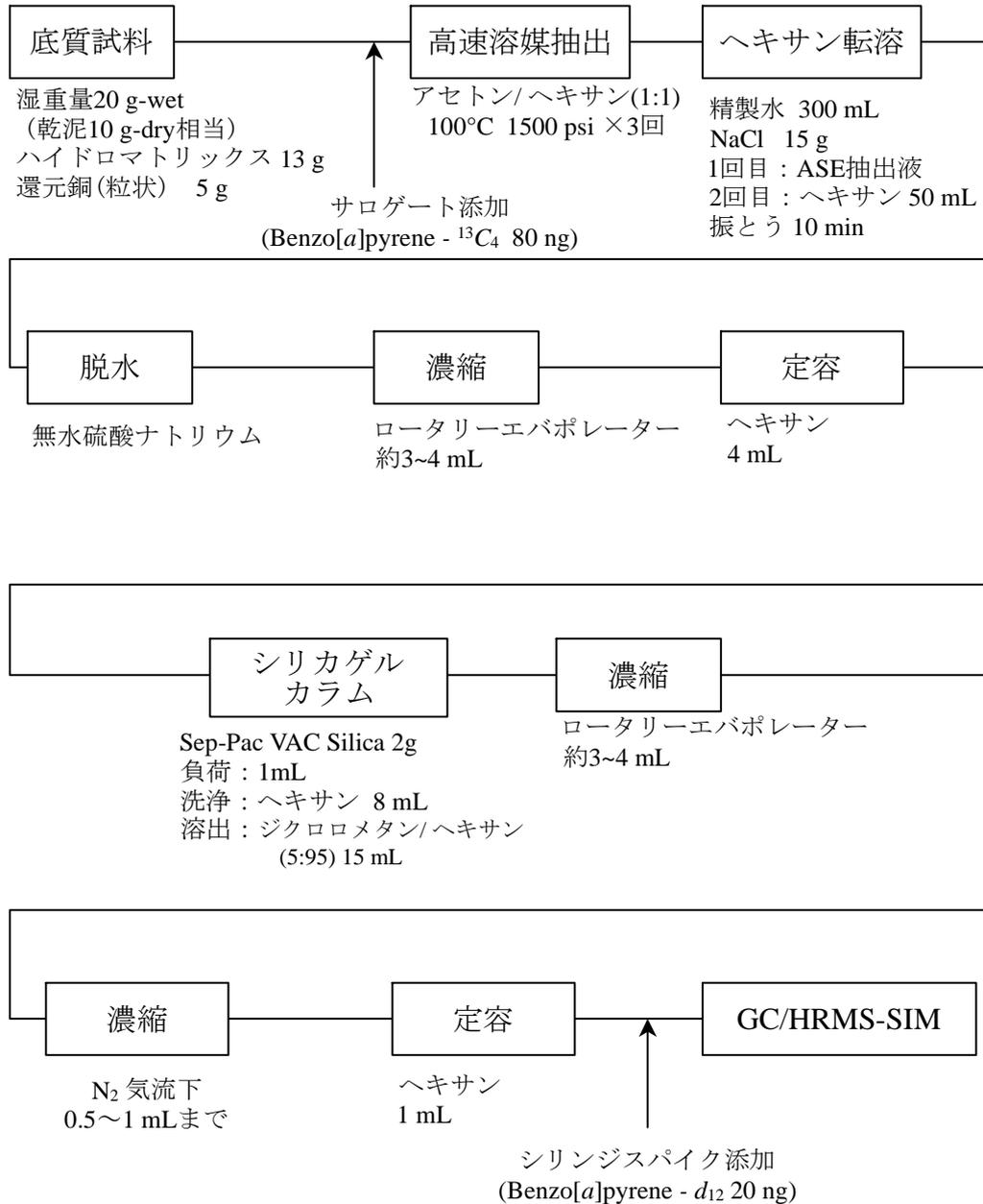
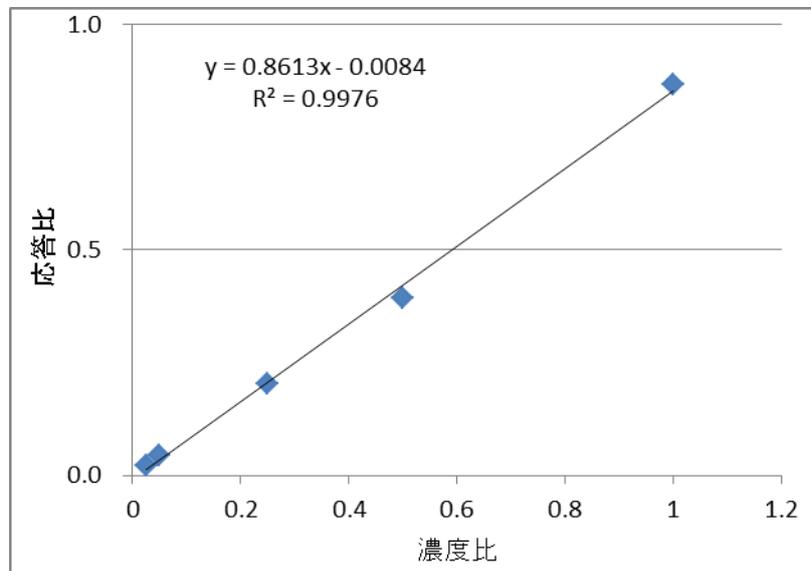


図4 分析法のフローチャート

[検量線]

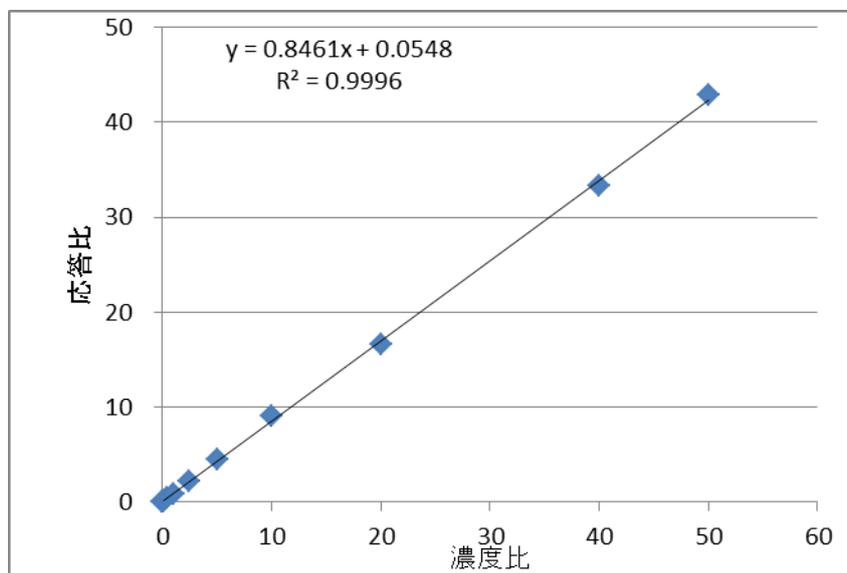
検量線を図 5-1～5-4 に、検量線作成用データを表 6-1～6-2 に示す。



濃度(ng/mL)→ (5) (10) (20)

図 5-1 検量線：ベンゾ[a]ピレン（定量イオン）

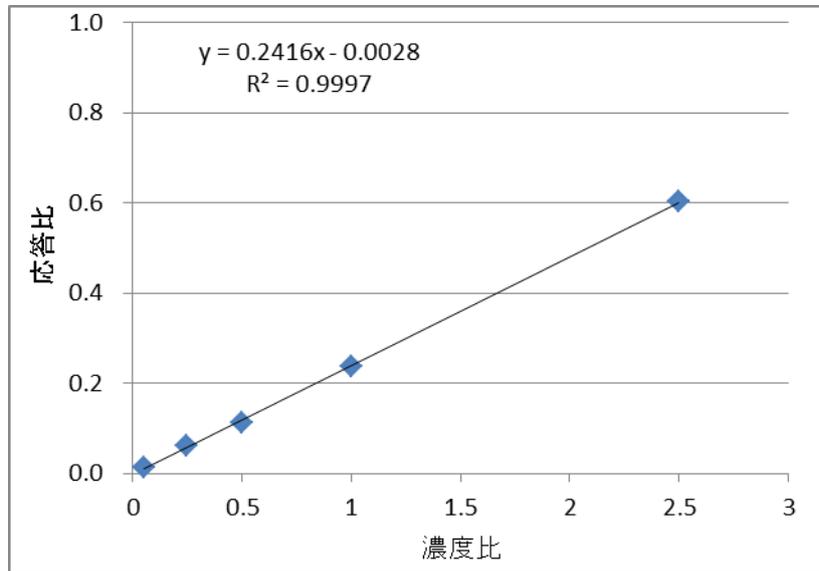
（サロゲート内標準 20 ng/mL、対象物質濃度範囲 0.50～20 ng/mL）



濃度(ng/mL)→ (200) (400) (800) (1000)

図 5-2 検量線：ベンゾ[a]ピレン（定量イオン）

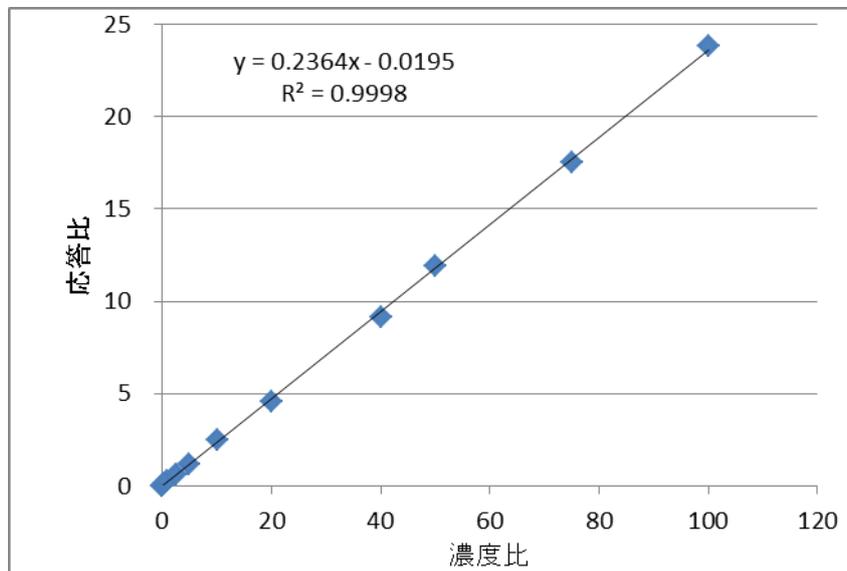
（サロゲート内標準 20 ng/mL、対象物質濃度範囲 0.50～1000 ng/mL）



濃度(ng/mL)→ (10) (20) (50)

図 5-3 検量線：ベンゾ[a]ピレン（確認イオン 1）

（サロゲート内標準 20 ng/mL 対象物質濃度範囲 1.0～50 ng/mL）



濃度(ng/mL)→ (400) (800) (1500) (2000)

図 5-4 検量線：ベンゾ[a]ピレン（確認イオン 1）

（サロゲート内標準 20 ng/mL 対象物質濃度範囲 1.0～2000 ng/mL）

表 6-1 検量線作成用データ (ベンゾ[a]ピレン、定量イオン)

標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
	対象物質 (A _s) ベンゾ[a]ピレン (m/z 252.0939)	サロゲート内標準 (A _{is}) ベンゾ[a]ピレン- ¹³ C ₄ (m/z 256.1078)	
0.50	196.6	9689.0	0.0203
1.0	454.7	10082.1	0.0451
5.0	1822.3	8966.9	0.2032
10	3639.0	9231.9	0.3942
20	8447.3	9740.6	0.8672
50	24617.7	11248.0	2.1886
100	42628.9	9621.7	4.4305
200	93791.5	10337.8	9.0727
400	207298.4	12444.5	16.6578
800	556177.6	16688.6	33.3268
1000	791353.1	18478.9	42.8247

サロゲート内標準濃度: 20 ng/mL (C_{is})

表 6-2 検量線作成用データ (ベンゾ[a]ピレン、確認イオン 1)

標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
	対象物質 (A _s) ベンゾ[a]ピレン (m/z 250.0782)	サロゲート内標準 (A _{is}) ベンゾ[a]ピレン- ¹³ C ₄ (m/z 256.1078)	
1.0	129.8	10082.1	0.0129
5.0	546.8	8966.9	0.0610
10	1030.2	9231.9	0.1116
20	2299.5	9740.6	0.2361
50	6782.3	11248.0	0.6030
100	11457.3	9621.7	1.1908
200	25390.9	10337.8	2.4561
400	57112.8	12444.5	4.5894
800	152878.0	16688.6	9.1606
1000	219688.9	18478.9	11.8886
1500	332868.1	18958.4	17.5578
2000	454472.4	19087.9	23.8094

サロゲート内標準濃度: 20 ng/mL (C_{is})

[クロマトグラム]

標準液のクロマトグラムを図6に示す。

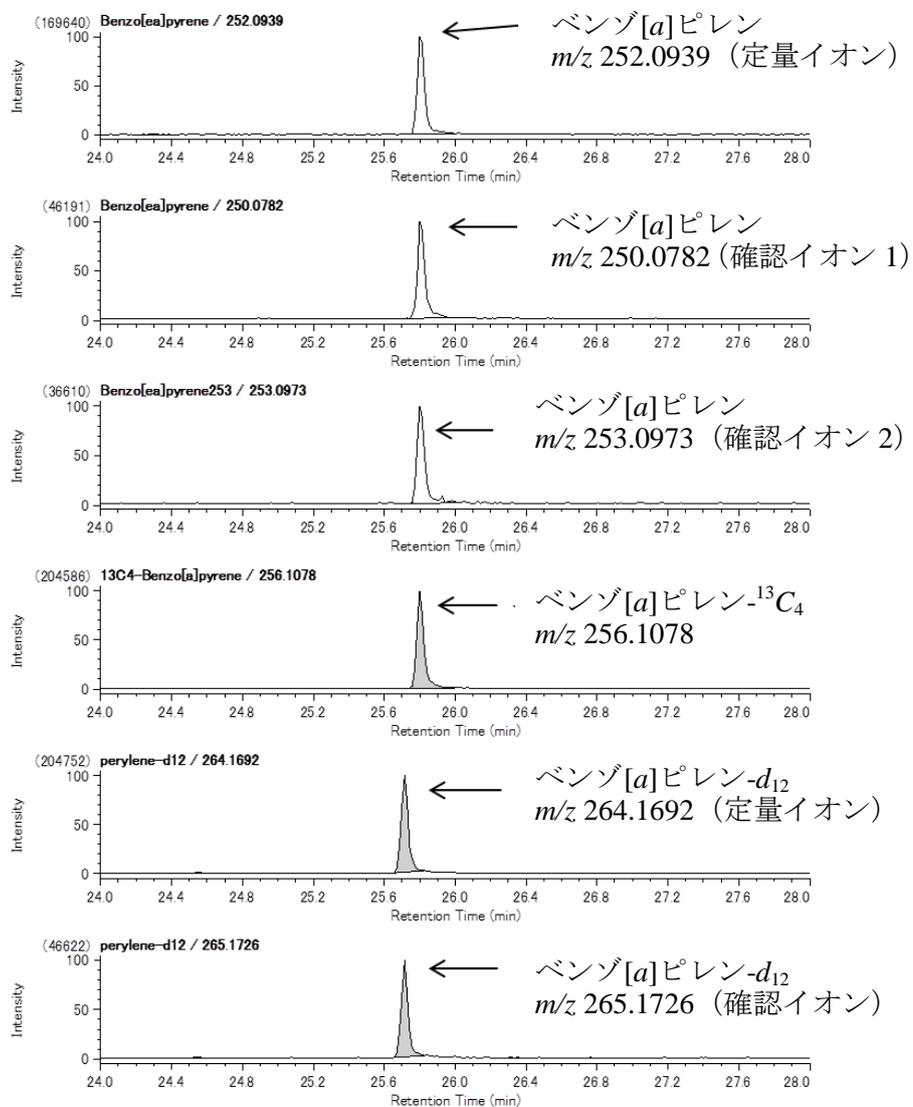


図6 標準液のクロマトグラム

(ベンゾ[*a*]ピレン (20 ng/mL) 、ベンゾ[*a*]ピレン-*d*₁₂ (20 ng/mL)、
ベンゾ[*a*]ピレン-¹³C₄ (20 ng/mL))

[マススペクトル]

標準物質のマススペクトルをそれぞれ図 7-1～7-3 に示す。

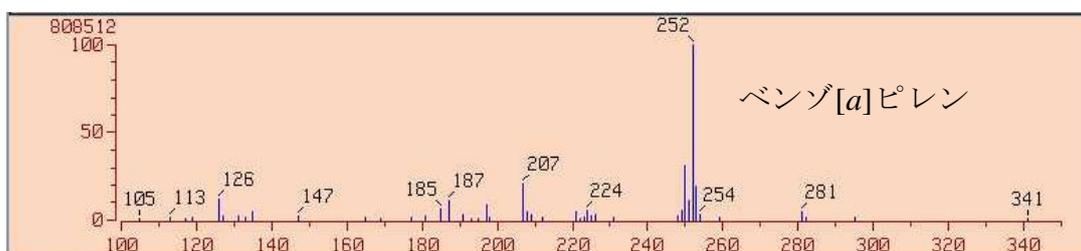


図 7-1 ベンゾ[a]ピレンのマススペクトル

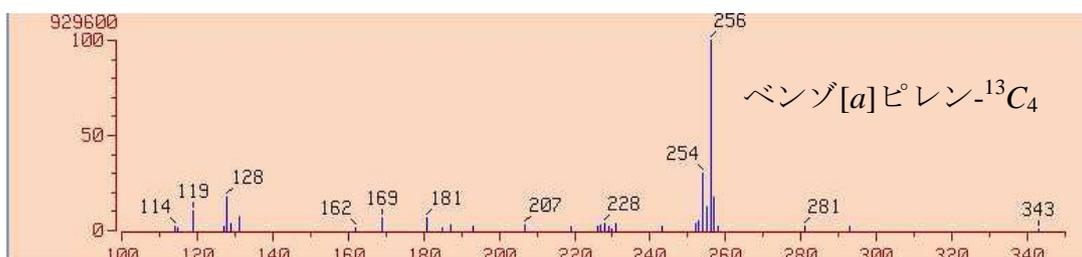


図 7-2 ベンゾ[a]ピレン-¹³C₄のマススペクトル

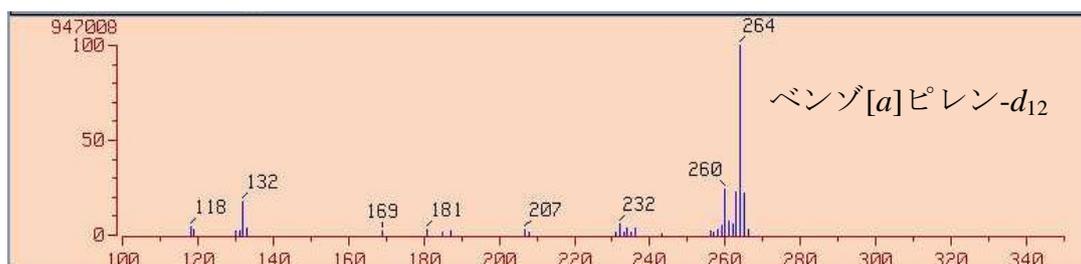


図 7-3 ベンゾ[a]ピレン-d₁₂のマススペクトル

〔添加回収試験〕

添加回収試験の結果を表7に、クロマトグラムを図8～図9に示す。なお、姫路沖の底質試料（含水率53%、強熱減量11%）を使用した。

表7 添加回収試験結果（ベンゾ[a]ピレン）

試料	試料量 (g-dry)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度* (ng/g-dry)	回収率* (%)	変動係数 (%)	サロゲート 回収率(%)
底質	10	0	2	200	-	-	92
(姫路沖)	10	6000	5	750	92	4.8	113

*：サロゲートにより補正された値である。

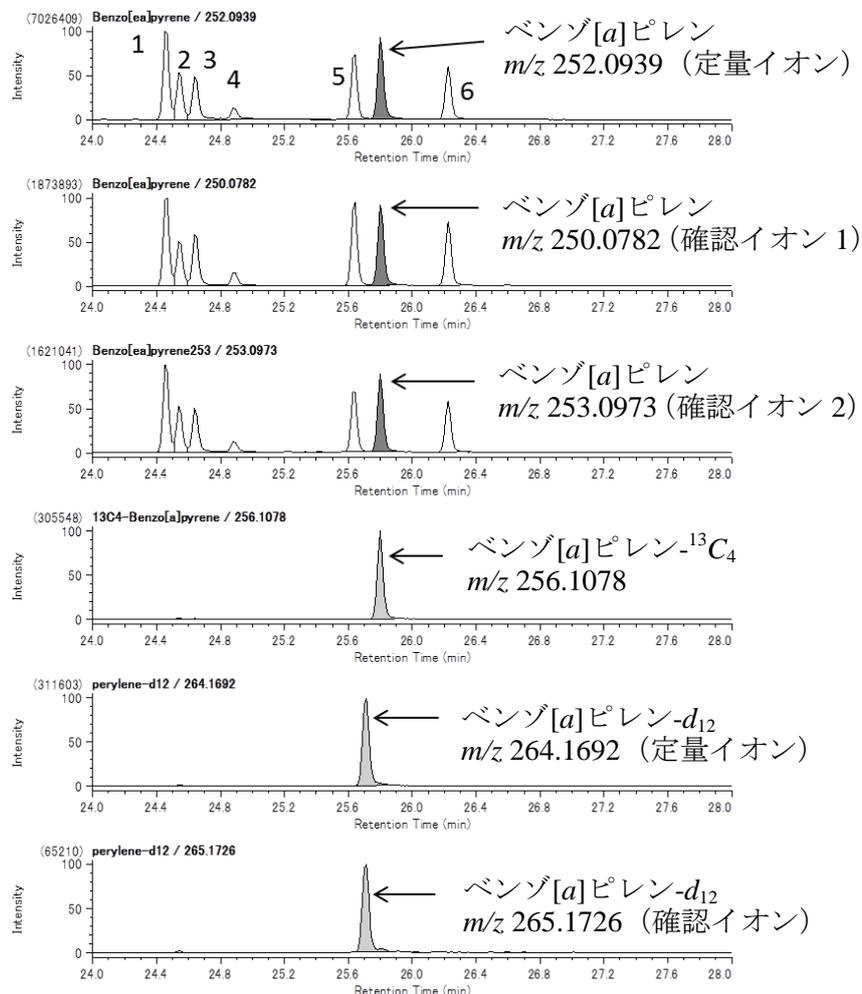


図8 添加回収試験時（底質試料（無添加））のクロマトグラム

1: ベンゾ[b]フルオランテン、2: ベンゾ[k]フルオランテン、3: ベンゾ[j]フルオランテン、
4: ベンゾ[a]フルオランテン、5: ベンゾ[e]ピレン、6: ペリレン

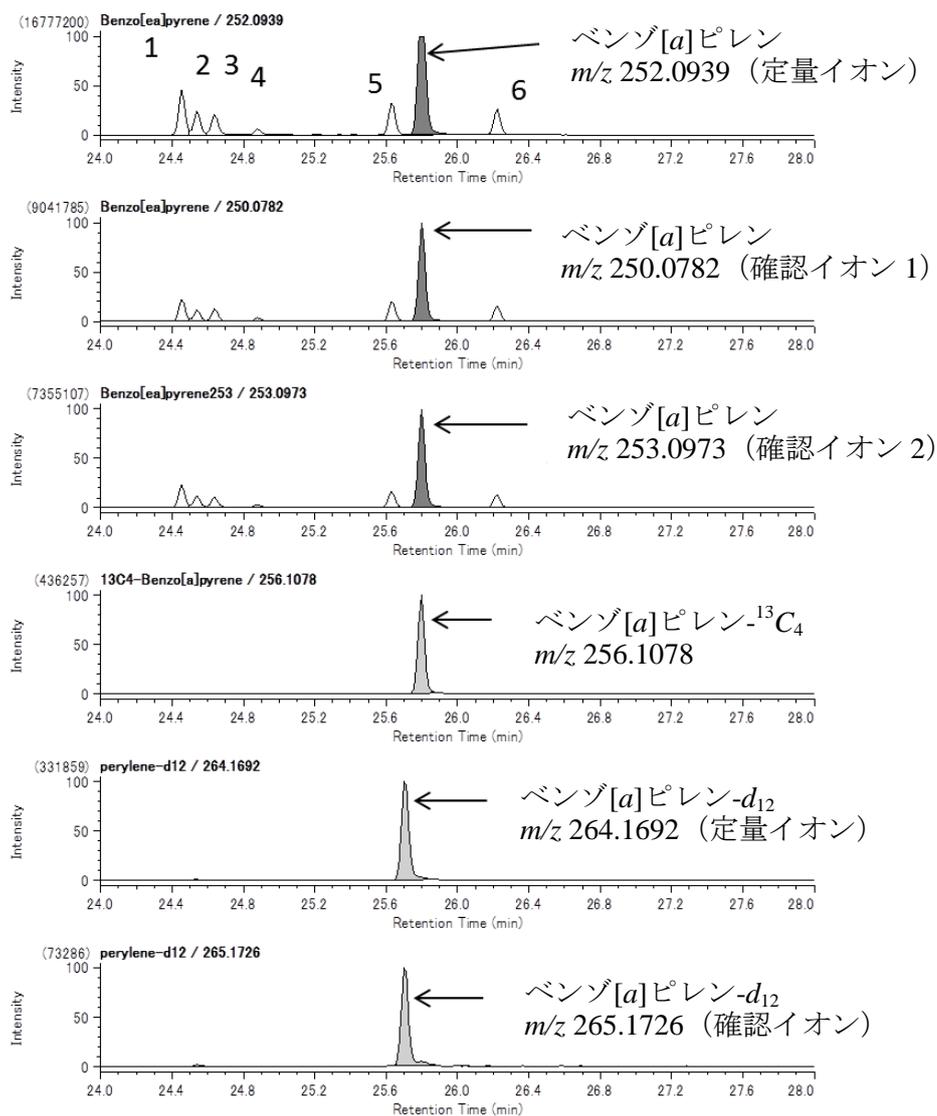


図9 添加回収試験時（底質試料（標準添加））のクロマトグラム
 1: ベンゾ[b]フルオランテン、2: ベンゾ[k]フルオランテン、3: ベンゾ[j]フルオランテン、
 4: ベンゾ[a]フルオランテン、5: ベンゾ[e]ピレン、6: ペリレン

〔保存性試験〕

保存性試験の結果を表 8-1～8-2 に示す。添加回収試験で用いた底質試料（無添加）の粗抽出液を 4℃ で保存し、14 日後に前処理・定量した。粗抽出液と標準液におけるベンゾ[a]ピレンの残存率は 90 % 以上で良好であった。

表 8-1 保存性試験結果

試験数	媒体	初期濃度 (ng/g-dry)	検出濃度 (ng/g-dry) (残存率 (%)*)
			14 日間
2	粗抽出液	123	123 (100)

*残存率(%): 初期濃度に対する検出濃度の割合

表 8-2 保存性試験結果

試験数	媒体	調製濃度 (ng/mL)	調製濃度 (ng/mL) (残存率 (%)*)		
			7 日間	14 日間	1 か月
2	標準液	5.0	-	-	4.8 (96)
		100	-	-	97 (97)

*残存率(%): 初期濃度に対する検出濃度の割合

〔認証値付き底質試料の分析結果〕

NIST の認証値付き底質試料 (SRM1944、ベンゾ[a]ピレン:4300±130 ng/g-dry) を使用して、分析方法の妥当性を確認した。結果を表 9 に示すが、認証値の範囲内であった。

表 9 添加回収試験結果

試料名	物質名	試料量 (g)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度* (ng/g-dry)	回収率* (%)	変動係数 (%)	サロゲート回収率 (%)
SRM 1944	ベンゾ[a]ピレン	1.00g-dry	-	3	4200	98	7.0	93

* : サロゲートにより補正された値である。

〔シリカゲルカラムの溶出パターン〕

ヘキサン 1 mL にベンゾ[a]ピレン 50 ng とベンゾ[a]ピレン-¹³C₄ を 50 ng 添加し、Sep-Pak Vac 12 cc (2 g) Silica Cartridge でクリーンアップしたときの、溶出パターンを表 10-1 に示す。また、姫路沖底質の粗抽出液 1 mL を、Sep-Pak Vac 12 cc (2 g) Silica Cartridge でクリーンアップしたときの、溶出パターンを表 10-2 に示す。結果、ヘキサン 8 mL で前捨てし、5% ジクロロメタン/ヘキサン 15 mL で溶出させることにした。

表 10-1 標品における Sep-Pak Vac 12cc(2g) Silica Cartridge の溶出パターン(%)

溶媒	画分	ベンゾ[a]ピレン	ベンゾ[a]ピレン- ¹³ C ₄
ヘキサン	0-2 mL	0.0	0.0
	2-4 mL	0.0	0.0
	4-6 mL	0.0	0.0
	6-8 mL	0.0	0.0
	8-10 mL	0.0	0.0
	10-12 mL	7.7	7.5
	12-14 mL	38	38
	14-16 mL	28	31
	16-18 mL	7.5	6.7
ジクロロメタン/ヘキサン (5:95)	18-20 mL	1.4	1.6
	0-5 mL	0.9	1.0
	5-10 mL	0.0	0.0
	10-15 mL	0.0	0.0
	15-20 mL	0.0	0.0

表 10-2 姫路沖の底質における Sep-Pak Vac 12 cc (2 g) Silica Cartridge の
溶出パターン(%)

溶媒	画分	ベンゾ[a]ピレン	ベンゾ[a]ピレン- ¹³ C ₄
ヘキサン ジクロロメタ ン/ヘキサン (5:95)	0-8 mL	0.0	0.0
	0-2 mL	0.0	0.0
	2-4 mL	0.0	0.0
	4-6 mL	0.0	0.0
	6-8 mL	2.5	2.4
	8-10 mL	48	50
	10-12 mL	42	42
	12-14 mL	6.0	6.4
	14-16 mL	0.0	0.0
16-18 mL	0.0	0.0	
18-20 mL	0.0	0.0	

〔環境試料の分析〕

姫路沖で採取した底質試料を分析した結果、ベンゾ[a]ピレンは200 ng/g-dry 検出された。

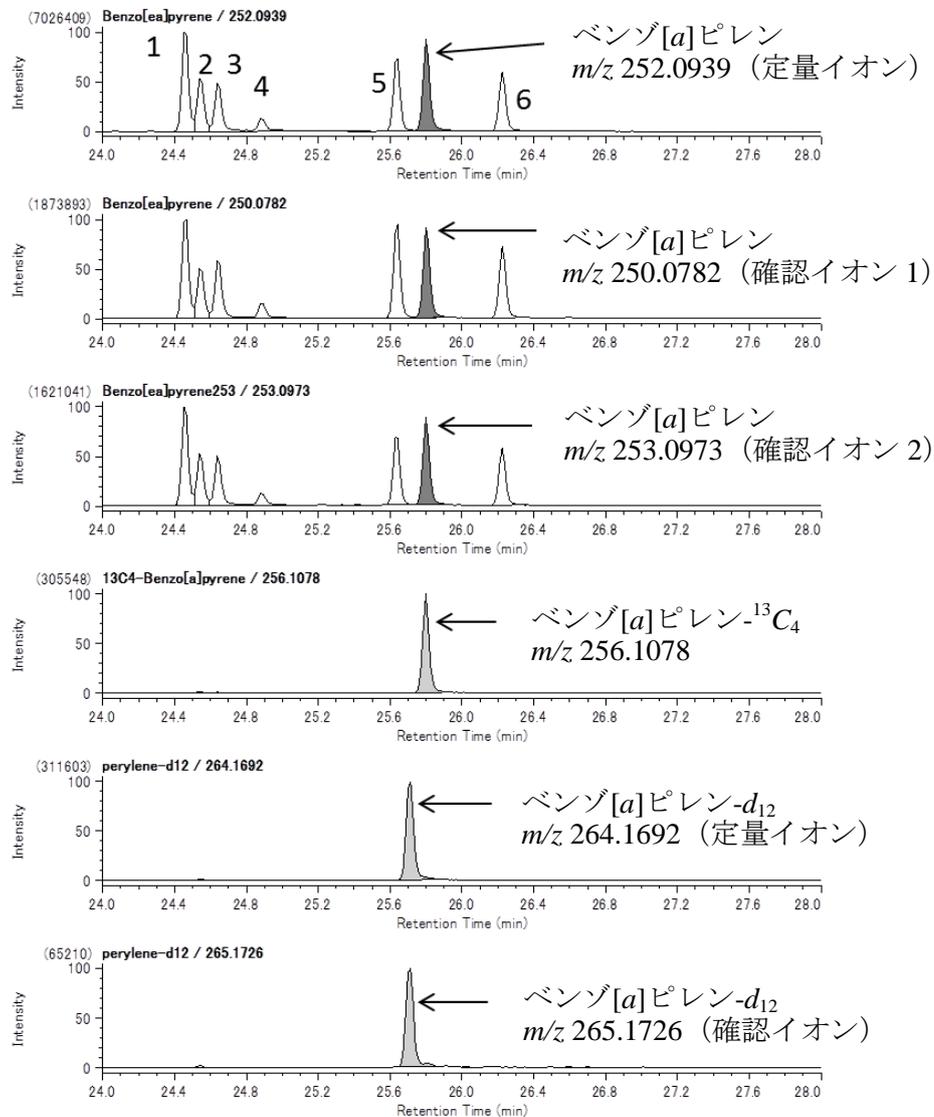


図 10 姫路沖の底質試料のクロマトグラム

1:ベンゾ[b]フルオランテン、2: ベンゾ[k]フルオランテン、3: ベンゾ[j]フルオランテン、
4: ベンゾ[a]フルオランテン、5: ベンゾ[e]ピレン、6: ペリレン

【評価】

本分析法におけるベンゾ[a]ピレンの検量線は、0.50 ~ 1000 ng/mL の濃度範囲で $R^2 > 0.995$ であり、良好な直線性が得られた。MDL は 0.19 ng/g-dry、MQL は 0.48 ng/g-dry であった。添加回収試験（添加量 6000 ng）での回収率は、92%（変動係数 4.8%）であり、サロゲート内標準の回収率は 113%（変動係数 5.2%）であった。環境中の底質試料からは 200 ng/g-dry 検出された。操作ブランクが 0.10 ng/g-dry 程度検出されるが、操作ブランク試験を同時に実施することで、環境調査への適用は十分可能であると考えられる。

【参考文献】

- 1) 吉岡敏行、藤原博一、山辺真一、浦山豊弘：有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究、岡山県環境保健センター年報,35,35-42(2011)
- 2) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：平成 25 年度化学物質分析法開発調査報告書（ジベンゾ[ae]ピレン、（一財）日本環境衛生センター）,493-567(2014)
- 3) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：平成 22 年度化学物質分析法開発調査報告書（1,2,5,6,9,10-ヘキサブプロモシクロドデカン、名古屋市環境科学研究所）,532-557(2011)
- 4) Kadokami, K., Li, X., Pan, S., Ueda, N., Hamada, K., Jinya, D., and Iwamura, T.: Screening analysis of hundreds of sediment pollutants and evaluation of their effects on benthic organisms in Dokai Bay, Japan. *Chemosphere*, 90, pp 721-728(2013)
- 5) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：平成 19 年度化学物質分析法開発調査報告書（イソプロピルナフタレンなど、兵庫県環境研究センター）, 389-410 (2008)

【担当者連絡先】

所属先名称：（公財）ひょうご環境創造協会 兵庫県環境研究センター

所属先住所：〒654-0037 神戸市須磨区行平町 3-1-18

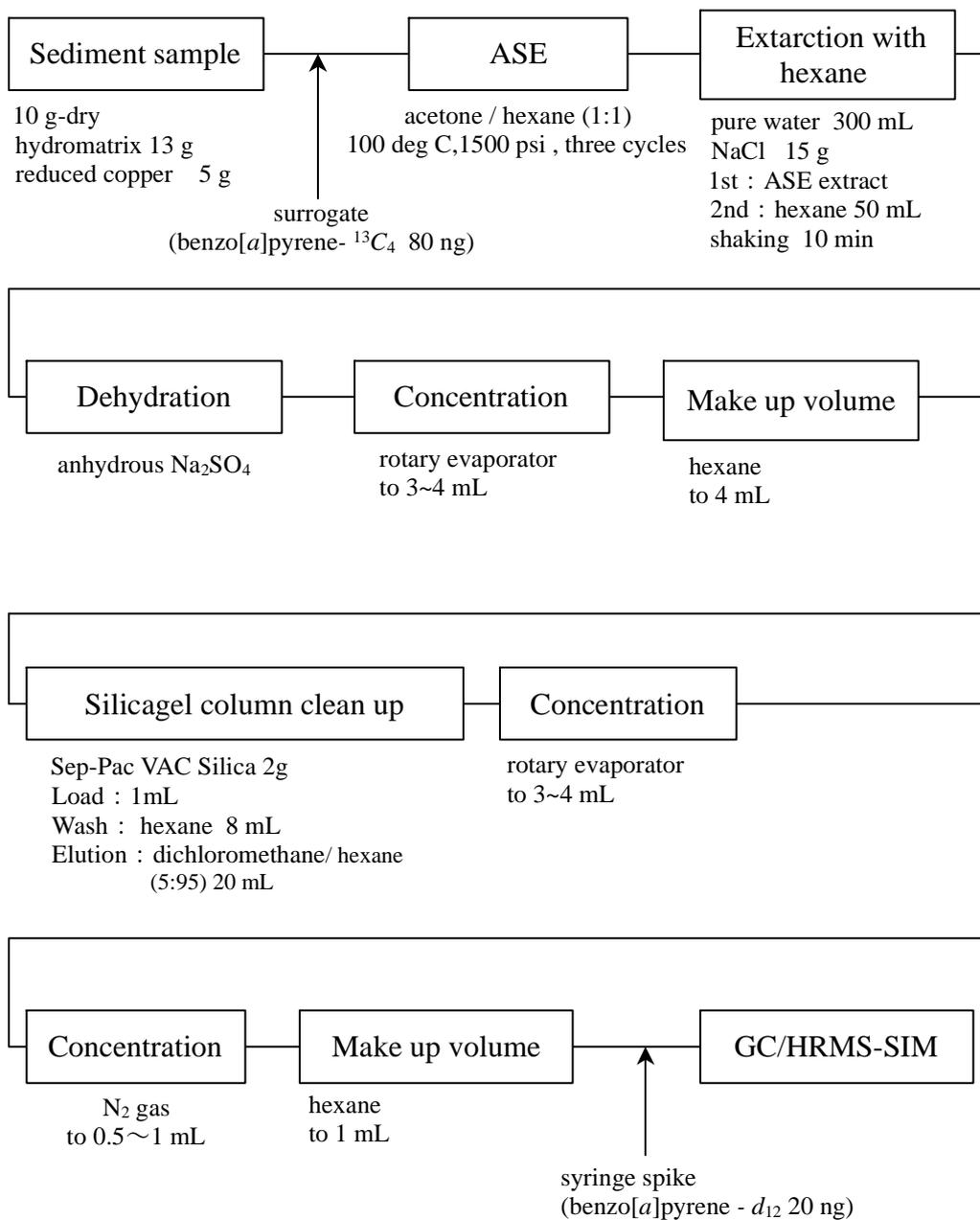
TEL：078-735-6913 FAX：078-735-7817

担当者名：羽賀雄紀

E-mail：haga-y@hies-hyogo.jp

Benzo[a]pyrene

This method has been developed for the determination of benzo[a]pyrene (BaP) in sediment samples by gas chromatography/mass Spectrometry (GC/MS). A sediment sample (10 g-dry), 13 g of hydromatrix and 5 g of reduced copper are taken in an accelerated solvent extraction (ASE) cell (cell volume: 99 mL) and are mixed well, and then are spiked with 80 ng of BaP-¹³C₄ as a surrogate. The mixture is extracted with acetone/hexane (1:1) by ASE (100 deg C, 1500 psi, 3 cycles). The extract is transferred into a separatory funnel containing 300 mL of purified water and 15 g of sodium chloride and is shaken for 10 min. After shaking, it is let alone for 10 min until hexane phase perfectly separate from water. Then the hexane extract is transferred to a beaker. This extraction procedure is repeated again with another 50 mL of hexane, and the two hexane extracts are combined. The combined extract is dehydrated with anhydrous sodium sulfate and is concentrated to 4 mL by rotary evaporation. One-milliliter of the concentrate (4 mL) is applied to a Sep-Pak Vac 12 cc (2 g) Silica Cartridge pre-washed with 10 mL of hexane. The cartridge is washed with 8 mL of hexane and is eluted with 15 mL of dichloromethane/hexane (5:95). The eluate is concentrated to 3 mL with a rotary evaporator and then is concentrated to 1 mL with a gentle nitrogen stream. After adding 20 ng of BaP-*d*₁₂ as an internal standard to the concentrate, the analyte is determined by GC/HRMS-SIM. The instrument detection limit (IDL) of BaP is 0.057 pg. The method detection limit (MDL) and the method quantification (MQL) of BaP are 0.19 ng/g-dry and 0.48 ng/g-dry, respectively.



物質名	分析法フローチャート	備考
<p>ベンゾ[a] ピレン</p> <p>IUPAC 名：ベン ゾ[pqr]テ トラフェ ン</p> <p>別名：3,4- ベンゾピ レン、3,4- ベンツピ レン</p>	<p>【底質】</p> <p>底質試料 湿重量20 g-wet (乾泥10 g-dry相当) ハイδροマトリックス 13 g 還元銅(粒状) 5 g</p> <p>高速溶媒抽出 アセトン/ヘキサン(1:1) 100°C 1500 psi ×3回 サロゲート添加 (Benzo[a]pyrene - ¹³C₄ 80 ng)</p> <p>ヘキサン転溶 精製水 300 mL NaCl 15 g 1回目：ASE抽出液 2回目：ヘキサン 50 mL 振とう 10 min</p> <p>脱水 無水硫酸ナトリウム</p> <p>濃縮 ロータリーエバポレーター 約3~4 mL</p> <p>定容 ヘキサン 4 mL</p> <p>シリカゲルカラム Sep-Pac VAC Silica 2g 負荷：1 mL 洗浄：ヘキサン 8 mL 溶出：ジクロロメタン/ヘキサン (5:95) 15 mL</p> <p>濃縮 ロータリーエバポレーター 約3~4 mL</p> <p>濃縮 N₂ 気流下 0.5~1 mLまで</p> <p>定容 ヘキサン 1 mL</p> <p>シリジスパイク添加 (Benzo[a]pyrene - d₁₂ 20 ng)</p> <p>GC/HRMS-SIM</p>	<p>分析原理： GC/HRMS-SIM-</p> <p>検出下限値： 【底質】 (ng/g-dry) 0.19</p> <p>分析条件： 機器 GC:Agilent 製 6890N MS:日本電子製 JMS-800D</p> <p>カラム DB-EUPAH 20 m×0.18 mm , 0.14 μm (Agilent 製)</p>