

# 空気中フラーレン粒子の HPLC による分析

## HPLC Analysis of Fullerene Aerosol

(独立行政法人 労働安全衛生総合研究所) ○小野 真理子

[Abstracts] Fullerene is a typical Nano-carbon material with unique chemical and physical properties. Fullerene is being applied for various technologies in wide range industries such as electronics, environment, energy and bio-medical fields. As well as other carbonaceous nano-materials, the more fullerene is being produced, the more exposure could occur. Difficulty of assessing exposure to nanoparticles in workplace has been recognized in these years, especially for carbonaceous nanoparticles. Even if the number and size of particles are monitored, it is difficult to judge the origin of particles, for example, process of production or mobile exhaustion. In this research, HPLC-UV method is applied to analysis of fullerene aerosol. Aerosol is collected on quartz fiber filter and fullerene is solved in toluene with sonication, then analyzed with HPLC. The effect of filter on recovery is also checked.

【はじめに】近年、機能性材料のひとつとして、ナノ粒子の使用量が増大している。炭素系のナノ粒子であるフラーレンもその用途を広げつつあり、樹脂に添加したコンポジットや、金属合金への添加、金属内包フラーレン等が開発され、また抗酸化力が強いため化粧品に添加されるなどして、一部市場化されている。工業化されると、製造時の労働者へのばく露による健康影響が懸念され、また社会に製品が出た場合には、一般環境における影響が懸念されている。フラーレンの健康影響については現在毒性試験が数多く行われているが、顕著に有害との結果は現状では得られていないようである。有害性の程度によらず、職場でのばく露を測定する方法が必要と考えられるが、粒子の個数や表面積等をリアルタイムに測定する方法は有効ではあるが、種々の環境中の粒子が測定を妨害するため、フラーレンのみを分別して測定する方法が必要である。液体クロマトグラフ(HPLC)はフラーレンの精製に用いられており、また生体中のフラーレンの分析法として Xia ら<sup>1)</sup>の報告がある。そこで本研究は、環境空气中に浮遊するフラーレンをろ紙に捕集して、有機溶媒に溶解した後、HPLC-紫外吸光光度法(UV)により定量することを目的として検討を行った。

【方法】 1)分析試料: 試薬のフラーレン C<sub>60</sub>(純度

99.5%) と C<sub>70</sub>(99%) (Sigma-Aldrich 製)を使用した。10 mg のフラーレンを精秤し、トルエンに超音波を用いて溶解し、ろ過して 1000 µg/mL の標準原液を調製した。分析には標準原液をトルエンを用いて適宜希釈して用いた。

2)分析方法:【HPLC の条件】分析には高速液体クロマトグラフ(HPLC)HP1050 システム(ヒューレットパッカード)を用い、カラムは Develosil RPFULLERENE (4 mm x 150 mm)とガードカラム Develosil C30-UG-5(4 mm x 10 mm)(野村化学株式会社)、溶離液はトルエン/アセトニトリル=70/30、流速 1.0 mL/min とした。カラム温度は 30°C、オートサンプラーを使用した。C<sub>60</sub> 溶液の吸収波長をあらかじめ分光光度計(Shimadzu160A)を用いて測定し、最大吸収波長の 335 nm を UV の検出波長とした。【ろ紙の分析への影響】環境中の粒子はろ紙に捕集するが、OCEC モニターにより炭素濃度も測定することを想定して、ろ紙には石英繊維ろ紙(PALL QAT)を使用することとした。ろ紙が分析結果に及ぼす影響を見るために、1 mL の 0.1 µg/mL と 1.0 µg/mL 溶液に 4x10 mm に切り抜いたろ紙、2あるいは4枚を入れて、5 分間超音波による抽出を行った後、孔径が 0.45 µm のフィルターを用いてろ過して分析に供した。

**【結果】**

1) それぞれ 0.02 μg の C<sub>60</sub> と C<sub>70</sub> を注入した際のクロマトグラムは Fig. 1 のようである。C<sub>60</sub> は約 5.8 分で、C<sub>70</sub> は約 8.0 分で溶出した。定量下限付近の濃度の溶液を 10 回測定し、その 3σ を検出限界、10σ を定量限界としたところ、C<sub>60</sub> については HPLC への注入量として検出限界 0.0007 μg、定量限界 0.0023 μg であった。

2) C<sub>60</sub> の検量線 (0.002-0.03 μg) は Fig. 2 のようであり良好な直線性を示した。高濃度側では 2 μg まで直線性が確認された。

3) 石英繊維ろ紙がフラーレンの分析に影響を及ぼすかどうかを確認するために、添加回収実験を行った。その際の添加回収率を Table 1 に示す。いずれの濃度においても回収率は高く、石英繊維ろ紙に吸着される可能性は低い。むしろ、ろ紙が入ることにより若干の回収率の上昇が認められた。溶液の状態が変わることにより、何らかの影響を受けていると思われる。現場測定の際には使用するろ紙による回収率を確認する必要がある。

**【考察】**標準原液作成時にはわずかではあるが、フラーレンの溶け残りが認められた。従って、検量線は計算上のフラーレン量よりも少ない量で作成しており、実試料の測定を行う際には過大評価となる可能性がある。この残渣については酸化物の可能性があるが、明確ではない。フラーレンの純度が、試薬と実試料では異なる可能性があることから、現場の測定の際には製品を標準品として使用することにより、より正確な検量線を作成できる。

**【まとめ】**HPLC-UV を用いてフラーレンを測定する本法は簡便な方法であり、捕集時間や抽出に用いるろ紙面積を変化させることにより、広範囲の濃度の空气中フラーレンを測定することが可能である。

Reference

1) Xia, X-R, et al, J chromatgr A, 1129 (2006)

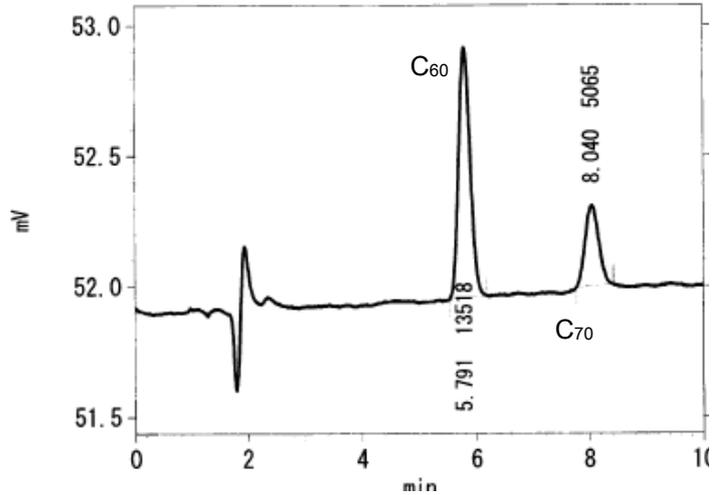


Fig. 1 Chromatogram of C<sub>60</sub> and C<sub>70</sub>

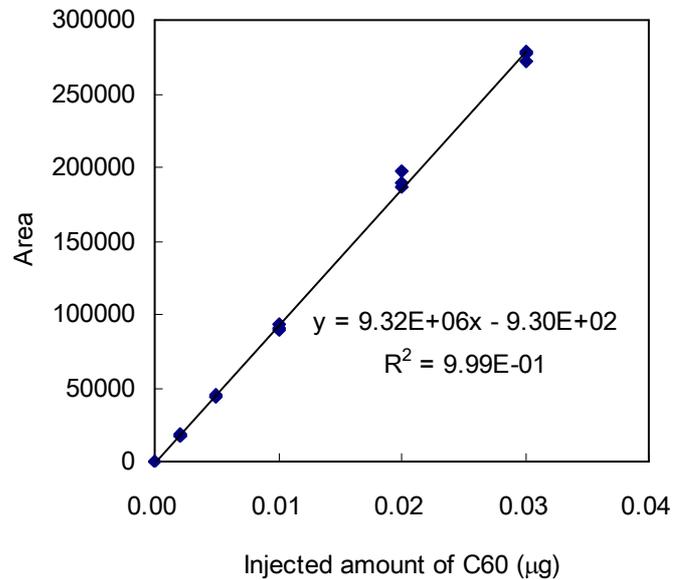


Fig. 2 Calibration curve for C<sub>60</sub>

Table 1 Recovery of C<sub>60</sub> with quartz fiber filter. (n=3)

Number of filter	C <sub>60</sub> concentration μg/mL	Detected concentration μg/mL	Recovery
2	0.1	0.108	1.08
2	1.0	1.06	1.06
4	1.0	1.16	1.16