

年間特集「空」：報 文

大容量注入インライン濃縮 HPLC/MS 分析による 大気中ニトロフェノール類日内変動の解析

長井 淳¹, 中村 行秀¹, 大平 慎一¹, 戸田 敬^{®1}

ニトロフェノール類 (NPs) は健康リスクのある化合物として知られており, また, 大気中で様々な経路により生成するが, その実態はあまり知られていない. 本研究では, シリカゲル充填チューブに2時間ごとに捕集した NPs を高速液体クロマトグラフィー/質量分析法 (HPLC/MS) にて分析を行い, 日内変動の解析を試みた. 捕集法の検討や HPLC への大容量注入濃縮の自動化をはかり, 各種 NP の分析が可能になった. 検出には大気圧イオン化質量分析を用いた. 2時間捕集による大気中各種 NP の定量下限は $0.08 \sim 0.67 \text{ ng m}^{-3}$ の範囲であった. 本法により日内変動を調べたところ, 夏は日中に濃度が高くなり, また冬は夜半前に高濃度になり, 季節で異なった日内変動パターンが得られた. これは, 季節により, 支配的となる二次的生成機構が異なったためと考えられる. すなわち, 夏季は OH ラジカル, 冬季は NO_3 ラジカルに起因する反応に依存していると考えられる. また, 冬季の NP 総濃度は夏より高濃度となり, 特に 2-nitrophenol が約半分を占めた. 逆に夏はモノニトロフェノールのジニトロ化の進行が示唆された. 雨水に含まれる NPs やフィルターに捕集された NPs についても分析を行ったところ, 大気中 NO_2 の増減と同じような季節変動を示した. 一連の分析結果から, 各種 NP の存在状態は極性や反応性によってそれぞれ異なっており, また大気中で二次的な生成や消失を繰り返しながら大きく濃度変動していることが示された.

1 緒 言

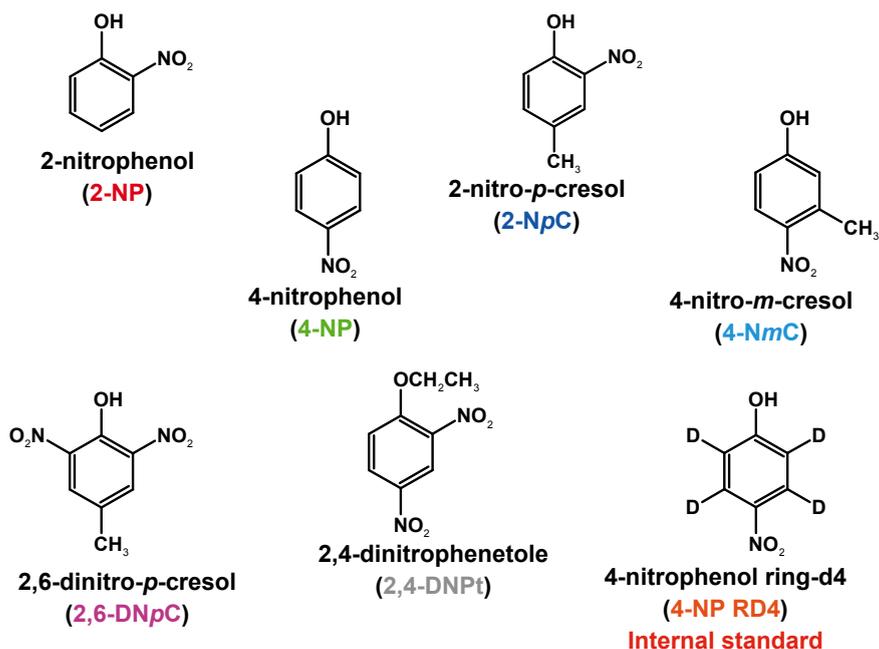
ベンゼン環にニトロ基と水酸基の双方を持つニトロフェノール類 (NPs) は, 各特性基の数や位置並びにメチル基など他の置換基により様々な異性体を持つ. 一般に, 窒素原子を有する有機化合物は毒性の高いものが多く, またフェノール水酸基により極性が高く, 生体組織へとり込まれやすい. NPs を吸入・経口摂取した場合, メトヘモグロビン血症に陥り, 痙攣や頭痛, 意識喪失等を引き起こすと言われている¹⁾. また, 植物に対しても, 表皮から浸透し生育を阻害する²⁾. このため, NPs は森林減衰の要因の一つではないかとも推察されている³⁾⁴⁾. このような背景から, 米国環境保護局は, NPs のいくつかを優先汚染物質として指定している⁵⁾⁶⁾. NPs は, 除草剤や殺虫剤の分解やプラスチック・製紙産業での使用並びに化石燃料や有機物の燃焼等による一次的な環境への放出^{7)~9)}とともに, 大気中で二次的に生成する¹⁰⁾. 例えばチャンバー実験によって, 芳香族炭化水素と NO_2 が, OH ラジカルや NO_3 ラジカルの存在下で反応し, NPs を生成することが確認されている¹¹⁾¹²⁾. このような反応が実際の大气で起こっていると考え

えられる. しかし現在のところ, 大気中 NPs の挙動に関して考察した報告は少ない. NPs の二次生成に必要な物質は日射や人間活動の推移により, 日内で大きく変動しているため, NPs の濃度もそれに依りて変動していると考えられる. そこで本研究では, 大気中 NPs を2時間ごとに採取して測定を行い, その組成や濃度の変動における知見を求めた. また, 雨水中の NPs やフィルターに捕集した NPs の存在量も補助的なデータとして取り上げ, 長期的な変動の解析に盛り込んだ.

今回対象とした物質は Scheme 1 に掲げる 6 種である. いずれも人体に対して有害であり, 特に 4-nitrophenol (4-NP) は米国環境保護局が優先汚染物質として指定している⁵⁾. まずこれらの物質を対象に分析法の確認を行った. 主な点は, 大気中 NPs 捕集法の再検討を行ったことと, 水中フェノール類の高速液体クロマトグラフィー-紫外 (HPLC-UV) 検出器による分析法¹³⁾¹⁴⁾をもとに大容量注入・濃縮を自動化し, また同時に溶離液流量低減やカラムサイズの小型化により大気圧化学イオン化 (atmospheric pressure chemical ionization: APCI) 質量分析 (MS) への適用をはかり, large volume injection preconcentration (LVPC) を組み込んだ LVPC-HPLC/APCI-MS を確立した. 自動捕集法と分析法の検討により2時間ごとの大気データが得られるようになり, 日内変動の追跡が可能になった.

[®] E-mail: todakei@sci.kumamoto-u.ac.jp

¹ 熊本大学大学院自然科学研究科理学専攻化学講座: 860-8555
熊本県熊本市中央区黒髪 2-39-1



Scheme 1 Nitrophenols investigated in this work

2 実 験

2.1 サンプルング

大気中の NP の採取は、シリカゲル充填チューブを用いて行った。フリット付き固相抽出用エンプティエーリザーバー（ポリプロピレン製 3 mL, 5010-60101, ジーエルサイエンス製, 東京）にシリカゲル（MTO-Davison silica gel grade 12, 60/80 mesh, particle size 40 μm , Sigma-Aldrich 製, St. Louis, MO）500 mg を充填し、上端をポリエチレン製フリットで蓋をして捕集チューブを作成した。本捕集チューブをアルミホイルで覆い、エアポンプ（ML-6BS, テクノ高槻製, 大阪）を用いて流量 4.0 L min^{-1} で大気を吸引した。なお捕集流量については、電子式質量流量センサー（PFM710-C6-C-M (10 LM), SMC 製, 東京）の出力をデータロガーに記録した。

NP 濃度の日内変化を調べるため、森林大気酸性成分をフィルターに自動採取するために開発したコレクションチェンジャー¹⁵⁾を、シリカゲル充填チューブ用に改造した。本チェンジャーは、ミニ電磁弁（VQ110-6G, SMC 製）、マニホールド（VV3Q12-12, SMC 製）、ツインタイマー（H5CX-AD, オムロン製, 京都）、12 V 電源（JBW-30, TDK 製, 東京）、内製した切り替え回路基板からなり、通常は 2 時間ごとに捕集カラムの切り替えを行い、3 日間連続して捕集を行った。

捕集したカラムは翌日直ちに吸引マニホールド（GL-SPE, ジーエルサイエンス製）にセットし 1% 酢酸水溶液 8 mL を用いて抽出した。抽出液は 15 mL サンプルチューブに受け、冷蔵庫内に保管し、24 時間以内に分析を

行った。また、抽出後のカラムはメタノール、アセトン各 4 mL を用いて洗浄し、チューブ入口窒素雰囲気下 1 時間吸引マニホールドで減圧乾燥後、再度コレクションチェンジャーにセットして捕集を行った。

前述のシリカゲル充填チューブによる日内変動調査に加え、石英ファイバーフィルター（QR-100, ϕ 37 mm, アドバンテック製, 東京）によるエアロゾルの 1 週間捕集（2.2 L min^{-1} ）を繰り返し、本フィルターの水抽出物分析による長期的な変動調査を行った。また、雨水の採取を堀場製作所製のレインゴーランドを用いて行った。大気中 NP の採取や雨水の採取は熊本大学自然科学研究科新棟（9 階建て）の屋上で行った。

NP の採取の期間、オゾンや NO_2 についても、それぞれ Model 49i, 42i（いずれも日本サーモ製, 京都）を用いて 10 分ごとのデータを収集した。

シリカゲル充填チューブによる捕集との比較のため、ソーダライム（No.2 中粒状, 和光純薬工業製, 大阪, 0.1 mm 以下に粉碎したもの 500 mg）充填カラムへの捕集や、純水や 0.1 M KOH 溶液 20 mL への捕集について添加回収試験を行った。次項で述べる 6 種の NP 各 100 ng を捕集カラム及び吸収液に添加し、精製空気を 4 L min^{-1} で通気したあと、残存する各 NP を分析して回収試験を行った。

2.2 試 薬

NP の試験試薬として、2-nitrophenol (2-NP), 4-nitrophenol (4-NP), 2-nitro-*p*-cresol (2-NpC), 4-nitro-*m*-cresol (4-NmC), 2,6-dinitro-*p*-cresol (2,6-DNpC), 2,4-dinitrophenetole (2,4-DNpT), いずれも東京化成工業製（東京）

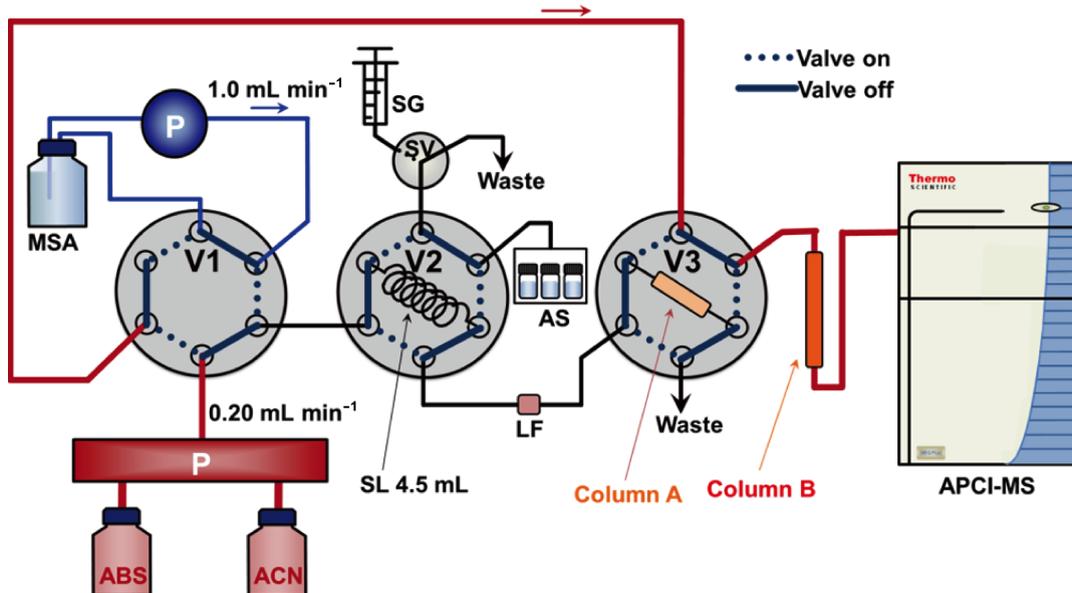


Fig. 1 Flow diagram of LVPC-HPLC-APCI-MS for the analysis of NPs
 P, plunger pumps; AS, auto-sampler; V1-3, automated 6 port valves; SV, three-way switching valve; SG, syringe (1 mL); SL, sample loop; LF, line filter; column A, concentrator column; column B, separation column; APCI-MS, atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometer.

を用いた。各保存溶液 (1000 mg L^{-1}) をアセトニトリル (ACN) 溶媒で調製し、それぞれの保存溶液から分取して NP 混合 (各成分 100 mg L^{-1}) ACN 溶液を調製した。その後適宜水で希釈して各成分 $0, 0.2, 1, 2, 5, 10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ の標準溶液を調製した。また、内部標準として Cambridge Isotope Laboratories (Andover, MA) から購入した 4-nitrophenol ring-d4 (4-NP RD4) を用いた。4-NP RD4 は 1000 mg L^{-1} 保存溶液を ACN で 2 度希釈して 1 mg L^{-1} の 4-NP RD4 溶液を得た。

HPLC には、濃縮カラムのコンディショニング溶液と濃縮カラムからの溶出と分離に用いる溶離液を調製した。濃縮カラムコンディショニング溶液は 0.2 mM メタンスルホン酸 (MSA) の 1% ACN 水溶液とし、溶離液は 25 mM 酢酸 + 25 mM 酢酸アンモニウム混合水溶液 (ABS) と 100% ACN をグラジエント混合で用いた。水はすべてミリポア製 Simplicity UV による超純水を用いた。

2・3 ニトロフェノール類の HPLC/MS 分析

各抽出試料や雨水をシリンジフィルター (IC Acrodisc® 13 mm, pore size $0.2 \text{ } \mu\text{m}$, Pall 製, New York, NY) により汙過し、汙液 6 mL を 10 mL バイアル瓶に入れ、内部標準 1 mg L^{-1} の 4-NP RD4 $60 \text{ } \mu\text{L}$ を添加した。

今回の測定システムでは、HPLC 既設の 6 方バルブ V2 に加え、自動 6 方バルブ (C2-1006EH, Valco Instruments 製, Houston, TX) を 2 式 (V1, V3) 追加して LVPC-HPLC-APCI-MS システムを構築した (Fig. 1)。HPLC はダイオネクス製 Ultimate 3000 を用いたが、オートサンプラーのシ

リンジには 1 mL シリンジ (4000, Kloeohn) を取り付け、また、サンプルループには既存の $100 \text{ } \mu\text{L}$ ループと直列に $0.75 \text{ mm i.d.} \times 1/16''$ PEEK チューブ 10 m を取り付け、大容量注入を可能にした (総量 4.5 mL)。なお、試料バイアルには 10 mL 容器を用いた。分析のシーケンスを Table 1 に示す。まず、V2 on の状態で 1 mL シリンジで 5 回吸引し、試料溶液を 4.5 mL サンプルループへ導入する。大容量ループを通しての導入なので、吸引の都度シリンジピストンの位置を 25 秒保持して試料のループへの移動を完了させた。V2 を off に戻し V1 を on にするとループに MSA/ACN 溶液 (1 mL min^{-1}) が導入され、試料をインラインフィルター ($2 \text{ } \mu\text{m}$ フリット, A-430, UpChurch 製, Oak Harbor, WA) を通して濃縮カラム (IonPac® NG1, $\phi 4 \times 50 \text{ mm}$, Dionex 製, Sunnyvale, CA) へ導入する。本濃縮カラムは、ポリスチレン-ジビニルベンゼン共重合体による $10 \text{ } \mu\text{m}$ 径の樹脂を充填したものである。10 分間の導入後、V1 を off, V3 を on にすると、それまでバイパスしていた溶離液 (ABS/ACN, 0.2 mL min^{-1}) が濃縮カラムを経由する。その結果トラップされていた NPs が分離カラム (Acclaim PA®, $\phi 2.1 \times 100 \text{ mm}$, $3 \text{ } \mu\text{m}$ particle size, Dionex 製) に導入され各成分を分離する。分離カラムの充填剤は、シリカ表面にスルファミド基をエーテル結合させこれを介して C16 官能基を結合させたもので、極性化合物の分離に向いている。分析終了後、濃縮カラムを ACN 溶液で洗浄し次の試料導入に備える。

NPs の検出は、APCI による質量分析で行った。用いた質量分析器はサーモサイエンティフィック製 MSQ Plus で、条

Table 1 Sequence of LVPC-HPLC

Time/min	Event	Loop	Column A	Column B	ABS/ACN	V1	V2	V3
0-10		Washing with ACN			0/100	Off	Off	Off
10-20		Conditioning with MSA	MSA (trap)	Washing	0/100	On	Off	Off
20-30				Conditioning with ABS/ACN	75/25	On	Off	Off
30-40 ^{a)}	Load	Loading			75/25	On	On	Off
40-50	Injection	MSA	MSA (trap)		75/25	On	Off	Off
50-65		—	Elution	Separation	75/25 → 30/70	Off	Off	On
65-75		—	Elution	Separation	30/70	Off	Off	On

a) Time for sample loading was not included in HPLC program.

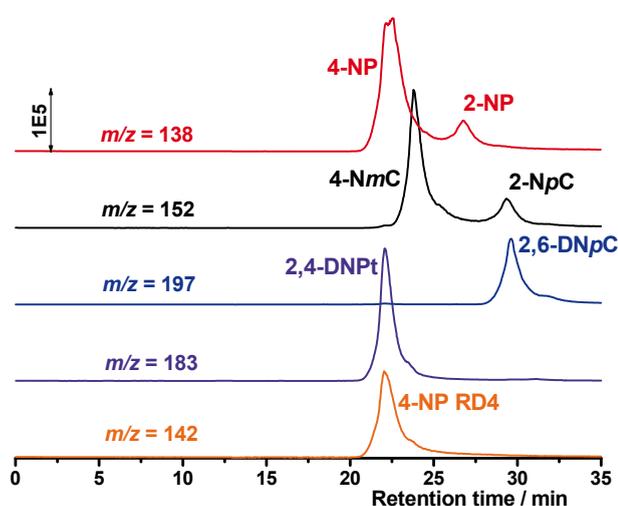


Fig. 2 Chromatograms obtained for analytes of NPs and the internal standard (4-NP RD4), for which each concentration was $10 \mu\text{g L}^{-1}$

件を検討した結果プローブ温度 550°C 、コロナ電流 $30 \mu\text{A}$ 、窒素流量 7.5 L min^{-1} で分析を行った。

3 結果と考察

3.1 LVPC-HPLC-APCI-MS による NPs 分析特性

Fig. 2 に示すクロマトグラムのとおり、各分析種の分離時間は 20~25 分に集中したが、モニタロ化したフェノール (2-NP, 4-NP: m/z 138) やクレゾール (2-NpC, 4-NmC: m/z 152) など質量数が等しい異性体同士を相互に分離することができた。また、大容量注入により、シングル MS でも $0.04 \sim 0.32 \mu\text{g L}^{-1}$ の定量限界 (LOQ, $S/N = 10$) を得た。これは liquid core waveguide による光路長 1420 mm の光学検出器やタンデム質量分析 (MS/MS) 検出の定量限界¹⁶⁾とほぼ同等であり、かつ一般的な HPLC-MS/MS¹⁷⁾より高感度であった。この定量限界は、日内変化を測定する短時間捕集 ($4 \text{ L min}^{-1} \times 2 \text{ h}$) の場合、 $0.08 \sim 0.67 \text{ ng m}^{-3}$ の大気濃度に相当する。各ニトロフェノール

の検出特性を Table 2 にまとめた。Kohler ら¹⁸⁾は 500 mL の雨試料を固相抽出や溶媒蒸発によって最終的に 40 μL まで濃縮したのに対し、本法では比較的少量 ($>5 \text{ mL}$) の試料で分析が可能で、かつ前処理も含めて自動化した。溶媒の蒸発濃縮過程を含まないので、NPs のような揮発性の高い分析種の分析に有利である。

3.2 NPs の捕集

大気中 NPs の捕集方法として、純水や KOH 水溶液へのバブリング、並びにソーダライム充填チューブやシリカゲル充填チューブへのトラップを検討した。各捕集法による回収試験結果を Table 3 に示す。回収試験は、各吸収溶液や捕集カラムに NPs を直接添加し、その後、日内変動調査と同じ条件で空気を 2 時間通気した。その後各吸収溶液や捕集カラムに残存する NPs を定量して回収試験を行った。吸収溶液の場合はそのまま、捕集チューブの場合は 1% 酢酸水溶液 8 mL により抽出して分析を行った。

Table 3 に示すとおり、バブリングの場合いくつかの NPs について定量的な回収が得られたが、2-NP と 2-NpC についてはほとんど回収されなかった。これら両物質は他の物質より揮発性が高く、吸収溶液に保持されず揮散したと考えられる。ヘンリー定数も 2-NP 77 M atm^{-1} 、2-NpC 68 M atm^{-1} であり、4-NP $7.7 \times 10^5 \text{ M atm}^{-1}$ や 4-NmC $6.2 \times 10^4 \text{ M atm}^{-1}$ と比較すると 2~3 桁小さい¹⁹⁾²⁰⁾。塩基性溶液 (NaOH) によるスクラバーによってフェノール類を捕集した例もあり²¹⁾、吸収液を塩基性になると、フェノールの酸性特性によってより高い保持が得られると期待したが、2-NP で回収率が 0 から 6.1% に向上した程度で、0.1 M KOH 水溶液でも純水の場合とほぼ同じ結果であった。

一方カラム捕集の場合、双方の充填剤において物質の種類による差はほとんどなかった。しかし塩基性のソーダライムによる回収率ではシリカゲルの 2/3 程度であった。シリカゲルではいずれの物質についてもほぼ定量的な回収率が得られた。そこで、シリカゲル充填チューブを 2 本直列

Table 2 Characteristics of chromatographic analysis of NPs by LVPC-HPLC-APCI-MS

Compound	m/z	t_R/min	LOD/ $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD for 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ standard/% ^{a)}	R^2 ^{b)}
2-NP	138	26.5	0.056	0.19	8.1	0.9966
4-NP	138	22.8	0.017	0.055	4.7	0.9991
2-NpC	152	29.1	0.058	0.19	3.2	0.9934
4-NmC	152	23.8	0.012	0.040	11.1	0.9994
2,6-DNpC	197	29.1	0.037	0.12	3.8	0.9999
2,4-DNPt	183	22.3	0.097	0.32	7.0	0.9940

a) $n = 4$, b) correlation coefficient of calibration curve obtained from data for 0, 1, 2, 5 and 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ NP standard solutions.

Table 3 Recovery test for four kinds of collection methods

Compound	Recovery/%			
	Bubbling		Column	
	Pure water	KOH	Soda lime	Silica gel
2-NP	0	6	62	87
4-NP	107	91	75	99
2-NpC	0	0	79	95
4-NmC	92	99	66	90
2,6-DNpC	94	82	66	99
2,4-DNPt	105	102	62	96

In both bubbling and column tests, NP (100 ng each) was added to the absorbing solutions and columns, and 4 L min^{-1} of air was passed through for 2 h (2 L min^{-1} in case of bubbling). After that the NPs contained in the collectors were analyzed by HPLC-APCI-MS.

に接続し, 約 0.5 ppmv の 2-NP 蒸気を 4 L min^{-1} で 2 時間通気した. このときの upstream, downstream のカラム中に捕捉された 2-NP 量から捕捉率を求める²²⁾と $99.5 \pm 0.2\%$ ($n = 3$) であり, 揮発性の高い 2-NP でもシリカゲル充填チューブに定量的に捕集された. さらに, 捕集した化学種は通気中もカラム内にとどまり定量的に分析できることが示された.

3.3 大気中 NPs の日内変動

5 月, 10 月, 12 月に得られた日内変動データを Fig. 3, この間の組成を総合的にまとめた結果を Table 4 に示す. これら 6 種の NPs 総濃度の 3 日間平均は, 5 月 28 日~30 日は 26.6 ng m^{-3} , 10 月 10 日~12 日は 22.4 ng m^{-3} , 10 月 30 日~11 月 1 日は 16.1 ng m^{-3} , 12 月 11 日~13 日は 39.2 ng m^{-3} であり, 12 月に比較的高い濃度の NPs が検出された.

いずれの期間でも日中に高くなり夜間に低くなる日内変動を示している. 例えば, 5 月では朝 6 時もしくは 8 時に極小値 ($5.0 \sim 8.8 \text{ ng m}^{-3}$) となり午後 0 時もしくは 2 時に 30 ng m^{-3} 程度の極大値が観測された. 12 月でも朝 8 時 $10.9 \sim 25.7 \text{ ng m}^{-3}$ の極小値に対し 22 時に $75.2 \sim 99.9 \text{ ng m}^{-3}$ の極大値が観測された. しかし, 日内変動の状況は

季節により多少異なっている. 5 月は正午過ぎに極大が見られているのに対し, 12 月の極大は 22~24 時にシフトしている. これら 5 月・12 月の NPs の推移は, それぞれオゾンと NO_2 レベルの上昇に応じて変動している傾向があった. この現象は以下のように考えることができる. 5 月は, OH ラジカルの反応によって NPs の生成が誘発され日中に NPs 濃度が上昇する. Carter はフェノールラジカルが, この共鳴体でオルト位もしくはパラ位がラジカルになったところに NO_2 の不対電子が攻撃してフェノールのニトロ化が起こるとしている²³⁾. これに対し 12 月はオキシダント濃度が低いので, むしろ NO_2 濃度に影響されている. NO_2 はニトロ化に必要な材料物質であるし, また夜間のオキシダントとして支配的となる NO_3 ラジカルのソースでもあるため, 冬場に NPs 濃度の NO_2 濃度との関連がみられたと考えられる. 今回得られた結果ではスムーズかつ典型的な日内変動が観測されたので, 人為的な活動による変動よりも二次的な反応によって NPs が生成しているものと考えられる.

NPs の組成も季節で異なった傾向がみられた. 5 月 (5/28~5/30) と 10 月 (10/30~11/1) の二つの期間とも 2-NP, 4-NP, 2-NpC, 4-NmC, 並びに 2,6-DNpC が観測された. 2-NP と 2-NpC は 5 月 {それぞれ 3 日間平均値 9.46 ng m^{-3} (24.8%), 8.59 ng m^{-3} (16.5%)} よりも 10 月 { 30.30 ng m^{-3} (34.2%), 11.08 ng m^{-3} (25.9%)} に高くみられ, また逆に 5 月は 4-NP { 8.34 ng m^{-3} (23.2%)}, 4-NmC { 8.18 ng m^{-3} (25.9%)}, 2,6-DNpC { 5.34 ng m^{-3} (9.74%)} の割合が高かった {10 月では, 4-NP 7.75 (19.1%), 4-NmC 5.57 (12.5%), 2,6-DNpC 2.97 (6.08%)} . 4-NP はオゾンの存在下で生成するとされており¹²⁾, 同じ理由で 4-NP が 5 月に高かったと考えられる. また 2-NP は 4-NP に比べてより揮発性が高く, かつ反応性も高い. これは, 2-NP の方が, 極性が小さく, かつ立体障害の無いパラ位が反応部位になるからである. 逆に, 4-NP は双極子モーメントが大きく, また反応部位となるオルト位がヒドロキシ基と隣接して立体障害がある. このため 2-NP は, さらなるニトロ化や OH ラジカル, NO_3 ラジカルとの

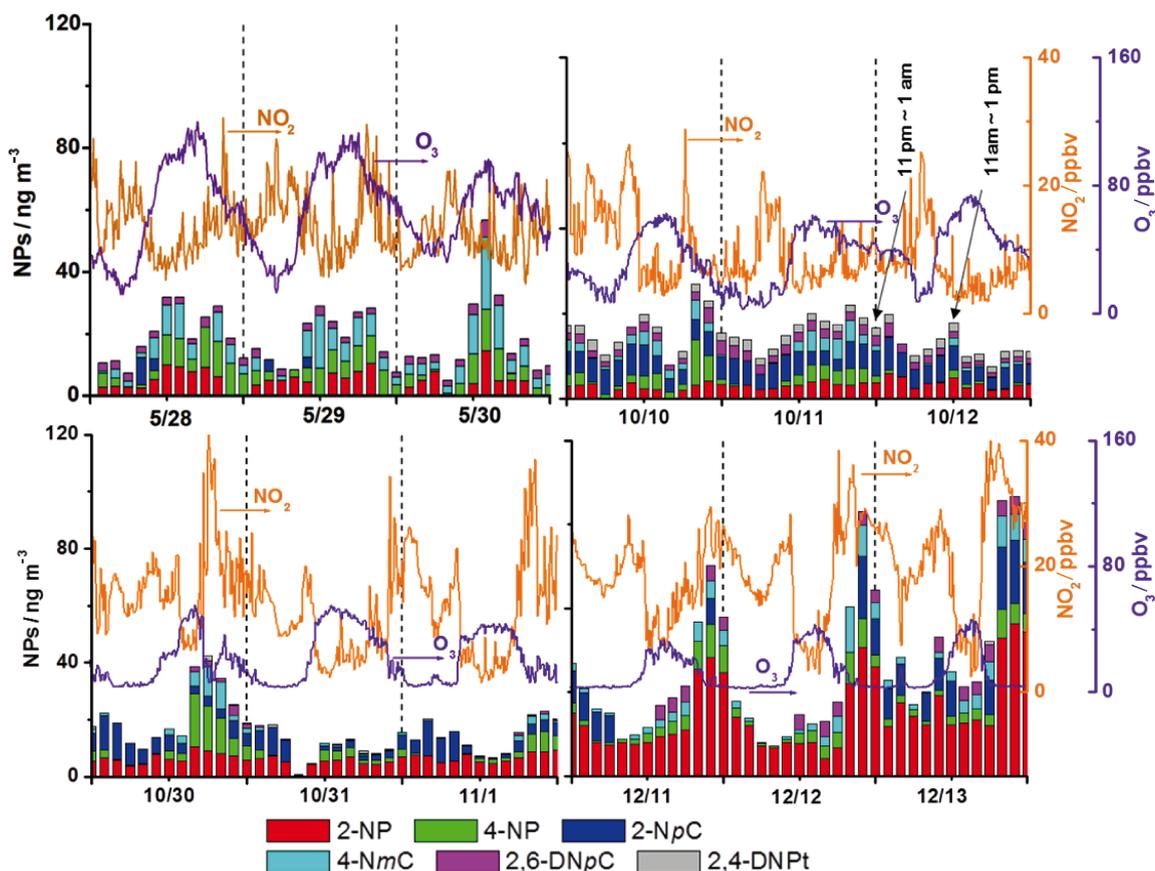


Fig. 3 Daily variation of NPs

Sampling was performed every 2 h and continued for 3 days. The measurements were performed four times: May 28–30, October 10–12, October 30–November 1, and December 11–13, all in 2012.

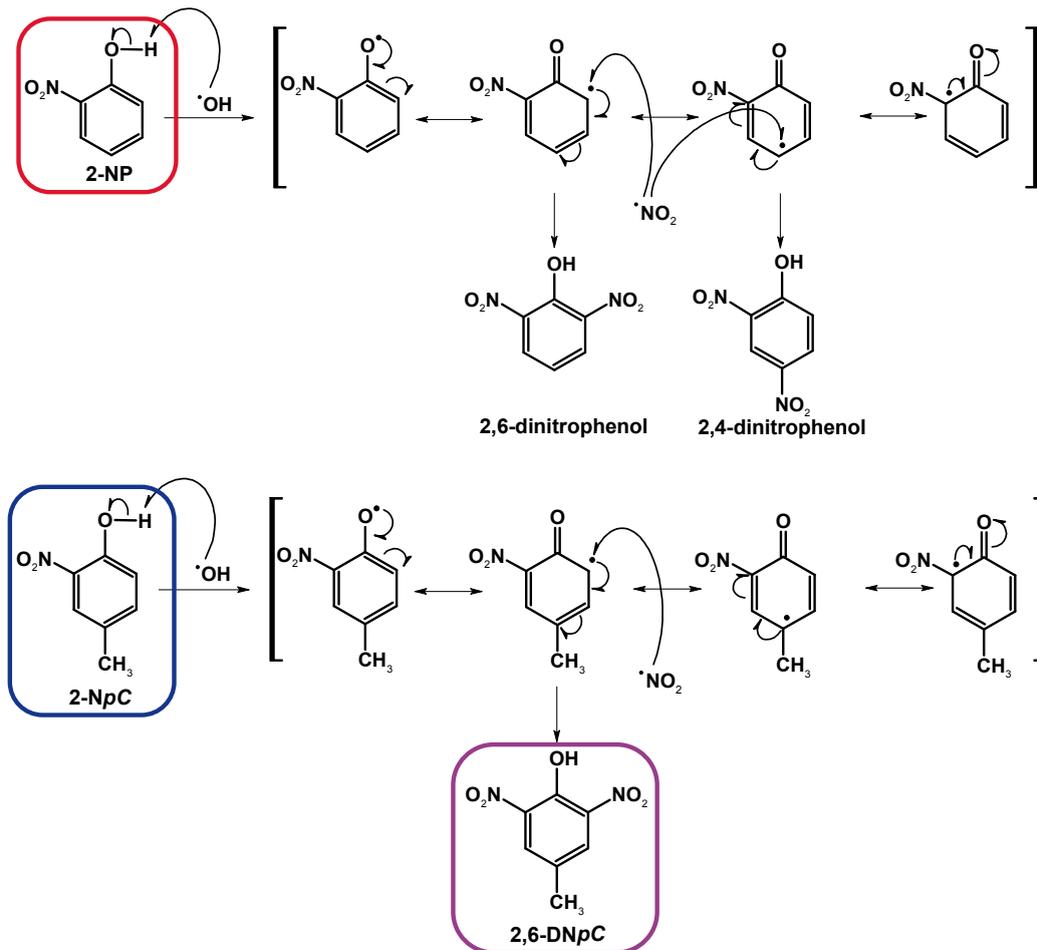
Table 4 Composition of NPs observed in rainwater and filter samples in 2011 and 2012, and collected by silica gel column three-day samplings

Compounds	Composition/%					
	Silica gel air sampling				Rainwater	Filter
	5/28–30	10/10–13	10/30–11/1	12/11–13		
2-NP	24.8	20.8	34.2	44.2	0.656	1.87
4-NP	23.2	13.1	19.1	8.43	29.1	25.7
2-NpC	16.5	32.2	25.9	26.4	2.2	8.74
4-NmC	25.9	10.9	12.5	8.31	11.3	42.5
2,6-DNpC	9.74	11.8	6.08	10.5	50.9	12.0
2,4-DNpT	nd	11.2	2.19	2.19	5.79	9.13

nd: not detected.

反応によって消失すると考えられる。このため、5月では4-NPに対する2-NPの濃度比が低かったと考えられる。また、5月に4-NmCに比べて2-NpC濃度が低かったのも同様の理由と考えられる。2-NPや2-NpCがさらなるニトロ化を行うと2,4-dinitrophenolや2,6-DNpCになると予想される。残念ながら2,4-dinitrophenolの追跡を行っていなかったが、2-NpCに対する2,6-DNpCの比(2,6-DNpC/2-NpC)は5月が最も高かった(5月の比0.59に対しその

他の期間では0.37, 0.23, 0.40であった)。このように日射量の大きな5月にジニトロ化が進んでいることが示唆された。ジニトロ化は、Scheme 2のような機構で起こっていると考えられる。すなわち、ニトロフェノールのOH基にOHラジカルが攻撃してモノニトロフェノールのラジカルが生成する。このラジカルはいくつかの共鳴体を持つが、その中でオルト位もしくはパラ位がラジカルになったところにNO₂窒素の孤立電子が攻撃して2段階目のニトロ化が



Scheme 2 Dinitrophenol formations from mononitrophenols

起こる。2-NpC の場合はパラ位がメチル基となっているので残っているオルト位のみがさらなるニトロ化を受ける。

NP_s はベンゼン環の単環構造をとるが、ベンゼン環が連なったものが多環芳香族ニトロ化合物 (nitro-PAHs) である。nitro-PAHs については NP_s より報告が多く、人為的汚染の少ない地域の夏季では日中高い濃度が観測されており、また OH ラジカルと類似した変動を示したと報告されている²⁴⁾。その一方、同時期の都市域など NO_x や O₃ が多く存在する環境下においては夜間における濃度の上昇が観測されており、その様な環境下では NO₃ ラジカルとの反応により生成していると考えられている²⁵⁾。また、過去にも nitro-PAHs²⁶⁾ や NP_s²⁷⁾ は夏季よりも冬季に多く検出されており、今回の NP_s に関する季節による差もこれらの報告と類似している。

3・4 NP_s 沈着量の季節変動

先に述べたとおり、NP_s の日内変動について詳細な知見が得られた。ここでは、長期的な視点から、雨水並びにフィルターサンプリングのデータを示す。これらは他の目的のためにサンプリングしていたものであったが NP_s につ

いて調べてみると興味深い結果が得られたので合わせて報告する。2年、もしくは1年半にわたって得られた結果を Fig. 4 に示す。合わせて NO₂ の1日平均値もプロットしている。雨水に溶存している NP_s 並びにフィルターに捕集された NP_s は似通った傾向を示した。すなわち、夏に低く、冬に高濃度となる傾向を示し、既報²⁷⁾²⁸⁾と同様であった。NP_s の生成量、分解量が季節によって変動するものと考えられる。またその季節変動は NO₂ レベルと関連した推移を示した (雨水 $r = 0.436$, フィルター $r = 0.426$)。フェノールやクレゾールなどの芳香族炭化水素類と NO₂ が反応し、二次的に NP_s が生成していることを示唆している。

シリカゲル捕集によって得られた NP_s の組成に比べると、雨水やフィルター捕集物中の 2-NP 量は極めて少なかった (Table 4)。それに代わり 4-NP や 4-NmC など極性の高い物質が顕著にみられた。また、2,6-DNPt も雨水中に比較的高い濃度で存在した。雨水やフィルター試料からは、4-NP、4-NmC、2,6-DNpC が多く検出され、Jaber ら²⁹⁾ や Belloli ら³⁰⁾の結果と一致した。また、2-NP、2-NpC はその多くが気体として存在しており³¹⁾³²⁾、雨水や粒子中の存在割合は低かった。さらに、水相中では気相よりも種々の

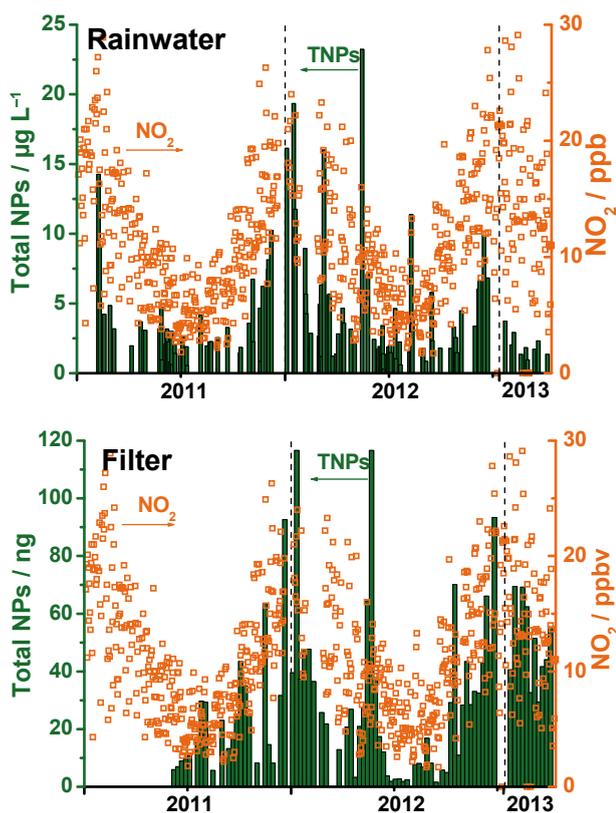


Fig. 4 Seasonal variations of the total-nitrophenols contained in rainwater (top), and collected on a filter for one week (bottom), obtained in 2011 and 2012; both are shown together with NO_2

反応が進むと考えられる。Vioneらは大気中、エアロゾルや雨滴などの水相において2-NPや4-NPから2,4-DNPが生成するとしている³³⁾。

フィルター捕集 NPs については、定量的でないことに注意していただきたい。Cecinatoら³¹⁾も NPs のガス/粒子の分配を調べるためにテフロンメンブランによる粒子の捕集を行っているが、揮発性や反応性の高い NPs はフィルターへの捕集が難しく、またいったん捕集されても再気化やフィルター上での反応によるロスも大きいと考えられる。したがって、得られたフィルターデータの絶対値に大きな意味はないが、季節を通じた美しい傾向が見られたことは興味深い。

4 結 言

今回構築したシリカゲル捕集と LVPC-HPLC/MS によって ng m^{-3} オーダーの各種 NP の 2 時間ごとの分析が可能になった。今回の解析における総 NP 濃度は、夏に正午付近に極大を迎えたのに対し、冬は夜半前に極大となった。これは、NP 生成機構や消失過程が夏と冬で異なっていたためと考えられる。また、その組成を調べてみると夏は揮発性や反応性の高い 2-NP の割合が低くジニトロ化やその

ほかの消失反応が進んでいることが示唆された。逆に、冬季は 2-NP が主成分となり、かつ NP 総濃度も高くなっていた。今回 NPs の大気濃度やその組成が日内時間や季節によって大きく変動している詳細なデータを提供することができた。今後、日本における NPs の解析に関する調査研究の基礎的なデータになると考えられる。

謝 辞

本研究に当たり、テキサス大学アーリントン校の Purnendu K. Dasgupta 教授と討議を行い、知見をいただいた。ここに感謝の意を表す。また、本研究は科学研究費補助金基盤研究 (C) 21550087 の補助を受けて行った研究の一部である。

文 献

- 1) R. S. Suresh, M. Mallavarapu, V. Kadiyala, N. Ravi : *Environ. Toxicol. Chem.*, **31**, 1980 (2012).
- 2) G. Rippen, E. Zietz, R. Frank, T. Knacker, W. Klopffer : *Environ. Tech. Lett.*, **8**, 475 (1987).
- 3) M. Hinkel, A. Reischl, W. K. Schramm, F. Trautner, M. Reissinger, O. Hutzinger : *Chemosphere*, **18**, 2443 (1989).
- 4) M. Natangelo, S. Mangiapan, E. Bagnati, R. Fanelli : *Chemosphere*, **38**, 1495 (1999).
- 5) EPA, Technology Transfer Network Air Toxics Web Site, The original list of hazardous air pollutants, <<http://www.epa.gov/ttn/atw/188polls.html>>.
- 6) S. Walter, N. Lutz : *Chemosphere*, **42**, 277 (2001).
- 7) X. Zhao, H. Hwang : *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **56**, 646 (2009).
- 8) K. Nojima, A. Kawagushi, T. Ohya, S. Kanno, M. Hirobe : *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 1047 (1983).
- 9) S. Koh-ichi, Y. Noya, Y. Mikami, S. Taneda, A. K. Suzuki, Y. Kuge, K. Ohkura : *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **17**, 717 (2010).
- 10) M. A. J. Harrison, S. Barra, D. Borghesi, D. Vione, C. Arsene, R. I. Olariu : *Atmos. Environ.*, **39**, 231 (2005).
- 11) R. Atkinson, S. M. Aschmann, J. Arey : *Environ. Sci. Technol.*, **26**, 1397 (1992).
- 12) E. Bolzacchini, M. Bruschi, J. Hjorth, S. Meinardi, M. Orlandi, B. Rindone, E. Rosenbohm : *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 1791 (2001).
- 13) R. Belloli, B. Barletta, E. Bolzacchini, S. Meinardi, M. Orlandi, B. Rindone : *J. Chromatogr. A*, **846**, 277 (1999).
- 14) Determination of phenols, Application Note 191, <www.dionex.com/en-us/events/market/2007/lp-75525.html>.
- 15) 戸田 敬, 廣田和敏, 徳永 航, 須田大作, 具志堅洋介, 大平慎一 : 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **60**, 489 (2011).
- 16) L. Ganranoo, S. K. Mishra, A. K. Azad, A. Shigihara, P. K. Dasgupta, Z. S. Breitbach, D. W. Armstrong, K. Grudpan, B. Rappenglueck : *Anal. Chem.*, **82**, 5838 (2010).
- 17) Z. Kitanovski, I. Grgić, R. Vermeylen, M. Claeys, W. Maenhaut : *J. Chromatogr. A*, **1268**, 35 (2012).
- 18) M. Kohler, N. V. Heeb : *Anal. Chem.*, **75**, 3115

- (2003).
- 19) B. Müller, M. R. Heal : *Chemosphere*, **45**, 309 (2001).
- 20) X. X. Guo, P. Brimblecombe : *Chemosphere*, **68**, 436 (2007).
- 21) J. Lüttke, V. Scheer, K. Levsen, G. Wünsch, J. N. Cape, K. J. Haragreaves, R. L. Storeton-West, K. Acker, W. Wiprechet, B. Jones : *Atmos. Environ.*, **31**, 2637 (1997).
- 22) K. Toda, Y. Hato, K. Mori, S. Ohira, T. Namihira : *Talanta*, **71**, 1652 (2007).
- 23) W. P. L. Carter : *Atmos. Environ.*, **41**, S80 (2007).
- 24) M. Tsapakis, E. G. Stephanou : *Environ. Sci. Technol.*, **41**, 8011 (2007).
- 25) F. Reisen, J. Arey : *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 64 (2005).
- 26) N. Tang, M. Tabata, V. F. Mishukov, V. Sergineko, A. Toriba, R. Kizu, K. Hayakawa : *J. Health Sci.*, **48**, 30 (2002).
- 27) O. Delhomme, S. Morville, M. Millet : *Atmos. Pollut. Res.*, **1**, 16 (2010).
- 28) W. A. H. Asman, A. Jorgensen, R. Bossi, K. V. Vejrup, B. B. Mogensen, M. Glasius : *Chemosphere*, **59**, 1023 (2005).
- 29) F. Jaber, C. Schummer, J. A. Chami, P. Mirabel, M. Millet : *Anal. Bioanal. Chem.*, **387**, 2527 (2007).
- 30) R. Belloli, E. Bolzacchini, L. Clerici, B. Rindone, G. Sesana, V. Librando : *Environ. Eng. Sci.*, **23**, 405 (2006).
- 31) A. Cecinato, V. D. Palo, D. Pomata, M. C. T. Scianó, M. Possanzini : *Chemosphere*, **59**, 679 (2005).
- 32) S. Morville, A. Scheyer, P. Mirabel, M. Millet : *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **13**, 83 (2006).
- 33) D. Vione, V. Maurino, C. Minero, E. Pelizzetti : *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 7921 (2005).

Investigation of Daily Variation of Atmospheric Nitrophenols by Means of Inline Preconcentration-HPLC/MS Analysis with Large Volume Injection

Jun NAGAI¹, Yukihide NAKAMURA¹, Shin-Ichi OHIRA¹ and Kei TODA^{®1}

[®] E-mail : todakei@sci.kumamoto-u.ac.jp

¹ Department of Chemistry, Kumamoto University, 2-39-1, Kurokami, Chuo-ku, Kumamoto-shi, Kumamoto 860-8555

(Received March 11, 2013; Accepted April 15, 2013)

Nitrophenols (NPs), having effects on human health, are produced in the atmosphere via several pathways. However, the behavior details of atmospheric NPs are not well understood. In this work, daily variations of NPs were investigated by repeating 2-h collection using silica-gel columns followed by HPLC/MS analysis. The collection method was optimized and large-volume injection and in-line preconcentration was automated for the HPLC analysis. The quantification limits by atmospheric-pressure chemical ionization mass analysis for each atmospheric NP ranged between 0.08 and 0.67 ng m⁻³ with a time resolution of 2 h. Clear daily variations were obtained by this method. Whereas NP concentrations were high around noon in the summer, they were maxima before midnight in the winter. This was likely due to a difference in the main mechanism for NP formations: mainly the OH radical and the NO₃ radical initiated the formation reaction in the summer and winter, respectively. In the winter, the total NP concentration was higher than that in the summer especially 2-nitrophenol which accounted for half of all NPs measured. On the contrary, formation of dinitrophenol from mononitrophenol seemed to proceed abundantly in the summer. Also, a seasonal variation was detected from rain water analysis and filter sampling. The concentrations and partition of NPs were different, allowing differences in the polarity and reactivity. It was considered that the NP concentrations changed dynamically in the atmosphere via secondary production, and reactions to disappear.

Keywords: nitrophenols; daily variation; atmospheric pollution; inline preconcentration-high performance liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry.