
原 著

大気浮遊粉塵中の1-ニトロピレン及びベンゾ(a)ピレンの季節変動に関する研究

藤 井 正 信

徳島大学医学部保健学科機能系検査学講座

(平成16年9月6日受付)

(平成16年9月13日受理)

徳島市の一地域において、大気浮遊粉塵を1年間にわたり採取し、大気浮遊粉塵中の1-ニトロピレンやベンゾ(a)ピレンの季節変動とそれらの汚染源の推定を行い次の結果を得た。

大気浮遊粉塵量は冬季が最も高く、次いで春季の順で、夏季が最も低かった。1-ニトロピレンは浮遊粉塵1g当たり年間0.19~0.51 μ gの範囲にあり、春季から夏季にかけて高くなり、夏季が最も高く、秋季が最も低かった。ベンゾ(a)ピレンは浮遊粉塵1g当たり年間3.60~6.65 μ gの範囲にあり、冬季が最も高く、次いで春季の順で、夏季にかけて低下がみられた。この動きは浮遊粉塵量の季節変動と関連性がみられた。季節の変動から、主な汚染源として暖房等の関連性が示唆された。

1-ニトロピレンは浮遊粉塵量の季節変動と関連性が少なく、浮遊粉塵中の鉛(Pb)やバナジウム(V)などの元素の季節変動と近似していることから、汚染源の一つとして自動車排気ガスとの関連性が示唆された。

環境基本法に基づき大気環境基準の設定されている物質のうち、いまだ環境基準達成率の低いものの一つに大気浮遊粒子状物質がある¹⁾。厳しい車の排気ガス規制にもかかわらず、車の絶対数の増加や、浮遊粒子状物質汚染の大きなウエートを占めていると考えられている、ディーゼルエンジン車などに対する排気ガス対策の遅れが要因として指摘されている¹⁾。浮遊粒子状物質はそれ自身よりも、この物質がいろいろな有害物質を吸着し、肺胞内に侵入するなど、人体に対する影響が大きい点に問題がある。有害物質として、鉛、カドミウム、ニッケルなどの有害金属をはじめ、変異原性や発癌性をもつ多環芳香族炭化水素(PHA)の存在が知られている^{2,3)}。一方、ディーゼルエンジン車などから排出される浮遊粒子状物質中にはAmesらによって開発された変異原性

試験によって、強い変異原を示す物質が報告されている^{4,5)}。この物質はPHAとは異なった化学構造をもつ未知の物質として注目されている⁶⁾。その内、多環芳香族ニトロ化合物の一つである1-ニトロピレンがディーゼルエンジン車の排気ガスから同定されており⁷⁾、また大気浮遊粒子状物質中にも微量ながら存在していることが報告されている⁸⁾。徳島市における1-ニトロピレンの汚染状態については報告が見られないので市内の一地点を選び季節別の変動を調べ、また同時に測定したPHAの一つであるベンゾ(a)ピレンなどとの比較や、汚染源の推定などについて検討した。

方 法

1. 試薬

1-ニトロピレン、ベンゾ(a)ピレンは和光純薬製の特級試薬を、1-アミノピレンはAldrich社製の特級試薬を使用した。ヘキサン、メタノール、無水硫酸ナトリウムは和光純薬製の残留農薬試験用試薬を使用した。ヘプタフルオロ酪酸無水物(HFBA)は和光純薬製のECDガスクロマトグラフ分析用を使用した。シリカゲルは和光純薬製のワコーゲルC100をベンゼン-メタノール(1:1, V/V)混合溶媒で24時間ソックスレー抽出した後、エアバス中で乾燥後、180℃、24時間活性化したものをを使用した。

2. 装置

- 1) 電子捕獲型検出器付ガスクロマトグラフ(ECD-GC)
日立製 ECD付164型
- 2) 高速液体クロマトグラフ(HPLC)
島津 LC-9A型にSPD-6A型UV検出器を連結したもの
- 3) ガスクロマトグラフ-質量分析計(GC-MS)

日立 M-80B GC-MS

4) ハイボリュームエアースンプラー

紀本電子工業製，ガラス繊維濾紙は東洋濾紙 GR100R (203×254mm) を使用。

5) シリカゲルカラム

外とう管付きガラス製カラム (1 cmφ×30cm) で，外とう管には冷却水を流し，シリカゲル10g をヘキサンによる湿式法で詰めたもの。

6) 超音波発生装置

ヤマト科学製 2200-J 2 型 80W45KHz

3. 試料

短大屋上にハイボリュームエアースンプラーを設置し，毎週一回，各回24時間 (吸引空気量，1600m³)，一年間にわたり一定規格のガラス繊維濾紙上に大気浮遊粉塵を捕集した。捕集数は45枚で，これを春季 (3 - 5月)，夏季 (6 - 8月)，秋季 (9 - 11月)，冬季 (12 - 2月) の4試料に分けた。

4. 実験操作⁹⁾

1) 試料の前処理 (粗試料の抽出)

浮遊粉塵吸着濾紙の一定量を細かく切り，ベンゼン - メタノール (4 : 1, V/V) の溶媒で超音波抽出を行う。遠心分離 (3000rpm, 5 min) し，上澄液をロータリーエバポレータで濃縮する (窒素ガスを吹き付け乾燥)。

2) 粗試料の精製

粗試料の一定量をクロロホルム50ml に溶解し，10% 硫酸50ml で3回，1 N 水酸化ナトリウムで3回順次洗浄し，塩基性および酸性物質を除去した。クロロホルム層は無水硫酸ナトリウムで脱水後，ロータリーエバポレータで1 ml 以下に濃縮した。

濃縮物はシリカゲル 1g に吸着させ，少量のヘキサンを用いてシリカゲルカラムの上部に積層し，ヘキサン20 ml，ヘキサベンゼン (1 : 1, V/V) 30ml，ベンゼン50ml，次いでベンゼン - メタノール (1 : 1, V/V) 30ml の順に，毎分1.5ml の流速で溶出した。次いでヘキサベンゼン溶出液はロータリーエバポレータで5 ml 以下に濃縮後，ベンゼンを加えベンゾ^(a)ピレン測定用試料とした。一方，ベンゼン溶出液はロータリーエバポレータで1 ml 以下に濃縮後，少量のベンゼンを用いて試験管に移し，窒素ガスをを用いて溶媒を完全に除去した後，メタノール5 ml に溶解した。さらに1.2N 塩酸4 ml，亜鉛末100mg を加えて超音波発生装置内で25，10分間超音波処理し反応させた。反応後，東洋濾紙 No. 5A で濾過し，試験管内壁をメタノール5 ml で洗い，濾紙

を1.2N 塩酸4 ml で洗浄した。濾液および洗液を分液漏斗に移し，水40ml，5 N 水酸化ナトリウム2 ml を加えて塩基性とし，ベンゼン15ml を加えて5分間激しく振とうした。ベンゼン層を2% 硫酸ナトリウム30ml で一回洗浄し，少量の無水硫酸ナトリウムで脱水した後，HFBA を20μl 加えた。30分放置後，50 の水浴上でロータリーエバポレータを用いて溶媒を完全に除去した。残さをベンゼンに溶解し，1-ニトロピレン測定用試液とした。

5. ECD-GC 測定

ECD-GC 測定条件は，表1に示した。

6. HPLC 測定

HPLC 測定条件は，表2に示した。

7. GC-MS 測定

GC-MS 測定条件は，表3に示した。

8. 定量

1-ニトロピレンの ECD-GC 法による定量は，1.ア

表1. ECD ガスクロマトグラフィーの測定条件

Column	3% OV-17 on Gas Chrom Q 80-100 mesh 3 mm i.d. x 3.0 m glass column
Column temp	255
Injection and detector temp	290
Carrier gas	N ₂ 3.0kg/cm ²

表2. HPLC の測定条件

Column	Inertsil ODS (150 x 4.6 mm i.d.)
Mobile phase	Acetonitrile-water (8 : 2, v/v)
Flow rate	1.5 ml/min
Detector	UV (wave length 254 nm)

表3. GC MS の測定条件

Column	Ultrapformance capillary column (5% phenyl-95% methyl silicon 30 m x 0.32 mm i.d. 0.25 μm thin film)
Column temp	initial temp (140 hold for 1 minute) programmed temp (15 /min) final temp (320 hold for 20 minutes)
Injection temp	300
FID temp	300
Flow rate of He	0.3 ml/min
Ionization voltage	70eV
Ionization current	300 μA
Accelerating voltage	3.5 KV
Ion source temp	160

表4．浮遊粉塵の季節変動

	Spring(3-5 month)	Summer(6-8 month)	Autumn(9-11 month)	Winter(12-2 month)	Four seasons
Total (g)	1.9654(n=11)	1.5693(n=12)	1.1915(n=9)	1.6787(n=11)	6.4049(n=45)
g/a piece of filter paper	0.1512	0.1308	0.1324	0.1526	0.1423
$\mu\text{g}/\text{m}^3$	92.94	80.26	81.01	93.79	87.37

表5．浮遊粉塵中の 1-nitropyrene の回収率

Added μg (A)	Sample μg (B)	Sample+(A) μg (C)	(C)-(B) μg	Recovery (%)
1.0	0.194	1.038	0.844	84.4
1.0	0.045	0.780	0.735	73.5
1.0	0.065	0.890	0.825	82.5
Average	0.156	0.889	0.801	80.1

表6．浮遊粉塵中の benz(a) pyrene, 1-nitropyrene の季節変動

Ambient (an area in Tokushima City)	1-Nitropyrene	Benz(a) pyrene
	$\mu\text{g}/\text{g}$ of particulate material	
Spring (3-5 month)	0.46 \pm 0.036	5.44 \pm 0.66
Summer (6-8 month)	0.51 \pm 0.051	3.60 \pm 0.43
Autumn (9-11 month)	0.19 \pm 0.029	4.69 \pm 0.58
Winter (12-2 month)	0.35 \pm 0.063	6.65 \pm 0.37

Each value is the average of three experiments.

ミノピレンとして10~50ng/mlの範囲の1 アミノピレン HFB 標準溶液を調製し、ガスクロマトグラムのピーク面積による絶対検量線法によって行った。ベンゾ(a)ピレンは2.0~6.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲の標準溶液を調製し、各標準溶液10 μl をHPLCに注入し、クロマトグラムのピーク面積から検量線を作成し定量した。

結果及び考察

1．大気浮遊粉塵量の季節変動

一年間にわたり浮遊粉塵を採取したガラス繊維濾紙は45枚であった。この各々をよく乾燥し秤量した。これらの濾紙を季節ごとに分け濾紙一枚当たりの浮遊粉塵量を求めた。表4はこれを示したものである。表4に示すように冬季が最も高値を示し、次いで春季の順で、夏季が最も低かった。この傾向は片田らが徳島市内で測定した浮遊粉塵量の季節変動と同じ結果であった¹⁰⁾。秋季から冬季にかけて上昇が見られることから暖房の影響が考えられる。

2．添加回収実験

浮遊粉塵の付着したガラス繊維濾紙に1 ニトロピレン1.0 μg を添加し、試料溶液の調製の操作に従って回収率を求めた。表5はこれを示したものである。1 ニトロピレン回収率は平均で80.1%であった。

3．1 ニトロピレン及びベンゾ(a)ピレンの季節変動

図1は1 ニトロピレンのECD-GCによる季節別のクロマトグラムを示したものである。

また、図2は浮遊粉塵からのクロロホルム粗抽出試料を、シリカゲルカラムで分離精製したベンゼン画分のGC-MSクロマトグラムを示したものである。図2のように1 アミノピレン HFBA 標品の位置に溶出され、さらに図3に示すように、1 アミノピレン HFBA の標品のマススペクトルの比較から、この分画が1 ニトロピレンであることが明らかである。1 ニトロピレン以外に大気中には2 ニトロピレンや4 ニトロピレン、またニトロフルオランテンなどのニトロ化合物の存在が報告されており¹¹⁾、本報告では同定出来ないが、図1のクロマトグラムに示すように多数のピークが確認された。特に夏季のパターンは他の季節に比べその傾向が大き

かった。森田ら⁹⁾によると、GC-MSによる大気浮遊粉塵の分析から大気中には1ニトロピレン以外に2ニトロピレンやニトロフルオランテンの確認をしているが、ガソリン車及びディーゼルエンジン車の排気ガス中にはこれらの確認が出来なかったことから、自動車以外の他の発生源が存在する可能性を示している。これに関してMarinoらは¹²⁾、2ニトロピレンや2ニトロフルオランテンが大気中で光化学反応によって生成される可能性を示唆している。図4は浮遊粉塵中のベンゾ(a)ピレンの春季のクロマトグラムを示したものである。ベンゾ(a)ピ

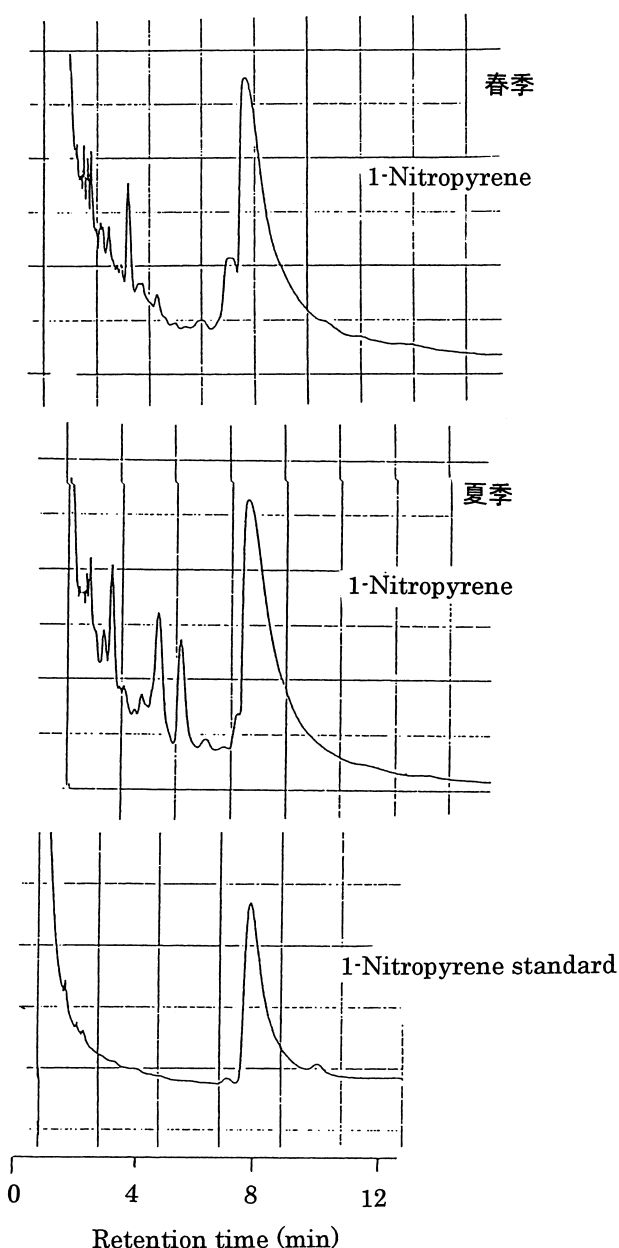


図1. 浮遊粉塵中の1 nitropyrene のECD ガスクロマトグラム

レンの他に多数の多環芳香族炭化水素が存在している。量的には夏季などに比べ浮遊粉塵量の多い春季、冬季にこの傾向が大きかった。表6は季節別の1ニトロピレン及びベンゾ(a)ピレンの浮遊粉塵中の存在量を示したものである。1ニトロピレンは浮遊粉塵1g当たり0.19~0.51 μ gの範囲であった。

これは森田ら⁹⁾の浮遊粉塵中の季節変動の値にほぼ近かった。また、季節別では夏季が最も高く、次いで春季、冬季に高く秋季が最も低かった。森田⁹⁾らは、春季、秋季に高く夏季に低値を示すと述べており、また後藤¹³⁾らは、サルモネラ菌TA98株及びTA100株を用いて大気浮遊粉塵試料の突然変異原試験を行い、代謝活性を必要としない変異原活性が冬季及び夏季に比べ、春季(4月)及び秋季(10月)の試料に高いと報告しており、このことは今回の調査結果と一致しなかった。

ベンゾ(a)ピレンは表6に示すように浮遊粉塵1g当たり3.60~6.65 μ gの範囲にあり、冬季が最も高く、次いで春季の順で、夏季が最も低かった。ベンゾ(a)ピレンの季節変動に関しては一般に冬季に高く、夏季に低いという報告が多い^{10,14,15)}。また、冬季は多環芳香族炭化水素の中でベンゾ(a)ピレンのような分子量の大きいものが多く、フェナントレンのような分子量の小さいものは夏季

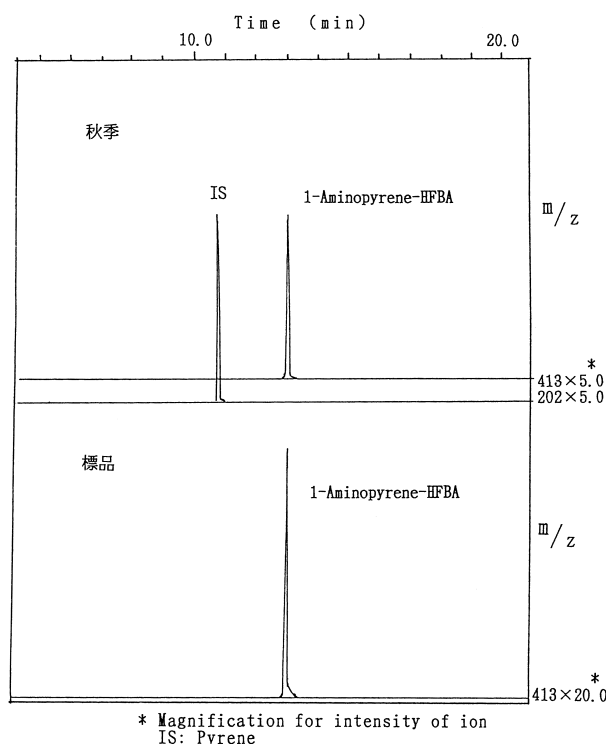


図2. 1 aminopyrene HFBA のGC MS クロマトグラム

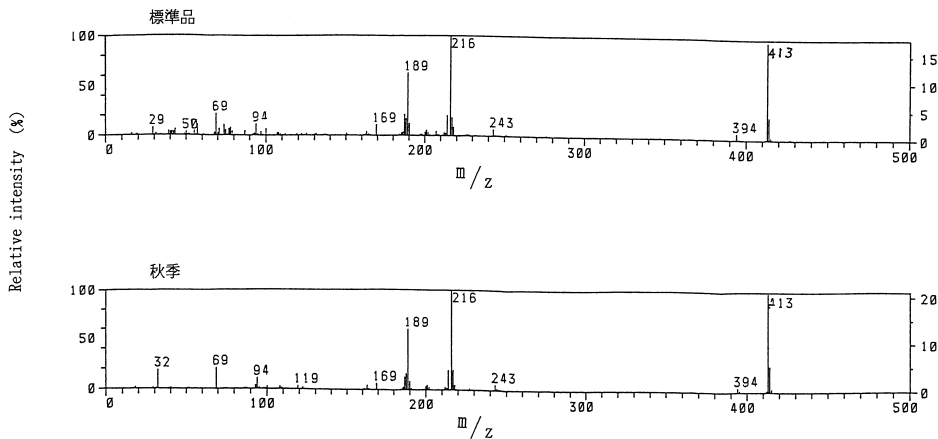


図3 . 1 aminopyrene HFBA のマススペクトル

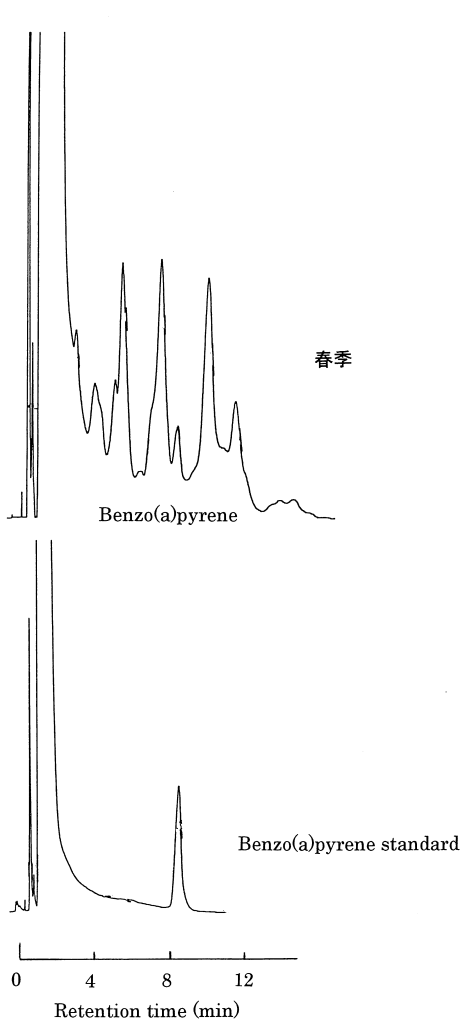


図4 . 浮遊粉塵中のbenzo(a)pyrene のHPLCクロマトグラム

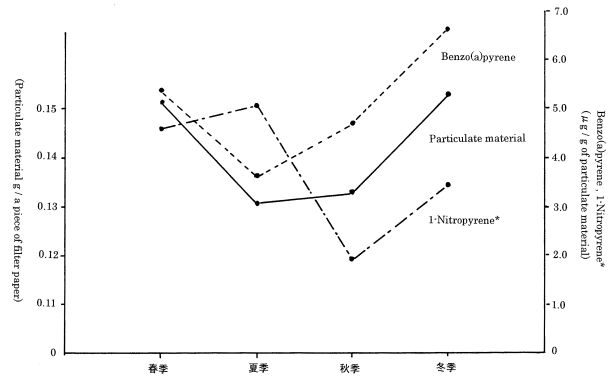


図5 . 浮遊粉塵, benzo(a)pyrene, 1 nitropyrene の季節変動 (1-nitropyrene は10倍値で表示)

のほうが冬季より多いという報告もみられる¹⁴⁾。

4 . 季節別大気浮遊粉塵量と1 ニトロピレン, ベンゾ(a)ピレンの関連性

図5に示すように, 季節別に濾紙一枚当たり粉塵量との関係を見るとベンゾ(a)ピレンの季節変動とは明らかに関連性が見られた。これは片山ら¹⁰⁾が徳島市内で調査した結果と一致している。一方, 1 ニトロピレンはベンゾ(a)ピレンと異なり浮遊粉塵量との間に殆ど関連性は見られなかった。

5 . 大気浮遊粉塵中の元素類の季節変動との関連性

図6及び図7は先に後藤¹⁶⁾及び藤井¹⁷⁾らが, 今回採取したものと同一の浮遊粉塵を使用して測定した浮遊粉塵中の元素類の季節変動を示したものである。図6に示す元素は春, 冬季に高く, 夏季に低下する傾向にある元素で, Fe, Mn, Ti, Coなどの遷移元素が相当する。これらの元素は浮遊粉塵量の季節変動とも関連性が認められる。これは先に示したベンゾ(a)ピレンの季節変動が季節別浮遊粉塵量の動きと関連性があることと一致している。

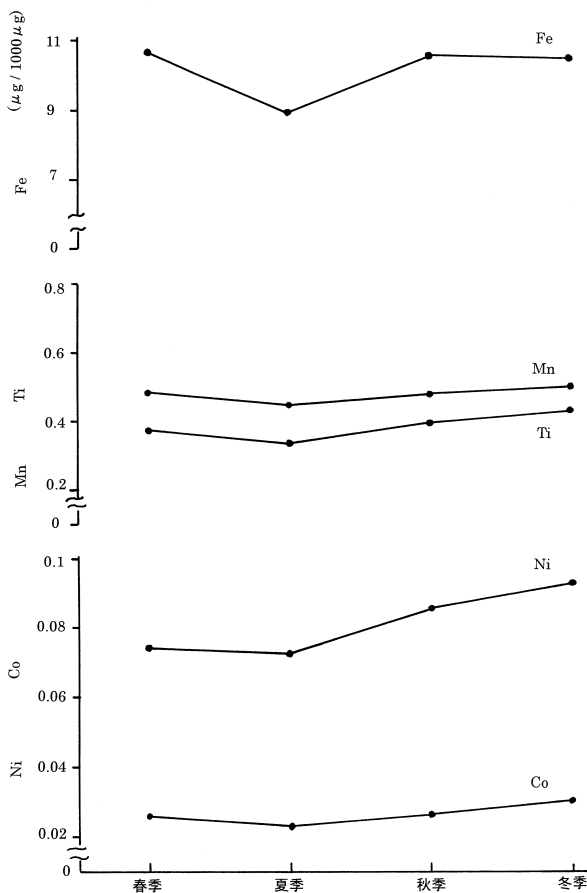


図6．浮遊粉塵中の各種遷移金属の季節変動

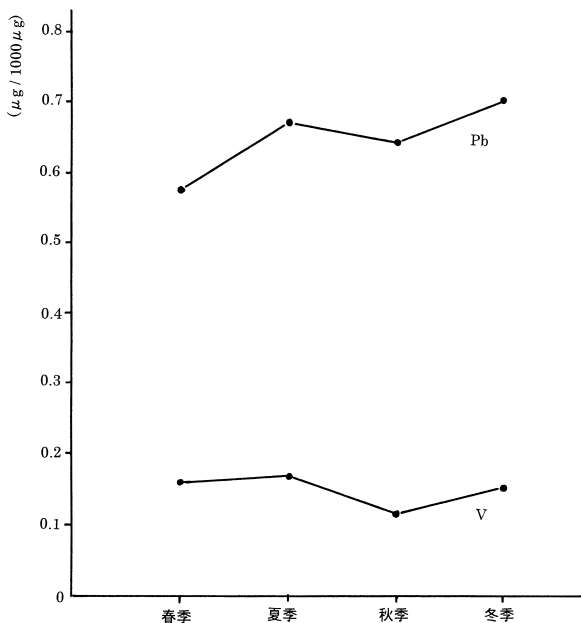


図7．浮遊粉塵中の鉛(Pb)およびバナジウム(V)の季節変動

一方、図7からPb, Vなどの元素は春季から夏季にかけて上昇し、秋季に低下する傾向のある元素で、この動きは先に示した遷移元素とは異なった動きをし、今回測定した1ニトロピレンの季節変動に近似した変動を示している。片田ら¹⁰⁾によるとベンゾ(a)ピレンの年間変動は大気中浮遊粉塵量の年間変動と相関性があり、特に暖房期は非暖房期に比べ有意に相関性が高いと述べている。このことはベンゾ(a)ピレンの汚染源は車の排気ガスも含めて暖房の影響も大きいことを示唆している。一方、1ニトロピレンの汚染源については森田ら⁹⁾のトンネル通過時の車の排気ガスの測定結果から、1ニトロピレンが他のニトロ化合物に比べ非常に高い値を示すことから、大気中の汚染源として車の排気ガスの影響が大きいことを示唆している。また、1ニトロピレンを含めて多環芳香族ニトロ化合物は血中ヘモグロビンと結合し、この加水分解生成物である芳香族アミンをGC-MSで分析することが可能で、これを自動車排気ガス曝露のバイオマーカーとして使用できるなどの報告があり¹⁸⁾、1ニトロピレンなどの多環芳香族ニトロ化合物は車の排気ガス汚染源の一つと考えられる。さらに、後藤¹⁶⁾、藤井ら¹⁷⁾の元素類の測定結果から、1ニトロピレンがPb, Vなどの元素の季節変動と関連性を示すこと、特にPbの大気中の汚染は車の排気ガスと関連性が強く、道路交通機関の汚染源の評価として有用であることからみても¹⁹⁾、車の排気ガスが1ニトロピレンの汚染源であることを示唆している。

文 献

- 1) 財団法人厚生統計協会編：厚生指標（臨時増刊），国民衛生の動向，2003，pp318-325
- 2) 児玉 泰，石西 伸：大気中のBenzo(a)pyrene分布．大気汚染研究，10(6)：10-19，1976
- 3) Hassanien, MA., Rieuwerts, J., Shakour, AA., Bitto, A.: Seasonal and annual variations in air concentrations of Pb, Cd, and PAHs in Cairo, Egypt. Int. J. Environ. Health Res., 11(1)：13-27，2001
- 4) Hayakawa, K., Kawaguchi, Y., Murahashi, T., Miyazaki, M.: Distributions of nitro-pyrenes and mutagenicity in airborne particulates collected with Andersen sampler. Mutat Res., 348(2)：57-61，1995
- 5) Wei, E. T., Wang, Y. Y., Rappaport, S. M.: Diesel Emissions and the Ames Test: A commentary. J.

- Air pollut. Control Assoc., 30 : 267 271 ,1980
- 6) Salmeen, I., Durisin, A. M., Prater T. J., Riley, T., *et al.* : Cotribution of 1 nitropyrene to direct-acting Ames assay mutagenicities of diesel particulate extracts. Mutation Research, 104 : 17 23 ,1982
- 7) Arashidani, K., Yoshikawa, M., Kodama, Y. : Determination of 1 nitropyrene by high performance liquid chromatography-an analysis of diesel engine soot. J. UOEH, 9(1) : 19 28 ,1987
- 8) Schleibinger, H., Leberl, C., Ruden, H. : Nitrated polycyclic aromatic hydro-Carbons(nitro-PAH)in suspended particles in the atomosphere. 1. Fractionation and analytic detection. Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg., 1 : 89(1) : 44 55 ,1988
- 9) 森田邦正, 深町和美, 常磐 寛 : 大気中の芳香族ニトロ化合物に関する研究(第3報) 大気浮遊紛じんおよび自動車排出物中の1 ニトロピレンの定量. 衛生化学, 29(4) : 199 205 ,1983
- 10) 片田正己, 大野ちづこ, 北村壽朗 : 徳島県における大気中ベンゾ^(a)ピレンについて(第1報). 徳島県公害センター年報, No. 4 : 22 29 ,1978
- 11) 森田邦正, 深町和美 : ガスクロマトグラフィーによる大気中の芳香族ニトロ化合物の分析. 衛生化学, 27(3) : 169 174 ,1981
- 12) Marino, F., Cecinato, A., Siskos, P.A. : Nitro PAH in ambient particulate matter in the atmosphere of Athens. Chemosphere, 40 : 533 537 ,2000
- 13) 後藤純雄, 加藤幸彦, 折井章子, 田中一幸 他 : 大気浮遊紛じんの変異原性の経日変動, 大気汚染学会誌, 17(4) : 295 303 ,1982
- 14) Sisovic, A., Skrsec, A., Vadjic, V., Kalinic, N., *et al.* : PHA levels and profiles in the suspended particulate matter in Zagreb through four seasons. Environ. Monit. Assess., 74(3) : 217 224 ,2002
- 15) Prevedouros, K., Brorstrom-Lunden, E., J Halsall, C., Jones, KC. : Seasonal and long-term trends in atmospheric PAH concentrations : evidence and Implications. Environ. Pollut., 128(1 2) : 17 27 ,2004
- 16) 後藤賢且, 奥野恵美, 森田秀芳, 藤井正信 : 大気中の重金属成分の経年変化に関する研究. 徳島県臨床衛生検査技師会誌, 29(4) : 48 ,1992
- 17) 藤井正信, 後藤賢且, 奥野恵美 : ICP による浮遊粒子状物質中の元素類の測定 - 経月変動及び季節内相関について - . 第26回中国四国臨床衛生検査学会抄録集, p130 ,1993
- 18) Zwirner-Baier, I., Neumann, HG. : Polycyclic nitroarenes (nitro PAHs)as bio-markers of exposure to diesel exhaust. Mutat Res., 441(1) : 135 144 ,1999
- 19) Viard, B., Pihan, F., Proneyrat, S., Pihan, J.C. : Integrated assessment of heavy metal(Pb, Zn, Cd)highway pollution : bioaccumulation in soil, Graminaceae and land snails. Chemosphere ,55(10) : 1349 1359 ,2004

Study on the seasonal variations of 1-nitropyrene and benzo(a)pyrene in airborne particulate matter (APM)

Masanobu Fujii

Department of Functional Laboratory Science, School of Health Sciences, The University of Tokushima, Tokushima, Japan

SUMMARY

The concentrations of 1-nitropyrene and benzo(a)pyrene were measured in airborne particulate matter (APM) collected with high-volume air sampler through four seasons in a region of Tokushima city, and relations between seasonality and main source of 1-nitropyrene and also those of benzo(a)pyrene were examined.

The concentrations of APM were highest in winter and lowest in summer. 1-Nitropyrene concentrations range from 0.19 to 0.51 $\mu\text{g/g}$ (APM) and seasonality, with highest in summer and lowest in autumn were found. Benzo(a)pyrene concentrations range from 3.60 to 6.65 $\mu\text{g/g}$ (APM) and seasonality, with highest in winter and lowest in summer, which are mainly related to APM seasonal variations, were found, suggesting the contribution of a heating as a source of benzo(a)pyrene besides motor vehicle exhaust.

According to 1-nitropyrene seasonality, which are closely resemble to seasonal variations of lead and vanadium contents in APM than those of APM contents, main source of 1-nitropyrene is supposed to come from motor vehicle exhaust.

Keywords : airborne particulate matter, high volume air sampler, 1-nitropyrene, benzo(a)pyrene