

# 多環芳香族炭化水素分析用環境組成型標準物質 に関する調査研究

伊藤 信靖\*

(平成17年10月28日受理)

## A survey on reference materials for polycyclic aromatic hydrocarbons analyses

Nobuyasu ITOH

### 1. はじめに

今日、我々の身の回りでは人為的に合成された化学物質が数多く存在し、それら化学物質の恩恵を受けて、生活が豊かになっていると言っても過言ではない。1950年代までは、その用途や無毒性(あくまでも人間に対する急性毒性として)から、“夢の”と形容されて持て囃された化学物質も多かった。例えば、Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) が世の中に登場した時には、強力かつ人体に対しては無毒な農薬として瞬く間に世の中に広がり、この化学物質を合成(1939年)して殺虫力を明らかにしたスイスの科学者Paul Müllerは、この功績によって1948年にノーベル生理学・医学賞を受賞した<sup>1)</sup>。その一方で、当初の目的とは全く別の好ましくない作用(毒性)が明らかになり、人間を含めた個々の生体や生態系全体への悪影響を及ぼしていることが確認され始めた。そして、DDTを含めた塩素系農薬の多くも、1960年代にレイチェル・カーソンにより著された“Silent Spring (邦題：沈黙の春)”<sup>2)</sup>によって、その毒性が広く認識されるようになり、合成化学物質が夢の物質であるという神話は脆くも崩れ去った。

DDTを初めとした農薬など、目的を持って人為的に製造・使用されている化学物質が注目される一方で、ダイオキシンや多環芳香族炭化水素(PAHs)などの、燃焼等によって非意図的に生成した化学物質も注目を浴びるようになってきた。化学物質は意図的・非意図的な生成に関わらず、その大部分が環境中に放出されている。これらの環境中に放出された有機化学物質は、長い時間をかけ、物理的・化学的・生物学的に分解され、最終的には

二酸化炭素や水などに至る。しかしながら、その状態にまで分解されるには途方もなく長い時間を要し(数十-数千年)、結果として、長い期間にわたって環境中に滞留することになる。DDTのように劇的に使用量が増大し、世界中で広く使用された化学物質ほど、環境中へも広く大量に放出され、今日も滞留したままとなっている(日本国内では、DDTはPCBと共に、製造や使用とともに、環境中での存在量も法律で規制されている)。Li(1999)は、DDTと同様に世界的に広く・大量に使用された殺虫剤のHCHについて調査した結果、未だに規制されていない、もしくは規制が遅れた国々では、今なお、HCHにより高濃度に汚染されていることを報告している<sup>3)</sup>。

既に毒性が明らかになり、法律による規制を受けている化学物質がある一方で、生体へ与える影響についてのデータが不十分であるために、未だ法律で規制されていない化学物質も多く存在している。例えば、シーア・コルボーン著の“*Our Stolen Future* (邦題：奪われし未来)”<sup>4)</sup>によって社会的に注目を浴びるようになった、内分泌攪乱作用を有する化学物質(外因性内分泌攪乱作用物質)のうち、フタル酸エステル類やニルフェノール、ビスフェノールAなどは、これに該当する。環境省(当時の環境庁)はこれを受け、その影響が懸念されている化学物質24種類に対して、環境ホルモン戦略計画(SPEED'98)を実施した。その結果、魚類に対しては、4-ニルフェノールや4-t-オクチルフェノール、ビスフェノールAでは、ホルモン様作用(内分泌攪乱作用)を持つことが推察されたと報告した<sup>5)</sup>。

これらの人間に対して毒性を持つ化学物質が環境中に存在するのか、また、存在するのであれば、どの程度なのかを知ることが分析(定量)になる。通常、人体や動物に対して有害な作用があるとされる化学物質であって

\* 計測標準研究部門 無機分析科

も、環境中のマトリックスと比べると、極微量にしか含まれていない(マトリックス:目的化学物質 =  $1:1 \times 10^{-12} - 10^{-6}$ )。また、妨害となる化学物質も多数かつ高濃度に共存するために、環境試料をそのまま分析することはできない。つまり、目的とする化学物質を正確に定量するためには、抽出操作や夾雑物質を取り除くためのクリーンアップ等、多くの前処理過程を経てから、機器分析に供する必要がある。しかしながら、これらの前処理過程は非常に煩雑であるため、同じ試料に含まれる化学物質を定量しても、分析者によってその定量値が大きく異なることがある。そして、これら一連の操作が妥当であっても、分析装置の特性により真の値とは異なった値が得られることもある。仮に、定量結果が真の値から大幅に外れていたとしても、その操作や定量結果の妥当性を保証する手段がなければ、その定量結果を“妥当であるとみなす”しかない。そして、この“妥当であるとみなされた”定量結果を判断の拠り所として、法的な処罰や社会的な信用が決まる。このため、定量値の妥当性を保証することは非常に重要であり、そのためのツールとして、実際の環境試料から調製した環境組成型標準物質が必要となってくる。1998年に発行された“外因性内分泌攪乱作用化学物質調査暫定マニュアル(水質、底質、水生生物)”<sup>6)</sup>においても、“認証標準物質を入手して、半年に一回以上の頻度で分析精度と正確さを確認する”と記載されている。このことから、環境組成型標準物質を併行分析することは、定量値の妥当性を確保するための有用な手段の一つとして、認識されている。

筆者はこれから、多環芳香族炭化水素(Polycyclic aromatic hydrocarbons; PAHs)を対象とした環境組成標準物質の開発を行っていく。この開発を円滑に遂行するためには、対象とするPAHsや環境組成標準物質に関する基礎的な情報から、今日までに明らかになっている事実等について、広く知見を深めておく必要がある。そこで本調査研究では、今後の環境組成型標準物質の開発を行っていく上での必要な情報を収集・調査することを目的とした。

## 2. 多環芳香族炭化水素の特徴

### 2.1 多環芳香族炭化水素(Polycyclic aromatic hydrocarbons; PAHs)の環境動態

PAHsは、炭素原子と水素原子により構成された複数のベンゼン骨格を基本構造とする化合物群の総称である。また、その類縁化合物としてヘテロ原子(複素環として)やアルキル基、ニトロ基、アミノ基を含むPAHsなども多く存在し、これらを総称してPAHsとすることもある。

PAHsの大部分は、化石燃料の不完全燃焼や森林火災により生成する<sup>7)</sup>。生成したPAHsは煤や塵等に吸着し、気流に乗って広く拡散・移動する<sup>8)</sup>。雨雪は大気中に浮遊している塵を核として形成される為、吸着したPAHsも共に降雨や降雪によっても地表へと移行する。陸地へと降下したものは土壤中に吸着され、そのうちの一部は植物等を経由して動物へと至る。また一方で、海へと移行・降下したPAHsの一部は、水中の懸濁物質に吸着して堆

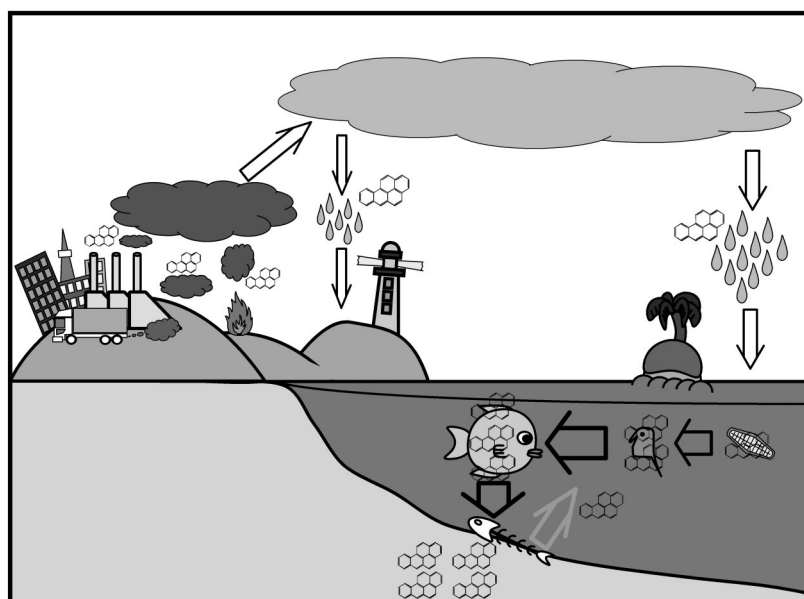


Fig. 1 Environmental distribution of PAHs.

積物へと移行する場合もあれば、植物プランクトン等に取り込まれ、生物濃縮の過程を経る場合もある (Fig. 1). PAHsは、これらの過程で化学的/生物学的に分解される一方で、更に毒性の強い類縁化合物に変性することもある<sup>7)</sup>.

1979年、アメリカ合衆国の環境保護庁 (Environmental Protection Agency: EPA) が人為的に有害であろう特定汚染物質 (Priority Pollutants) として指定した中<sup>9)</sup> に、16種類のPAHsが含まれている (Fig. 2). このため、多く

の場合 (標準物質や論文などにおいて)、これら16種類のPAHsが分析の対象とされることが多い。これらの構造式で代表されるPAHsは、類似した構造を持つものの、その物理化学的な性質は構成する環の数により、大きく異なる (Table 1). 特に沸点や脂溶性 (一般的に水-オクタノール分配係数で評価される) は、同定・定量を行う上でのみならず、これらの化学物質の吸着や生体濃縮などの環境動態にも大きく影響する因子となる<sup>10),11)</sup>.

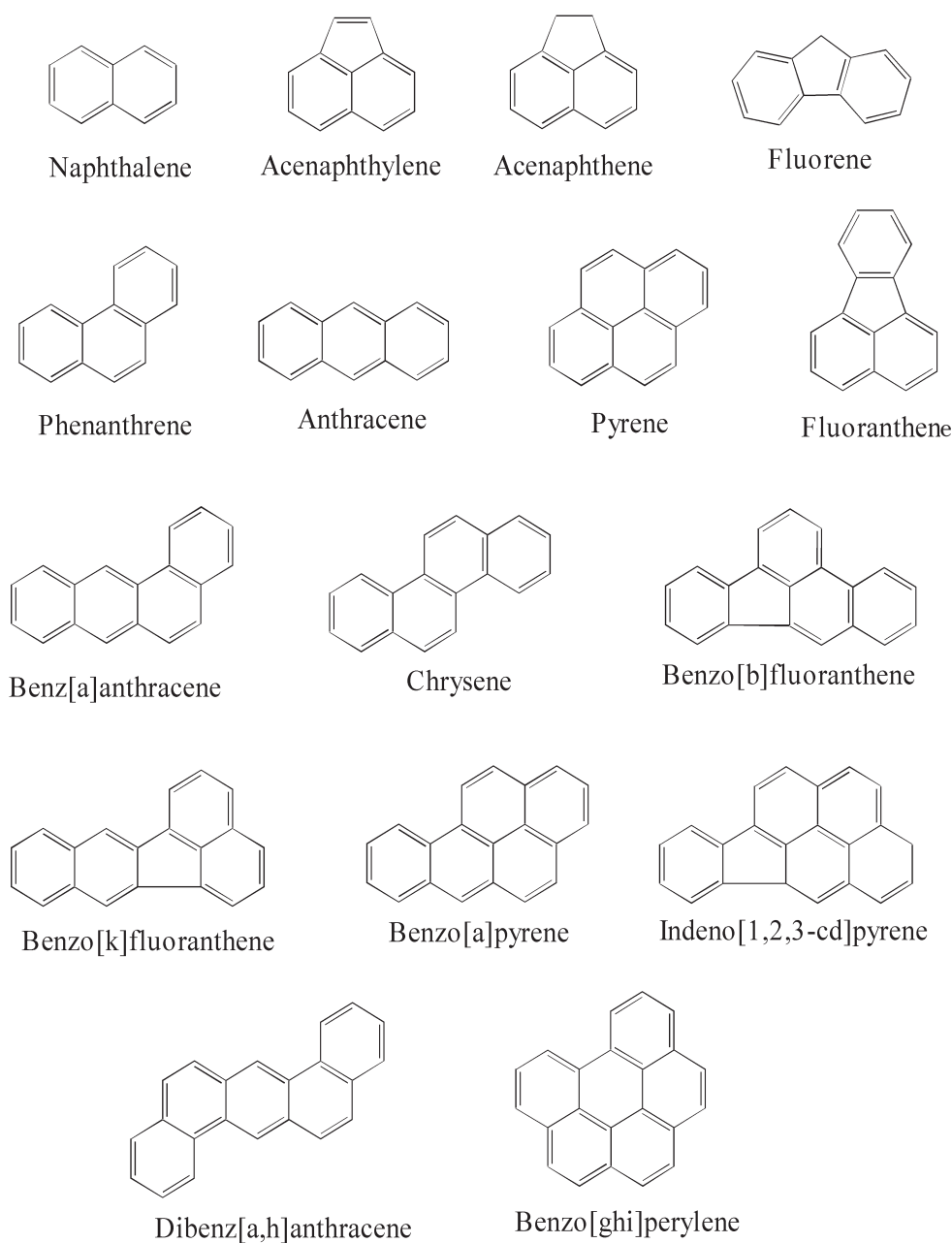


Fig. 2 Chemical structures of 16 PAHs listed by US EPA.

Table 1 Fundamental data of PAHs Listed by US EPA

PAHs	Molecular Weight	Boiling Point (°C)	logP*
Naphthalene	128.18	78.2	3.54
Acenaphthylene	152.2	88.9	3.67
Acenaphthene	154.21	93.4	4.04
Fluorene	166.2	114.8	4.3
Phenanthrene	178.21	99.3	4.41
Anthracene	178.21	219.5	5.18
Fluoranthene	202.24	107.8	4.71
Pyrene	202.24	151.3	4.8
Benz[a]anthracene	228.27	161.6	5.55
Chrysene	228.27	258.2	6.01
Benzo[b]fluoranthene	252.29	168	5.9
Benzo[k]fluoranthene	252.29	217	6.16
Benzo[a]pyrene	252.29	181	5.7
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	276.31	163	6.72
Dibenz[a,h]anthracene	278.32	271	7.07
Benzo[ghi]perylene	268.33	281	6.12

\*Octanol-Water partitioning coefficient. (J. Paasivirta et al., *Chemosphere* 39, 811-832)

日本で報告されているPAHsの環境濃度は様々である。代表的なものとしては、大気中で、1.1-37 ng/m<sup>3</sup> (22種合計, 東京)<sup>12)</sup> や、72-1775 ng/m<sup>3</sup> (39種合計, 静岡)<sup>13)</sup> との報告がある。また、底質試料では、有明海で0.260 ± 0.020 μg/g (dry mass-basis, 16種合計, 表層試料)<sup>14)</sup>、千鳥ヶ淵で8-40 μg/g (dry mass-basis, 10種合計, 柱状試料)<sup>15)</sup>、大阪城の堀で0.053-26 μg/g (dry mass-basis, 9種合計, 柱状試料)<sup>16)</sup>、大阪湾で0.86-3.06 μg/g (wet mass-basis, 9種合計, 表層試料)<sup>17)</sup> との報告がある。徳島市付近から採取された土壌では、0.001-0.147 μg/g (dry mass-basis, 9種合計)<sup>18)</sup> が検出されている。

PAHsは化合物群であることから、その組成から<sup>13), 16), 19)-21)</sup>、もしくは炭素の安定同位体比を組み合わせて<sup>12), 15), 22)</sup>、発生源の推定が行われている。多くの報告では、主たる発生源は排気ガスである<sup>15), 19), 22), 23)</sup>が、製紙工場や発電所<sup>13)</sup>、稲藁の燃焼<sup>18)</sup>、戦争時の空爆<sup>16)</sup>が主たる発生源となることもある。

我々人間は、土壌や底質から直接PAHsを摂取することはないものの、呼吸や食品を通して摂取している<sup>24)</sup>。例えば、飲料水<sup>25)-27)</sup>、牛乳<sup>28)</sup>、コーヒー<sup>29)</sup>、オイルやシリアル<sup>30)</sup>などからも検出されている(ヨーロッパの食生活に関連した食品については、SCF(2002)<sup>31)</sup>やMoret and Conte(2000)<sup>32)</sup>により良くまとめられている)。Dennis et al.(1983)は、英国人が摂取するPAHsの大部分(70%)

は、脂質(オイルと含む)とシリアルに由来すると報告している<sup>30)</sup>。一方で、日本人が多く摂取する魚介類では、牡蠣やワカメ<sup>17)</sup>からも検出されており、海産物の一部(イガイやヒバマタ、魚肉粉末)については、既に標準物質も頒布されている(詳細は後述)。

## 2.2 PAHsの毒性

PAHsが人体に取り込まれた際に最も問題となるのが、その毒性である。PAHsの毒性としては、発がん性が古くから知られている。シーア・コルボーン著の“*Our Stolen Future* (邦題:奪われし未来)”<sup>4)</sup>によって外因性内分泌攪乱作用が注目されるまでは、この発がん性が急性毒性や慢性毒性と並んで、最も重要な毒性の一つとして捕らえられてきた(今日でも重要であることには変わらない)。World Health Organization (WHO)の一組織であるInternational Agency for Research on Cancer(IARC)は、発がん性の疑いのある化学物質を優先的に調査し、既に調査の終わった900種類の化学物質や混合物の発がん性についてまとめている<sup>33)</sup>。その中から、官能基やアルキル基を持たないPAHsについての発がん性評価だけを、Table 2にまとめた。この34種類のPAHsのうち、12種類がGroup 2B(発がん性が疑われる)以上に該当している。また、一般的に、塩素基やニトロ基を置換基として有するPAHsは、置換基を持たないPAHsと比較して発がん性が高く



Table 2 Carcinogenicity of each PAH listed by IARC<sup>33)</sup>

Group	Carcinogenicity
Group 1: Carcinogenic to humans	not applicable
Group 2A: Probably carcinogenic to humans	Benz[a]anthracene, Benzo[a]pyrene, Dibenz[a,h]anthracene
Group 2B: Possibly carcinogenic to humans	Benzo[b]fluoranthene, Benzo[j]fluoranthene, Benzo[k]fluoranthene, Dibenzo[a,e]pyrene, Dibenzo[a,h]pyrene, Dibenzo[a,i]pyrene, Dibenzo[a,l]pyrene, Indeno[1,2,3-cd]pyrene, Naphthalene
Group 3: Not classifiable as to carcinogenicity to humans	Anthanthrene, Anthracene, Benzo[ghi]fluoranthene, Benzo[a]fluorene, Benzo[b]fluorene, Benzo[c]fluorene, Benzo[ghi]perylene, Benzo[c]phenanthrene, Benzo[e]pyrene, Chrysene, Coronene, Cyclopenta[cd]pyrene, Dibenz[a,c]anthracene, Dibenz[a,j]anthracene, Dibenzo[a,e]fluoranthene, Dibenzo[h,rst]pentaphene, Fluoranthene, Fluorene, Perylene, Phenanthrene, Pyrene, Triphenylene

なる傾向にある。

最近では、Ahレセプター（外因性内分泌攪乱作用との関連が指摘されている受容体）と親和性があるとの報告<sup>34)~36)</sup>もあり、外因性内分泌攪乱物質としての働きも注目されている。また、環境中での水酸化体へと変化し、この水酸化体も内分泌攪乱作用を持つことも報告されている<sup>37)</sup>。

### 2.3 PAHsに関する規制

2005年7月現在、国内にPAHs群として規制する法律はない。平成9年4月1日施行となった大気汚染防止法の第2条第9項において、“継続的に摂取される場合には人の健康を損なう恐れがある（長期毒性がある）物質で大気汚染の原因となるものであって、同法による工場・事業場規制の対象物質を除くもの”が規制の対象となっている。そしてこの対象となる化学物質は、平成8年10月18日の中央審議会における“今後の有害汚染物質対策のあり方について（第二次答申）”の中で、全234物質が提示された。この中で、PAHsに関するものは16種類（置換基を含まないもの：10種類、ニトロ基を含むもの：4種類、水酸基を含むもの：1種類、塩素基を含むもの：1群）である。また、この234種類の中でも、特に健康リスクが高いとされている大気汚染物質（優先取組物質）として、更に22物質が選定され、ここにはBenzo[a]pyreneが含まれている<sup>38)</sup>。また、WHOによる飲料水や空気質に対するガイドラインにもBenzo[a]pyreneが取り上げられている（飲料水：0.7µg/L<sup>39)</sup>）。

労働安全衛生法（第57条の2）では、労働者に健康被

害を生ずるおそれのあるもの（通知対象物）として632種の物質が取り上げられており、3種類のPAHs(Benz[a]anthracene, Benzo[a]pyrene, Benzo[e]fluoranthene)が含まれている。

このように、PAHsに関する研究は環境動態（発生から蓄積・分解まで）から種々の毒性に至るまで、既に幅広く研究が行われてきている。しかしながら、発生源が“面”的（non-point source）であり、また、大気中を広く拡散することから、排出量や濃度等を規制することが難しく、法的な整備が遅れているのが現状である。一方で、公定法は既に施行されており、この際に精度や正確性を確認する為の手段として環境組成型標準物質の併行分析が推奨されていることから、環境組成型標準物質の必要性は一段と高まっていると言える。

### 3. PAHs分析用環境標準物質の開発状況

今日、PAHsを対象とした環境標準物質を頒布している機関としては、National Institute of Standards and Technology (NIST)、Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM)、Bundesanstalt für Materialforschung und Prüfung (BAM)、International Atomic Energy Agency (IAEA)、National Waste Research Institute (NWRI)、National Research Council Canada (NRCC)などがある。また、アメリカ合衆国の民間企業であるRTC社からも自社で開発した標準物質が供給されている<sup>40)</sup>。しかしながら、これまでは各機関からの情報が一元化されていないため、個々の標準物質間で比較することは難しかった。そこで、

既に他の機関から頒布されている PAHs を対象とした組成型環境標準物質を, Tables 3-6 にまとめた (ここでは, 公的機関に限定). このように, 多機関にわたる組成環境試料をそれぞれの濃度レベルを含めて一つの表にまとめることは, 今後の標準物質を開発していく上で非常に重要となる.

環境組成型標準物質は, その使用目的から, 実際の試料に近い状態であることが望ましい. このため, ほとんどの環境組成型標準物質の調製は, 実環境試料に均質化や滅菌処理 ( $^{60}\text{Co}$  による) 等の最低限の処理を施すに留めている<sup>41)</sup>. これに対し, NRCC から頒布されている SES-1 は, 人為的な影響が少ない地域から採取・調製した底質試料に PAHs の混合液を添加して調製している<sup>42)</sup> が, 試料に標準液を添加した試料に関しては, その挙動が未だ不明な点も多く<sup>43,44)</sup>, 今回は Table 4 に含めなかった.

頒布されているマトリックスとしては, Fig. 1 に示した PAHs の環境動態に沿った組成型標準物質が大部分を

占める. その中でも, 底質試料が最も多く (18 種), 全体の半数近くを占める (RTC 社は自社開発の標準物質として土壌試料 14 種, 底質試料とスラッジ試料をそれぞれ 1 種ずつ供給). 底質と土壌はマトリックスとしての組成に大きな差はないが, 土壌試料は局所的かつ高濃度に PAHs 汚染を受けた地域から採取・調製されることが多い為, 底質試料に比べて高濃度の PAHs が含まれている傾向にある. また, これらをマトリックスとした標準物質の濃度レベルとしては, 数  $\mu\text{g/g}$  から数  $\text{mg/g}$  まで広い濃度にわたって頒布されている.

このように, 底質や土壌をマトリックスとした環境標準物質は豊富に頒布されている一方で, それ以外をマトリックスとした環境組成型標準物質については, ほとんど頒布されていないのが現状である. また, 多くの標準物質では, 付加価値として, US EPA が指定する 16 種類の PAHs 以外にも, PCB や他の PAHs の定量値が付与されていることが多い.

Table 3 Available Certified Reference Materials for PAHs analyses (Sediments and Soils)

CRM ID Matrix	SRM-1941b <sup>a</sup> Sediment (50g)	SRM-1944 <sup>a</sup> Sediment (50g)	BCR-535 <sup>b</sup> Sediment (40g)	BCR-524 <sup>b</sup> Industrial Soil (40g)	BCR-088 <sup>b</sup> Sewage Sludge (10g)	BAM-U013 <sup>c</sup> Industrial Soil (75g)	BAM-U014 <sup>c</sup> Industrial Soil (81g)
Acenaphthene	<u>0.0384</u>	-	-	-	-	1.59	0.92
Acenaphthylene	<u>0.0533</u>	<u>0.57</u>	-	-	-	-	-
Anthracene	0.184	1.77	-	-	-	3.70	2.15
Benz[a]anthracene	0.335	4.72	1.54	22.5	0.93	7.25	4.19
Benzo[b]fluoranthene	0.453	3.87	2.29	13.5	1.17	7.16	4.96
Benzo[k]fluoranthene	0.225	2.30	1.09	6.2	0.57	3.75	2.25
Benzo[ghi]perylene	0.307	2.84	-	-	-	5.65	3.49
Benzo[a]pyrene	0.358	4.30	1.16	8.6	0.91	7.89	4.38
Chrysene	0.291	4.86	-	-	-	6.76	3.92
Dibenz[a,h]anthracene	0.053	0.424	-	-	-	1.67	0.67
Fluoranthene	0.651	8.92	-	-	-	15.94	9.13
Fluorene	0.085	<u>0.85</u>	-	-	-	2.57	1.43
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	0.341	2.78	1.56	5.1	0.81	5.26	3.20
Naphthalene	0.848	1.65	-	-	-	2.78	1.92
Phenanthrene	0.406	5.27	-	-	-	13.45	7.49
Pyrene	0.581	9.70	2.52	173	2.16	12.76	7.32
Other Certified PAHs	10 (<0.397)	11 (<3.28)	1 (1.86)	2 (<10.6)	2 (<1.02)	-	-
Other Referenced PAHs	<u>39 (&lt;0.276)</u>	<u>26 (&lt;2.46)</u>	-	-	-	Total PAHs	Total PAHs
Organic Tin	○						
TOC	○						
Elements	○	○					
PCBs	○	○					
Phenols	○			○			
Pesticides	○	○					
Chlorobenzene		○					
Hydrocarbons							
Total PCBs							

Unit:  $\text{mg kg}^{-1}$ ; Underlined values are reference (information) values.

a, National Institute for Science and Technology (NIST); b, Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM); c, Bundesanstalt für Materialforschung und Prüfung (BAM).

Table. 4 Available Reference Materials for PAHs analyses (Sediments)

CRM ID	IAEA-383 <sup>d</sup>	IAEA-408 <sup>d</sup>	IAEA-417 <sup>d</sup>	EC-1 <sup>e</sup>	EC-2 <sup>e</sup>	EC-3 <sup>e</sup>	EC-4 <sup>e</sup>	EC-5 <sup>e</sup>	EC-6 <sup>e</sup>	EC-7 <sup>e</sup>	EC-8 <sup>e</sup>	HS-3B <sup>f</sup>	HS-4B <sup>f</sup>	HS-5 <sup>f</sup>	HS-6 <sup>f</sup>
Matrix	Sediment (35g)	Sediment (40g)	Sediment (40g)	Sediment (50g)	Sediment (50g)	Sediment (50g)	Sediment (50g)	Sediment (50g)	Sediment (50g)	Sediment (50g)	Sediment (50g)	Sediment (100g)	Sediment (100g)	Sediment (100g)	Sediment (100g)
Acenaphthene	0.016	<u>0.0033</u>	0.180	-	<u>0.2</u>	<u>0.022</u>	<u>0.032</u>	<u>0.029</u>	<u>0.007</u>	<u>0.003</u>	<u>0.013</u>	1.25	0.090	0.23	0.23
Acenaphthylene	0.047	<u>0.0036</u>	0.042	-	<u>0.12</u>	<u>0.025</u>	<u>0.048</u>	<u>0.041</u>	<u>0.012</u>	<u>0.013</u>	<u>0.028</u>	0.60	0.30	0.15	0.19
Anthracene	0.030	0.0098	0.630	1.2	<u>0.11</u>	<u>0.059</u>	<u>0.124</u>	<u>0.113</u>	<u>0.037</u>	<u>0.022</u>	<u>0.041</u>	2.76	0.460	0.38	1.10
Benz[a]anthracene	0.105		3.200	8.7	1.42	0.312	<u>0.712</u>	<u>0.503</u>	<u>0.184</u>	<u>0.110</u>	<u>0.168</u>	7.91	1.46	2.90	1.80
Benzo[b]fluoranthene	0.150	0.046	4.100	7.9	2.48	<u>0.505</u>	<u>0.753</u>	<u>0.480</u>	<u>0.267</u>	<u>0.090</u>	<u>0.208</u>	12.8**	3.32**	2.00	2.80
Benzo[k]fluoranthene	0.073	0.046	2.000	-	1.93	<u>0.271</u>	<u>0.560</u>	<u>0.419</u>	<u>0.159</u>	<u>0.084</u>	<u>0.294</u>			1.00	1.43
Benzo[ghi]perylene	0.110	0.038	2.300	4.9	1.47	<u>0.348</u>	<u>0.576</u>	<u>0.333</u>	<u>0.176</u>	<u>0.095</u>	<u>0.176</u>	3.88	1.23	1.30	1.78
Benzo[a]pyrene	0.120	0.048	2.800	5.3	1.21	0.386	<u>0.675</u>	<u>0.449</u>	<u>0.250</u>	<u>0.103</u>	<u>0.207</u>	5.80	1.55	1.70	2.00
Chrysene	0.170	0.035	3.600	<u>9.2*</u>	<u>2.15*</u>	<u>0.458*</u>	<u>1.073*</u>	<u>0.619*</u>	<u>0.279*</u>	<u>0.182*</u>	<u>0.378*</u>	8.77	1.76	2.80	2.00
Dibenz[a,h]anthracene	<u>0.020</u>	<u>0.011</u>	<u>1.100</u>	<u>1.3</u>	0.49	<u>0.109</u>	<u>0.241</u>	<u>0.195</u>	<u>0.042</u>	<u>0.034</u>	<u>0.316</u>	0.890	0.340	0.200	0.490
Fluoranthene	0.290	0.084	7.700	23.2	3.55	0.558	<u>1.087</u>	<u>0.823</u>	<u>0.297</u>	<u>0.196</u>	<u>0.462</u>	25.33	3.33	8.40	3.54
Fluorene	0.027	<u>0.0067</u>	0.230	-	<u>2.14</u>	<u>0.042</u>	<u>0.088</u>	<u>0.084</u>	<u>0.017</u>	<u>0.016</u>	<u>0.019</u>	2.38	0.160	0.400	0.470
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	<u>0.150</u>	<u>0.051</u>	2.700	5.7	1.55	<u>0.359</u>	<u>0.564</u>	<u>0.386</u>	<u>0.157</u>	<u>0.062</u>	<u>0.034</u>			1.30	1.95
Naphthalene	0.096	0.027	<u>0.150</u>	-	<u>1.47</u>	<u>0.035</u>	<u>0.058</u>	<u>0.026</u>	<u>0.075</u>	<u>0.040</u>	<u>0.010</u>	2.14	0.220	0.250	4.10
Phenanthrene	0.160	0.035	3.900	15.8	<u>1.41</u>	-	<u>0.732</u>	<u>0.612</u>	<u>0.138</u>	<u>0.180</u>	<u>0.234</u>	18.8	1.91	5.20	3.00
Pyrene	0.280	0.077	6.000	16.7	2.92	0.436	<u>1.085</u>	<u>0.987</u>	<u>0.337</u>	<u>0.306</u>	<u>0.327</u>	18.0	2.55	5.80	3.00
Other Certified PAHs	5 (<0.160)	3 (<0.320)	4 (<3.000)	2 (<5.3)	1 (1.91)	1 (0.450)	-	-	-	-	-	7 (<12.8)	7 (<3.32)		
Other Referenced PAHs	<u>3 (&lt;0.036)</u>	<u>4 (&lt;0.014)</u>	<u>4 (&lt;0.580)</u>	<u>1 (1.1)</u>	<u>1 (0.80)</u>	<u>1 (0.195)</u>	<u>2 (&lt;0.280)</u>	<u>2 (&lt;0.440)</u>	-	-	<u>2 (&lt;0.531)</u>				
TOC															
Elements															
PCBs	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○				
Phenols															
Pesticides	○	○	○												
Chlorobenzene				○	○	○	○	○	○	○	○				
Hydrocarbons	○	○													
Total PCBs				○	○	○	○	○	○	○	○				

Unit: mg kg<sup>-1</sup>; Underlined values are reference (information) values.  
 \*, Chrysene+Triphenylene; \*\*, Benzo[b]fluoranthene+Benzo[k]fluoranthene  
 d, International Atomic Energy Agency (IAEA); e, National Waste Research Institute (NWRI); f, National Research Council of Canada (NRCC).

Table. 5 Available Reference Materials for PAHs analyses (Biomaterials)

CRM ID	SRM-2974 <sup>a</sup>	SRM-1974b <sup>a</sup>	BCR-683 <sup>b</sup>	BCR-458 <sup>b</sup>	BCR-459 <sup>b</sup>	IAEA-432 <sup>c</sup>	IAEA-140 <sup>c</sup>	IAEA-406 <sup>c</sup>
Matrix	Mussel Tissue (8g)	Frozen Mussel Tissue (8-10g)	Beech Wood (60g)	Coconut Oil (45g)	Coconut Oil (45g)	Mussel Homogenate (45g)	Fucus (35g)	Fish Homogenate (35g)
Acenaphthene	<u>0.00274</u>	<u>0.00270</u>					<u>0.0034</u>	<u>1.100</u>
Acenaphthylene	<u>0.00460</u>	<u>0.0047</u>						<u>0.008</u>
Anthracene	0.0061	0.00520				0.0015	0.014	<u>0.019</u>
Benz[a]anthracene	0.0325	0.0468	6.5			0.0038	0.025	<u>0.00081</u>
Benzo[b]fluoranthene	0.0464	0.0638	5.8			0.0048	<u>0.037</u>	<u>0.0023</u>
Benzo[k]fluoranthene	0.0202	0.0312	2.58	0.00187	<0.0002	0.0019	0.019	<u>0.0028</u>
Benzo[ghi]perylene	0.0220	0.0308		0.00097	<0.0002		0.020	<u>0.00078</u>
Benzo[a]pyrene	0.01563	0.0276	3.4	0.00093	<0.0003	0.0009	0.020	<u>0.0029</u>
Chrysene	0.0442	0.0622		0.0049	<0.0006	0.0055	0.040	<u>0.0023</u>
Dibenz[a,h]anthracene		0.00323					<u>0.0045</u>	
Fluoranthene	0.1637	0.169				0.012	0.088	<u>0.0049</u>
Fluorene	<u>0.00469</u>	0.00488				0.0041	<u>0.0065</u>	
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	0.0142	0.0211		0.00100	<0.0002		0.033	
Naphthalene	<u>0.00963</u>	0.0240				<u>0.015</u>	0.017	<u>0.024</u>
Phenanthrene	0.0222	0.0255				0.027	0.076	<u>0.022</u>
Pyrene	0.1516	0.178		0.0094	<0.0009	0.013	0.067	0.0045
Certified Other PAHs	3 (<0.0840)	8 (<0.102)	1 (<9.3)			3 (<0.0094)	3 (<0.026)	
Other Referenced PAHs	<u>13 (&lt;0.0206)</u>	<u>14 (&lt;0.0183)</u>				<u>3 (&lt;0.014)</u>	<u>3 (&lt;0.016)</u>	<u>2 (&lt;0.012)</u>
Elements	○	○						
PCBs	○	○				○	○	○
Phenols			○					
Pesticides	○	○				○	○	○
Hydrocarbons							○	○
Total PCBs		○						

Unit: mg kg<sup>-1</sup>; Underlined values are reference (information) values.  
 a, National Institute for Science and Technology (NIST); b, Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM); c, International Atomic Energy Agency (IAEA).

Table. 6 Available Certified Reference Materials for PAHs analyses(Other materials)

CRM ID	SRM-1580	SRM-1582	SRM-1597	SRM-1649a	SRM-1650a	SRM-2975	SRM-1975
Matrix	Shale Oil (2mL)	Petroleum Crude Oil (5 mL)	Coal Tar (1.3mL)	Urban Dust (2.5g)	Diesel Particulate Matter (100mg)	Diesel Particulate Matter (1g)	Diesel Particulate Extract (1.2mL <sup>a</sup> )
Acenaphthene							
Acenaphthylene			250				
Anthracene			101	0.432	1.5	0.038	
Benz[a]anthracene		3.0	98.6	2.208	6.33	0.317	0.092
Benzo[b]fluoranthene			66	6.45	8.81		3.20
Benzo[k]fluoranthene			43	1.913	2.64	0.678	0.174
Benzo[ghi]perylene		1.7	53.7	4.01	6.50	0.498	0.038
Benzo[a]pyrene	21	1.1	95.8	2.509	1.33	0.0522	
Chrysene			71.7	3.049	14.5	4.56	1.95
Dibenz[a,h]anthracene				0.288	0.9		
Fluoranthene	54	2.5	322	6.45	49.9	26.6	13.5
Fluorene			140	0.23			0.110
Indeno[1,2,3-cd]pyrene		0.17	60.2	3.18	5.62	1.4	0.12
Naphthalene			1160				0.67
Phenanthrene		101	462	4.14	68.4	17.0	8.00
Pyrene	104	7	235	5.29	47.5	0.90	0.42
Certified Other PAHs	3 (<18)	2 (<33)	2 (<26.1)	10 (<3.09)	7 (<19)	2 (<5.22)	2 (<2.38)
Other Referenced PAHs	1 (45)	2 (<3.5)	12 (<97)	20 (<1.5)	25 (<70)	27 (<36)	36 (<16.4)
PCBs				○			
Phenols	○	○					
Pesticides				○			
Chlorobenzene				○			
Toxicity			○		○		○
Particle measurement					○		
Extractable mass					○		
surface area						○	
Extract residue							○
particle-size						○	

Unit: mg kg<sup>-1</sup>; Underlined values are reference (information) values; a, Dissolved in dichloromethane.

#### 4. 標準物質を開発するための信頼性の高い分析法

標準物質を開発する上では、精度と正確性が共に高い分析法を適用する必要がある。また一般的に、環境組成型標準物質の定量値に対しては、主に測定法（機器分析）と抽出操作における精度や正確性が大きく影響する要因であることが知られている。このことから、以下に一次標準測定法と関連する機器分析、および抽出方法について調査した。

##### 4.1 一次標準測定法としての同位体希釈質量分析法

1995年に化学計測の国際的整合性や高精度でのトレーサビリティを確保するために、国際度量衡委員会 (International Committee for Weights and Measures: CIPM)の下に物質質量諮問委員会 (Comite Consultatif pour la Quantitede Matiere : CCQM) が発足した。CCQMは信頼性の高い、国際的に整合性のある化学計測を実現するために、一次標準測定法 (primary method) を以下のように定義した。

“一次標準測定法は最高の質を有し、その操作が完全に記述され、理解され、かつ不確かさがSI単位を用いて完全に記述される方法で、その量についての他の標準を参照せずに測定結果を標準として使用できる方法”

化学分析での一次標準測定法は次の5つ (1, 同位体希釈質量分析法; 2, 電量滴定法; 3, 重量法; 4, 滴定法; 5, 凝固点降下法)<sup>45)</sup> であり、この中でも、大部分がマトリックスで構成されている環境組成標準物質に対して適用できる方法は、“同位体希釈質量分析法”だけである。絶対検量線法と比較して、同位体希釈質量分析法を用いた定量のメリットとしては、

- 1, 同位対比を分析するだけで定量が可能である。
  - 2, 同位体平衡状態に達していれば、定量結果が目的物質の回収率に依存しない。
  - 3, 得られる精度が検量線法に比べて優れている。
- 等が挙げられる。しかしながら、この同位体希釈法はいくつかの前提に基づいており、精確な定量のためには、



以下の条件が満たされている必要がある。

- 1, 同位体平衡に達していること。
- 2, 抽出を含めた前処理中に同位体分別が起こらないこと。
- 3, 添加する同位体量が適切であること。

なお、同位体希釈質量分析法を用いる際の注意点や不確かさについては沼田(2002)<sup>46)</sup>により良くまとめられているため、ここでは割愛する。

## 4.2 混合物である PAHs の分離法

一般的に、PAHs はガスクロマトグラフ法や高速液体クロマトグラフ法で分離・検出される。これは、抽出液は分析対象とする PAHs の混合物であり、それぞれの PAH に対して同位体希釈質量分析法を適用するためには、それぞれを分離する必要があるためである。ここでは、PAHs 測定において、一般的に用いられているガスクロマトグラフ法（検出器としては、主に質量分析計と水素炎イオン化検出器）と高速液体クロマトグラフ法（検出器としては、主に紫外吸光検出器と蛍光検出器）について簡単に述べる。なお、ガスクロマトグラフ法と液体クロマトグラフ法により得られた分析値間の比較や研究室間の比較は今村ら(2001)<sup>47)</sup>やGraz et al.(2000)<sup>48)</sup>によっても報告されている。Graz et al.(2000)<sup>48)</sup>によれば、未同定試料 (SRM 1975) に対しては、高速液体クロマトグラフ-蛍光検出器 (HPLC-FLD) よりもガスクロマトグラフ-質量検出器 (GC-MS) の方が変動係数が低く、一方で、一部の構造異性体の分離は HPLC-FLD の方が優れていた。このことから、できる限り二種類の測定法で測定すべきであると提唱している。

### 4.2.1 ガスクロマトグラフ法

ガスクロマトグラフで分離できる化合物群は、通常、300°C以下で気化できる PAHs に限られる。このため、前出の PAHs 16 種類のうち、揮発性の低い Benzo[ghi]perylene などは検出下限値が高くなる。ガスクロマトグラフ-質量分析 (GC-MS) 法の特長としては、沸点の比較的低い PAHs に対して分離能が高く、また、接続された質量分析計により同定・定量が容易な点が挙げられる。ガスクロマトグラフ-水素炎イオン化検出 (GC-FID) 法も用いられるが、FID は選択性が低いことから、クリーンアップ等によって、十分に夾雑物を除去する必要がある。GC-MS 法を適用した場合でも、分子量を同じくする異性体、特に難揮発性の PAHs (ベンゼン環の数が多いもの) は、異性体の分離・定量が課題となる。特に最近

では、異性体が多い分子量 (Mw=300, 302) の PAHs 全体に対する毒性の寄与が注目され、これらを分離・定量するための検討試料としても標準物質が利用されている<sup>49), 50)</sup>。

### 4.2.2 高速液体クロマトグラフ法

ガスクロマトグラフ法とは異なり、測定対象とする PAHs の気化を必要としない為、分子量の大きい PAHs にも適用できる特長がある。今日では、PAHs の分離に適したカラムがメーカーからも多く販売されており、Fig. 2 に示した 16 種類の PAHs については分離することが十分可能である。また、一部の構造異性体に対しては、ガスクロマトグラフ法よりも分離能が高いことが知られている<sup>48)</sup>。Wise et al.(1993) は、Benzo[a]pyrene や Phenanthro[3,4-c]phenanthrene, 1,2:3,4:5,6:7,8-Tetrabenzonaphthalene を用いて、高速液体クロマトグラフに用いるカラムの特性評価を行う方法を開発し、また、順相と逆相のカラムを接続することにより、分離能を改善し、SRM1597, SRM1648, SRM1649 および SRM1941 中に含まれる分子量 278 と 302 の異性体分離を分離・定量した<sup>51)</sup>。

蛍光検出器を用いることにより、クリーンアップ等では除去できなかった夾雑物の定量値に対する影響を最小限に抑えることができる (HPLC-FLD)。しかしながら、US EPA で指定されている 16 種類の PAHs の中でも、蛍光を持たない Acenaphthene には適用できず<sup>51)</sup>、また、蛍光係数が低い PAHs では、低濃度での定量が難しい欠点もある。一方で、紫外吸光検出器では、蛍光を持たない Acenaphthene を検出することができる一方で、選択性が低い為、クリーンアップ等によって、十分に夾雑物を除去する必要がある。

高速液体クロマトグラフィーと組み合わせ可能な検出器としては、近年、蛍光検出器のメリット (高感度かつ高選択性) と紫外吸光検出器のメリット (Acenaphthene も検出できる) を併せ持った高速液体クロマトグラフ-大気圧光イオン化-質量分析計 (LC-APPI-MS) 法が開発された<sup>52), 53)</sup>。この方法 (特にイオン化法) が開発されたことによって、これまでイオン化が困難であった PAHs に対しても LC-MS 法が適用できるようになり、高速液体クロマトグラフ法において同位体希釈質量分析法を適用する上では、今後、本法は重要な測定法となるであろう。

## 4.3 抽出方法

抽出操作は、分析対象である微量の PAHs をマトリックスから取り出すための操作である。同位体希釈質量分

析法では、同位体希釈平衡が達成していることが前提となっているが、現実的にはその確認は難しい。このため、できるだけ抽出率の高い抽出方法を適用する必要がある。また、この操作における精度や正確性が最終的な定量値や不確かさにも大きく影響することからも、非常に重要な操作である。これまでもいくつかの方法が開発・実施され、また、相互比較も行われている<sup>54)~56)</sup>。精度と正確性が共に高いことが求められる環境組成型標準物質の開発においては、これまでに報告されてきた各抽出法についての特徴を十分に把握した上で検討を行う必要がある。そこで、標準物質を用いて検討している文献を中心に引用し、それぞれの抽出法の特徴をまとめた。

#### 4.3.1 ソックスレー抽出法 (Soxhlet Extraction)

ソックスレー抽出法は、1879年に牛乳中の脂肪分を抽出する方法として開発された抽出法<sup>57)</sup>であり、最もオーソドックスな抽出方法の一つである。このため、多くの公定法にも採用されている他、新規抽出法に対する参照法や環境組成標準物質の開発に際しても、広く使用されており<sup>58)~65)</sup>、他の方法と比べても、高い抽出率が得られるとの報告もある<sup>55), 56)</sup>。本法は最もオーソドックスで信頼性の高い抽出法である反面、熱に不安定な物質には応用できないこと、他の抽出法と比較して溶媒使用量が多く、抽出時間も長い(100-500 mL, 3-48 hours)こと等が知られている<sup>66)</sup>。日本では、フィルター上に捕集したBenzo[a]pyreneを抽出する方法として、超音波抽出法(詳細は後述)と並んで、公定法<sup>67)</sup>に採用されている。

#### 4.3.2 加圧流体抽出法 (Pressurized Fluid Extraction)

加圧流体抽出法は、抽出溶媒を加温・加圧することにより、ソックスレー抽出法と比べて使用する溶媒量を減らし(10-100 mL)、また、抽出時間を短縮(5-30 min)することができる。NISTでは既に、ソックスレー抽出法と並んで、値付けに用いられている抽出法である<sup>59)~62), 64), 65)</sup>、US EPAでも固体試料からの有機化学物質を抽出する公定法として採用されている(Method 3545A<sup>68)</sup>)。Popp et al. (1997)は、土壤試料等に対して加圧流体抽出法の溶媒を変えて検討した結果、トルエンを用いた時にPAHsの抽出率が最も高かった(トルエン>アセトン/ジクロロメタン=1/1>ヘキサン/アセトン=1/1)と報告している<sup>69)</sup>。その一方で、Lundstedt et al. (2000)はヘキサン/アセトン(1/1)を用いた場合の抽出率が最も高く、この最適条件下でCRM 103-100(RTC社製)を分析した結果、認証値と良く一致した(95%信頼区間に収まった)と報告している<sup>70)</sup>。これらのことから、PAHs抽出に適した溶媒は

絶対的なものではなく、試料の含水率やマトリックスの組成に依存しやすいと考えられる。また、高い抽出率の報告がある一方で、標識体が土壤試料に過剰吸着されてしまうことにより、定量値が高く見積もられる可能性があることについても指摘されている<sup>70)</sup>。本法については、後に触れる加圧熱水抽出法と合わせて、Ramos et al. (2002)によって良くまとめられている<sup>71)</sup>。

#### 4.3.3 マイクロ波加速抽出法 (Microwave-assisted Solvent Extraction)

本抽出法は、マイクロ波を抽出溶媒や試料に直接照射することにより、抽出効果を高める抽出方法である。ソックスレー抽出法のように、外部から加熱すると、加熱スピードが遅く、また、反応容器中の試料や抽出溶媒は、容器以上の温度にはならないという欠点があった。これに対し、マイクロ波加速抽出法は、間接的に加熱するよりも加熱スピードが速く、また、局部的に沸点以上に加熱できる特長がある。このため、使用溶媒量を減らし(3-30 mL)、また、抽出時間も短縮する(10-40 min)ことができる<sup>72)</sup>。しかしながら、この方法では、抽出溶媒はマイクロ波を吸収できる種類(もしくはその混合溶媒)に限定されること、また、試料の含水率が抽出率に大きく影響することも知られている<sup>72)</sup>。Chee et al. (1996)はHS-4とHS-6を用いて、Shu et al. (2000)はEC-1とHS-2を用いて、Thompson et al. (2002)はSRM1941aを用いて、それぞれ、認証値及びソックスレー抽出と同等の抽出率が達成できたことから、使用溶媒量の削減や抽出時間短縮の面で、本抽出法が優れていると結論している<sup>73)~75)</sup>。

#### 4.3.4 超臨界流体抽出法 (Supercritical Fluid Extraction)

本法は、常温蒸気圧下では気体である二酸化炭素や一酸化窒素等を加圧することにより、気体と液体の性質を併せ持った超臨界流体とし、これを用いて目的とするPAHsを抽出する方法である。本法では、有機溶媒をほとんど用いることがないため、有機溶媒による環境負荷が小さい。一般的に超臨界流体としては、比較的容易に超臨界条件が得られ、また、安価である二酸化炭素が用いられる。Schantz and Chesler (1986)は、SRM1649(大気粉塵試料)を用いてPAHsの抽出率を検討した結果、Indeno[1,2,3-cd]pyreneやBenzo[ghi]peryleneなどの高分子量で低極性のPAHsについては、ソックスレー抽出法により値付けされた認証値よりも高い回収率(それぞれ118%と130%)が得られたと報告している<sup>76)</sup>。一般的に、生体に影響があると考えられている化学物質(PCB、

ダイオキシン, PAHsなど)も, 若干ではあるが, 極性を持っているため, 無極性溶媒として働く超臨界流体では, むしろ抽出率が低下することがある。そこで, モディファイアーと呼ばれる, 極性を持った有機溶媒(メタノールなど)を使用することにより, 抽出率が上がる人が多い<sup>77), 78)</sup>。その一方で, Lutermann et al. (1998)は, 土壌試料を用いてPAHsの抽出率に対するモディファイアーの影響(添加量や極性, およびモディファイアーの組み合わせ等)を検討した結果, 腐植物質が多くて比較的汚染度合いの低いマトリックスに対しては, むしろ極性の低いモディファイアー(10 mol%のペンタン)を添加した場合で, 最も高い抽出率が得られたと報告している<sup>79)</sup>。これに対して, Harwthorne et al. (2000)は, ガスプラント跡地から採取したPAHs汚染を受けている土壌試料に対して, 加圧流体抽出法, ソックスレー抽出法, 加圧熱水抽出法と, pure CO<sub>2</sub>による超臨界流体抽出法の比較を行ったところ, いずれの方法を用いても抽出率には大きな差はなかったものの, pure CO<sub>2</sub>による超臨界流体抽出法で得られた抽出液には, 含まれる夾雑物量が最も少なかった(もっとも選択性が高い抽出法である)と報告している<sup>54)</sup>。しかしながら, このように高抽出率・高選択性で目的とする化学物質を抽出する為には, 最適化しなければならないパラメータが多いのが欠点である<sup>78)</sup>。

#### 4.3.5 超音波抽出法(Ultrasonic Extraction)

本法は, 平成10年10月に環境庁水質保全局水質管理課から出された“外因性内分泌攪乱作用化学物質調査暫定マニュアル(水質, 底質, 水生生物)”<sup>6)</sup>において, 底質からBenzo[a]pyreneを抽出する方法として採用されており, また, フィルター上に捕集したBenzo[a]pyreneを抽出する方法としても, ソックスレー抽出(前述)と並んで, 公定法<sup>67)</sup>に採用されている。“外因性内分泌攪乱作用物質調査暫定マニュアル(水質, 底質, 水生生物)”では, 底質試料に対しては, アセトン抽出溶媒として, 浸漬・超音波処理により抽出する(アセトン50 mLで3回抽出)。本抽出法の妥当性を支持する報告としては, Banjoo et al. (2005)が, ヘキササン/アセトン(1/1)を抽出溶媒として, 15分間の超音波抽出(4回)により, SRM1941aで検討した結果, 90%以上の抽出率が得られたと報告している<sup>80)</sup>。本法では, 抽出操作を繰り返すため, 結果として, ソックスレー抽出と同様に多量の抽出溶媒と比較的長い抽出時間を必要とする。

#### 4.3.6 アルカリ分解抽出法(Saponification)

本法は, PCB分析の公定法として採用されている方法<sup>6)</sup>

であり, マトリックスに強く吸着されているPAHsを, 塩基性有機溶媒によりマトリックスを加水分解して抽出する方法である。Eschenbacht et al. (1994)は, アセトンのみで超音波抽出した残渣を更にアルカリ加水分解(2 M KOHaq: Methanol = 1:1)した結果, 更にPAHsを抽出することができた(アセトンで抽出した量の1/4量)。更に, 既知量を添加した土壌試料を風化させた結果, 分子量の大きな(より脂溶性が高い)PAHsほど, アルカリ加水分解により抽出される量が増加したことから, アルカリ分解によって腐植物質のエステル結合が加水分解され, これらの中に捕捉されていたPAHsが抽出できるのであるとの結論に至った<sup>43)</sup>。Northcott and Jones (2001)が行った, 放射性同位体で標識したPAHsを添加した試料を風化させてから分析した結果でも同様であった<sup>44)</sup>。しかしながら本法は, 得られた抽出液から更に, 別の有機溶媒でPAHsを液-液抽出する必要があることもあり, 比較的多量の溶媒を必要とし, 操作も煩雑となるのが難点である。

#### 4.3.7 加圧熱水抽出法(Pressurized Hot Water Extraction)

水は, 一般的な条件下では, 高い極性(双極子モーメント $\mu = 1.85$ )を持つ液体である。しかしながら, 高温・高圧の条件下では, 極性の低い液体として挙動する。このため, 有機溶媒を使用しない, 環境負荷の小さな抽出方法として, 注目されている。また, 加圧していた水は減圧することによって, 極性の高い液体に戻る。この為, 常温・大気圧下に戻す際に吸着担体を用いることにより, 抽出したPAHsを抽出・濃縮できる。Hawthorne et al. (2000)は, SRM1944(底質試料)とSRM1649a(大気粉塵試料)を用いて検討した結果(抽出した目的物質はstyrene-divinylbenzeneを用いて回収), PAHsでは90%以上の抽出率が得られ<sup>81)</sup>。また, Kuosmanen et al. (2003)は, 土壌試料中のPAHsに対して, ソックスレー抽出法に比べても高い抽出率(揮発性の高いNaphthaleneやAcenaphtheneではそれぞれ, 2倍と4倍近く)が得られたと報告している<sup>82)</sup>。McGowin et al. (2001)はCRM104(RTC社製)を用いて, 認証値と同等(95%信頼区間内)の結果を得たと報告している<sup>83)</sup>。その一方で, 高圧熱水下では100°Cでも240分で, また, 300°Cであれば10分程度であってもPAHsが酸化分解する(水自身が酸化剤として働く為)との報告<sup>84)</sup>もあり, これを利用した土壌中のPAHs酸化分解・除去に関する報告<sup>85)</sup>もある。このことから, 本法を利用する際には注意する必要がある。熱水抽出法に関しては, Romas et al. (2002)<sup>71)</sup>やSmith



(2002)<sup>86)</sup>により、良くまとめられている。

## 5. PAHs 分析用環境組成型認証標準物質の開発における展望

これまでも述べてきたように、我々を取り巻く環境中には広く PAHs が存在し、また、既に PAHs を分析対象とした多くの環境組成型標準物質が頒布されている。環境組成型標準物質は比較的小さな容器に密封された状態で頒布されている為、通常の試薬と同様に輸入・入手することができる（土壌試料に関しては、検疫を通過する必要がある）。つまり、国内の研究者や技術者であっても、比較的容易に入手することが可能である。また、本調査研究で明らかになったように、既に頒布されている PAHs 分析用標準物質は PAHs の種類や濃度レベルについても広く網羅されている。さらに、SRM シリーズをはじめとして、PAHs 以外の濃度についての定量値が付記されていることも多い (Tables 3-6)。

これまでの調査結果を踏まえて、筆者は今後、PAHs 分析用の環境標準物質の開発を行っていく上で、以下の点について重点を置いて開発を行っていく。また、国際整合性を持つ標準物質とするために、国際比較にも積極的に参加し、ピアレビューも受けていく予定である。

### 5.1 精確性の高い認証値を付与するための分析法の適用

精確性の高い認証値を付与する為に、これまでに述べてきた一次標準測定法の一つである同位体希釈質量分析法を適用して値付けすることを計画している。各測定法および抽出法には一長一短の特徴があるため、また、抽出法や分析法によるバイアスを避けるためにも、複数の測定法及び抽出法を組み合わせて定量を行う必要がある。そこで筆者は、今回の調査結果を踏まえ、抽出法では、ソックスレー抽出、加圧流体抽出法、アルカリ分解抽出法、マイクロ波加速抽出法を併行・組み合わせて用いることを計画している。この中でも加圧流体抽出法（抽出溶媒＝トルエン）については、既に国際比較 (CCQM-P69) で国際同等性を確認しており、また、アルカリ分解抽出法を用いることにより、マトリックス中に捕捉されている PAHs についても定量が可能となるであろう。前述したように、高速液体クロマトグラフ法とガスクロマトグラフ法はそれぞれに長所があり、また、測定のパイアスを回避し、同位体希釈質量分析法の特長を最大限に生かす上でも、測定法には GC-MS 法と LC-APPI-MS 法の両者を併用して値付けすることを計画している。これまでに他機関から頒布されている環境組成型標準物質

では、ここまで精確性を追及しているものはない。このことから、標準物質として最も重要な認証値の精確性により、他の標準物質との差別化ができるであろう。

### 5.2 付加価値を持った標準物質の開発

底質等については、他機関から既に PAHs 分析用の環境組成型標準物質が豊富に頒布されている (Tables 3-6)。しかしながら、含まれる PAHs の濃度や組成については、日本で採取した環境試料とは濃度や組成が大きく異なることが予想される。また、既に公定法等のガイドラインが存在するマトリックス（底質、生体、粉塵）に対しては、国産の環境組成型標準物質を早急に開発するべきであると認識している。しかしながらその場合には、既に頒布されている標準物質との差別化を図るためにも、他の化学物質についても定量値を付与する必要があると考えている。既に頒布されている環境組成型標準物質に付与されている PAHs 以外の定量値に関しては、Tables 3-6 にまとめた通りであり、最も付与されている項目は PCB 値 (Total PCB 値を含む) である。しかしながら、日本国内では PCB 値を付与することによって、むしろ、“化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律”の特定化学物質として流通や管理が規制されることになる。このことは、ユーザーの利便性を損なうことにもなりかねない。また、PCB の環境組成型標準物質に関しては、2つの濃度水準について本研究室から既に頒布していることから、他の成分について定量値を付与することを検討している。例えば、現時点では研究レベルで注目されているものの、環境組成型標準物質には付与されていないもの、つまり、安定同位体比 ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) や、有機元素 (炭素、窒素、酸素、硫黄等) についても定量値を付記し、差別化を図る。

### 5.3 頒布が少ないマトリックスの標準物質開発

本調査研究で明らかになったように、PAHs 分析用の環境組成型標準物質としては、底質や土壌については豊富に頒布されている一方で、発生源に近い粉塵や、我々が直接摂取する食品等については、ほとんど頒布されていないのが現状である。このことから、頒布が少ないマトリックスとした PAHs 分析用の環境組成型標準物質を中心に開発していきたいと考えている。特に粉塵に関しては、Benzo[a]pyrene が既に大気汚染物質の優先取り組み物質として取り上げられていることから、法的な規制が実施される可能性が高く、早期に開発する必要があると考えている。

## 謝辞

本研究をまとめるにあたり、多大なるご指導を賜った鎗田孝室長をはじめ、有益なる御意見を賜った無機分析科環境標準研究室の皆様にご礼申し上げます。

## 参考文献

- 1) <http://nobelprize.org/medicine/laureates/1948/Muller-Bio.html>
- 2) R. Carson 著・青樹築一訳: 沈黙の春 (新潮社, 東京, 1987) 309pp.
- 3) Y. F. Li : Global technical hexachlorocyclohexane usage and its contamination consequences in the environment : from 1948 to 1997, *Sci. Total Environ.* 232 (1999) 121-158.
- 4) T. Colborn・J. P. Myers・D. Dumanoski 共著・長尾力・堀千恵子訳: 奪われし未来 (翔泳社, 東京, 2001) 466pp.
- 5) <http://www.env.go.jp/chemi/end/index.html>
- 6) 環境庁水質保全局水質管理課, 外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル (水質, 底質, 水生生物), (1997) 145pp.
- 7) B. J. Finlayson-Pitts, and J. James N. Pitts : Chemistry of the upper and lower atmosphere: Theory, Experiments, and Applications. (Academic Press, London, UK, 2000) .
- 8) N. Ohkouchi, K. Kawamura, and H. Kawahata : Distributions of three- to seven-ring polynuclear aromatic hydrocarbons on the deep sea floor in the Central Pacific, *Environ. Sci. Technol.* 33 (1999) 3086-3090.
- 9) M. A. Callahan, M. W. Slimak, N. W. Gabel, I. P. May, C. F. Flower, J. R. Freed, P. Jennings, R. I. Dupree, F. C. Whitmore, B. Maestri, W. R. Mabey, B. R. Holt, and C. Gould, *EPA-440/4-79-029a and b, Vols. I and II*, (Springfield : VA, USA, 1979).
- 10) M. Yamada, H. Takada, K. Toyoda, A. Yoshida, A. Shibata, H. Nomura, M. Wada, M. Nishimura, K. Okamoto, and K. Ohwada : Study on the fate of petroleum-derived polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and the effect of chemical dispersant using an enclosed ecosystem, mesocosm, *Mar. Pollut. Bull.* 47 (2003) 105-113.
- 11) B. Gevaio, K. C. Jones, and J. Hamilton-Taylor : Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) deposition to and processing in a small rural lake, Cumbria UK, *Sci. Total Environ.* 215 (1998) 231-242.
- 12) T. Okuda, H. Kumata, H. Naraoka, and H. Takada: Molecular composition and compound-specific stable carbon isotope ratio of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the atmosphere in suburban areas, *Geochem. J.* 38 (2004) 89-100.
- 13) T. Ohura, T. Amagai, M. Fusaya, and H. Matsushita : Spatial distributions and profiles of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons in two industrial cities in Japan, *Environ. Sci. Technol.* 38 (2004) 49-55.
- 14) H. Nakata, Y. Sakai, T. Miyawaki, and A. Takemura : Bioaccumulation and toxic potencies of polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons in tidal flat and coastal ecosystems of the Ariake Sea, Japan, *Environ. Sci. Technol.* 37 (2003) 3513-3521.
- 15) T. Okuda, H. Kumata, H. Naraoka, R. Ishiwatari, and H. Takada : Vertical distributions and d13C isotopic compositions of PAHs in Chidorigafuchi Moat sediment, Japan, *Org. Geochem.* 33 (2002) 843-848.
- 16) H. Moriwaki, K. Katahira, O. Yamamoto, J. Fukuyama, T. Kamiura, H. Yamazaki, and S. Yoshikawa : Historical trends of polycyclic aromatic hydrocarbons in the reservoir sediment core at Osaka, *Atmos. Environ.* 39 (2005) 1019-1025.
- 17) H. Obana, S. Hori, and T. Kashimoto : Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine samples by high-performance liquid chromatography, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 26 (1981) 613-620.
- 18) T. Korenaga, X. Liu, and Y. Tsukiyama : Dynamic analysis for emission sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in Tokushima Soils, *J. Health Sci.* 46 (2000) 380-384.
- 19) T. Nielsen : Traffic contribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the center of a large city, *Atmos. Environ.* 30 (1996) 3481-3490.
- 20) C. K. Li, and R. M. Kamens : The use of polycyclic aromatic hydrocarbons as source signatures in receptor modeling, *Atmos. Environ.* 27A (1993) 523-532.
- 21) W. A. Maher, and J. Aislabie : Polycyclic aromatic hydrocarbons in nearshore marine sediments of Australia, *Sci. Total Environ.* 112 (1992) 143-164.
- 22) T. Okuda, H. Kumata, M. P. Zakaria, H. Naraoka, R. Ishiwatari, and H. Takada : Source identification of Malaysian atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons



- nearby forest fires using molecular and isotopic compositions, *Atmos. Environ.* 36 (2002) 611-618.
- 23) L. H. Lim, R. M. Harrison, and S. Harrad : The contribution of traffic to atmospheric concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Environ. Sci. Technol.* 33 (1999) 3538-3542.
- 24) C. A. Menzie, B. B. Potocki, and J. Santodonato : Exposure to carcinogenic PAHs in the environment, *Environ. Sci. Technol.* 26 (1992) 1278-1284.
- 25) M. S. García-Falcón, B. Cancho-Grande, and J. Simal-Gándara : Stirring bar sorptive extraction in the determination of PAHs in drinking waters, *Water Res.* 38 (2004) 1679-1684.
- 26) E. Manoli, and C. Samara : Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters : sources, occurrence and analysis, trends in *Anal. Chem.* 18 (1999) 417-428.
- 27) H. Shiraishi, N. H. Pilkington, A. Otsuki, and K. Fuwa : Occurrence of chlorinated polynuclear aromatic hydrocarbons in tap water, *Environ. Sci. Technol.* 19 (1985) 585-590.
- 28) N. Kishikawa, M. Wada, N. Kuroda, S. Akiyama, and K. Nakashima : Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in milk samples by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *J. Chromatogr. B* 789 (2003) 257-264.
- 29) D. K. Nico, T. Schouten, and H. D. Gerrit : Rapid determination of benzo[a]pyrene in roasted coffee and coffee brew by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *J. Agric. Food Chem.* 35 (1987) 545-549.
- 30) M. J. Dennis, R. C. Massey, D. J. Mcweeny, M. E. Knowles, and D. Watson: Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in UK total diets, *Food Chem. Toxicol.* 21 (1983) 569-574.
- 31) Scf : Opinion of the Scientific Committee on Food on the Risks to human health of Polycyclic aromatic hydrocarbons in food (SCF/CS/CNTM/PAH/29 Final) , Report SCF/CS/CNTM/PAH/29 Final (4 Dec 2002) (2002) 84pp.
- 32) S. Moret, and L. S. Conte : Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils : occurrence and analytical methods, *J. Chromatogr. A* 882 (2000) 245-253.
- 33) <http://www-cie.iarc.fr/monoeval/crthall.html>
- 34) S. M. Billiard, M. E. Hahn, D. G. Franks, R. E. Peterson, N. C. Bols, and P. V. Hodson : Binding of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) to teleost aryl hydrocarbon receptors (AHRs) , *Comp. Biochem. Physiol. B: Biochem. Mol. Biol.* 133 (2002) 55-68.
- 35) M. Machala, J. Vondráček, L. Bláha, M. Ciganek, and J. Neča : Aryl hydrocarbon receptor-mediated activity of mutagenic polycyclic aromatic hydrocarbons determined using in vitro receptor gene assay, *Mutat. Res.* 497 (2001) 49-62.
- 36) K. F. Arcaro, P. W. O'Keefe, Y. Yang, W. Clayton, and J. F. Gierthy : Antiestrogenicity of environmental polycyclic aromatic hydrocarbons in human breast cancer cells, *Toxicology* 133 (1999) 115-127.
- 37) R. Kurihara, F. Shiraishi, N. Tanaka, and S. Hashimoto : Presence and Estrogenicity of Anthracene Derivatives in Coastal Japanese waters, *Environ. Toxicol. Chem.* 24 (2005) 1984-1993.
- 38) [http://www.env.go.jp/press/file\\_view.php?serial=1420&hou\\_id=1929](http://www.env.go.jp/press/file_view.php?serial=1420&hou_id=1929)
- 39) [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/chemicals/pahsum.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/pahsum.pdf)
- 40) <http://www.rt-corp.com/pdf/05maincatalog.pdf>
- 41) 成川知弘: 化学形態別元素分析用環境標準物質の課題と展望, 産総研計量標準報告 3 (2005) 667-687.
- 42) [http://imb-ibm.nrc-cnrc.gc.ca/crmp/enviro/ses1\\_e.php](http://imb-ibm.nrc-cnrc.gc.ca/crmp/enviro/ses1_e.php)
- 43) A. Eschenbach, M. Kästner, R. Bierl, G. Schaefer, and B. Mahro : Evaluation of a new, effective method to extract polycyclic aromatic hydrocarbons from soil samples, *Chemosphere* 28 (1994) 683-692.
- 44) G. L. Northcott, and K. C. Jones : Partitioning, extractability, and formation of nonextractable PAH residues in soil. 1. Compound differences in aging and sequestration, *Environ. Sci. Technol.* 35 (2001) 1103-1110.
- 45) T. J. Quinn: Primary methods of measurement and primary standards, *Metrologia* 34 (1997) 61-65.
- 46) 沼田雅彦: 同位体希釈法による有機化合物の精密定量に関する調査研究-より正確な測定と新たな環境化学分野への適用のために-, 産総研計量標準報告 1 (2002) 247-258.
- 47) K. Imamura, M. Eguchi, S. Ohira, N. Takenaka, T. Tashiro, S. Tachibana, M. Tanaka, K. Hirai, Y. Fujikata, and Y. Yasaka : Evaluation of HPLC and GC/MS for the determination of benzo[a]pyrene in environment, *Bunseki Kagaku* 50 (2001) 763-768.
- 48) S. T. B. Linda D. Gratz, D. G. Leddy, J. H. Johnson, C.

- Chiu, and P. Stommel: Interlaboratory comparison of HPLC-fluorescence detection and GC/MS: analysis of PAH compounds present in diesel exhaust, *J. Hazard. Mater.* 74 (2000) 37-46.
- 49) P. Schubert, M. M. Schantz, L. C. Sander, and S. A. Wise: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons with molecular weight 300 and 302 in environmental-matrix standard reference materials by gas chromatography/mass spectrometry, *Anal. Chem.* 75 (2003) 234-246.
- 50) J.-J. Sauvain, and T. V. Duc: Approaches to identifying and quantifying polycyclic aromatic hydrocarbons of molecular weight 302 in diesel particulates, *J. Sep. Sci.* 27 (2004) 78-88.
- 51) S. A. Wise, L. C. Sander, and W. E. May: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by liquid chromatography, *J. Chromatogr.* 642 (1993) 329-349.
- 52) H. Moriwaki, M. Ishitake, S. Yoshikawa, H. Miyakoda, and J.-F. Alary: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment by liquid chromatography-atmospheric pressure photoionization-mass spectrometry, *Anal. Sci.* 20 (2004) 375-377.
- 53) K. A. Hanold, S. M. Fischer, P. H. Cormia, C. E. Miller, and J. A. Syage: Atmospheric pressure photoionization. 1. General properties for LC/MS, *Anal. Chem.* 76 (2004) 2842-2851.
- 54) S. B. Hawthorne, C. B. Grabanski, E. Martin, and D. J. Miller: Comparisons of Soxhlet extraction, pressurised liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix, *J. Chromatogr. A* 892 (2000) 421-433.
- 55) J. D. Berset, M. Ejem, R. Holzer, and P. Lischer: Comparison of different drying, extraction and detection techniques for the determination of priority polycyclic aromatic hydrocarbons in background contaminated soil samples, *Anal. Chim. Acta* 383 (1999) 263-275.
- 56) N. A. Saim, J. R. Dean, M. P. Abdullah, and Z. Zakaria: Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soil using Soxhlet extraction, pressurised and atmospheric microwave-assisted extraction, supercritical fluid extraction and accelerated solvent extraction, *J. Chromatogr. A* 791 (1997) 361-366.
- 57) F. Soxhlet: Die gewichtsanalytische Bestimmung des Milchlvettes, *Dinglers Polytech. J.* 232 (1879) 461-465.
- 58) M. M. Schantz, J. Brue A. Benner, S. N. Chesler, B. J. Koster, K. E. Hehn, S. F. Stone, W. R. Kelly, R. Zeisler, and S. A. Wise: Preparation and analysis of a marine sediment reference material for the determination of trace organic constituents, *Fresenius J. Anal. Chem.* 338 (1990) 501-514.
- 59) <https://srms.nist.gov/certificates/1941b.pdf>
- 60) <https://srms.nist.gov/certificates/1944.pdf>
- 61) [https://srms.nist.gov/certificates/view\\_cert2.gif.cfm?certificate=2974](https://srms.nist.gov/certificates/view_cert2.gif.cfm?certificate=2974)
- 62) <https://srms.nist.gov/certificates/1974b.pdf>
- 63) <https://srms.nist.gov/certificates/1649a.pdf>
- 64) <https://srms.nist.gov/certificates/1650a.pdf>
- 65) <https://srms.nist.gov/certificates/2975.pdf>
- 66) M. D. L. D. Castro, and L. E. Garca-Ayuso: Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future, *Anal. Chim. Acta* 369 (1998) 1-10.
- 67) 環境庁大気保全局大気規制課, 有害大気汚染物質測定方法マニュアル, (1999) 45pp.
- 68) <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/3545a.pdf>
- 69) P. Popp, P. Keil, M. Möder, A. Paschke, and U. Thuss: Application of accelerated solvent extraction followed by gas chromatography-mass spectrometry for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, chlorinated pesticides and polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in solid wastes, *J. Chromatogr. A* 774 (1997) 203-211.
- 70) S. Lundstedt, B. V. Bavel, P. Haglund, M. Tysklind, and L. Öberg: Pressurised liquid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils, *J. Chromatogr. A* 883 (2000) 151-162.
- 71) L. Ramos, E. M. Kristenson, and U. A. T. Brinkman: Current use of pressurized liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis, *J. Chromatogr. A* 975 (2002) 3-29.
- 72) C. S. Eskilsson, and E. Björklund: Analytical-scale microwave-assisted extraction, *J. Chromatogr. A* 902 (2000) 227-250.
- 73) K. K. Chee, M. K. Wong, and H. K. Lee: Optimization of microwave-assisted solvent extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments using a microwave extraction system with high-performance liquid chromatography-fluorescence detection and gas

- chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 723 (1996) 259-271.
- 74) Y. Y. Shu, R. C. Lao, C. H. Chiu, and R. Turle : Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment reference materials by microwave-assisted extraction, *Chemosphere* 41 (2000) 1709-1716.
- 75) S. Thompson, H. Budzinski, K. Lemenach, M. Letellier, and P. Garrigues : Multi-residue analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorobiphenyls, and organochlorine pesticides in marine sediments, *Anal. Bioanal. Chem.* 372 (2002) 196-204.
- 76) M. M. Schantz, and S. N. Chesler : Supercritical fluid extraction procedure for the removal of trace organic species from solid samples, *J. Chromatogr.* 363 (1986) 397-401.
- 77) Z. Wang, M. Ashraf-Khorassani, and L. T. Taylor : Design for on-line coupling of supercritical fluid extraction with liquid chromatography : quantitative analysis of polynuclear aromatic hydrocarbons in a solid matrix, *Anal. Chem.* 75 (2003) 3979-3985.
- 78) 長浜邦雄, 加藤寛, 乗富秀富: 超臨界流体抽出, 新しい抽出技術-超臨界・液膜・逆ミセル- (化学工学会監修), (培風館, 東京, 2002) 7-57.
- 79) C. Lutermann, E. Willems, W. Dott, and J. Hollender : Effects of various binary and ternary supercritical phases on the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils, *J. Chromatogr. A* 816 (1998) 201-211.
- 80) D. R. Banjoo, and P. K. Nelson: Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic hydrocarbons in sediments, *J. Chromatogr. A* 1066 (2005) 9-18.
- 81) S. B. Hawthorne, S. Trembley, C. L. Moniot, C. B. Grabanski, and D. J. Miller : Static subcritical water extraction with simultaneous solid-phase extraction for determining polycyclic aromatic hydrocarbons on environmental solids, *J. Chromatogr. A* 886 (2000) 237-244.
- 82) K. Kuosmanen, T. Hyötyläinen, K. Hartonen, J. Å. Jönsson, and M.-L. Riekkola : Analysis of PAH compounds in soil with on-line coupled pressurised hot water extraction-microporous membrane liquid-liquid extraction-gas chromatography, *Anal. Bioanal. Chem.* 375 (2003) 389-399.
- 83) A. E. McGowin, K. K. Adom, and A. K. Obubuafo : Screening of compost for PAHs and pesticides using static subcritical water extraction, *Chemosphere* 45 (2001) 857-864.
- 84) T. Andersson, K. Hartonen, T. Hyötyläinen, and M.-L. Riekkola : Stability of polycyclic aromatic hydrocarbons in pressurised hot water, *Analyst* 128 (2003) 150-155.
- 85) A. A. Dadkhah, and A. Akgerman : Hot water extraction with in situ wet oxidation : PAHs removal from soil, *J. Hazard. Mater.* B93 (2002) 307-320.
- 86) R. M. Smith : Extraction with superheated water, *J. Chromatogr. A* 975 (2002) 31-46.