

多段分級した大気粒子試料を用いたシリル誘導体化 GC-MS 法

—内標準物質の分析結果に関する考察—

池盛文数

Silyl derivatization GC-MS method toward multistage sized atmospheric particle samples

- Insights into the analytical results of internal standard -

Fumikazu Ikemori

本研究では、多段分級した大気粒子試料 (PM0.1, PM0.1-0.5, PM0.5-1.0, PM1.0-2.5, PM2.5-10, PM10<) に対し内標準物質を添加し、シリル誘導体化 GC-MS 法によりその分析を行い、物質・粒子径ごとの測定値、相対標準偏差、回収率などを比較した。粒子径が PM2.5 以下の粒子を微小粒子、PM2.5 よりも大きい粒子を粗大粒子とすると、粗大粒子では多くの内標準物質の測定値が微小粒子より小さく、また相対標準偏差は微小粒子側より大きくなる傾向が見られた。各内標準物質の回収率について、微小粒子では、一部の物質を除いて 70%を超えるなど、良好な結果が得られたが、Vanillin- d_3 や 1,3,5-Benzene-2,4,6- d_3 -tricarboxylic acid は回収率のばらつきが大きかった。粗大粒子については、アルコール類、アルデヒド、モノカルボン酸類が良好な回収率であったのに対し、ジカルボン酸やトリカルボン酸は回収率が低かった。特に、Malonic acid- $^{13}C_2$, Malic acid- $^{13}C_4$, 3-Hydroxyglutaric acid- d_5 , 1,3,5-Benzene-2,4,6- d_3 -tricarboxylic acid は回収率が 30%以下であり顕著に低い結果であった。

はじめに

近年、大気中の粒子状物質濃度は様々な規制の効果や越境汚染の低減により低下傾向にあり、環境基準の定められている浮遊粒子状物質 (SPM) や微小粒子状物質 (PM2.5) の環境基準達成率は高くなっている。PM2.5 は、大気中に浮遊している 2.5 μm 以下の小さな粒子であるが、この濃度減少の要因としては、自動車排出ガスの規制により元素炭素 (EC) 濃度がここ 20 年で大きく減少していること、越境汚染の低減により硫酸イオン濃度が減少していることが挙げられる¹⁾。一方で、有機炭素 (OC) については 2010 年以降、年平均値の濃度変化が見られず、その生成機構や発生源の解明が望まれている。OC の生成・発生源の推定には有機物の指標成分 (有機トレーサー成分) を用いた解析が有効である²⁾。有機トレーサー成分の組成は粒子の大きさにより異なることが報告されていることから³⁾、多段分級した大気粒子試料中の有機トレーサー成分を測定することでより精密な OC の起源解析を行えると考えられる。しかし、これまで PM2.5 などの微小

粒子については有機トレーサー成分の報告が多いが、より小さい PM0.1 や粗大粒子については報告例が限られている。PM0.1 のような超微小粒子には、二次生成や燃焼起源の中でも粒子成長前のエイジングされていない OC が、粗大粒子には土壌粒子に加え、タイヤやブレーキパッドの摩耗粉塵など、自動車排出ガスの規制により低減が見込めない自動車由来粒子が多く存在していると考えられる。このため、粒子径別の有機トレーサー成分分析を行い、その粒子径分布を把握することは粒子径による発生源の特徴を知るために重要であると考えられる。しかし、有機トレーサー成分の測定に用いるシリル誘導体化 GC-MS 法について、多段分級捕集試料に多数の内標準物質を添加し、その回収率を確認した報告はない。そこで本研究では、粒子径を 6 つに分級できるナノサンプラーを用いて、分級捕集した石英繊維ろ紙の捕集試料について、内標準物質を添加し、シリル誘導体化 GC-MS 法により内標準物質を分析し、粒子径ごとの測定値や回収率を比較した。

方法

1. 大気粒子試料の捕集

PM0.1 を含む粒子径別大気粒子は、名古屋市環境科学調査センター屋上において 2020 年 12 月 18 日から 28 日にかけて、ナノサンプラーで 24~72 時間、40 L/min で捕集した (n=7)。PM0.1, PM0.5-1.0, PM1.0-2.5, PM2.5-10, PM10 より大きい粒子は石英繊維ろ紙上に、PM0.1-0.5 はステンレス (SUS) 繊維上に捕集した。なお PM0.1-0.5 はスリーノズルタイプにより SUS 繊維が充填された 3 つのカートリッジに並行捕集した⁴⁾。捕集後の試料は分析まで冷凍保存 (-60℃) した。

2. 分析方法

分析の手順等は既報を参考に以下のように行った⁵⁾。分析には、各段のろ紙を半分、SUS 繊維は 3 つのうちの 1 つを用いた。各試料に内標準物質を溶かしたイソオクタン溶液 20 μ L を添加し、乾燥後、メタノールとジクロロメタンの混合溶媒 (1:2, 6 mL) を加え、20 分間超音波抽出した。抽出液を 2 mL 分取し、窒素吹付で乾固した後、N,O-ビス (トリメチルシリル) トリフルオロアセトアミド (BSTFA) とクロロトリメチルシラン (TMCS) の混合試薬 (BSTFA+1%TMCS, ジーエルサイエンス) を 40 μ L, ピリジン (和光純薬) を 10 μ L 加え、70° C で 1 時間半加熱した。加熱終了後、室温に 5 分以上放置し温度を下げた後、イソオクタンを 100 μ L 加え希釈した。標準液として、内標準物質を溶かしたイソオクタン溶液 10 μ L および既報で測定に用いた標準物質混合溶液を添加し、窒素吹付で乾固した後、大気試料の抽出液と同様にシリル化、続いて希釈した。標準液については、ライナーへの吸着影響によるクロマト強度の減少が懸念されたため、既報で検量線作成に用いた、中程度より濃い濃度を 3 つ選択 (100, 200, 400 ng) した。希釈液について、トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS/MS, GCMS-TQ8040 NX (Shimadzu)) を用いて Multiple Reaction Monitoring (MRM) モードで内標準物質の測定を行った。Collision-induced dissociation (CID) ガスにはアルゴンを用いた。添加した内標準物質、各物質を MRM モードで設定したトランジションパラメータ (プリカーサイオンの m/z, プロダクトイオンの m/z および CID エネルギー) を表 1 に示す。

3. 回収率の計算方法

抽出後分取した抽出液 (2 mL) には、添加した内標準物質が約 6.7 μ L 含まれることになる。標準液には 10 μ L を添加したので、クロマトの面積値で比較できるように、大気試料の内標準物質のクロマトの面積値を 10 μ L 当たりに換算して、その平均値 (Area Av), 標準偏

差 (SD), 相対標準偏差 (RSD) および回収率の計算に用いた。

表 1 MRM モードで設定したトランジションパラメータ

Name	MRM Transitions parameter			
	Quantitative Transition		Qualitative Transition	
	Precursor>Product	CE	Precursor>Product	CE
Erythritol- <i>d</i> ₆	208.10>147.10	6	311.20>73.10	24
Mannitol- <i>d</i> ₈	323.20>133.10	12	208.20>120.10	9
Levoglucosan- ¹³ C ₆	338.20>73.10	27	338.20>104.10	15
Cholesterol- <i>d</i> ₆	374.40>166.00	12	374.40>261.30	12
Vanillin- <i>d</i> ₃	212.10>194.10	9	227.10>212.10	9
Ketopinic acid	239.10>75.10	24	211.10>121.10	12
Palmitic acid- <i>d</i> ₃₁	344.50>76.10	24	132.10>76.00	12
Malonic acid- ¹³ C ₂	235.10>147.10	9	235.10>73.10	24
Succinic acid- <i>d</i> ₄	251.10>147.10	9	251.10>73.10	27
Pentaedionic acid- <i>d</i> ₆	267.20>147.10	12	163.10>73.10	24
Malic acid- ¹³ C ₄	236.10>73.10	24	249.10>73.10	24
3-Hydroxyglutaric acid- <i>d</i> ₅	263.10>73.10	24	354.20>73.10	24
Phthalic acid- <i>d</i> ₄	299.10>147.10	12	299.10>73.10	30
Terephthalic acid- <i>d</i> ₄	299.10>225.10	18	225.10>106.10	15
1,3,5-Benzene-2,4,6- <i>d</i> ₃ -tricarboxylic acid	414.20>73.20	30	414.20>193.20	36

結果と考察

標準物質混合液の分析結果 (Area Av, SD, RSD の平均値) について、表 2 に示す。多くの成分の RSD は 5% 程度であったが、Vanillin-*d*₃, Ketopinic acid, Malonic acid-¹³C₂, 1,3,5-Benzene-2,4,6-*d*₃-tricarboxylic acid の RSD は 10% 程度とやや大きかった。これは濃度の異なる標準液に対しての結果であるためマトリックス効果の影響が考えられる他、誘導体化反応の安定性についても影響している可能性が考えられる。

続いて、大気試料について各内標準物質の粒子径別試料ごとの測定値 (クロマト面積) を図 1, 粒子径別の RSD を表 3 に示す。アルコール類の内標準物質 (Erythritol-*d*₆, Mannitol-*d*₈, Levoglucosan-¹³C₆, Cholesterol-*d*₆) について見ると (図 1a), 粒子径によって少し変動が見られるものの、測定値に大きな、また系統的な増減は見られなかった。RSD を見ると、

表 2 標準物質混合液の分析の平均 (Area

Name	Area Av	SD	RSD (%)
Erythritol- <i>d</i> ₆	1707287	85729	5.0
Mannitol- <i>d</i> ₈	2387258	104948	4.4
Levoglucosan- ¹³ C ₆	1940686	67036	3.5
Cholesterol- <i>d</i> ₆	87976	4549	5.2
Vanillin- <i>d</i> ₃	2456331	261783	10.7
Ketopinic acid	579923	69040	11.9
Palmitic acid- <i>d</i> ₃₁	3749575	63460	1.7
Malonic acid- ¹³ C ₂	1003876	141271	14.1
Succinic acid- <i>d</i> ₄	4630539	170183	3.7
Pentaedionic acid- <i>d</i> ₆	3797291	103430	2.7
Malic acid- ¹³ C ₄	2293658	134700	5.9
3-Hydroxyglutaric acid- <i>d</i> ₅	760855	27957	3.7
Phthalic acid- <i>d</i> ₄	2772562	35970	1.3
Terephthalic acid- <i>d</i> ₄	6975815	127990	1.8
1,3,5-Benzene-2,4,6- <i>d</i> ₃ -tricarboxylic acid	1027904	95387	9.3

Erythritol- d_6 と Levoglucosan- $^{13}C_6$ は全粒子形において、その値が 10%以下とばらつきが小さいことがわかった。一方, Mannitol- d_8 は粗大粒子側で, Cholesterol- d_6 は PM0.5–PM10 の間で, RSD が 10%を超えるなど, 測定値のばらつきがやや大きくなる傾向が見られた。

アルデヒド (Vanillin- d_3) とモノカルボン酸 (Ketopinic acid, Palmitic acid- d_{31}) について見ると (図 1b), PM0.1-0.5 と粗大粒子側でやや減少する傾向が見られた。PM0.1-0.5 は SUS 繊維上に粒子を捕集しているため, これが影響している可能性が考えられる。また Vanillin- d_3 では各粒子径の RSD が 10%を超えるなど他の内標準物質に比べ大きくなっていった。Ketopinic acid は PM0.5-1.0 および粗大粒子側での RSD が 10%を超えていたが, Palmitic acid- d_{31} は全粒子径で RSD が 10%以下であり各粒子径ごとにおいてピーク面積の再現性が高いなど, 同じモノカルボン酸でも異なった結果が得られた。

ジカルボン酸 (Malonic acid- $^{13}C_2$, Succinic acid- d_4 , Pentaedionic acid- d_6 , Malic acid- $^{13}C_4$, 3-Hydroxyglutaric acid- d_5) を見ると (図 1c), すべての内標準物質は粗大粒子側で測定値が減少していた。特に 3-Hydroxyglutaric acid- d_5 の測定値は粗大粒子が微小粒子の半分以下と大きな減少が見られた。また, Malonic acid- $^{13}C_2$ を除いた内標準物質の PM0.1-0.5 についてもやや減少する傾向が見られた他, Malonic acid- $^{13}C_2$ については PM0.1 において大きな減少が見られた。4 つの内標準物質について, 粗大粒子側の RSD は概ね 30% となっており, 微小粒子での測定に比べ測定値のばらつきが大きく再現性に乏しいことが特徴であった。また, Malonic acid- $^{13}C_2$ は全粒子径においてばらつきが大きく, 特に PM0.1 と粗大粒子では RSD が 90%を超えていた。Malic acid- $^{13}C_4$ と 3-Hydroxyglutaric acid- d_5 は PM0.5 以上で RSD が 10%以上になるなどの特徴が見られた。

最後に, 芳香族のジカルボン酸 (Phthalic acid- d_4 , Terephthalic acid- d_4), トリカルボン酸 (1,3,5-Benzene-2,4,6- d_3 -tricarboxylic acid) を見ると (図 1d), その測定値は前出したジカルボン酸と同様に粗大粒子側で大きく減少したのに加え, PM0.1-0.5 についてもやや減少傾向にあった。特に, 1,3,5-Benzene-2,4,6- d_3 -tricarboxylic acid は微小粒子側に比べ粗大粒子側の測定値が 30%以下になっているなど大きな減少が見られた。各物質の RSD を見ると, Phthalic acid- d_4 , Terephthalic acid- d_4 , 1,3,5-Benzene-2,4,6- d_3 -tricarboxylic acid とともに粗大粒子の RSD が大きかった。また, 1,3,5-Benzene-2,4,6- d_3 -

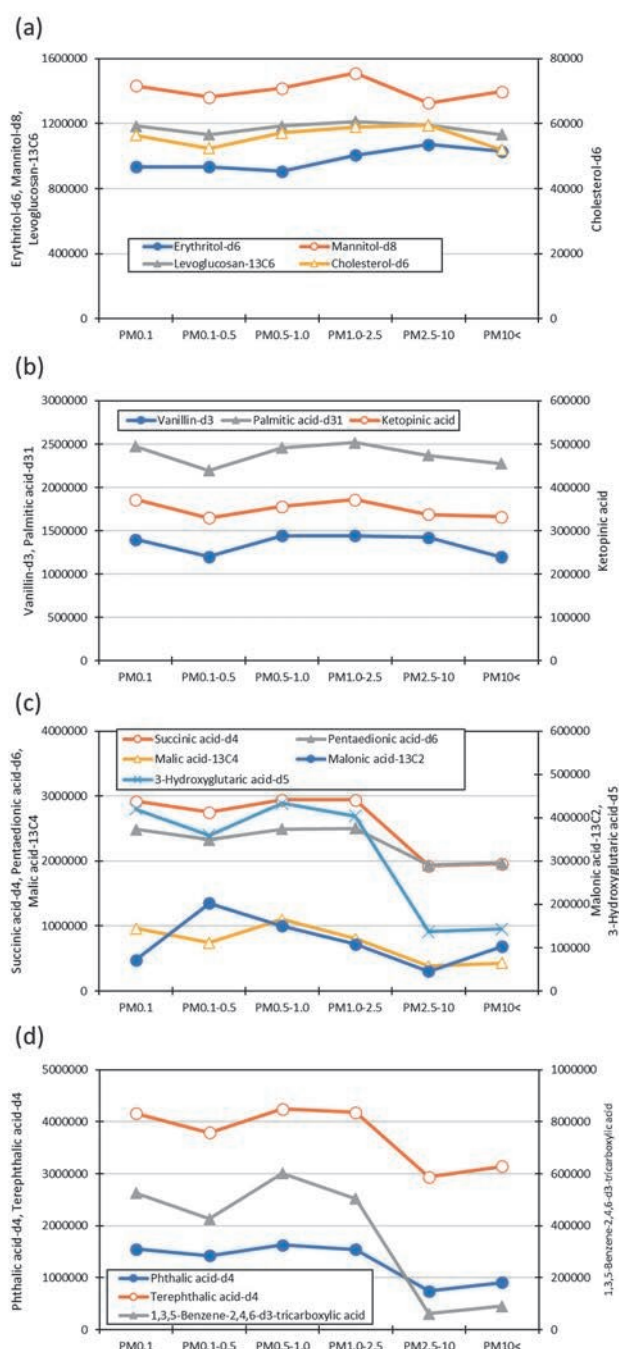


図 1 測定した内標準物質における粒子径別試料ごとの測定値の平均値の変動
(a) アルコール類、(b) アルデヒドとモノカルボン酸、(c) ジカルボン酸、(d) 芳香族ジカルボン酸およびトリカルボン酸

tricarboxylic acid は全粒子径においてばらつきが大きく, 特に粗大粒子では RSD が 90%を超えていた。以上のように, 多くの成分では粗大粒子に添加した内標準物質の測定値が微小粒子側より小さく, また RSD は微小粒子側より粗大粒子側で大きくなる傾向が見られた。また, 粗大粒子側の RSD は PM2.5-10 のほうが PM10<

表3 内標準物質の粒子径別試料ごとの相対標準偏差 (RSD)

Name	RSD (%)					
	PM0.1	PM0.1-0.5	PM0.5-1.0	PM1.0-2.5	PM2.5-10	PM10<
Erythritol- <i>d</i> ₆	8.9	3.8	5.6	5.8	6.0	4.9
Mannitol- <i>d</i> ₈	6.1	5.2	8.1	7.3	13.4	12.0
Levogluconan- ¹³ C ₆	3.7	5.6	5.7	5.7	5.4	3.7
Cholesterol- <i>d</i> ₆	8.4	8.5	10.1	10.2	12.8	8.5
Vanillin- <i>d</i> ₃	16.0	15.5	25.8	18.0	16.8	11.4
Ketopinic acid	5.6	9.6	14.2	7.9	21.9	11.8
Palmitic acid- <i>d</i> ₃₁	5.2	7.5	8.5	8.6	6.7	3.6
Malonic acid- ¹³ C ₂	91.5	50.0	48.2	56.7	127.4	91.0
Succinic acid- <i>d</i> ₄	3.3	4.8	6.9	6.0	30.2	28.5
Pentaedionic acid- <i>d</i> ₆	5.1	5.6	6.5	5.7	16.2	16.1
Malic acid- ¹³ C ₄	6.3	9.6	17.0	13.0	44.4	31.6
3-Hydroxyglutaric acid- <i>d</i> ₅	4.7	9.0	10.6	10.0	64.2	52.7
Phthalic acid- <i>d</i> ₄	5.7	7.8	9.3	12.6	37.2	22.6
Terephthalic acid- <i>d</i> ₄	4.0	6.7	8.0	9.2	22.0	13.7
1,3,5-Benzene-2,4,6- <i>d</i> ₃ -tricarboxylic acid	15.4	17.7	17.2	27.5	100.1	96.3

よりも大きくなっていることから、PM2.5-10に含まれる成分が誘導体化反応をより阻害しやすい可能性が考えられる。

大気試料について各内標準物質の回収率とその標準偏差について表4に示す。微小粒子の回収率は、Malonic acid-¹³C₂、Malic acid-¹³C₄及び1,3,5-Benzene-2,4,6-*d*₃-tricarboxylic acidのPM0.1-0.5を除いて70%を超えており、良好な結果が得られたが、Vanillin-*d*₃や1,3,5-Benzene-2,4,6-*d*₃-tricarboxylic acidは標準偏差がやや大きく回収率のばらつきが大きい結果となった。粗大粒子については、アルコール類、アルデヒド、モノカルボン酸類が良好な回収率であったのに対し、Palmitic acid-*d*₃₁を除くジカルボン酸やトリカルボン酸は回収率が低かった。特に、Malonic acid-¹³C₂、Malic acid-¹³C₄、3-Hydroxyglutaric acid-*d*₅、1,3,5-Benzene-2,4,6-*d*₃-tricarboxylic acidは回収率が低く30%以下であった。粗大粒子には自然起源、例えば土壌粒子や海塩粒子が多く含まれる。特に土壌粒子は多くの金属成分を含むが、ジカルボン酸、トリカルボン酸などのばらつきが

大きい傾向があることから、内標準物質と金属成分との酸塩基反応や、クラスター構造の形成により、誘導体化反応が阻害されている可能性が考えられる。原因追究のためには無機元素成分と回収率との関係などを調べていくことが必要である。また、今回の測定は冬季の試料のみ行った。季節により粒子状物質の発生源は大きく変わるため、他の季節についても調べる必要がある。特に春季は黄砂が飛来することが多く、先に述べた土壌粒子が粗大粒子側に多くなるため注意する必要があるだろう。また、本研究では内標準物質の測定値、回収率が物質によって大きく異なる結果が得られた。これは、大気粒子のシリル誘導体化 GC-MS 法による多成分分析でよく行われている、Ketopinic acidのみで様々な種類の成分を補正する方法では、大気粒子中の有機トレーサー成分濃度を反映するように補正することが難しいことを示唆している。多成分分析の際にはできる限り内標準物質を添加すること、また測定対象成分の同位体標識が手に入らない場合、どの内標準物質で補正するのか、よく検討する必要がある。

まとめ

ナノサンブラを用いて捕集した多段分級試料について、内標準物質を添加しシリル誘導体化 GC-MS 法によりその分析を行った。各内標準物質の測定値およびそのばらつきを調べた結果、粗大粒子に添加した内標準物質の測定値が微小粒子側より小さく、またRSDは微小粒子側より大きくなる傾向が見られた。内標準物質それぞれの回収率を算出したところ、Malonic acid-¹³C₂はすべての粒子径で回収率が低かった。粗大粒子に注目すると、アルコール類、アルデヒド、モノカルボン酸類が良好な回収率であったのに対し、ジカルボ

表4 測定した内標準物質における粒子径別試料ごとの測定値の回収率

Name	PM0.1	PM0.1-0.5	PM0.5-1.0	PM1.0-2.5	PM2.5-10	PM10<
Erythritol- <i>d</i> ₆	82 ± 7.3	82 ± 3.1	80 ± 4.5	88 ± 5.1	94 ± 5.7	90 ± 4.4
Mannitol- <i>d</i> ₈	90 ± 5.5	86 ± 4.5	89 ± 7.2	95 ± 6.9	83 ± 11.2	88 ± 10.6
Levogluconan- ¹³ C ₆	92 ± 3.4	88 ± 4.9	92 ± 5.2	94 ± 5.3	92 ± 5.0	88 ± 3.3
Cholesterol- <i>d</i> ₆	96 ± 8.1	89 ± 7.6	98 ± 9.9	100 ± 10.2	102 ± 13.0	89 ± 7.5
Vanillin- <i>d</i> ₃	86 ± 13.7	73 ± 11.4	88 ± 22.7	88 ± 15.9	87 ± 14.6	73 ± 8.3
Ketopinic acid	96 ± 5.4	85 ± 8.2	92 ± 13.0	96 ± 7.6	87 ± 19.2	86 ± 10.1
Palmitic acid- <i>d</i> ₃₁	99 ± 5.2	88 ± 6.6	98 ± 8.3	101 ± 8.7	95 ± 6.4	91 ± 3.3
Malonic acid- ¹³ C ₂	11 ± 9.8	30 ± 15.2	22 ± 10.8	16 ± 9.2	6.8 ± 8.7	15 ± 14.0
Succinic acid- <i>d</i> ₄	95 ± 3.1	89 ± 4.3	95 ± 6.6	95 ± 5.7	62 ± 18.8	63 ± 18.1
Pentaedionic acid- <i>d</i> ₆	98 ± 5.0	92 ± 5.2	98 ± 6.4	99 ± 5.6	77 ± 12.4	78 ± 12.5
Malic acid- ¹³ C ₄	63 ± 4.0	49 ± 4.7	72 ± 12.3	53 ± 6.8	25 ± 11.1	28 ± 8.9
3-Hydroxyglutaric acid- <i>d</i> ₅	83 ± 3.9	71 ± 6.4	85 ± 9.0	80 ± 7.9	27 ± 17.3	28 ± 14.9
Phthalic acid- <i>d</i> ₄	84 ± 4.8	77 ± 6.0	88 ± 8.2	84 ± 10.5	40 ± 14.9	49 ± 11.1
Terephthalic acid- <i>d</i> ₄	89 ± 3.6	81 ± 5.5	91 ± 7.3	90 ± 8.3	63 ± 13.9	67 ± 9.3
1,3,5-Benzene-2,4,6- <i>d</i> ₃ -tricarboxylic acid	77 ± 11.8	62 ± 11.0	88 ± 15.1	74 ± 20.2	8.9 ± 8.9	13 ± 12.8

ン酸やトリカルボン酸は 70%を切っており，特に Malonic acid- $^{13}C_2$, Malic acid- $^{13}C_4$, 3-Hydroxyglutaric acid- d_5 , 1,3,5-Benzene-2,4,6- d_3 -tricarboxylic acid は 30%以下と低い回収率であった．粗大粒子試料については，土壌粒子などに含まれる金属成分と内標準物質との酸塩基反応や，クラスター構造の形成により，誘導体化反応が阻害されている可能性が考えられる．今後は，金属成分など他の粒子に含まれている成分を調べ，その原因を解明して回収率の上昇と測定値のばらつきを小さくしていくことが望まれる．

文 献

- 1) Makiko Yamagami, Fumikazu Ikemori, Hironori Nakashima, Kunihiro Hisatsune, Kayo Ueda, Shinji Wakamatsu, Kazuo Osada: Trends in PM_{2.5} concentration in Nagoya, Japan, from 2003 to 2018 and impacts of PM_{2.5} countermeasures, *Atmosphere*, 12, 590 (2021)
- 2) 池盛文数: 炭素質エアロゾルの発生起源解明を目指したトレーサー解析手法の開発, *大気環境学会誌*, 57(1), 24–33 (2022)
- 3) Smita Agarwal, Shankar Gopala Aggarwal, Kazuhiro Okuzawa, and Kimitaka Kawamura: Size distributions of dicarboxylic acids, ketoacids, α -dicarbonyls, sugars, WSOC, OC, EC and Inorganic Ions in atmospheric particles over Northern Japan: implication for long-range transport of Siberian biomass burning and East Asian polluted aerosols, *Atmos. Chem. Phys.*, 10, 5839–5858 (2010)
- 4) Nuttapon Kumsanlas, Suthida Piriyakarnsakul, Pisith Sok, Surapa Hongtueab, Fumikazu Ikemori, Wladyslaw Witold Szymanski, Mitsuhiro Hata, Yoshio Otani, Masami Furuuchi: A Cascade Air Sampler with Multi-nozzle Inertial Filters for PM_{0.1}, *Aerosol and Air Quality Research*, 19, 1666–1677 (2019)
- 5) 池盛文数, 山神真紀子, 久恒邦裕, 長田和雄: 濃尾平野の北部から南部へ向けたバイオマス燃焼由来粒子の移流による都市部の PM_{2.5} 濃度上昇, *エアロゾル研究*, 37, 45–56 (2022)

