

## 論文

## 液体シンチレーションカウンタによるガソリン中のバイオエタノール濃度の計測に及ぼす着色料の影響

柚木 俊二\*<sup>1)</sup> 齋藤 正明\*<sup>1)</sup> 永川 栄泰\*<sup>1)</sup>

## Influences of fuel dyes on determination of bioethanol content in gasoline by liquid scintillation counting

Shunji Yunoki\*<sup>1)</sup>, Masaaki Saito\*<sup>1)</sup>, Yoshiyasu Nagakawa\*<sup>1)</sup>

We demonstrated the advantage of blue dye over red dye for the determination of bioethanol content in gasoline by the direct measurement of liquid scintillation counting (LSC). Simulated gasoline containing biofuel was prepared from bioethanol (10 and 25%), petroleum benzine, and Solvent Red 26 or Solvent Blue 35 (at concentrations of 2.5, 25 and 250ppm) as fuel dyes. The bioethanol content was determined precisely in the simulated gasoline containing the blue dye at a concentration for practical uses since the color quenching was corrected using the external standard method. On the other hand, the bioethanol content was overestimated in the red simulated gasoline. The overestimation was due to the stronger color quenching than that seen with the blue. The advantage of blue dye enables us to distinguish bioethanol-blended gasoline by its color and determine the bioethanol content by LSC.

キーワード：バイオ由来含量, バイオエタノール, 液体シンチレーション, 放射性炭素, ガソリン

Keywords : Bio-based content, Biofuel, Bioethanol, Liquid scintillation, Radiocarbon, <sup>14</sup>C, Gasoline

## 1. 緒言

バイオエタノールを3~25%含んだガソリン(E3~E25と呼ばれる)の利用が世界的に普及しつつある。自動車燃料としてバイオエタノール混合ガソリンを用いると化石燃料の使用が減り、温室効果ガスの排出を削減できる<sup>(1)</sup>。

バイオエタノール混合ガソリンの利用を促進するために、ガソリンに含まれるバイオエタノールの判別と定量を簡便に行う方法が求められている。バイオエタノールと化石燃料由来のエタノールは化学的に等価であるため、これらの区別にはバイオマス由来炭素に僅かに含まれる放射性炭素<sup>14</sup>C(半減期5730年)を計測するしかない。ガソリンのような液体試料を分析する場合の<sup>14</sup>C計測装置としては、液体シンチレーション計測(LSC)が有用である。

しかし、LSCによる<sup>14</sup>C計測の定量性は試料の着色により生ずる‘色クエンチング’によって損なわれることが知られている。無着色ガソリンに含まれるバイオエタノール濃度をLSCで定量できることは既の実証されているが<sup>(2)(3)</sup>、国内で流通する赤色もしくは橙色のガソリンにバイオエタノールを添加した試料をLSCで直接計測しても、バイオエタノール濃度が正しく求められない<sup>(4)</sup>。そこで都産技研は、世界に先駆けて、着色されたE3ガソリンから水抽出により

得られる無色のバイオエタノールをLSC計数試料として、バイオエタノール濃度を定量する方法を開発した<sup>(4)~(6)</sup>。

本研究では、ガソリンを脱色せずにLSCで直接計測してもバイオエタノールが正確に求められる色があることを実証する(なお専門用語の説明を論文末尾に付記した)。

## 2. 実験

2.1 赤色及び青色模擬ガソリンの調製 石油ベンジン(和光純薬工業)にバイオエタノール(エタノール99.5, 和光純薬工業)を10及び25wt%混合し、模擬E10及びE25ガソリンを調製した。模擬ガソリンを赤に着色するため、Solvent Red 26(シグマアルドリッチ)を2.5, 25, もしくは250ppm添加し、合計6種類の赤色模擬ガソリンを調製した。同様に、Solvent Blue 35(シグマアルドリッチ)を用いて合計6種類の青色模擬ガソリンを調製した。模擬E10ガソリンの外観を図1に示す。着色料の実用レベル濃度は

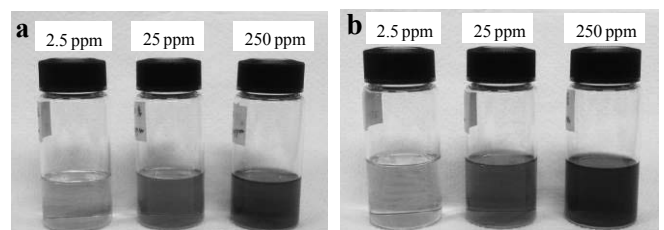


図1. 模擬E10ガソリンの外観  
a及びbはそれぞれ赤色及び青色模擬ガソリンを示す。  
図中の数値は着色料の濃度を示す。

事業名 平成23年度 科学技術振興機構 A-STEP 探索ステージ  
\*<sup>1)</sup> バイオ応用技術グループ

表 1. 着色模擬ガソリン及びバックグラウンド試料の LSC 計測結果

模擬ガソリン				LSC 計測データ						
試料名	ベース	着色料		サンプル					バックグラウンド	
		色	濃度 (ppm)	計数率 (cpm)	tSIE	正味 計数率 (cpm)	計数効率		計数率 (cpm)	tSIE
							外部標準法 (%)	実測値 (%)		
R-E10-2.5	E10	赤	2.5	6.64	377	3.15	77.9	77.6	3.49	407
R-E10-25		赤	25	5.88	145	2.48	48.0	61.1	3.40	138
R-E10-250		赤	250	2.13	0	-0.18	9.0	N.D.	2.31	0
R-E25-2.5	E25	赤	2.5	11.2	264	7.69	74.5	75.8	3.49	407
R-E25-25		赤	25	8.55	95	5.15	12.2	50.7	3.40	138
R-E25-250		赤	250	2.22	0	-0.09	9.0	N.D.	2.31	0
B-E10-2.5	E10	青	2.5	6.88	362	3.32	80.7	81.8	3.56	472
B-E10-25		青	25	6.66	341	3.39	79.3	83.5	3.27	438
B-E10-250		青	250	6.26	189	3.00	65.6	73.9	3.26	230
B-E25-2.5	E25	青	2.5	11.5	316	7.97	78.0	78.5	3.56	472
B-E25-25		青	25	11.1	287	7.85	76.2	77.3	3.27	438
B-E25-250		青	250	10.5	150	7.22	58.6	71.1	3.26	230

図 1 に示す赤色模擬ガソリンの 2.5 から 25 ppm の間に相当する濃さである。

**2. 2 バックグラウンド試料及びバイオエタノール標準試料の調製** バイオエタノールを含まない無着色、赤色、及び青色模擬ガソリンを調製し、バックグラウンド試料とした。着色料を含まない模擬 E10, E15, 及び E25 ガソリンを調製し、バイオエタノール標準試料とした。

**2. 3 吸収スペクトルの計測** 分光光度計 (UV-3100S; 島津製作所製) を用いて、模擬ガソリンの波長 300~700 nm の間の紫外 - 可視 (UV-VIS) 吸収スペクトルを測定した。

**2. 4 LSC 計測** 試料を LSC 計数バイアルに 5 g 加え、総容量が約 15 mL になるように液体シンチレータ (Scintisol AL-1, 同仁化学研究所) を加えて良く混合した。LSC 装置 (Tri-Carb 3180 TR/SL; パーキンエルマー社製) を用いて、 $^{14}\text{C}$  normal counting mode でバイアル中の  $^{14}\text{C}$  量を計測した。各試料を 500 min 計測し、計数率 (counts per minute; cpm) を得た。

### 2. 5 計数効率の測定

(1) 外部標準法による計数効率の測定 本装置にはクエンチング補正のための外部標準線源として  $^{133}\text{Ba}$  ガンマ線源が内蔵され、外部標準法として tSIE(transformed spectral index of external standard)法を用いて計数効率が求められた。外部標準法とは、クエンチングの無い試料にガンマ線を照射して得られるコンプトン電子のエネルギースペクトルを対照として、未知試料から得られるスペクトルの減衰から未知試料のクエンチングを見積もる方法である。エネルギースペクトルの強度は tSIE 法によるフィッティングにより数値化される。クエンチングがゼロの場合の tSIE 値が 1000 となり、クエンチングが強くなるにつれて小さくなる。tSIE 値から未知試料の計数効率を求めるため、壊変率が既知で化

学クエンチングの程度が異なる標準試料から得た計数効率と tSIE 値の関係式 (クエンチカーブ) が作成される。

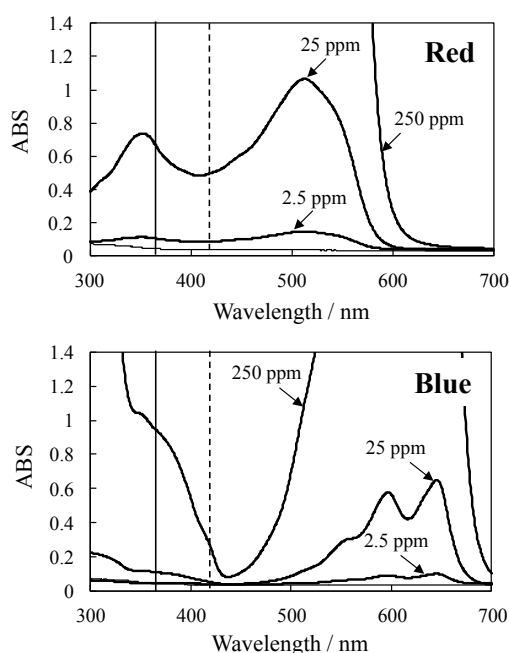


図 2. 模擬 E10 ガソリンの UV-VIS 吸収スペクトル  
図中の数値は着色料の濃度を示す。図中の実線と破線は、それぞれ蛍光物質 DPO と POPOP の蛍光発光の  $\lambda_{\text{max}}$  を示す。

(2) 計数効率の実測 計数効率を実測するにあたり、バイオエタノールの壊変率を求めた。無着色バイオエタノール標準試料の計数率から無着色バックグラウンド試料の計数率を差し引いて得られた正味計数率を、外部標準法から得られた計数効率で除し、バイオエタノール 1 g あたりの壊変率 (disintegration per minute (dpm)/g) を算出した<sup>\*</sup>。

模擬ガソリンに含まれるバイオエタノールの量にバイオ壊変率 (dpm/g) を乗じ、模擬ガソリンの壊変率を算出した。模擬ガソリンの正味計数率を壊変率で除し、計数効率を得た。これを「計数効率実測値」と呼ぶ。試料の着色による計数率の減少を実測して真の計数効率を近似している点で、外部標準法から得られる計数効率とは本質的に異なる。

※ 外部標準法の利用が混在しているが、無着色バイオエタノール標準試料におけるクエンチングは外部標準法により正確に補正されるので実測値として差支えない。

## 2.6 LSC 計測によるバイオエタノール濃度の定量

バイオエタノール標準試料の壊変率 (導出方法は2.5を参照) とバイアル中のバイオエタノール量 (g/vial) のプロットから得られた直線をバイオエタノール検量線とした。模擬ガソリンの計数率から同じ色のバックグラウンド試料の計数率を差し引いて正味計数率を求め、これを計数効率で除して模擬ガソリンの壊変率を求めた。模擬ガソリンの壊変率をバイオエタノール検量線に当てはめて模擬ガソリンのバイオエタノール濃度を算出した。

## 3. 結果と考察

### 3.1 模擬ガソリンの光吸収性

LSCの検出器として用いられる光電子増倍管の光電面は、400 nm 付近の入射光に対して最大の感度特性を持つ。このため、液体シンチレータには  $\lambda_{\max}$  が 340~440 nm の蛍光物質が利用されている。我々は、ガソリンの着色料として用いられる赤もしくは橙が波長 400~500 nm 付近の光を吸収する一方、青や緑の吸収波長が 500 nm を超えるという事実に着目した。そこで本研究では、両者の代表例として赤色及び青色模擬ガソリンを調製した。

模擬 E10 ガソリンの UV-VIS スペクトルを図2に示す。赤色模擬 E10 ガソリンは波長 300~600 nm に渡るブロードなスペクトルを示した。一方、青色模擬 E10 ガソリンのスペクトルには、波長 440 nm 前後にほとんど光吸収を示さない window が存在した。本研究で用いた液体シンチレータ AL-1 には、蛍光物質として 2,5-Diphenyloxazole (DPO) 及び 1,4-Bis-2-(5-phenyloxazolyl)benzene (POPOP) が含有されている。DPO 及び POPOP の蛍光の  $\lambda_{\max}$  はそれぞれ 364 nm 及び 418 nm である (図2)。青色模擬ガソリン試料において生じた蛍光が赤色模擬ガソリン試料よりも吸収されにくい可能性が光吸収スペクトルから示唆された。

### 3.2 LSC 計数効率への着色料の影響

表1に模擬ガソリンの LSC 計測結果を示す。着色料の濃度が増加するとともに計数効率は減少した。外部標準法による計数効率は、tSIE 値の減少を反映して低下した。計数効率実測値も同様に低下した。計数効率の低下は青色よりも赤色で顕著であった。なお、計数効率実測値を求めるにあたり、模擬ガソリンとバックグラウンド試料の tSIE 値は完全には一致しなかったが、それぞれの計数率の差し引きにより正味計数率が算出されると判断した。

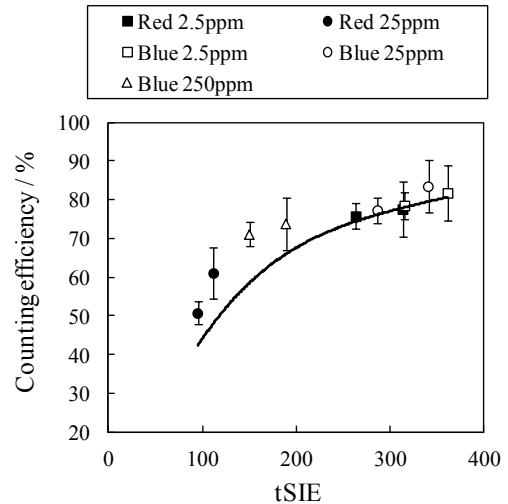


図3. 模擬ガソリンの計数効率と tSIE 値の関係  
図中のプロットは計数効率実測値を、実線は外部標準法のクエンチカーブを示す。誤差は $\pm 2\sigma$ 。

バイオエタノール濃度の計測に用いられる LSC データは壊変率であり、壊変率は正味計数率と計数効率から計算される。すなわち、バイオエタノール濃度が正しく求められない原因は2つ考えられる：

- 1)  $^{14}\text{C}$  の絶対量が不足し、計数誤差が大きくなる
- 2) tSIE から求めた計数効率が真の計数効率と合致せず、壊変率が誤って求められる

無着色の E10 及び E25 ガソリンの計数誤差 ( $\pm 2\sigma$ ) は計数率値に対して十分に小さく、避けられないバイオエタノール濃度の計測誤差は、バイオエタノール濃度 10% 及び 25% においてそれぞれ 0.85% 及び 1.1% ( $\pm 2\sigma$ ) であった。すなわち、本実験においてバイオエタノール濃度が正しく求められない主因は 1) ではないと考えられた。そこで、原因 2) を検証するために次の解析を行った。

図3に、N.D. (tSIE 値がゼロ) となった2試料 (R-E10-250 及び R-E25-250) を除く模擬ガソリン 10 試料の計数効率実測値を tSIE 値に対してプロットした。青色模擬ガソリンの計数効率実測値のプロットは、着色料濃度が 250ppm の2試料を除き、全てクエンチカーブと一致した (図3)。少なくとも着色料濃度 25ppm までは、青色着色料による色クエンチングが外部標準法で正しく補正されたことを示している。濃度 25ppm は図1に示す通り、識別目的としては十分に実用レベルである。一方、赤色模擬ガソリンの計数効率実測値のプロットは、着色剤濃度 25ppm においてクエンチカーブと一致しなかった (図3)。もはや濃度 25ppm では、赤色着色料による色クエンチングが外部標準法で正しく補正されなかったことを示している。濃度 2.5ppm では色クエンチングが正しく補正されたが、濃度 2.5ppm で色の濃さでは識別目的として実用的とは言えない (図1)。

計数効率が 75% 以上では赤も青も計数効率実測値がクエンチカーブと一致した。一方、計数効率が 75% を下回ると計数効率実測値がクエンチカーブから有意に乖離した (図3)。着色料による色クエンチングを外部標準法で正しく補

正するためには、色によらず少なくとも計数効率が 75%以上必要であると推定された。

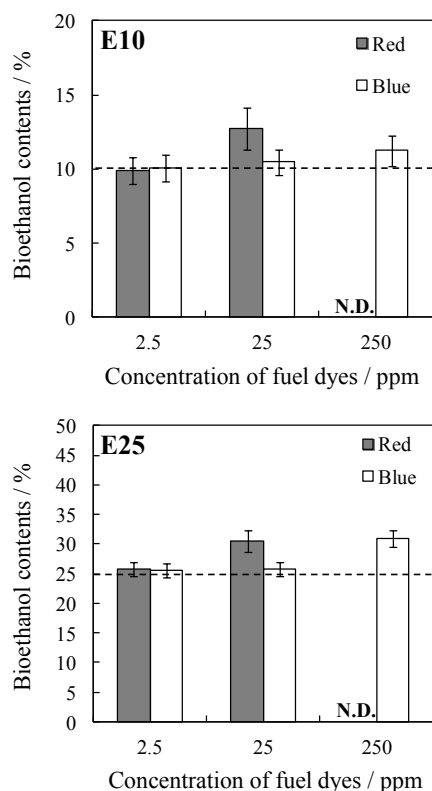


図 4. 模擬ガソリン中のバイオエタノール濃度の計測結果  
図中の破線はバイオエタノール濃度の理論値を示す。誤差 $\pm 2\sigma$ 。

### 3. 3 バイオエタノール計測値に及ぼす着色料の影響

外部標準法による計数効率及び正味計数率から壊変率を算出し、実際にバイオエタノール濃度を求めた結果を図 4 に示す。バイオエタノール濃度の計測誤差は、図 3 における計数効率実測値とクエンチカーブとの乖離を反映する。青色模擬ガソリンでは、最も高濃度 (250 ppm) に着色料が添加された模擬ガソリンを除き、バイオエタノール濃度が正しく求められた (図 4)。一方、赤色模擬ガソリンでは着色料濃度に依存してバイオエタノール計測値と理論値の差が拡大した。着色料濃度 2.5 ppm ではバイオエタノール濃度が正しく求められたが、実用レベルの 25 ppm になると計測値と理論値の差が計数誤差 ( $\pm 2\sigma$ ) を超えた。250 ppm に達すると、計数値がほとんど得られず、実測計数率がバックグラウンド計数率を下まわった (図 4 の N.D.)。以上の結果から、青色着色料を用いると、着色剤の実用レベル濃度においても模擬ガソリンのバイオエタノール濃度が正しく求められることが実証された。赤色の場合は、実用レベル濃度で計数誤差を超える ( $\pm 2\sigma$ ) 誤差が生じた。

## 4. 結論

着色ガソリンを直接 LSC で計測してバイオエタノール濃度を定量するにあたり、実用的な視認判別のための着色料濃度においては、現在国内で用いられている赤色よりも青色の方が計測を妨害しにくいことを実証した。バイオエタ

ノール混合ガソリンの色を赤から青に変えることで、色による一般ガソリンとの区別と LSC によるガソリンのバイオエタノール検知が同時に達成できる。

### 用語説明

- ・ LSC：液体試料に含まれるベータ線放出核種 ( $^3\text{H}$ 及び  $^{14}\text{C}$  等) を計測する手法。  $^{14}\text{C}$  から放出されたベータ線の運動エネルギーが液体シンチレータの溶媒を励起させ、励起エネルギーが蛍光物質に移行して蛍光パルスが生じる。光電子増倍管で計数される蛍光パルス数とベータ線量と  $^{14}\text{C}$  数がそれぞれ比例関係にあるので、蛍光パルス数から  $^{14}\text{C}$  数を求めることができる。
- ・ 壊変率：試料に含まれるベータ線放出核種 (本報告では  $^{14}\text{C}$ ) が単位時間あたりにベータ崩壊する数。
- ・ 計数率：試料に生じた壊変のうち、実際に計測される単位時間あたりの数。
- ・ 正味計数率：試料由来の計数率。計数率から試料由来ではない計数率 (バックグラウンド計数率) を差し引いて得られる。
- ・ 計数効率：[正味計数率] ÷ [壊変率] × 100 で与えられる。  $^{14}\text{C}$  の壊変が計測される割合。
- ・ クエンチング：計数効率が低下する現象。特に、生じた蛍光が試料の着色によって吸収される現象を ‘色クエンチング’ と呼ぶ。

### 謝辞

本研究は独立行政法人科学技術振興機構 A-STEP 探索ステージ (課題番号: AS231Z04741) の支援を受けて実施された。本研究の着想を与えて下さった野川憲夫氏 (東京大学)、LSC のクエンチング現象について助言を下された高田茂氏 (平成 23 年度まで都産技研職員) に感謝を申し上げる。

(平成 24 年 5 月 18 日受付, 平成 24 年 8 月 10 日再受付)

## 文 献

- (1) Balat M and Balat H: "Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel.", *Appl Energ*, Vol.86, No.11 pp.2273-2282 (2009).
- (2) Dijks IJ, van der Windt E, Kaihola L, and van der Borg K: "Quantitative determination by  $^{14}\text{C}$  analysis of the biological component in fuels.", *Radiocarbon*, Vol.48, No.3 pp.315-323 (2006).
- (3) Kim SS, Kim J, Shin SC, and Agblevor FA: "Distinction between biethanol and synthetic ethanol in a mixture of gasoline using low level liquid scintillation counting.", *Chem Lett*, Vol.38, No.8 pp.850-851 (2009).
- (4) Yunoki S and Saito M: "A simple method to determine bioethanol content in gasoline using two-step extraction and liquid scintillation counting", *Bioresource Technology*, Vol.100, No.23, pp.6125-6128 (2009).
- (5) Saito M and Nakamura M: "Easy C-14 measurement of bio-gasoline E3 by extraction with water.", *RADIOISOTOPES*, Vol.56, No.7 pp.383-385 (2007).
- (6) Saito M and Nakamura M: "Easy C-14 measurement of bio-gasoline E3 by double-extraction with water.", *RADIOISOTOPES*, Vol.56, No.9 pp.529-531 (2007).