

誘導体化-GC/MS 法による PM_{2.5} 中の
有機マーカ一多成分測定法

2017 年 3 月

群馬県衛生環境研究所

本マニュアルは、環境研究総合推進費研究課題【5-1403】「有機マーカ一に着目した PM_{2.5} の動態把握と正値行列因子分解モデルによる発生源寄与評価」による成果として作成したものです。

1. 概要

この測定方法はフィルタに採取した PM_{2.5} 試料を使用して、PM_{2.5} に含まれるレボグルコサン、有機酸、糖類などの有機マーカ成分を有機溶媒（ジクロロメタン／メタノール）で抽出し、*N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide で誘導体化して、GC/MS で分析する方法である。

PM_{2.5} の発生源は多岐にわたり、それぞれの発生源からは特徴的な指標物質、指標元素が排出されることがある。発生源の指標となる物質を定量することで、その地域における発生源寄与割合を推計することができ、PM_{2.5} の効果的な発生源対策を考えることが可能となる。

有機粒子に関しては、燃焼系発生源から排出される一次有機粒子（POA）のほか、人為起源 VOC や植物起源 VOC から二次生成する二次有機粒子（SOA）も存在する。既往の研究において、様々な発生源に対応した指標成分が特定されている。最も代表的な有機マーカとしては、バイオマス燃焼の指標であるレボグルコサンが挙げられる。そのほか植物起源 SOA（BSOA）のマーカでは、 α -ピネン由来のピノン酸やイソプレン由来の 2-メチルテトロールが挙げられる。また、光化学反応のマーカとしてジカルボン酸類、生物起源 POA のアラビトール、調理マーカの脂肪酸やコレステロール、自動車マーカのホパン類なども知られている。

レボグルコサンについては、一般的に誘導体化—GC/MS 法によって測定され、環境省 PM_{2.5} 成分測定マニュアルとして公開されているところである。この方法では、レボグルコサンのほかにヒドロキシ基やカルボキシ基をもつ有機物も検出可能である。そこで、本測定方法では、レボグルコサンと同時に多成分を測定するための方法を作成した。なお、本測定方法は大気汚染常時監視における PM_{2.5} 成分調査に適用することを想定し、ローボリュームエアサンプラで採取された PM_{2.5} 試料を対象としている。

2. 対象成分

対象成分を表 1 に示す。対象成分は、ピノン酸（ α -ピネン由来 BSOA マーカ）、2-メチルテトロール類（イソプレン由来 BSOA マーカ）、ジカルボン酸類（C3～C9）（光化学反応マーカ）、レボグルコサン、マンノサン（バイオマス燃焼マーカ）、アラビトール（生物起源一次有機粒子（BPOA）マーカ）、17 α (H)21 β (H)-30-norhopane、17 α (H)21 β (H)-hopane などのホパン類（自動車マーカ）などである。

表 1 有機マーカ対象成分

発生源	化合物	種類	ref.
バイオマス燃焼	Levoglucozan Mannosan Vanillic acid β -Sitosterol ^{a)}	Anhydrosugar Anhydrosugar Aromatic carboxylic acid Sterol	Simoneit et al., 1999; Kourtchev et al., 2011; Hays et al., 2005, 他
光化学反応、SOA	Malonic acid Maleic acid Succinic acid Glutaric acid Adipic acid Pimelic acid Suberic acid Azelaic acid Malic acid	Dicarboxylic acid Dicarboxylic acid Dicarboxylic acid Dicarboxylic acid Dicarboxylic acid Dicarboxylic acid Dicarboxylic acid Dicarboxylic acid Dicarboxylic acid	Kawamura and Ikushima, 1993; Kawamura et al., 1996 他
光化学反応、ASOA	Phtalic acid	Dicarboxylic acid	
BSOA (isoprene)	2-methylthreitol 2-methylerythritol	Polyalcohol Polyalcohol	Claeys et al., 2004ab ; Kourtchev, et al., 2005 他
BSOA (α -pinene)	Pinonic acid	Organic acid	Claeys et al., 2007 他
BPOA	Glucose Arabitol	Sugar Sugar alcohol	Graham et al., 2003; Kourtchev et al., 2005, 2008 他
調理	Cholesterol Linoleic acid Oleic acid	Sterol Fatty acid Fatty acid	Kleeman, 2008; Schauer et al., 1999, 2002; He et al., 2006 他
燃焼ほか ^{b)}	Dodecanoic acid Tridecanoic acid Tetradecanoic acid Hexadecanoic acid	Fatty acid Fatty acid Fatty acid Fatty acid	Rogge et al. 1993 他
自動車、化石燃料 燃焼	17 α (H),21 β (H)-30-norhopane 17 α (H),21 β (H)-hopane	Hopane Hopane	Rogge et al. 1993 他
a) 農業残渣由来. 植物コレステロールの一種で調理からも排出される可能性がある。 b) 自然起源と人為起源があり、発生源は複数存在する。			

3. 装置及び器具

本測定方法で使用する器具や装置については、基本的にはレボグルコサン測定方法（環境省マニュアル）と同じであるため省略する。

4. 試薬

- (1) ジクロロメタン（5000 倍濃縮）
- (2) メタノール（5000 倍濃縮）

(3) ヘキサン (5000 倍濃縮)

(4) 誘導体化試薬

N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA) に 10% Trimethylchlorosilane (TMCS) が混合された試薬 (BSTFA + 10%-TMCS)

(5) 標準物質

① 標準物質

測定対象物質は純度 98%以上のものを用いる。2-メチルテトロールに関しては市販されている標準品がないため、類似構造をもつ meso-エリスリトールで代用する。

② 標準原液 (1mg/mL)

標準物質 20 mg を正確に秤量し、アセトニトリル (ただし、meso-エリスリトールはメタノール、糖、糖アルコール、C₁₂~C₁₆カルボン酸、リンゴ酸、フタル酸はアセトニトリル/メタノール混合溶媒、ステロール類はトルエンを用いる) に溶解して全量フラスコで 20 mL とする。ホパン類の市販品は例えばホパン・ステラン混合標準 (NIST SRM2266) がある。

③ 混合標準溶液 (0.1 mg/mL)

溶媒の種類毎に標準原液の既知量を混合し、定容して混合標準を作成する。

④ 内標準物質

レボグルコサン-*d*₇、ケトピン酸

⑤ 内標準原液 (0.05 mg/mL)

それぞれ 20 mg をアセトニトリルに溶解して 20 mL に定容したのち、同量を混合する。本溶液 2 μL 中には各 1 μg の内標準物質が含まれる。

5. 試験液の調製

(1) 試料フィルタ (石英繊維フィルタ) の適量を切り取り、共栓付褐色遠沈管 (10 mL) に入れ、内標準原液 2 μL (各 1 μg) をそれぞれ添加する。これにジクロロメタン/メタノール (2 : 1(v/v)) を加え、超音波発生装置により 15 分間超音波をかけて対象物質を抽出する。本マニュアルでは、47 mmφ フィルタの 1/2 枚を使用し、抽出液は 5 mL とした。(有機マーカー濃度はサンプリング地点によって大きく変わる可能性があるため、使用するフィルタの量等はそれぞれの地点にあわせて適宜調整することが望ましい。)

(2) 親水性PTFEシリンジフィルタを装着したガラス製シリンジを用いて、抽出液の全量をろ過する。

(3) このろ液にN₂ガスを穏やかに吹き付けてある程度濃縮する。ろ液を1mLリアクティブバイアルに移し、さらにN₂ガスを吹き付けてほぼ乾固するまで溶媒を揮散する。

(4) (3)に誘導体化試薬のBSTFA + 10%-TMCSを50 μL添加する。

(5) ドライバスを用いて70°Cで2時間加熱し、測定対象物質や内標準物質の誘導体化(トリメチルシリル化)を行う。

(6) ジクロロメタン／ヘキサン（1：1(v/v)）を350 μ L加え、GC-MS用の試験液とする。

6. GC/MS 分析

6.1 GC/MS 分析条件

GC/MS に使用するカラムおよび分析条件を表 2 に示す。大部分の成分は表 2 の Method A で分析出来る。ホパン類、コレステロール、 β -シトステロール、オレイン酸、リノール酸に関しては、PM_{2.5} ローボリュームサンプラで取得したフィルタ試料では試料量が足りない可能性が高いため、その場合は、より高感度で検出できる sim/scan 法での GC/MS 分析条件（表 2, Method B）で同じ試験液を用いて別途測定するとよい。表 2 の条件で分析した場合の各成分の保持時間と定量用質量数を表 3 に示す。なお、ここで示す分析条件は一例であるため、分析装置の状況に応じて適宜変更する。

表 2 GC/MS 分析条件

	Method A	Method B
Column:	Agilent DB-5MS, 60 m \times 0.25 mmID \times 0.25 μ m	
Oven temp.:	60 $^{\circ}$ C(1min) – 10 $^{\circ}$ C/min – 200 $^{\circ}$ C – 5 $^{\circ}$ C/min – 300 $^{\circ}$ C(15min)	60 $^{\circ}$ C (1min) – 15 $^{\circ}$ C /min – 300 $^{\circ}$ C (20min)
Carrier gas:	He 1 mL/min	He 1 mL/min
Injection:	Spritless, 1 μ L	Spritless, 2 μ L
Inlet temp.:	270 $^{\circ}$ C	270 $^{\circ}$ C
Interface temp.:	280 $^{\circ}$ C	280 $^{\circ}$ C
Ionization:	EI, 70eV	EI, 70eV
Ion source temp.:	230 $^{\circ}$ C	230 $^{\circ}$ C
Detection mode:	scan	sim/scan

表 3 有機マーカー（トリメチルシリル化）のリテンションタイムと定量イオン

Compounds	RT	Base ion fragments	Compounds	RT	Base ion fragments
Malonic acid	12.77	233	Tetradecanoic acid	22.15	285
Maleic acid	14.26	245	Glucose	22.67, 23.86	204
Succinic acid	14.39	247	Hexadecanoic acid	25.29	313
Glutaric acid	15.65	261	Linoleic acid	28.03	337
Malic acid	16.69	233		(18.34) ^a	
(meso Erythritol)	16.93	217	Oleic acid	28.11	339
Adipic acid	17.04	275		(18.3) ^a	
2-methylthreitol	17.36	219	Cholesterol	44.64	329
Pinonic acid	17.51	171		(30.89) ^a	
2-methylerythritol	17.62	219	β -Sitosterol	50.68	396
Pimelic acid	18.41	289		(36.76) ^a	
Dodecanoic acid	19.18	257	17 α (H),21 β (H)-30-norhopane ^b	43.21	191
Mannosan	19.58	333		(29.56) ^a	
Phtalic acid	19.78	295	17 α (H),21 β (H)-hopane ^b	45.37	191
Suberic acid	19.79	303		(31.57) ^a	
Levogluconan	19.86	333			

Arabitol	19.96	307	IS		
Tridecanoic acid	20.65	271	Levoglucozan-d7	19.8	339
Vanillic acid	20.84	297		(14.78) ^a	
Azelaic acid	21.26	317	Ketopinic acid	17.36	239
				(13.48) ^a	

a: GC/MS 条件 Method B で測定した場合のリテンションタイム

b: 誘導体化物ではない

6.2 試料の分析

- (1) GC/MS を稼動させ、MS チューニング、測定条件の設定、カラムコンディショニング等を行い、測定可能な状態にする。
- (4) 標準物質の測定を行い、6.3 のように検量線を作成する。
- (5) 試験液を入れたバイアルをオートサンプラにセットし、GC/MS 測定を行う。
- (6) 得られたクロマトグラムから、標準物質の保持時間と比較して該当ピークを選び、5.3 による標準溶液のマススペクトルのパターンと比較し、分析対象物質であることを確認する。
- (7) 試験液における対象物質と内標準物質のピーク強度比を求め、検量線から対象物質の濃度を求める。

6.3 検量線の作成

- (1) 測定対象物質の混合標準溶液と内標準原液を用いて、測定対象物質の添加量が 0.1~5 µg 及び内標準物質が一定量(各 1 µg)になるようにリアクティブバイアルに添加し、標準濃度系列を作成する。
 - (2) バイアル内の標準溶液に穏やかに窒素ガスを吹き付け、ほぼ乾固するまで溶媒を除く。
 - (3) 5.(4)~(6)の操作により対象物質と内標準物質の誘導体化を行い、各濃度の試験液を調製する。
 - (4) 調製した標準濃度系列の試験液を GC/MS で測定する。
 - (5) 測定対象物質の誘導体化物及び内標準物質の誘導体化物の定量用質量数のピーク強度比を求め、検量線を作成する。なお、内部標準として有機酸はケトピン酸、糖類はレボグルコサン-d7 を用いる。図 1 に検量線の例を示す。アゼライン酸、脂肪酸、ステロール類は二次曲線の検量線にするか範囲を低濃度・高濃度に限定した回帰直線にしたほうがよい。
- 注；ここで示す検量線濃度範囲は一例のため、測定する試料に応じて適宜変更する。

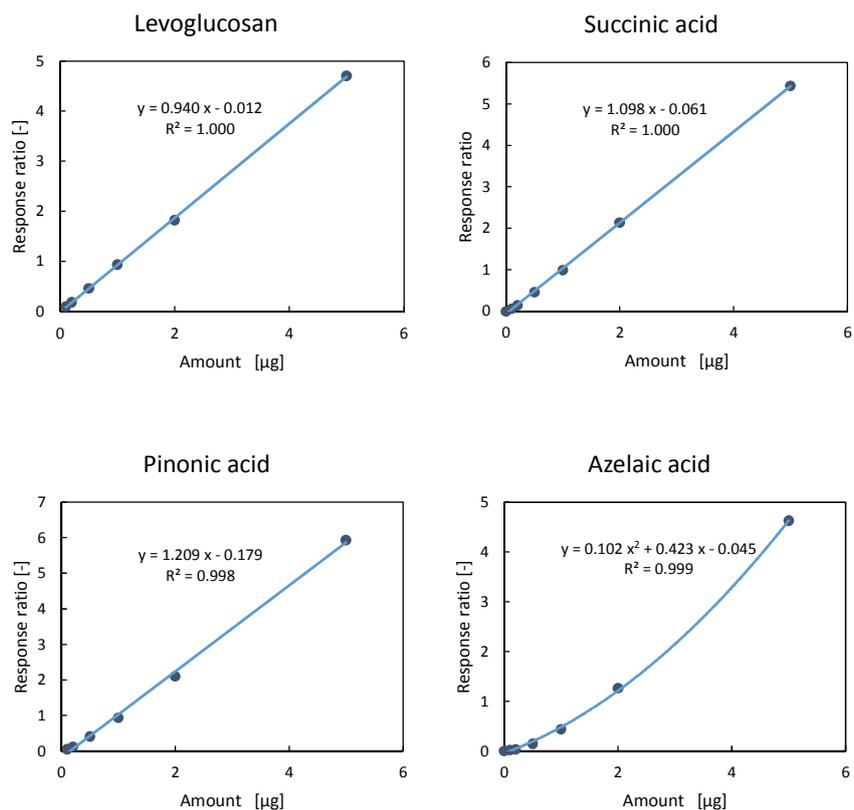


図1 検量線の例（レボグルコサン、コハク酸、ピノン酸、アゼライン酸）

7. 濃度の算出

次式により大気中の分析対象物質の濃度を算出する。

$$C = \frac{(Q_s - Q_t)}{V} \times \frac{S}{s} \times 1000$$

C : 大気中の微小粒子状物質（PM_{2.5}）に含まれる分析対象物質の濃度（ng/m³）

Q_s : 試料中の分析対象物質の量（μg）

Q_t : ブランク試料中の分析対象物質の量（μg）

操作ブランク値とトラベルブランク値が同等の場合は操作ブランク値を差し引く。

V : 大気試料捕集量（m³）

S : PM_{2.5} 試料を捕集したフィルタ面積（cm²）

s : 分析に用いたフィルタ面積（cm²）

8. その他

精度管理項目（検出下限値、定量下限値、トラベルブランク、操作ブランク、感度確認など）については、レボグルコサン測定法（環境省マニュアル）を参照されたい。

9. 発生源寄与解析事例

常時監視 PM_{2.5} 成分調査と同じ手法で取得された PM_{2.5} 試料について、上記分析法を用いて有機マーカの測定を行った。得られた有機マーカを含む成分データセットを用いて、正値行列因子分解モデル（PMF 解析）を行うことで、有機粒子について従来よりも詳細な発生源寄与評価が可能になる。有機マーカを含む PM_{2.5} 成分データセットを用いた PMF 解析事例を以下に示す。

9.1 観測方法

都市地点（埼玉県さいたま市）、郊外地点（群馬県前橋市）、森林地点（赤城山山頂付近）において、2014 年 12 月～2015 年 10 月の四季の各季節 2 週間、PM_{2.5} 成分測定を実施した。PM_{2.5} 採取方法（ローボリュームサンプラによる 24 時間採取）およびイオン成分、炭素成分、元素成分、水溶性有機炭素成分の測定は、環境省マニュアルに従い実施した。

9.2 発生源寄与解析概要

PMF 解析に用いたデータセットは表に示すとおり。データスクリーニングの際、検出下限未満の試料数が多い成分、再現性が悪い成分などは対象外とし、実際に使用したマーカ成分は 17 成分であった。有機マーカを含まないデータセットで解析を行った場合（既往の研究では、広域汚染、自動車、硝酸塩、重油燃焼、硫酸塩、土壌+道路粉じん等の 6～7 因子が分解されるケースが多い）に比べ、より多くの因子（本研究ではバイオマス燃焼、イソプレン由来 BSOA、モノテルペン由来 BSOA、BPOA、調理、都市ローカル OA などを含む 12 因子）が抽出された。

なお、観測データおよび解析結果の詳細については、環境研究総合推進費研究課題【5-1403】最終報告書を参照されたい。

表 4 有機マーカーに着目した発生源寄与解析事例

観測地点数 :	3 地点 (都市、郊外、森林)	
調査期間 :	2014 年 12 月、2015 年 5-6 月、8 月、10 月	
試料数 :	n=167	
データ項目 :	38 項目	
(内訳)	・ PM2.5 質量濃度	
	・ イオン成分 (8)	Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ , Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , NO ₃ ⁻ , (COO) ₂ ²⁻
	・ 炭素成分 (2)	OC, EC
	・ 元素成分 (10)	Al, V, Mn, Fe, Cu, Zn, As, Cd, Ba, Pb
	・ 有機マーカー成分 (17)	Levoglucosan, Malonic acid, Succinic acid, Glutaric acid, Adipic acid, Azelaic acid, Malic acid, Phtalic acid, Pinonic acid, 2-methyltetrols, β -sitosterol, Arabitol, Glucose, C ₁₆ acid, Linoleic acid, Oleic acid, 17 α (H),21 β (H)-30-norhopane
解析結果 :	抽出因子 12 因子 (バイオプライマリー、モノテルペン由来 BSOA、イソプレン由来 BSOA、調理、都市ローカル OA、バイオマス燃焼、自動車+道路粉じん、硝酸塩、硫酸塩 (重油燃焼)、硫酸塩 (広域汚染・石炭燃焼)、広域汚染、土壌)	

10. 参考文献

- Claeys, M., Graham, B., Vas, G., Wang, W., Vermeylen, R., Pashynska, V., Cafmeyer, J., Guyon, P., Andreae, M. O., Araxo, P., Maenhaut, W.: Formation of secondary organic aerosols through photooxidation of isoprene, *Science*, **303**, 1173–1176 (2004a).
- Claeys, M., Wang, W., Ion, A. C., Kourtchev, I., Gelencser, A., Maenhaut, W.: Formation of secondary organic aerosols from isoprene and its gas-phase oxidation products through reaction with hydrogen peroxide, *Atmos. Environ.*, **38**, 4093–4098 (2004b).
- Claeys, M., Szmigielski, R., Kourtchev, I., Van der Veken, P., Vermeylen, R., Maenhaut, W., Jaoui, M., Kleindienst, T., Lewandowski, M., Offenberg, J.H., Edney, E.O., Hydroxydicarboxylic acids: novel markers for secondary organic aerosol from the photooxidation of α -pinene, *Environ. Sci. Technol.*, **41**, 1628–1634 (2007).
- Graham, B., Guyon, P., Taylor, P.E., Artaxo, P., Maenhaut, W., Glovsky, M.M, Flagan, R.C., Andreae, M.O.: Organic compounds present in the natural Amazonian aerosol: characterization by gas chromatography– mass spectrometry, *J. Geophys. Res.*, **108**, 4766 doi:10.1029/2003JD00399 (2003).
- Hays, M.D., Fine, P.M., Gerona, C.D., Kleeman, M.K., Gullett, B.K.: Open burning of agricultural biomass: Physical and chemical properties of particle-phase emissions, *Atmos. Environ.*, **39**, 6747–6764 (2005).
- He, L.Y., Hu, M., Huang, X.F., Zhang, Y.H., Tang, X.Y.: Seasonal pollution characteristics of organic compounds in atmospheric fine particles in Beijing, *Sci. Total Environ.*, **259**, 167-176 (2006).

- Kawamura, K., Ikushima, K.: Seasonal changes in the distribution of dicarboxylic acids in the urban atmosphere, *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 2227-2235 (1993).
- Kawamura, K., Kasukabe, H., Barrie, L.A.: Source and reaction pathways of dicarboxylic acids, ketoacids and dicarbonyls in arctic aerosols: one year of observations. *Atmos. Environ.*, **30**, 1709-1722 (1996).
- Kleeman, M.J., Robert, M.A., Riddle, S.G., Fine, P.M., Hays, M.D., Schauer, J.J., Hannigan, M.P.: Size distribution of trace organic species emitted from biomass combustion and meat charbroiling, *Atmos. Environ.*, **42**, 3059-3075 (2008).
- Kourtchev, I., Ruuskanen, T., Maenhaut, W., Kulmala, M., Claeys, M.: Observation of 2-methyltetrols and related photo-oxidation products of isoprene in boreal forest aerosols from Hyytiälä, Finland, *Atmos. Chem. Phys.*, **5**, 2761-2770 (2005).
- Kourtchev, I., Claeys, M., Warnke, J., Hoffmann, T., Maenhaut, W.: Polar organic marker compounds in PM_{2.5} aerosol from a mixed forest site in western Germany, *Chemosphere*, **73**, 1308-1314 (2008).
- Kourtchev, I., Hellebust, S., Bell, J.M., O'Connor, I.P., Healy, R.M., Allanic, A., Healy, D., Wenger, J.C., Sodeau, J.R.: The use of polar organic compounds to estimate the contribution of domestic solid fuel combustion and biogenic sources to ambient levels of organic carbon and PM_{2.5} in Cork Harbour, Ireland, *Sci. Total Environ.*, **409**, 2143-2155 (2011).
- Rogge, W.F., Hildemann, L.M., Mazurek, M.A., Cass, G.R., Simoneit, B.R.T.: Sources of fine organic aerosol, 2. Noncatalyst and catalyst-equipped automobiles and heavyduty diesel trucks, *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 636-651 (1993).
- Schauer, J.J., Kleemann, M.J., Cass, G.R., Simoneit, B.R.T.: Measurement of Emissions from Air Pollution Sources. 1. C1 through C29 Organic Compounds from Meat Charbroiling, *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 1566-1577 (1999).
- Schauer JJ, Kleeman MJ, Cass GR, Simoneit B.R.T.: Measurement of emissions from air pollution sources 4 C1-C27 organic compounds from cooking with seed oils. *Environ. Sci. Technol.* **36**, 567- 75 (2002).
- Simoneit, B.R.T., Schauer, J.J., Nolte, C.G., Oros, D.R., Elias, V.O., Fraser, M.P., Rogge, W.F., Cass, G.R.: Levoglucosan, a tracer for cellulose in biomass burning and atmospheric particles, *Atmos. Environ.*, **33**, 173-182 (1999).

研究担当者

- 熊谷貴美代 (群馬県衛生環境研究所)
 田子 博 (群馬県衛生環境研究所)
 齊藤由倫 (群馬県衛生環境研究所)
 飯島明宏 (高崎経済大学)
 工藤慎治 (高崎経済大学)