

年間特集「空」：ノート

## インライン還元-蛍光検出 HPLC を用いる多環芳香族炭化水素 キノン分析法の改良と大気粒子抽出物への適用

亀田 貴之<sup>®1</sup>, 片山 裕規<sup>2</sup>, 後藤 知子<sup>2</sup>, 鳥羽 陽<sup>2</sup>, 唐 寧<sup>2</sup>, 早川 和一<sup>2</sup>

### 1 緒 言

多環芳香族炭化水素 (polycyclic aromatic hydrocarbon; PAH) の酸化体である PAH キノン (PAHQ) 類は、ディーゼル排気中や大気中粒子状物質から検出されており<sup>1)</sup>、私たちは呼吸によりこれらを生体内に取り込んでいる危険性が高い。PAHQ は生体内での活性酸素種生成能を有し、細胞内で酸化ストレスを誘導することが知られているほか、呼吸器・循環器系疾患やアレルギー性疾患に対して増悪作用を示すことが報告されている<sup>2)3)</sup>。PAHQ の中には粒子径 2 μm 以下の微粒子中に存在するものも確認されており<sup>4)</sup>、これらは肺胞への到達率が高ことから人体への健康影響が一層懸念される。しかし、実大気粒子抽出物中の PAHQ を分析した例は PAH の分析例に比べて極めて少ない。その理由の一つとして、簡便かつ高感度な PAHQ の測定法が確立されていなかったことが挙げられる。

例えば高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析における紫外吸光度 (UV) 検出法は、感度が低く選択性も低いため、環境試料中の PAHQ 測定に適した方法とは言えない。また、キノン化合物自身がほとんど蛍光性を示さないため、蛍光検出や化学発光検出を直接適用することはできない。そのため、あらかじめ誘導体化を行う方法がいくつか報告されている。例えばベンズアルデヒドと酢酸アンモニウムを用いて PAHQ を蛍光物質に変換したのち、蛍光検出する方法<sup>5)</sup>や、PAHQ に紫外光を照射することで、蛍光物質であるジドロキシフタル酸と過酸化水素を生成することを利用した化学発光検出法<sup>6)</sup>である。これらの方法は高い感度を有するが、誘導体化処理過程が複雑でルーチン分析に向かないことや、誘導体化反応の選択性により一部の化合物にしか適用できない等の問題点が挙げられる。誘導体化の不要な HPLC 分析法としては、イオン化法に大気圧化学イオン化 (APCI) 法を用いた液体クロマトグラフィー

-タンデム質量分析 (LC-MS/MS) 法<sup>7)</sup>が報告されている。この方法は、PAHQ の検出限界 ( $S/N = 3$ ) が 2~80 fmol/injection と高感度だが、装置そのものが非常に高価であるという欠点がある。ガスクロマトグラフィー (GC) により分析する場合は、気化し難い PAHQ をジアセチル誘導体化のち MS で検出するという方法<sup>1)</sup>が報告されているが、検出限界が数 pmol/injection 程度と感度は高くない。

著者らは、環境試料中の PAHQ を高感度に分析する方法として、インラインでキノン化合物を還元したのち蛍光検出する二次元 HPLC システムを開発し、大気粒子抽出物中 benz[*a*]anthracene-7,12-dione (7,12-BAQ) の分析に適用した<sup>8)</sup>。この方法は簡易な前処理のみで実環境試料中の 7,12-BAQ を分析可能であったが、夾雑物質の除去効果に限界があり、複数種の PAHQ を同時定量することが困難であった。そこで対象化合物の拡大を目的にこの方法に改良を加え、これまで大気粒子抽出物からの検出例がほとんどない 3 種の PAHQ [fluoranthene-2,3-dione (2,3-FIQ), pyrene-1,6-dione (1,6-PyQ), pyrene-1,8-dione (1,8-PyQ)] の分析に適用したので報告する。

### 2 実 験

#### 2.1 試 薬

1,6-PyQ, 1,8-PyQ は関東化学製を使用した。2,3-FIQ は NCI Chemical Carcinogen Repository 製を使用した。7,12-BAQ は Chiron AS 製を使用した。Chrysene-5,6-dione 重水素化体 (5,6-CQ-*d*<sub>10</sub>) は、既法<sup>9)</sup>に従い合成した。溶媒及びその他の試薬は、和光純薬工業製の HPLC グレードあるいは残留農薬試験用を使用した。

#### 2.2 インライン還元-蛍光検出 HPLC システム

HPLC システムの概略を Fig. 1 に示す。システムは 3 台の送液ポンプ (日立製作所製 L-6000, L-6200 及び島津製作所製 LC-10AD), 6 方スイッチングバルブ (日本分光製 892-01), クリーンアップカラム (ナカライテスク製 COSMOSIL 2.5πNAP, 内径 2.0 × 50 mm, 粒径 2.5 μm), 分離カラム (ナカライテスク製 COSMOSIL Cholester, 内径 2.0 × 250 mm, 粒径 5 μm), トラップカラム (GL サイエンス製

<sup>®</sup> E-mail: tkameda@energy.kyoto-u.ac.jp

<sup>1</sup> 京都大学大学院エネルギー科学研究科エネルギー社会・環境科学専攻: 606-8501 京都府京都市左京区吉田本町

<sup>2</sup> 金沢大学医薬保健研究域・薬学系: 920-1192 石川県金沢市角間町

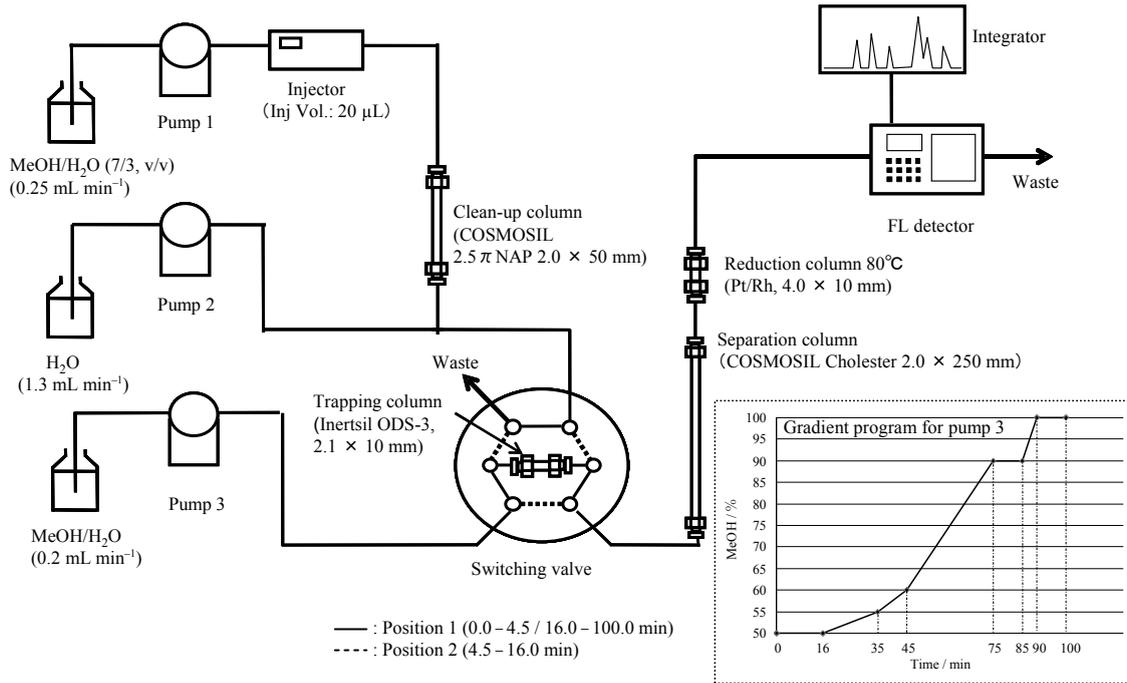


Fig. 1 Schematic diagram of the proposed HPLC system for the determination of PAHQs

Inertsil ODS-3, 内径  $2.1 \times 10$  mm, 粒径  $5 \mu\text{m}$ ), 還元カラム (日本分光製 NPpak-RS, 内径  $4.0 \times 10$  mm, アルミナ担持 Pt/Rh), 及び蛍光検出器 (Waters 製 2475) で構成した。クリーンアップカラムの効果によって, システムに注入されたサンプル中の, 分析対象化合物を含むフラクションのみが, 選択的にトラップカラムへトラップされる。トラップされた分析対象化合物は, バックフラッシュにより分離カラムへ導入され, 分離後に還元カラムで還元体へと変換され蛍光検出される。トラップ時間の決定は, クリーンアップカラム出口を UV 検出器 (島津製作所製 SPD-10AV) につなぎ, クリーンアップカラムからの PAHQ 溶出時間を確認することにより行った。クリーンアップカラムを通る移動相の組成はメタノール/水 = 7/3 (v/v) とし, 分離カラムを通る移動相組成は Fig. 1 に示すグラジエントプログラムに従い, メタノールと水の割合を変化させた。還元カラム温度は  $80^\circ\text{C}$  とし, その他のカラム温度は  $40^\circ\text{C}$  とした。その他条件の詳細については, Fig. 1 に示すとおりとした。

### 2.3 実大気粒子の捕集

大気粒子は, 京都大学医学部構内 (京都市左京区) の 5 階建ビル屋上で, ハイボリュームエアサンプラー (柴田科学製 HV-1000R) を用いて石英繊維フィルター (Advantec 製 QR-100) 上に捕集した。石英繊維フィルターは,  $600^\circ\text{C}$  で 6 時間以上加熱処理した後に使用した。捕集時の空気吸引流量は  $900 \text{ L min}^{-1}$  とし, フィルター 1 枚につき 12 時間

の粒子捕集を行った。2012 年 2 月～5 月に得られた計 15 試料を分析に供した。粒子捕集後のフィルターは前処理に供するまで  $-20^\circ\text{C}$  の冷凍庫内で保存した。

### 2.4 実大気粒子試料からの可溶性有機画分の抽出

大気粒子からの PAHQ 回収率及び還元カラムにおける PAHQ 還元効率を補正するため, 内部標準物質として 5,6-CQ-*d*<sub>10</sub> を  $10 \text{ nmol/sample}$  となるようにフィルターに添加した。なお, 同位体標識されていない PAHQ は環境サンプル中の存在が否定できないこと, 本分析法においては非標識の 5,6-CQ と 5,6-CQ-*d*<sub>10</sub> の溶出時間に差が確認できたことから, 内部標準物質として 5,6-CQ-*d*<sub>10</sub> を採用した。その後フィルターを細切し, ジクロロメタンで 20 分間超音波抽出を行った。抽出液を定性濾紙で濾過し, ロータリーエバポレータで約  $5 \text{ mL}$  まで減容したのち, 孔径  $0.45 \mu\text{m}$  のメンブランフィルターにて再び濾過した。濾液にジメチルスルホキシド  $100 \mu\text{L}$  を添加した後, ジクロロメタンを窒素気流下で留去し, メタノール  $400 \mu\text{L}$  を加え約  $500 \mu\text{L}$  の最終溶液とし, HPLC 分析に供した。

## 3 結果と考察

### 3.1 還元体の励起・蛍光波長の決定

本法によって生じる PAHQ の還元体としては, 二つのケトン基がともに水酸基に還元されたジオール体を既報にて提案した<sup>8)</sup>。PAHQ 還元体の最適励起・蛍光波長を決定するため, 還元カラムから溶出する PAHQ 還元体を蛍光検出

Table 1 Optimum excitation and emission wavelengths of the reduction products of PAHQs tested in this study

Compound	Excitation/nm	Emission/nm
1,6-PyQ	350	405
1,8-PyQ	350	405
2,3-FIQ	285	505
7,12-BAQ	285	470
5,6-CQ- <i>d</i> <sub>10</sub>	270	435

Compound abbreviations: see text.

器に導入し、励起波長を固定して蛍光波長を、また蛍光波長を固定して励起波長をそれぞれスキャンした。得られたスペクトルから、最適励起波長及び最適蛍光波長を Table 1 のとおり決定した。

### 3.2 還元条件の最適化

触媒作用を持つ還元カラムと PAHQ との接触時間により、還元効率は変化するものと考えられる。そこで、温度一定下 (80 °C) で 7,12-BAQ を還元カラムのみに通過させ、その際の移動相流量を、0.1~0.7 mL min<sup>-1</sup> の間で 5 段階に変化させて、最も高い還元効率が得られる移動相流量を調べた。移動相組成はメタノール/水 = 8/2 (v/v) とした。得られた流量と 7,12-BAQ ピーク面積との関係を Fig. 2 に示す。流量が遅くなるにつれてピーク面積が増していくことから、分析対象化合物と触媒との接触時間が長くなるとともに、還元効率が向上したと考えられる。Fig. 2 より、還元カラムを通過する移動相の流量は、最も高い還元効率が得られ、なお且つ本法で用いる分離カラムに適した線速度が得られる 0.2 mL min<sup>-1</sup> とした。

### 3.3 カラム及び移動相条件の検討

既報<sup>8)</sup>の分析システムでは、クリーンアップカラム・分離カラムともに C18 型の逆相カラムを採用していたため、疎水性が PAHQ と近い夾雑物質の分離が困難であった。そのため本分析システムでは、クリーンアップカラムとして、ナフチルエチル基をシリカゲルに化学結合した逆相系カラムを採用した。本カラムにより、疎水性相互作用に加え、固定相と対象化合物間の  $\pi$ - $\pi$  相互作用による分離の効果が期待できる<sup>10)</sup>。また分離カラムについても、一般的な C18 型カラムから、コレステリル基をシリカゲルに化学結合した逆相系カラム<sup>11)</sup>への変更を試みた。

カラムを変更した HPLC システムを用いて、実大気粒子抽出物中の 7,12-BAQ を含む 4 種の PAHQ (7,12-BAQ, 2,3-FIQ, 1,6-PyQ, 1,8-PyQ) を分析した。分離カラムを通る移動相について、組成一定の条件下にて実大気サンプルの分析を試みたところ、夾雑物質の影響によって 7,12-BAQ

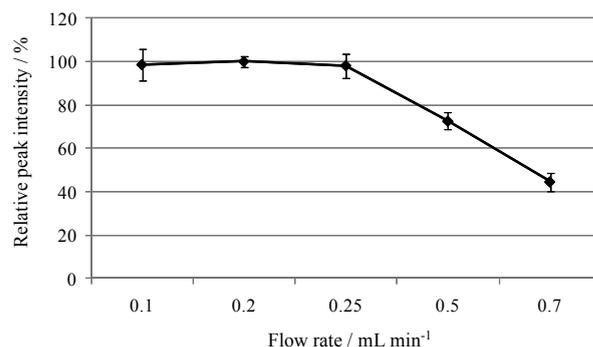


Fig. 2 Plot of the peak area of the reduction product of 7,12-BAQ versus flow rate of the mobile phase. Error bars represent one standard deviation ( $n = 3$ ).

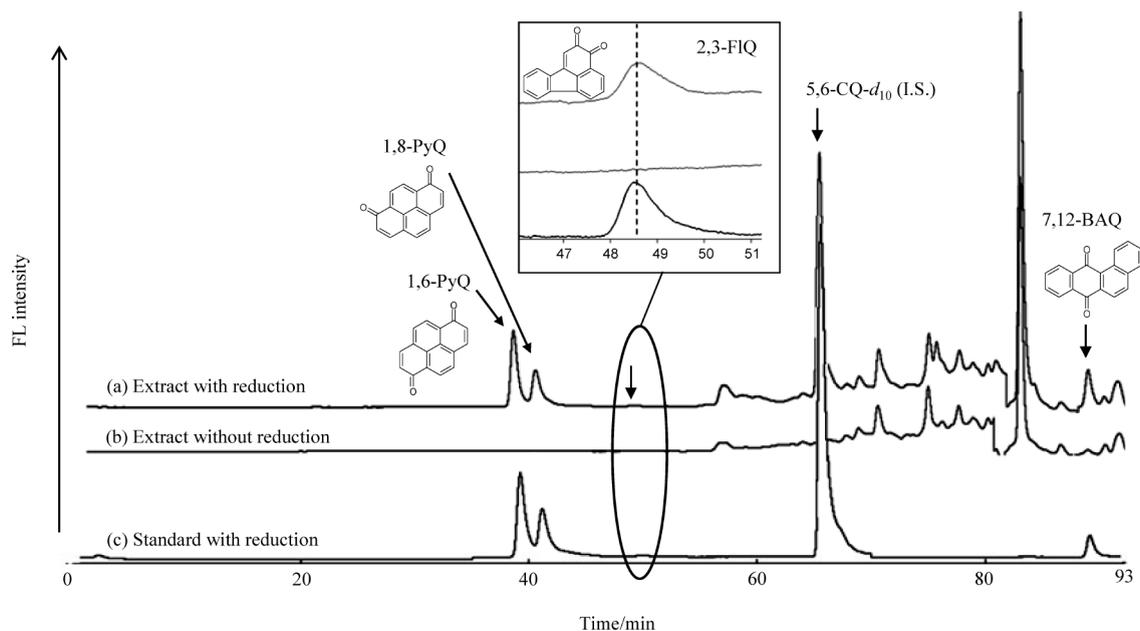
以外の PAHQ を分離・定量することができなかった。そこで、Fig. 1 に示すグラジエントプログラムにしたがって移動相組成を変化させ、PAHQ と夾雑物質との分離を行った。実大気試料を分析して得られたクロマトグラムを、Fig. 3 に示す。還元カラムを通さずに同じ試料を分析した結果、対象化合物に該当するピークが消失したことから (Fig. 3b)、これらのピークが PAHQ の還元体由来のものであったと判断した。

### 3.4 応答直線性、分析の精確さ及び検出限界

1,6-PyQ, 1,8-PyQ, 2,3-FIQ, 7,12-BAQ のそれぞれについて、0.1~5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  の濃度範囲で 5 段階の濃度の標準溶液を調製し、内部標準物質に対するピーク面積比 ( $n = 3$ ) から検量線を作成したところ、すべての PAHQ について良好な直線関係が得られた ( $R^2 \geq 0.9992$ )。分析の精確さについては、実大気試料を前処理した後のサンプル溶液に、所定の濃度となるよう各 PAHQ を添加し、測定を行うことにより評価した (Table 2)。測定値の日内及び日間におけるばらつきは相対標準偏差 (RSD) で 1.6~14.5 %、真度は 91~107 % の範囲であり、本分析法の精確さについて良好な結果が得られた。検出限界 ( $S/N = 3$ ) は、1,6-PyQ, 1,8-PyQ, 2,3-FIQ, 7,12-BAQ についてそれぞれ 19, 37, 2000, 及び 72 fmol/injection であった。本法による検出限界値は、電気化学検出 HPLC 法<sup>12)</sup>やジアセチル誘導体化/GC-MS 法<sup>1)</sup>で得られる値よりも 1~2 桁低く、*O*-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)-hydroxylamine 誘導体化/LC-APCI-MS 法<sup>13)</sup>で得られる値と同程度であった。

### 3.5 実大気粒子抽出物中 PAHQ 分析への適用

大気粒子からの PAHQ の抽出効率については、既報<sup>8)</sup>と同様の方法で検証した。すなわち、二等分割した大気捕集済みのフィルターの一方にのみ既知量の PAHQ を添加後、2.4 に示した抽出操作を行って、抽出物中の PAHQ を定量



**Fig. 3** Typical chromatograms from the HPLC-FL detection system for the soluble organic fraction (SOF) of airborne particles with in-line reduction (a), SOF of airborne particles without in-line reduction (b), and standard solution of PAHQs with in-line reduction (c)

PAHQs were reduced into the corresponding dihydroxy compounds in the HPLC system, and then detected by the FL detector. In the case without reduction, the peaks of the dihydroxy compounds were diminished in the chromatogram (see text for the detail). The concentrations of PAHQs in the authentic standard were  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  with  $20 \mu\text{mol L}^{-1}$  of 5,6-CQ- $d_{10}$  as an internal standard (I.S.). Injection volume:  $20 \mu\text{L}$ .

**Table 2** Accuracy (precision<sup>a)</sup> and trueness<sup>b)</sup> in the determination of PAHQs in soluble organic fraction of airborne particles

		Within-day ( $n = 4$ )			Between-day ( $n = 5$ )		
1,6-PyQ	Added amounts/nmol L <sup>-1</sup>	0	500	2000	0	500	2000
	Found $\pm$ SD/nmol L <sup>-1</sup>	$3 \pm 0$	$497 \pm 15$	$2070 \pm 34$	$3 \pm 0$	$485 \pm 23$	$2020 \pm 99$
	RSD/%	11.6	3.0	1.6	14.5	4.8	4.9
	Trueness/%	—	98	103	—	96	101
1,8-PyQ	Added amounts/nmol L <sup>-1</sup>	0	500	2000	0	500	2000
	Found $\pm$ SD/nmol L <sup>-1</sup>	$3 \pm 0$	$527 \pm 14$	$2040 \pm 41$	$4 \pm 0$	$512 \pm 17$	$2073 \pm 46$
	RSD/%	10.4	2.6	2.0	9.6	3.3	2.2
	Trueness/%	—	104	101	—	101	103
2,3-FIQ	Added amounts/nmol L <sup>-1</sup>	0	500	2000	0	500	2000
	Found $\pm$ SD/nmol L <sup>-1</sup>	ND	$490 \pm 30$	$2050 \pm 70$	ND	$520 \pm 30$	$2140 \pm 230$
	RSD/%	—	5.4	3.3	—	6.0	10.6
	Trueness/%	—	97	102	—	104	107
7,12-BAQ	Added amounts/nmol L <sup>-1</sup>	0	500	2000	0	500	2000
	Found $\pm$ SD/nmol L <sup>-1</sup>	$21 \pm 2$	$487 \pm 36$	$1908 \pm 35$	$26 \pm 2$	$483 \pm 20$	$1982 \pm 58$
	RSD/%	10.2	7.5	1.8	7.7	4.2	2.9
	Trueness/%	—	93	94	—	91	97

Compound abbreviations: see text. ND, not detectable. a) Expressed as the relative standard deviation (RSD, %). b) Expressed as  $[(C_f - C_n)/C_a] \times 100$ .  $C_f$ , found concentration of the spiked sample solution;  $C_n$ , found concentration of the non-spiked sample solution;  $C_a$ , added concentration.

Table 3 Concentrations of PAHQs in total suspended airborne particles collected in Kyoto during February and May, 2012 ( $n = 15$ )

	Mean	Max	Min	SD <sup>a)</sup>
1,6-PyQ	0.17	0.27	0.07	0.06
1,8-PyQ	0.17	0.28	0.07	0.07
2,3-FIQ	< 0.12 <sup>b)</sup>	0.21	ND	NA
7,12-BAQ	0.34	0.83	0.10	0.20

Compound abbreviations: see text. Given in units of  $\text{pmol m}^{-3}$ . ND, not detectable; NA, not available. a) Standard deviation. b) Calculated using 0.1 of the minimum detectable values as concentrations lower than the detection limit.

し、添加量と比較することで回収率を求めた。なお、PAHQ未添加のフィルターについても同様に抽出操作・分析を行い、得られた値を用いて上記の回収率を補正した。得られた PAHQ 抽出効率（絶対回収率）は内部標準物質を含めいずれも 90 % 前後であり、内部標準で補正した回収率は 90 ~ 96 % と良好な値を示した。

京都市内で捕集した大気粒子からの抽出物中 PAHQ を、本法により分析した。本研究における粒子捕集中には PAHQ の分解や二次生成は起こらなかったものと仮定し、抽出物中濃度を大気中濃度に換算した (Table 3)。観測期間中の PAHQ 平均濃度はそれぞれ、0.34  $\text{pmol m}^{-3}$  (7,12-BAQ)、0.17  $\text{pmol m}^{-3}$  (1,6-PyQ)、0.17  $\text{pmol m}^{-3}$  (1,8-PyQ)、< 0.12  $\text{pmol m}^{-3}$  (2,3-FIQ) であった。2,3-FIQ は、分析を行った 15 サンプル中 3 サンプルでしか検出されなかったため、検出限界値に基づいて平均濃度の上限値を算出した。Fig. 3 に示したとおり、7,12-BAQ には近接するピークによるわずかな妨害が認められ、実試料中の検出限界値は S/N から求めた値 (72 fmol/injection) よりも高くなる可能性がある。しかし、本報にて分析した試料中の 7,12-BAQ 濃度は、S/N から求めた検出限界に基づく濃度の 30 ~ 200 倍と高かったため、定量には影響しないと判断した。得られた 7,12-BAQ の濃度は、既報<sup>8)</sup>にて著者らが報告した大阪における濃度 (0.34  $\text{pmol m}^{-3}$ ) と同程度であり、過去にドイツ<sup>14)</sup>やフランス<sup>15)</sup>で測定された結果 (それぞれ 0.16  $\text{pmol m}^{-3}$  及び 0.47  $\text{pmol m}^{-3}$ ) とも近かった。また、1,6-PyQ、1,8-PyQ、2,3-FIQ の濃度は、7,12-BAQ の濃度に比べやや低いことが見てとれた。本法により、国内都市大気中の 1,6-PyQ、1,8-PyQ、2,3-FIQ 濃度レベルを、既知の 7,12-BAQ 濃度レベルと比較することができた。

#### 4 結 言

簡便で高感度な PAHQ 分析法であるインライン還元-蛍光検出二次元 HPLC システムを改良し、環境大気粒子抽出物中の PAHQ 分析に適用した。本法により、実大気粒子抽

出物に含まれる 4 種類の PAHQ を同時に定量することに成功し、それらの国内都市大気中濃度レベルを相互に比較することができた。本法では煩雑な前処理を行うことなく、実大気濃度レベルの PAHQ を測定することができるため、環境試料のルーチン分析などへの適用が見込まれる。粒子捕集中のアーティファクト (PAHQ の分解や二次生成) の検証と、測定対象物質の更なる拡大が今後の課題である。

#### 謝 辞

本研究で用いた実大気粒子試料は、環境省環境研究総合推進費課題「戸外活動時間を考慮に入れた、土壌性ダスト (黄砂) による呼吸器/アレルギー疾患リスクの定量的評価 (C-1152, 研究代表者: 中山健夫)」の一環において捕集されたものである。ご協力戴いた京都大学大学院医学研究科の金谷久美子氏に謝意を表す。

#### 文 献

- 1) A. K. Cho, E. Di Stefano, Y. You, C. E. Rodriguez, D. A. Schmitz, Y. Kumagai, A. H. Miguel, A. Eiguren-Fernandez, T. Kobayashi, E. Avol, J. R. Froines: *Aerosol Sci. Technol.*, **38**, 68 (2004).
- 2) Y. Kumagai, S. Koide, K. Taguchi, A. Endo, Y. Nakai, T. Yoshikawa, N. Shimojo: *Chem. Res. Toxicol.*, **15**, 483 (2002).
- 3) J. L. Bolton, M. A. Trush, T. M. Penning, G. Dryhurst, T. J. Monks: *Chem. Res. Toxicol.*, **13**, 135 (2000).
- 4) J. O. Allen, N. M. Dookeran, K. Taghizadeh, A. L. Lafleur, K. A. Smith, A. F. Sarofim: *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 2064 (1997).
- 5) N. Kishikawa, M. Wada, Y. Ohba, K. Nakashima, N. Kuroda: *J. Chromatogr. A*, **1057**, 83 (2004).
- 6) S. Ahmed, S. Fujii, N. Kishikawa, Y. Ohba, K. Nakashima, N. Kuroda: *J. Chromatogr. A*, **1133**, 76 (2006).
- 7) J. Lintelmann, K. Fischer, G. Matuschek: *J. Chromatogr. A*, **1133**, 241 (2006).
- 8) T. Kameda, T. Goto, A. Toriba, N. Tang, K. Hayakawa: *J. Chromatogr. A*, **1216**, 6758 (2009).
- 9) L. Oyster, H. Adkins: *J. Am. Chem. Soc.*, **43**, 208 (1921).
- 10) ナカライテスク: “COSMOSIL®/COSMOGEL® 充填剤一覧表・カラムの選択法,  $\pi$  NAP”, available from <<http://www.nacalai.co.jp/cosmosil/column/NAP.html>>, (accessed 2013-7-29).
- 11) ナカライテスク: “COSMOSIL®/COSMOGEL® 充填剤一覧表・カラムの選択法, Cholester”, available from <<http://www.nacalai.co.jp/cosmosil/column/Cholester.html>>, (accessed 2013-7-29).
- 12) M. T. Galceran, E. Moyano: *Talanta*, **40**, 615 (1993).
- 13) C. A. Jakober, S. G. Riddle, M. A. Robert, H. Destailats, M. J. Charles, P. G. Green, M. J. Kleeman: *Environ. Sci. Technol.*, **41**, 4548 (2007).
- 14) J. Schnelle-Kreis, M. Sklorz, A. Peters, J. Cyrus, R. Zimmermann: *Atmos. Environ.*, **39**, 7702 (2005).
- 15) A. Albinet, E. Leoz-Garziandia, H. Budzinski, E. Villenave: *Sci. Total Environ.*, **384**, 280 (2007).

Improvement of the Analytical Method for Quinoid Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using HPLC with In-line Reduction and Fluorescence Detection: Application to Soluble Organic Fraction of Airborne Particles

Takayuki KAMEDA<sup>®1</sup>, Yuki KATAYAMA<sup>2</sup>, Tomoko GOTO<sup>2</sup>, Akira TORIBA<sup>2</sup>, Ning TANG<sup>2</sup> and Kazuichi HAYAKAWA<sup>2</sup>

<sup>®</sup> E-mail : tkameda@energy.kyoto-u.ac.jp

<sup>1</sup> Graduate School of Energy Science, Kyoto University, Yoshidahon-machi, Sakyo-ku, Kyoto-shi Kyoto 606-8501

<sup>2</sup> Institute of Medical, Pharmaceutical and Health Sciences, Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa-shi, Ishikawa 920-1192

(Received August 8, 2013; Accepted September 5, 2013)

A simple and sensitive method for measuring quinoid polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHQs) in soluble organic fraction (SOF) of airborne particles based on two-dimensional high-performance liquid chromatography (HPLC) with fluorescence detection was established. The system involves a reversed phase column with naphthylethyl groups bonded silica packing material for sample clean-up, a 6-port switching valve, an ODS column for trapping the fraction containing PAHQs, a reversed phase column with cholesteryl groups bonded silica packing material for sample separation, and a Pt-Rh catalytic column for the reduction of PAHQs to a corresponding fluorescent compound. The accuracy of the assay, as applied to airborne particulate sample extracts spiked with known amounts of PAHQs were 91–107 %. The detection limits were 19 to 2000 fmol per injection (signal-to-noise ratio = 3), and the calibration range was from 1 to 100 pmol with excellent proportionality ( $R^2 \geq 0.9992$ ) for four kinds of PAHQs: benz[*a*]anthracene-7,12-dione, fluoranthene-2,3-dione, pyrene-1,6-dione, and pyrene-1,8-dione. PAHQs in SOF of airborne particles collected in Kyoto, Japan were successfully measured using the established analytical method with simple sample-preparation steps: ultrasonic extraction in organic solvent and concentration under reduced pressure and/or a nitrogen stream.

**Keywords:** PAH-dione; oxygenated PAHs; PAH-quinone; fluorescence detection; airborne particulates.