

(研究課題名)

日本海深海堆積物コア試料中有機ハロゲン化合物の網羅的スクリーニング

(共同研究者名)

家田曜世<sup>1</sup>, 橋本俊次<sup>1</sup>, 国末達也<sup>2</sup> (1: 国立環境研究所, 2: 愛媛大学)

(研究目的)

近年、化学物質の数は指数関数的に増加しており、日々の人間活動を通して多様な化学物質が環境中に排出されていると推測される。しかしながら、国際条約等で規制されている有機ハロゲン化合物は全体のごく一部に過ぎない。また、個々の物質の定量値を得ることを目的とした一般的なターゲット分析法では、測定妨害になり得る成分を選択的に除去することで高感度・高精度な定量を可能にする一方で、対象外の物質を探索（スクリーニング）する目的には適していない。そのため、多様な化学物質を包括的にスクリーニングすることが可能なノンターゲット分析手法の開発が求められている。

これまで申請者らは、高分離かつ広い質量範囲において精密質量スペクトルの取得が可能な包括的二次元ガスクロマトグラフ（GC×GC）と高分解能飛行時間型質量分析計（HRTofMS）を組み合わせたシステムを用いて、環境試料ノンターゲット分析のための手法開発を行ってきた。GC×GC-HRTofMSは、従来のGC-MSを用いたターゲット分析法と比較して各段に多くの情報を得ることが出来る。しかし、その一方で、試料前処理やクリーンアップにおける化合物のロスをできる限り防ぐために粗抽出液を測定した場合には、複雑な試料マトリックスに埋もれた微量の化学物質を見つけ出す必要があり、そのデータ解析は困難を極める。申請者らは、2016年以降の es-BANK 利用型共同研究において、熊本県河口域の表層堆積物を用いて GC×GC - 電子イオン化 (EI) - HRTofMS による測定を行い、環境試料ノンターゲット分析におけるデータ解析ワークフローを提案すると同時に、手法の評価を行った<sup>(1)</sup>。2020年度の es-BANK 利用型共同研究では、EI データの解析上の課題を克服すべく、アルゴンによるソフトイオン化法（Ar イオン化法）を検討し、フラグメントイオンの生成を最小限に抑え、分子イオンの高感度検出が可能な芳香族有機ハロゲン化合物に適したイオン化条件を見出した<sup>(2)</sup>。本年度は、これまで開発してきた手法を es-BANK に保存されている貴重な日本海深海堆積物コア試料に適用し、蓄

積されている有機ハロゲン化合物の網羅的スクリーニングを行うことを目的とした。

#### (研究内容)

これまで開発してきた GC×GC - EI/Ar イオン化 - HRToFMS を用いた環境試料ノンターゲット分析手法を用い、日本海深海堆積物コア試料を測定し、過去から近年まで蓄積されている化学物質の網羅的スクリーニングを実施した。各イオン化法で得られたデータに対し、精密質量情報等を利用した有機ハロゲン化合物の探索を行い、本手法の有用性を評価した。

#### (試料)

es-BANK から譲渡された日本海（兵庫県香美町沖）深海堆積物コア 19 試料（試料番号：SC-J-09-01～19）を使用した。本試料は、東京大学大気海洋研究所の淡青丸 KT-11-9 次研究航海（2011 年 5 月 27 日～6 月 4 日）において、北緯 36°21.841'、東経 134°25.493'、水深 1296 m の地点から採取され、約 28 cm 長のコアは 1 cm（表層から 0～10 cm）および 2 cm（20～28 cm）の間隔でスライス後、冷凍保管されていた。コア試料の採取には、東京大学大気海洋研究所所有のマルチプルコアサンプラーが使用された。

#### (方法)

堆積物コア 19 試料（約 40～100 g）は、解凍して風乾させた後に均質化し、重量を測定した。乾燥重量は、約 5～40 g であった。ガンマ線スペクトロメータ（低バックグラウンド N 型 Ge 半導体検出器）を用いて  $^{210}\text{Pb}$ ・ $^{137}\text{Cs}$  の測定を行い、各試料の堆積年代を推定した。 $^{210}\text{Pb}$ ・ $^{137}\text{Cs}$  測定後、表層から 1～3 cm、4～6 cm、7～9 cm、9～10 cm、12～14 cm、26～28 cm の試料をそれぞれ円筒ろ紙に入れてアセトンで 8 時間、次にトルエンで 8 時間ソックスレー抽出を行った。アセトン抽出液は約 3 mL まで濃縮後、トルエン抽出液と混合し、無水硫酸ナトリウムに通して脱水し、9 mL に定容した。そこから 1/3（3 mL）を分取し、50  $\mu\text{L}$  まで濃縮した後、粗抽出液を GC×GC - HRToFMS にて測定した。イオン化には、EI 法と Ar イオン化法を適用し、1 つの粗抽出液につき、各イオン化法で 1 回ずつ（計 2 回）測定を行った。Ar イオン化法では、ネガティブイオンを検出した。データ解析には、

“ComEX”と“MDF”<sup>(3)</sup>と NIST Mass Spectral Search Program を用いた。

(研究成果)

## 2種類のイオン化法で取得したデータを用いた臭素化合物の網羅的スクリーニング

Ar イオン化法では、芳香族高塩素化合物の分子イオンの高選択的な検出が可能である一方、臭素化合物については、Br<sup>-</sup>イオンが検出される<sup>(2)</sup>。そこで臭素化合物の網羅的スクリーニングを行うため、表層試料の Ar イオン化データについて“ComEX”を用いて Br<sup>-</sup>イオンの抽出を行ったところ、複数のピークが高選択的に抽出された。図 1 A に示したピークについて、EI データ (図 1B) 上の同じ位置のマススペクトルを取得し (図 1 (b))、ライブラリーサーチによる同定を試みたところ、マッチファクターが 700 以上の候補化合物は無く、同定が困難だった。そこで“MDF”を用いて EI データを処理したところ、低質量側の炭化水素系化合物由来のマススペクトルが除去され (図 1 (c))、ライブラリーサーチの結果、難燃剤として知られる人為起源物質のヘキサブロモベンゼン (HBB) であると推定された。他の層についても解析を行った結果、HBB は表層に行くにつれて増加しており、近年の HBB のインプット増加の影響が表れていると示唆された。

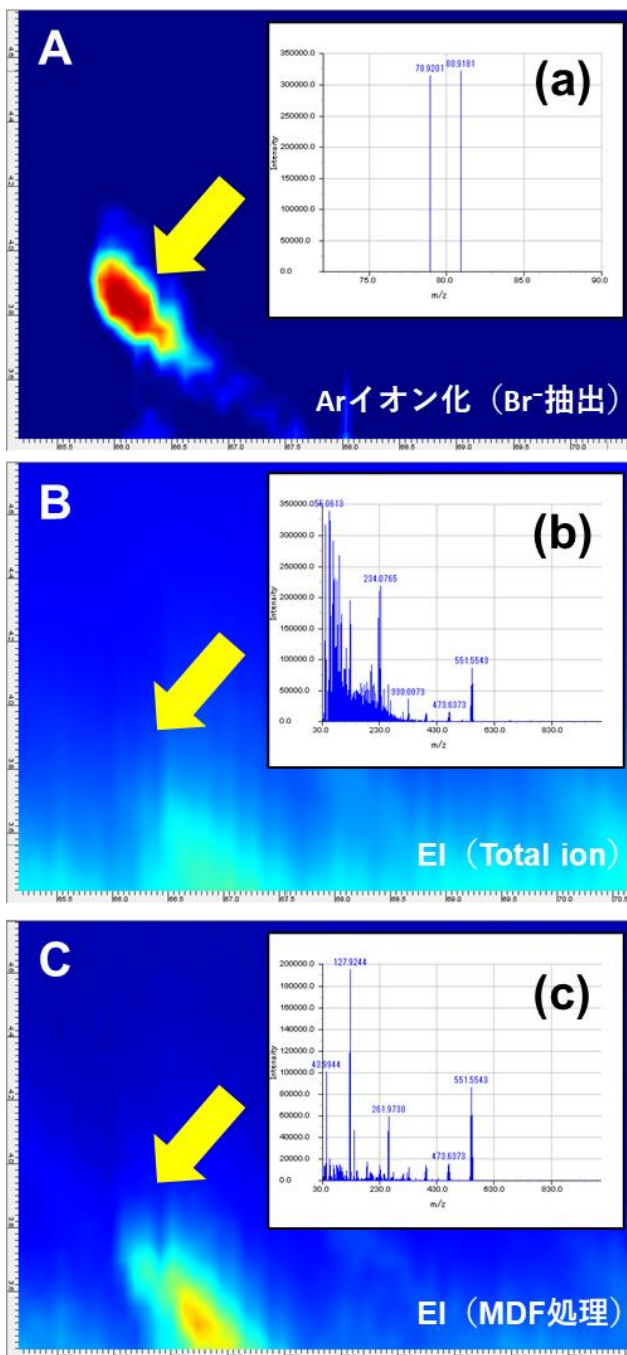


図 1 A : Ar イオン化 (Br<sup>-</sup>抽出)、B : EI (未処理)、  
C : MDF 処理後データと各マススペクトル

## 日本海深海堆積物コア試料中天然起源有機ハロゲン化合物の探索

これまでの研究で、堆積物コア試料の表層から天然起源有機ハロゲン化合物：HNP（ハロゲン化メチルビピロール； $C_9H_3N_2ClBr_6$ ）が検出されている。そこで本研究では、2種類のイオン化データと“ComEX”“MDF”を活用し、その他のHNPについても探索を行った。その結果、ハロゲン化メチルビピロールの塩素数や臭素数が異なる化合物が検出された他、Tribromoanisole や Tribromophenol、Methoxy brominated diphenyl ether など、様々なHNPsが検出された（表1）。

表1 堆積物コア試料（表層1～3 cm）から検出された天然起源有機ハロゲン化合物

No.	Retention time	Name	Formula	Theoretical $m/z$	Measured $m/z$	Mass error (ppm)
1	40.9 min, 2.0 sec	Tribromoanisole	$C_7H_5Br_3O$	341.7891	341.7858	9.66
2	41.4 min, 2.2 sec	Tribromophenol	$C_6H_3Br_3O$	327.7734	327.7680	16.47
3	42.0 min, 2.2 sec	Tribromophenol	$C_6H_3Br_3O$	327.7734	327.7691	13.12
4	57.4 min, 2.0 sec	Methyl bipyrrrole $Cl_7(Q1)$	$C_9H_3Cl_7N_2$	383.8116	383.8044	18.76
5	65.3 min, 3.1 sec	Methyl bipyrrrole $Br_5Cl$	$C_9H_4Br_5ClN_2$	569.5980	569.5953	4.74
6	70.0 min, 3.1 sec	Methoxy brominated diphenyl ether $Br_4$	$C_{13}H_8Br_4O_2$	511.7258	511.7246	2.35
7	70.9 min, 3.3 sec	Methoxy brominated diphenyl ether $Br_4$	$C_{13}H_8Br_4O_2$	511.7258	511.7270	-2.35
8	72.3 min, 3.7 sec	Methyl bipyrrrole $Br_6Cl$	$C_9H_3Br_6ClN_2$	647.5085	647.5044	6.33

## 日本海深海堆積物コア試料中天然起源有機ハロゲン化合物の鉛直プロファイル

表層で検出されたHNPsについて、コア試料の他の層でも解析を行った結果、ほぼすべての層でHNPsが検出された。そこで質量数±0.05でマスククロマトグラムを作成し、HNPsのピークエリアを算出することで半定量を試みた。半定量には、各HNPsと保持時間が近く、構造が類似している既存の有機ハロゲン化合物標準溶液の検量線を利用した。図2に、一例としてTribromoanisoleの鉛直プロファイルを示す。本堆積物コア試料において、HNPsは表層に近づくにつれて徐々に濃度が高くなる傾向が見られた。この結果は、海洋環境におけるHNPsの産出が増加していることを示している可能性がある。

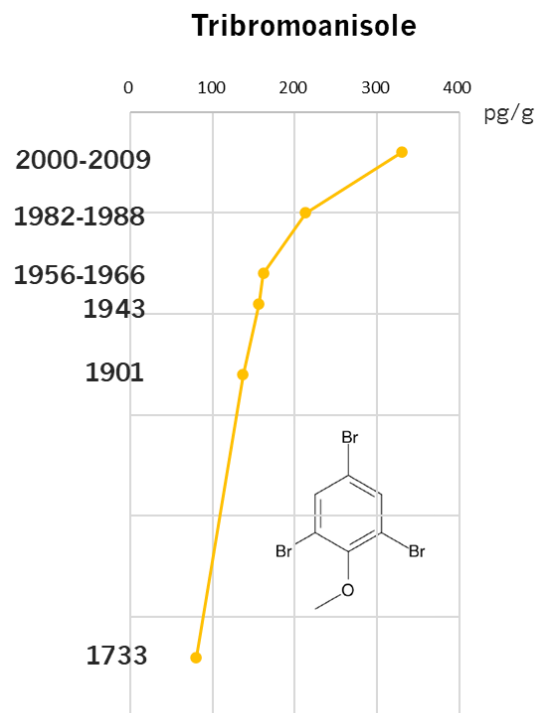


図2 Tribromoanisoleの鉛直プロファイル

(まとめ)

GC×GC - HRTofMS と 2 つのイオン化法 (EI 法と Ar によるイオン化法) を用いて日本海深海堆積物コア試料の粗抽出液を測定し、得られたデータから広範囲の精密質量スペクトルを包括的に解析することにより、既知の人為起源有機ハロゲン化合物だけでなく、天然起源有機ハロゲン化合物も検出することができた。検出された天然起源有機ハロゲン化合物を半定量した結果、表層に近づくにつれて濃度が高くなる傾向が認められ、近年における海洋環境の変化を反映していることが示唆された。es-BANK に保存されていた貴重な試料を用い、これまで開発してきた手法を適用することにより、新たな知見を得ることが可能であった。今後も引き続き有機ハロゲン化合物の探索を行うと共に、検出された化合物について鉛直プロファイルの詳細解析を行い、その起源等への考察を加えたい。

(参考文献)

- (1) Ieda T., Hashimoto S., Isobe T., Kunisue T., Tanabe S., *Talanta*, 194 (2019) 461-468
- (2) Ieda T., Hashimoto S., Tanabe K., Goto A., Kunisue T., *J. Chromatogr. A*, 1657 (8) (2021) 462571
- (3) Hashimoto S. et al., *J. Chromatogr. A*, 1282 (2013) p183-189

(謝辞)

図 2 に示した試料の推定堆積年につきまして、 $^{210}\text{Pb}$ ・ $^{137}\text{Cs}$  測定と年代推定を行って下さった学校法人 東京理科大学 環境安全センター 副センター長 田中敦氏に対し、本研究協力についてご快諾頂いたこと、知見をご教示頂いたことに心より感謝いたします。