

年間特集「粒」：技術論文

## GC/MS による大気粉じん中の水酸化多環芳香族炭化水素の定量

鳥羽 陽\*<sup>1</sup>, 笠原千栄子<sup>1</sup>, 戸次加奈江<sup>2</sup>, 佐溝 将之<sup>1</sup>, 唐 寧<sup>1,3</sup>, 早川 和一<sup>3</sup>

大気中の粒子状物質 (PM) 中の水酸化多環芳香族炭化水素 (OHPAH) を定量することを目的とする GC/MS による分析法を開発した。母核の環数が 2~4 環の OHPAH 10 種を分析対象とし、トリメチルシリル (TMS) 誘導体化したうえで検出し、3 種類の重水素化、または安定同位体標識化 OHPAH を内部標準物質として用いて PM 試料の定量に適用した。OHPAH の TMS 誘導体の選択イオン検出 (SIM) における検出限界 (S/N=3) は、12~930 fg の範囲で、すべての分析対象物質について 10.5 分で分離・検出することができた。都市大気標準粉じんや金沢で捕集した PM 試料はジクロロメタンで抽出したのち、シリカゲル固相により精製し TMS 誘導体化して定量した。金沢で捕集した PM 試料中の 8 種の OHPAH を定量することに成功し、それらの濃度範囲は、20~4100 fg m<sup>-3</sup> であり、3-hydroxyfluoranthene の PM 中濃度の報告は本研究が初めてである。確立した分析法は、大気粉じん中の OHPAH を定量する際の分析法の選択肢の一つとして有用である。

### 1 緒 言

大気汚染物質の一つである大気粉じん (粒子状物質, particulate matter, PM) は、ディーゼル排ガスや工場等の排気、作物残渣の焼却、木材燃焼、大気内反応による二次生成などにより生成する<sup>1)</sup>。PM への曝露と各種疾患の罹患率や死亡数の増加との間には関連性があり、喘息や慢性閉塞疾患 (Chronic Obstructive Pulmonary Disease, COPD)、肺がんなどの呼吸器疾患だけでなく、心筋梗塞、心不全、脳血管障害などの循環器疾患を招く可能性にも関心が集まっている<sup>1)</sup>。

多環芳香族炭化水素 (polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH) は、有機物の不完全燃焼によって生成し、ディーゼル排ガスや石炭燃焼粉じん、タバコ煙中に含まれ、大気環境中の PM に含まれる主要な有機成分の一つであることから、大気中での環境動態や健康影響の観点から多くの研究が行われている<sup>2)~5)</sup>。PAH には強い発がん性/変異原性を示す物質が報告されており、国際がん研究機関 (International Agency for Research on Cancer, IARC) は、いくつかの PAH を発がん性がある、または疑われる物質として分類してきた<sup>6)</sup>。PAH は燃焼の過程で水酸化多環芳香族炭化水素 (hydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbon, OHPAH) やキノン体等の様々な酸化誘導体を生じ、PM 中から数種

類の OHPAH の存在が確認<sup>7)~12)</sup>され、タバコ煙やディーゼル排出ガス、木材や石炭の燃焼煙のような燃焼発生源に由来する PM 中にも OHPAH が存在することが報告されている<sup>13)~16)</sup>。また、PAH は大気内における光酸化・ラジカル反応を介して酸化され OHPAH のような酸化誘導体が二次的に生成される<sup>17)18)</sup>。したがって、従来から測定されてきた PAH のみならず PM 中の OHPAH による人体や生態系への影響も懸念される。

OHPAH の中には、母核の PAH は有さないエストロゲン様/抗エストロゲン作用、あるいは抗アンドロゲン活性を示す物質が存在し、PM が示すホルモン様作用に対する OHPAH の寄与が疑われている<sup>19)</sup>。これらの活性は水酸基の位置により活性の種類や強さが全く異なることから、同じ母核 PAH であっても、水酸基の位置の異なる異性体を含む OHPAH の大気内動態を把握することは重要である。その他、OHPAH の DNA との結合性について検証した報告がある<sup>20)</sup>。また、PAH は生体内で代謝されて OHPAH を生成し、尿中に排泄されることから、これまでは PAH 曝露のバイオマーカーとして尿中 OHPAH が利用され、生体内で生成される代謝物としての位置づけであった<sup>21)</sup>。

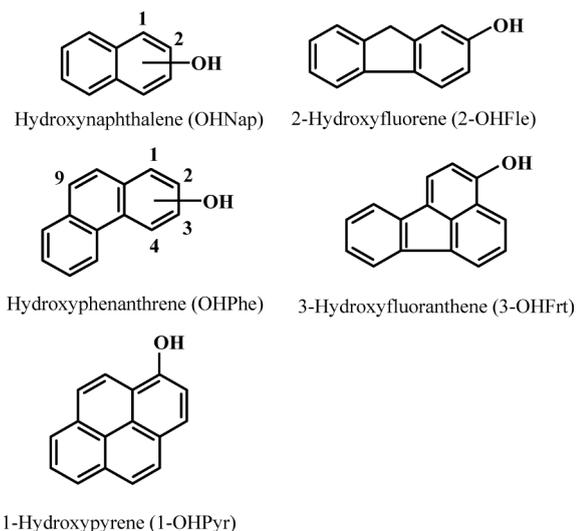
大気中、あるいは燃焼発生源由来の PM 中の OHPAH の分析法には、ガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC/MS)<sup>9)~13)16)</sup>、蛍光検出 HPLC (HPLC-FL)<sup>7)8)14)</sup>、LC-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS)<sup>15)22)</sup> が用いられてきた。GC/MS 法では、水酸基を誘導体化して測定することが多く、ほとんどの場合トリメチルシリル (trimethylsilyl, TMS) 誘導体化が用いられている<sup>9)10)13)</sup>。その他、ペンタフルオロベンジル誘導体化を用いた負イオン化学イオン化法

\* E-mail: toriba@p.kanazawa-u.ac.jp

<sup>1</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

<sup>2</sup> 国立保健医療科学院: 351-0197 埼玉県和光市南 2-3-6

<sup>3</sup> 金沢大学環日本海域環境研究センター: 920-1192 石川県金沢市角間町



**Fig. 1** Structures of OHPAHs as the analytes in this study

による GC/MS 法も報告されている<sup>11)12)</sup>。HPLC-FL 法の場合、OHPAH の蛍光性により直接分析が可能であるが、ごく限られた種類の OHPAH しか分析できていない<sup>7)8)</sup>。また、LC-MS/MS を用いた直接分析法も開発されているものの、十分な感度を得るためには、大気圧光イオン化のような特殊なイオン化法が必要となる<sup>22)</sup>。

PM 中の OHPAH の存在や燃焼発生源、大気内二次生成に関する報告は散見されるものの、分析対象とされてきた OHPAH は限定されており、親化合物の PAH と比較して環境動態等の情報が不足している。これまで報告されている分析法のなかで、誘導体化は必要であるものの、GC/MS を用いた手法の汎用性が高いと考えられるが、報告されている GC/MS 法では異性体によって毒性の異なる OHPAH を十分に網羅しているとは言い難い。本研究では、大気中濃度が比較的高いと予測される 2~4 環の OHPAH 10 種 (Fig. 1) を対象として、GC/MS による大気 PM 中の OHPAH の高感度、高選択的かつ簡便な分析法を開発した。

## 2 実 験

### 2.1 試薬及び溶媒

OHPAH の標準物質として、1-及び2-ヒドロキシナフタレン (1-, 2-hydroxynaphthalene, 1-, 2-OHNap, 和光純薬製)、2-ヒドロキシフルオレン (2-hydroxyfluorene, 2-OHFlu, Sigma-Aldrich 製)、1-, 2-, 3-, 4-及び9-ヒドロキシフェナントレン (1-, 2-, 3-, 4-, 9-hydroxyphenanthrene, 1-, 2-, 3-, 4-, 9-OHPhen, Chiron AS 製)、3-ヒドロキシフルオランテン (3-hydroxyfluoranthene, 3-OHFlu, NCI Chemical Carcinogen Repository 製)、1-ヒドロキシピレン (1-hydroxypyrene, 1-OHPyr, Sigma-Aldrich 製) を使用した。また、内

標準物質 (IS) として被検体の重水素化体、または安定同位体標識化合物である、1-ヒドロキシナフタレン-<sup>2</sup>H<sub>7</sub> (1-OHNap-<sup>2</sup>H<sub>7</sub>, CDN Isotopes 製)、3-ヒドロキシフェナントレン-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> (3-OHPhen-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, Cambridge Isotope Laboratories 製) 及び 1-ヒドロキシピレン-<sup>2</sup>H<sub>9</sub> (1-OHPyr-<sup>2</sup>H<sub>9</sub>, Chiron AS 製) の 3 種類を用いた。誘導体化試薬である 1% トリメチルクロロシラン (trimethylchlorosilane, TMCS) を含む *N,O*-ビス(トリメチルシリル)トリフルオロアセトアミド (*N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide, BSTFA), すなわち BSTFA : TMCS (99:1) は SUPELCO 製を使用した。*n*-ヘキサン (残留農薬・PCB 試験用)、酢酸エチル (高速液体クロマトグラフ用)、トルエン (残留農薬・PCB 試験用) は和光純薬製を、ジクロロメタン (残留農薬・PCB 試験用) は関東化学製を、ピリジンは Thermo Fisher Scientific 製を用い、ドデカンは Sigma-Aldrich 製を使用した。

### 2.2 PM 試料の捕集と前処理

PM 試料 (全粒子) の捕集は、石川県金沢市角間町の金沢大学自然科学研究科棟屋上で行い、2013 年 7 月 25, 29, 30 日の各日実施した。捕集にはハイポリウムエアサンプラー (HV-1000R, 柴田科学) を用い、1000 L min<sup>-1</sup> の流速で石英繊維フィルター (2500QAT-UP, 8 x 10 inch, Pallflex) 上に約 24 時間 (フィルター 1 枚あたり) 捕集した (*n* = 3)。捕集に使用したフィルターについてプランク測定を行い、OHPAH に相当するピークが検出されないことを確認したうえで使用した。また、都市大気標準粉じん 1648a (Standard Reference Material 1648a, SRM1648a, NIST) をバリデーション用及び比較用の試料として使用した。

金沢市で捕集した PM 試料のフィルター 1 枚または SRM1648a 試料 20 mg にジクロロメタン 40 mL を加えたのち、3 種類の IS (1-OHNap-<sup>2</sup>H<sub>7</sub>, 3-OHPhen-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, 1-OHPyr-<sup>2</sup>H<sub>9</sub>) を添加してから 10 分間超音波抽出し、これを 2 回繰り返した。抽出液をろ紙でろ過したのち、抽出液をターボバップエバポレータ (Zymark) で 1 mL まで濃縮してから 9 mL のヘキサンを加えてヘキサン/ジクロロメタン (9/1, v/v) とした。この溶液をヘキサン/酢酸エチル (9/1, v/v) 及びヘキサン各々 50 mL でプレコンディショニングを行った Sep-Pak Silica (690 mg, Waters) カートリッジに流した。固相をヘキサン/ジクロロメタン (9/1, v/v) 10 mL で洗浄したのち、ヘキサン/酢酸エチル (9/1, v/v) 10 mL で OHPAH を溶出させた。溶出液にドデカン 5 µL を添加して遠心エバポレータで減圧乾固したのちにトルエン 50 µL を加え、BSTFA : TMCS (99:1) 誘導体化試薬 20 µL、ピリジン 5 µL を添加し、80 °C で 30 分誘導体化を行い検液とした。

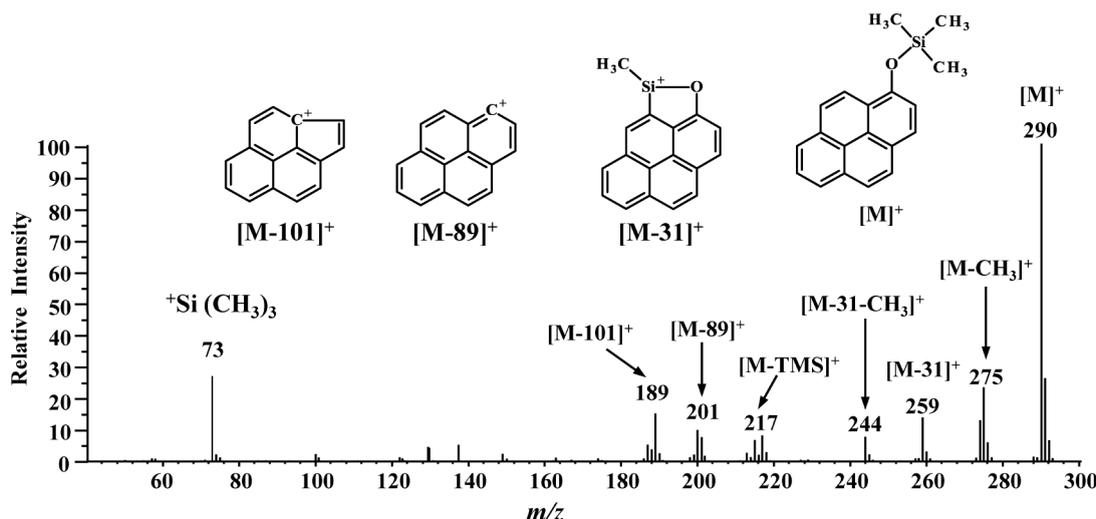


Fig. 2 Mass spectrum of derivatized 1-OHPyr

### 2・3 GC/MS

GC/MS のシステムを構成する装置はすべて Agilent Technologies 製を用い, GC (6890N Network GC System), MS (5975B inert XL EI/CI MSD), オートサンプラー (7683B series Auto sampler) により構成した. データの解析は MSD Chem Station により行った. カラムは HP-5MS (長さ 30 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ , J&W) を使用した. 注入口温度は 250  $^{\circ}\text{C}$  に設定し, 注入方法はスプリットレス法により行った. オープン温度は 70  $^{\circ}\text{C}$  で 1 分間保持し, 毎分 30  $^{\circ}\text{C}$  で 300  $^{\circ}\text{C}$  まで昇温したのち, 2 分間保持した. キャリヤガスにはヘリウムを用い, 流量は 1.2 mL  $\text{min}^{-1}$  に設定した. また, トランスファーラインの温度を 250  $^{\circ}\text{C}$  とした. イオン化法として電子衝撃イオン化 (EI) 法を用い, イオン源温度を 230  $^{\circ}\text{C}$ , MS 四重極温度を 150  $^{\circ}\text{C}$  に設定した. GC/MS への注入力量は 1  $\mu\text{L}$  とした. 定量は選択イオンモード (selected ion monitoring, SIM) を用い, モニタリングイオンは  $m/z$ : 201.1, 216.1, 208.1, 223.1 (6.3 ~ 7 分),  $m/z$ : 239.1, 254.1 (7 ~ 8.45 分),  $m/z$ : 251.1, 266.1, 257.1, 272.1 (8.45 ~ 9.5 分),  $m/z$ : 275.1, 290.1, 284.1, 299.1 (9.5 ~ 10.5 分) とした.

## 3 結果と考察

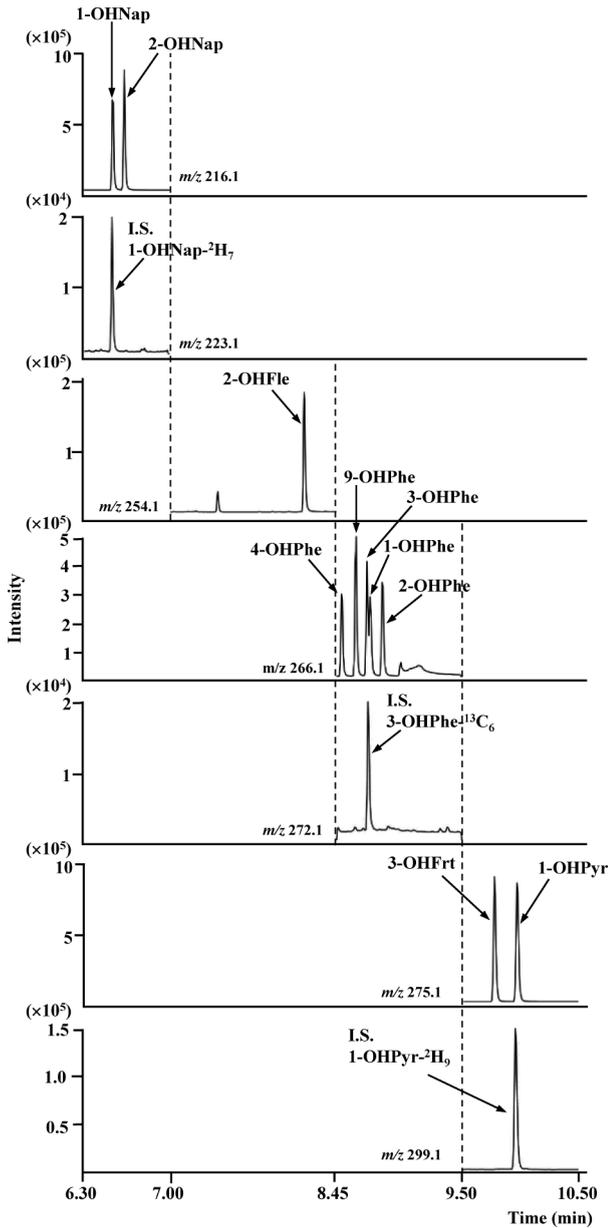
### 3・1 TMS 誘導体化の検証と標準物質の分析

一般的に用いられているいくつかの TMS 化試薬のなかで, フェノールの分析の際に利用されている BSTFA を選択し, TMCS については触媒として用いた<sup>23)</sup>. 分析対象とした 10 種の OHPAH 標品 (Fig. 1) 及び IS として使用する 3 種の OHPAH の重水素化体及び安定同位体標識化合物について TMS 誘導体化を行い, フルスキャンにより得られたスペクトルから TMS 基が導入された OHPAH の TMS 誘導体を同定し, すべての OHPAH について分子量関連イ

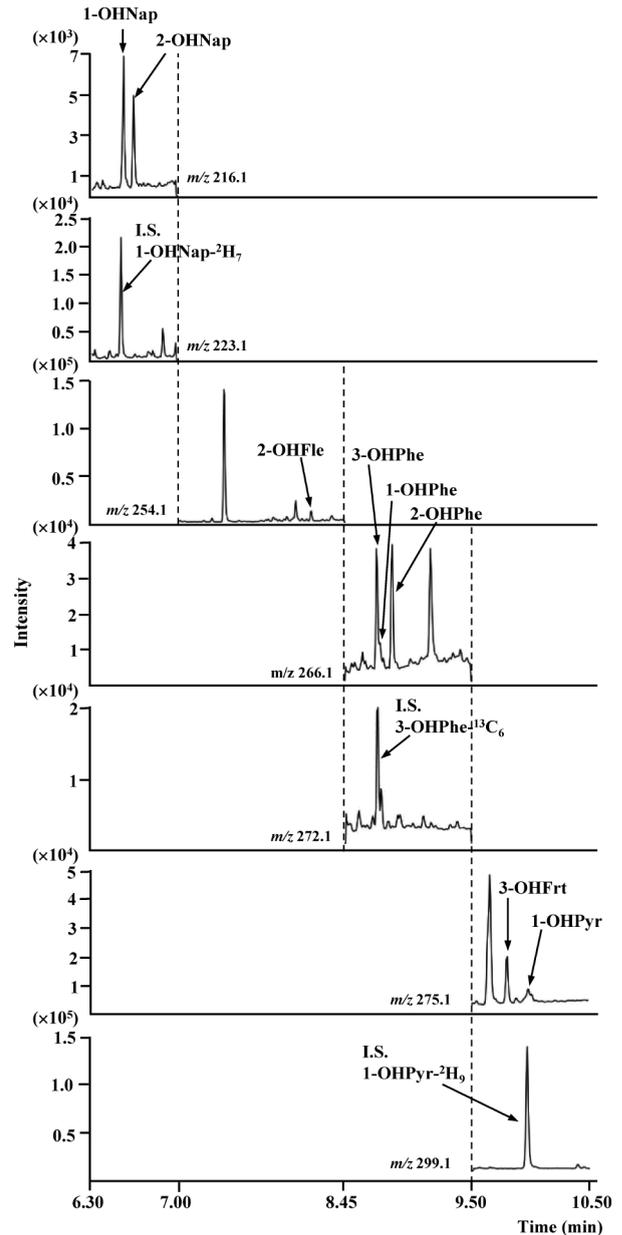
オン ( $[\text{M}]^{+}$ ) がベースピークとして観察された. 1-OHPyr の TMS 誘導体について得られたスペクトルを Fig. 2 に示す.  $[\text{M}]^{+}$  のほか, シラノール基中のメチル基が脱離した  $[\text{M}-15]^{+}$  等のフラグメントイオンが観察された<sup>23)24)</sup>.  $[\text{M}-31]^{+}$  は, TMS 基のフラグメンテーションとともに芳香環から水素が脱離しており, Fig. 2 に示される 5 員環を形成したと考えられた<sup>23)</sup>. 重水素化体のフラグメントイオンとして観察された  $[\text{M}-32]^{+}$  から重水素の脱離が確認されたこともこの事実を示唆する. TMS 誘導体化について, 80  $^{\circ}\text{C}$  で誘導体化した OHPAH のピーク強度は 60 分で最大となったが, 30 分の強度は 60 分に対して 80 ~ 100 % であったことから, 操作の迅速化のために 30 分を最適条件とした.

### 3・2 標準物質の分析と検出感度

実試料を分析した際の夾雑ピークを考慮し, 定量用のイオンとして OHNap, 1-OHNap-<sup>2</sup>H<sub>7</sub>, 2-OHFle, 1-OHPyr-<sup>2</sup>H<sub>9</sub> については  $[\text{M}]^{+}$  を, OHPhe, 3-OHPhe-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, 3-OHFr<sub>t</sub>, 1-OHPyr については  $[\text{M}-15]^{+}$  を選択し, 確認用のイオンをもう一方の  $[\text{M}]^{+}$  または  $[\text{M}-15]^{+}$  として SIM 条件を設定した. 測定対象とした 10 種の OHPAH の標準物質及び 3 種の内部標準物質の SIM クロマトグラムを Fig. 3 に示す. 5 種類の分子量の同じ異性体の存在する OHPhe を含むすべての分析対象物質について 10.5 分で分離・検出することができた. 従来の HPLC 法では 1-及び 9-OHPhe の分離が困難<sup>21)</sup>であるため, 本法が分離の点で優れていた. このときの検出限界 ( $S/N=3$ ) は注入量あたり 12 ~ 930 fg であり, 定量下限 ( $S/N=10$ ) は 41 ~ 3100 fg であった (Table 1). 本法の検出感度は 1-OHPyr を除く OHPAH について従来の HPLC-FL 法より高感度であった<sup>7)21)</sup>が, 1-OHPyr の感度は HPLC-FL 法の半分程度であった<sup>21)</sup>.



**Fig. 3** Representative SIM chromatograms of derivatized OHPAH standards by the developed GC/MS method



**Fig. 4** Representative SIM chromatograms of the extract of SRM1648a

**Table 1** Detection limits (DL) and quantification limits (QL) of the derivatized OHPAHs by the GC/MS method

Compound	Monitored ion (m/z)	DL (fg) <sup>a)</sup>	QL (fg) <sup>b)</sup>
1-OHNap	216.1	12	41
2-OHNap	216.1	16	53
2-OHFle	254.1	110	360
4-OHPhe	266.1	130	440
9-OHPhe	266.1	930	3100
3-OHPhe	266.1	110	380
1-OHPhe	266.1	240	810
2-OHPhe	266.1	130	440
3-OHFrt	275.1	420	1400
1-OHPyr	275.1	860	2900

a)  $S/N=3$ . b)  $S/N=10$ .

GC/MS法は、誘導体化の行程がHPLC法より増えるものの、分離や感度の点で優位性が高いと考えられる。

### 3・3 前処理法の検討

PM試料中のOHPAHの抽出法として、これまでにPAH類及び一部のOHPAHの抽出において高い収率が報告されているジクロロメタンによる超音波抽出を用いた<sup>9)16)</sup>。誘導体化を行う前に、極性の高い夾雑物質を除くことを目的として順相系固相抽出を用いて精製することが望ましく、これまでシリカゲルやアミノプロピルシリカが用いられてきた<sup>11)13)14)22)</sup>。本研究では、市販の固相シリカゲルカートリッジ (Sep-Pak Silica) を使用してPM抽出物を精製した。

Table 2 Precision and accuracy for the determination of OHPAHs in SRM1648a ( $n = 4$ )

Compound	Spiked concentration ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	Observed concentration (mean $\pm$ SD, $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) <sup>a)</sup>	Precision (RSD %) <sup>b)</sup>	Accuracy (%) <sup>c)</sup>	Compound	Spiked concentration ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	Observed concentration (mean $\pm$ SD, $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	Precision (RSD %) <sup>b)</sup>	Accuracy (%) <sup>c)</sup>
1-OHNap	0	2.2 $\pm$ 0.4	18	-	3-OHPhe	0	270 $\pm$ 8.4	3.1	-
	72	69 $\pm$ 2.2	3.2	93		970	1300 $\pm$ 270	21	106
	360	310 $\pm$ 7.2	2.3	86		4900	5000 $\pm$ 320	6.4	97
2-OHNap	0	1.4 $\pm$ 0.1	7.1	-	1-OHPhe	0	78 $\pm$ 6.2	7.9	-
	72	72 $\pm$ 1.4	1.9	98		970	1100 $\pm$ 78	7.1	105
	360	310 $\pm$ 7.6	2.5	86		4900	4700 $\pm$ 310	6.6	94
2-OHFle	0	29 $\pm$ 3.1	11	-	2-OHPhe	0	350 $\pm$ 25	7.1	-
	180	230 $\pm$ 29	13	112		970	1400 $\pm$ 350	25	108
	910	1100 $\pm$ 130	12	118		4900	5600 $\pm$ 670	12	107
4-OHPhe	0	nd <sup>d)</sup>	-	-	3-OHFrt	0	250 $\pm$ 13	5.2	-
	970	1100 $\pm$ 33	3.0	113		2200	2000 $\pm$ 250	13	80
	4900	5400 $\pm$ 640	12	110		11000	9700 $\pm$ 160	1.6	86
9-OHPhe	0	nd	-	-	1-OHPyr	0	170 $\pm$ 17	10	-
	1900	1600 $\pm$ 18	1.1	84		4400	4200 $\pm$ 170	4.0	92
	9700	9700 $\pm$ 1200	12	100		22000	20000 $\pm$ 260	1.3	90

a) SD; Standard deviation, b) RSD; Relative standard deviation, c) Expressed as [(mean observed concentration)/(spiked concentration)]  $\times$  100, d) nd; not detected.

固相に適用するために、抽出液のジクロロメタンを 1 mL まで留去し、ジクロロメタン含量が 10 % となるようにヘキサンで希釈してから固相カートリッジにロードした。OHPAH はシリカゲル固相に保持され、溶媒の溶出力をわずかに増大させることで溶出させることができる<sup>14)</sup>。10 % ジクロロメタン条件下では、親化合物である PAH が溶出する<sup>25)</sup>。その後、10 % 酢酸エチルを含むヘキサン溶液で保持されている OHPAH を固相から溶出させた。OHNap の蒸気圧は他の OHPAH より高い<sup>14)</sup>ため、溶出液を減圧乾固する際に回収率を低下させることから、キーパーとしてドデカンを追加した。この前処理操作における OHPAH の回収率は 79 ~ 110 % であり、実試料への適用が可能であると判断した。

### 3.4 実大気 PM 試料の分析と定量性の検証

標準都市大気粉じん (SRM1648a) を分析した際の SIM クロマトグラムを Fig. 4 に示した。10 種類の被検体のうち OHPAH の標準物質と保持時間の一致する 8 種類ピークが検出され、4-OHPhe 及び 9-OHPhe については検出できなかった。定量に用いた 3 種類の IS は、以下の組み合わせで使用した [1-OHNap-<sup>2</sup>H<sub>7</sub> (1-, 2-OHNap の定量), 3-OHPhe-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> (2-OHFle, 1-, 2-, 3-, 4-, 9-OHPhe の定量), 1-OHPyr-<sup>2</sup>H<sub>9</sub> (3-OHFrt, 1-OHPyr の定量)]。OHPAH 標準物質の検量線の直線性は、注入量あたり最少量が 0.14 ~ 11 pg で、最大量が 140 ~ 11000 pg の範囲で良好な直線性を示した ( $r^2 > 0.991$ )。SRM1648a に既知量の OHPAH を 2 段階で添加して定量し、真度と精度を評価した結果を Table 2 に示

Table 3 Concentrations of OHPAHs in atmospheric OHPAHs in Kanazawa

Compound	Concentration ( $\text{fg m}^{-3}$ )
1-OHNap	22 $\pm$ 1.4
2-OHNap	20 $\pm$ 16
2-OHFle	62 $\pm$ 47
4-OHPhe	1100 $\pm$ 950
9-OHPhe	nd <sup>a)</sup>
3-OHPhe	490 $\pm$ 60
1-OHPhe	< QL <sup>b)</sup>
2-OHPhe	330 $\pm$ 31
3-OHFrt	2400 $\pm$ 650
1-OHPyr	4100 $\pm$ 1700

a) nd; not detected, b) < QL; less than quantification limit (QL).

す。分析精度は相対標準偏差 (RSD) 1.1 ~ 18 %, 真度は 80 ~ 118 % であり、測定対象とした 10 種の OHPAH について十分な定量性を得ることができた。

### 3.5 PM 試料中 OHPAH の定量

金沢で捕集した PM 試料中の OHPAH 濃度を Table 3 に示す。10 種の OHPAH のうち 8 種を定量でき、SRM1648a では検出されなかった 4-OHPhe が検出された。4-OHPhe, 3-OHFrt, 1-OHPyr が高濃度で存在しており、3-OHFrt の PM 中の濃度が明確になったのは本研究が初めてである。中国で捕集された PM<sub>2.5</sub> 中の数種の OHPAH 濃度は pg ~ ng m<sup>-3</sup> 程度<sup>9)11)12)</sup>であり、本研究における金沢の PM 中 OHPAH 濃度は著しく低く、これまで報告されてきた PAH 類と同様に、発生源や燃焼による一次発生量の違いが濃度

に影響していると考えられた<sup>5)</sup>。

OHPAHのような大気中のPAH酸化体の発生源として、ディーゼル排ガスのような燃焼由来の一次生成と大気中での光化学反応による二次生成が考えられている<sup>17)18)</sup>。北京の例では、バイオマス燃焼や自動車排ガスがOHPAHの主要な一次発生源であると報告されている<sup>11)</sup>。4-OHPheは、北京や香港で捕集されたPM<sub>2.5</sub>試料中からも検出<sup>11)12)</sup>されており、都市部で捕集されたSRM1648aにおいて4-OHPheが検出されなかったのは、燃焼由来の一次発生源が異なると考えられる。一方、9-OHPheはSRM1648a及び金沢のPM試料のいずれにおいても検出されなかったが、これまでに報告された例は極めて少ない<sup>9)</sup>。金沢のPM試料中から定量されたOHPAHの60%以上を3-OHFrtと1-OHPyrが占めており、長崎で捕集されたPM試料で1-OHPyrが主要なOHPAHであった報告<sup>7)</sup>と類似していたが、中国での報告<sup>11)12)</sup>とは傾向が異なっていた。1-OHPyrは、燃焼発生源由来のPM分析において、ディーゼル排ガス中には少なく、木材燃焼煙中に他のOHPAHより高濃度に存在<sup>15)26)</sup>しており、金沢の大気において一次発生源として木材を含むバイオマス燃焼の寄与が高かったと推定できる。3-OHFrtについては、燃焼由来の一次発生源の報告はないものの、大気内反応を介して生成する可能性が示唆されており、二次生成の寄与が大きいと予想される<sup>17)18)</sup>。また、SRM1648aや金沢で捕集したPM試料において、1-及び2-OHnapの濃度は定量できたOHPAHのなかで最も低かった (Table 2及び3)。これらは蒸気圧が高く、実際の大気中では大部分が気相に分配しており、PM試料中から検出されにくいと推定された<sup>14)</sup>。また、金沢のPM試料では気温の高い夏季に捕集したため、特に濃度が低かったと考えられた。

#### 4 結 言

OHPAHをTMS誘導体化してGC/MSで測定する、10種OHPAHの高感度・高選択的な一斉分析法を開発し、都市大気標準粉じんや金沢で捕集したPM試料の分析に適用した。ISを含めすべての分析対象物質について10.5分で分離・検出することができ、分離や感度の点で従来のHPLC法より優れていた。ジクロロメタン抽出したPM試料を固相抽出により精製し、誘導体化の後GC/MSで測定した。10種のOHPAHのうち8種を定量することができ、3-OHFrtのPM中濃度が初めて明確になった。大気中に存在するOHPAHは、ディーゼル排ガスのような燃焼由来の一次発生源と大気中での光化学反応による二次発生源に由来し、各物質によって発生源の寄与が異なると考えられる。ハイボリウムエアサンプラーで捕集したPM試料からの測定が可能であることから、本法はPM試料中のOHPAHを定量する際の分析法の選択肢の一つとなると考えられる。今回は、2~4環の10種類を対象としたが、4環以上のPAHの

水酸化体も大気中に存在する可能性がある。今後、分析対象物質を拡大したOHPAHの分析法の開発も重要となる。

#### 謝 辞

本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金「基盤研究(C)」(18K11676)及び(17K08388)、「挑戦的研究(開拓)」(17H06283)、環境省による環境研究総合推進費(5RF-1302)、鉄鋼環境基金によりなされたことを付記し、ここに謝意を表します。

#### 文 献

- 1) C. Losacco, A. Perillo : *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **25**, 33901 (2018).
- 2) K.-H. Kim, S. A. Jahan, E. Kabir, R. J. C. Brown : *Environ. Int.*, **60**, 71 (2013).
- 3) N. K. Cheruiyot, W.-J. Lee, J. K. Mwangi, L.-C. Wang, N.-H. Lin, Y.-C. Lin, J. Cao, R. Zhang, G.-P. Chang-Chien : *Aerosol Air Qual. Res.*, **15**, 2730 (2015).
- 4) I. Abbas, G. Badran, A. Verdin, F. Ledoux, M. Roumié, D. Courcot, G. Garçon : *Environ. Chem. Lett.*, **16**, 439 (2018).
- 5) K. Hayakawa, N. Tan, E. G. Nagato, A. Toriba, S. Sakai, F. Kano, S. Goto, O. Endo, K. Arashidani, H. Kakimoto : *Environ. Pollut.*, **233**, 474 (2018).
- 6) IARC : Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans, available from <<https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/>>, (accessed 2019-2-22).
- 7) N. Kishikawa, S. Morita, M. Wada, Y. Ohba, K. Nakashima, N. Kuroda : *Anal. Sci.*, **20**, 129 (2004).
- 8) A. I. Barrado, S. Garcia, Y. Castrillejo, R. M. Perez : *Atmos. Pollut. Res.*, **3**, 81 (2012).
- 9) G. Wang, K. Kawamura, X. Zhao, Q. Li, Z. Dai, H. Niu : *Atmos. Environ.*, **41**, 407 (2007).
- 10) B. A. M. Bandowe, H. Meusel, R. Huang, K. Ho, J. Cao, T. Hoffmann, W. Wilcke : *Sci. Total Environ.*, **473**, 77 (2014).
- 11) Y. Lin, Y. Ma, X. Qiu, R. Li, Y. Fang, J. Wang, Y. Zhu, D. Hu : *J. Geophys. Res. Atmos.*, **14**, 7219 (2015).
- 12) Y. Ma, Y. Cheng, X. Qiu, Y. Lin, J. Cao, D. Hu : *Environ. Pollut.*, **219**, 742 (2016).
- 13) R. E. Cochran, N. Dongari, H. Jeong, J. Beránek, S. Haddadi, J. Shipp, A. Kubátová : *Anal. Chim. Acta*, **740**, 93 (2012).
- 14) M. Kamiya, A. Toriba, Y. Onoda, R. Kizu, K. Hayakawa : *Food Chem. Toxicol.*, **43**, 1017 (2005).
- 15) R. Avagyan, R. Nyström, R. Lindgren, C. Boman, R. Westerholm : *Atmos. Environ.*, **140**, 1 (2016).
- 16) B. R. Simoneit, X. Bi, D. R. Oros, P. M. Medeiros, G. Sheng, J. Fu : *Environ. Sci. Technol.*, **41**, 7294 (2007).
- 17) R. Atkinson, J. Arey : *Environ. Health Perspect.*, **102**, 117 (1994).
- 18) R. E. Cochran, H. Jeong, S. Haddadi, R. F. Derseh, A. Gowan, J. Beránek, A. Kubátová : *Atmos. Environ.*, **128**, 92 (2016).
- 19) K. Hayakawa, Y. Onoda, C. Tachikawa, S. Hosoi, M. Yoshita, S. W. Chung, R. Kizu, A. Toriba, T. Kameda, N. Tang : *J. Health Sci.*, **53**, 562 (2007).
- 20) L.-R. Wang, Y. Wang, J.-W. Chen, L.-H. Guo :

- Toxicology*, **262**, 250 (2009).
- 21) T. Chetiyakornkul, A. Toriba, T. Kameda, N. Tang, K. Hayakawa : *Anal. Bioanal. Chem.*, **386**, 712 (2006).
- 22) R. Avagyan, R. Nyström, C. Boman, R. Westerholm : *Anal. Bioanal. Chem.*, **407**, 4523 (2015).
- 23) C. Schummer, O. Delhomme, M. R. Brice, B. M. R. Appenzeller, R. Wennig, M. Millet : *Talanta*, **77**, 1473 (2009).
- 24) G. Gmeiner, P. Gärtner, C. Krassnig, H. Tausch : *J. Chromatogr. B*, **766**, 209 (2002).
- 25) 鳥羽 陽, 本間千春, 宇於崎和香, Thanyarat Chuesaard, 唐 寧, 早川和一 : 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **63**, 23 (2014).
- 26) R. E. Cochran, A. Kubátová : *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **95**, 434 (2015).

---

## Quantification of Hydroxylated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Airborne Particulate Matter by GC/MS

Akira TORIBA<sup>\*1</sup>, Chieko KASAHARA<sup>1</sup>, Kanae BEKKI<sup>2</sup>, Masayuki SAMIZO<sup>1</sup>,  
Ning TANG<sup>1,3</sup> and Kazuichi HAYAKAWA<sup>3</sup>

\* E-mail : toriba@p.kanazawa-u.ac.jp

<sup>1</sup> Institute of Medical, Pharmaceutical and Health Sciences, Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa-shi, Ishikawa 920-1192

<sup>2</sup> Department of Environmental Health, National Institute of Public Health, 2-3-6, Minami, Wako-shi, Saitama 351-0197

<sup>3</sup> Institute of nature and environmental technology, Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa-shi, Ishikawa, 920-1192

(Received June 17, 2019; Accepted July 26, 2019)

A GC/MS method was developed for the quantification of hydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbons (OHPAHs) in airborne particulate matter (PM). Ten OHPAHs having 2 - 4 rings were detected after trimethylsilyl (TMS) derivatization, and the derivatives in PM samples were quantified with three kinds of deuterated or stable isotope labeled OHPAHs as internal standards. The detection limits ( $S/N = 3$ ) of the derivatives of OHPAHs in the selected ion monitoring (SIM) mode ranged from 12 to 930 fg and all analytes were separated and detected within 10.5 min. A commercially available urban PM sample and PM samples collected in Kanazawa were extracted with dichloromethane, and then the extracts were purified with silica gel solid phase and derivatized OHPAHs in the extracts were quantified. We successfully quantified 8 OHPAHs in PM samples collected in Kanazawa, and their concentrations were in the range of 20 - 4100 fg m<sup>-3</sup> and the levels of 3-hydroxyfluoranthene were reported for the first time. This method should be useful as an optional analytical method to quantify OHPAHs in PM samples.

**Keywords:** hydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbon; airborne particulate matter; GC/MS; trimethylsilyl derivatization; solid phase extraction.