

Technical Report

包括的2D GCと高速スキャン四重極型質量分析計を用いた香水アレルゲンの分析

Analysis of Perfume Allergens by using Comprehensive 2D GC and a Rapid-scanning Quadrupole Mass Spectrometer

Luigi Mondello¹

Abstract:

包括的GC (GC×GC)は2本の異種カラムを用い、高い分離を実現する2次元GCのひとつである。GC×GCでは高速のデータ収集能力を求められるため、MS検出器としてはTOF型の高速MSが主流とされてきた。本研究では、高速の四重極MSを用いて香水のアレルゲン物質の測定を行い、GC×GCの検出器としての四重極MSの性能を評価し、利用の可能性を示した。

Keywords: アレルゲン、香水、GC×GC、包括的2D GC、四重極型質量分析計

1. はじめに

包括的ガスクロマトグラフ、つまり、GC×GCは2つの異なった分離機構を結合したマルチディメンショナル技術のひとつである。マルチディメンショナルといえばMDGC (Multidimensional Gas Chromatography)がよく知られているが、試料分析物を分離するという点では、GC×GCの方がより「包括的」である。MDGCは「ハートカット」^[1-4]の技法を用いており、第1カラムの溶出のうち、ある選択された部分だけが2次元目に送られるのに対し、GC×GCでは、第1 (1D) カラムからの溶出のすべての部分が2D分離される。つまり、試料のすべての部分が2重に分離される必要がある。GC×GC分離のもう1つの条件は、第1カラムで分離された分析物が、分離されたそのままの状態第2カラムに送られることである。この2つの条件がGC×GCをユニークな分離技術にしており、これらの条件を実現しているのがGC×GC装置である。GC×GC装置の「中心」となる部分がモジュレータである。モジュレータは2つのカラム、つまり、2つの次元をつなぐインターフェースの役目を果たしている。

基本的に、包括的GC装置では、異なった固定相の2つのカラムが1台または2台のGCオープンに収められている。(一般には、よく使われるサイズの無極性カラムと“高速”分離用の極性カラムの組み合わせがよく使われる。)第1カラム出口と第2カラム入口の間にはモジュレータが設置されており、これにより第1次元からの溶出バンドが吸着、脱着、フォーカスされ、第2カラムに再注入される。つまり、第1カラムに注入、分離された試料はモジュレータにより2次元目に移され、ここでさらに分離され、第2カラムの出口にある検出器に到着する。

1Dピークがモジュレータによりサンプリング(吸着と脱着)される時間をモジュレーション時間という。モジュレーション時間を適切に選ぶことで、1次元目からの溶出ピークを余すことなく第2カラムに送ることができる。普通、モジュレーション時間を秒オーダーに設定し、ピーク全体をこの時間でスライスし、複数の2D保持時間の列として構成する。このような分離方法を行うことで得られるクロマトグラム図に新しい次元が追加される。これがGC×GCクロ

マトグラムである。

包括的GCのクロマトグラムは、通常のGCのプロットのように2本の軸(保持時間対信号強度)に描かれた図として描画することはできないので、第2次元目保持時間を追加し、3本の軸上にプロットしてゆく^[5]。従って、GC×GCのクロマトグラムは、外見上、通常のGCの図とは全く異なり、2次元面上に分析物の点が散りばめられたものになっている。

第2次元目の分離は高速で行う(一般には4-8秒)ため、非常に高速な検出器を使用する必要がある。モジュレートされたピークは、通常、ベース近傍で100-600 msの幅になる。歴史的には、GC×GCの検出器といえば当初FIDが主流であったが、構造情報が知りたいという要求から、包括的GCでもMS検出器が使用されるようになった。当時、四重極MSはかなり低速であったため、高速なTOF-MSが注目を集めることになった。

たとえば、2006年から2009年の間で発表された研究の83%はTOF-MSに関するものであった。しかし、このことはGC×GC分離において、四重極システムの能力が不足しているとか、TOF-MSシステムが四重極システムに比べ絶対的に優れていることを意味するものではない。TOF-MSにも限界があることは言及しておく必要がある。高速でデータ採取できるTOF-MS装置は質量分解能が低く、逆に質量精度が高い装置は採取速度が低い。従来の四重極MSでもデータ採取が試みられ、質量範囲を限定(例えば m/z 50-245)するなどの方法をとることで33スペクトル/sのデータ採取を行った^[6]、ECNI (electron-capture negative ionization)を用いて300 uの質量範囲での測定も行われた^[7]。

近年、島津製作所は、20,000 u/sのスキャン速度での動作が可能な高速スキャンqMSシステム(GCMS-QP2010 Ultra)をリリースした。G. Purcaro et al.は、この装置を用い香水のアレルゲンの分析を行うと同時に、この装置の評価を行った^[8]。アレルゲンの分析は、化粧品の使用による接触アレルギーの急増により、近年、非常に注目されている問題で、EUも一連の規制を出している。特に、EU Directive 2003/15/ECには異なった種類の化粧品に含まれるこれらの物質の制限量を具体的に定めている^[9]。この研究でG. Purcaro et al.は無極性固定相とイオン液体固定相という特殊なカラム対を使用した。イオン液体(ILs)は有機非分子性溶媒の1つで、一般には、窒素またはリン(ホスホニウム)を含む有機カチオンで構成されており、これらのカチオンは有機性または非有機性のアニオンと組み合わされている。

2. 実験

市販の香料をメッシーナ(イタリア)で入手し、前処理なしで注入した。アレルゲン24成分試料と内部標準物質として使用する1,4-dibromobenzene and 4,4'-dibromobiphenylはSigma-Aldrich (Milan, Italy) から調達した。検量線作成用にメタノールで希釈した6種類の試料を作成した。

2-1. 装置構成

GC×GC-qMS分析は島津GC×GC/QP2010 Ultraシステムを用いて行った。GCにはスプリット/スプリットレス気化室を装着し、SLB-5 ms(Supelco)カラム(30 m×0.25 mm ID×0.25 μm)を、1.4 m×0.25 mm IDのガードカラム(2重ループ部)を介して、スペルコ製カスタムメイドの第2カラムSLB-IL59(1.0 m×0.1 mm ID×0.08 μm film thickness)に接続した。モジュレータはループタイプのもので使用した(Zoex)。データ処理にはGCMSsolution(島津)とChromSquareソフトウェア(Chromaleont, Messina, Italy)、マススペクトルライブラリにはFFNSC香料ライブラリ2(島津)を用いた。

2-2. 分析メソッド

GCオープン温度プログラムは5°C/minの速度で50°Cから260°Cまで昇温、また、気化室温度は250°Cであった。試料注入量は1 μL、スプリット比1:10で注入した。キャリアガスの初期圧力は140 kPaであった(線速度一定モード)。モジュレーション周期は4.5秒、ホットパルス(325°C)でパルス幅は375 msで行った。

質量分析装置のパラメータとしては、スキャンモードを用い、スキャン速度は20,000 u/sec、質量範囲はm/z 40-330であった。また、スキャン/SIM同時測定モードも併用した。インターフェース温度とイオン源温度はそれぞれ250°Cと200°Cであった。

標準混合試料(各成分約10 mg/L)は33 Hzと25 Hzの収集レートで確認を行った。6点で検量線を作成、各点2回のデータ測定を行った。

3. 結果と考察

Fig. 1に市販香料のGC×GC-qMSクロマトグラムを示す。図中に示す12種類のアレルゲンが決定でき、いずれもEU規制で定められた値より高い濃度であった。

Table 1に検量線から得られた定量結果、再現性と精度を示す。

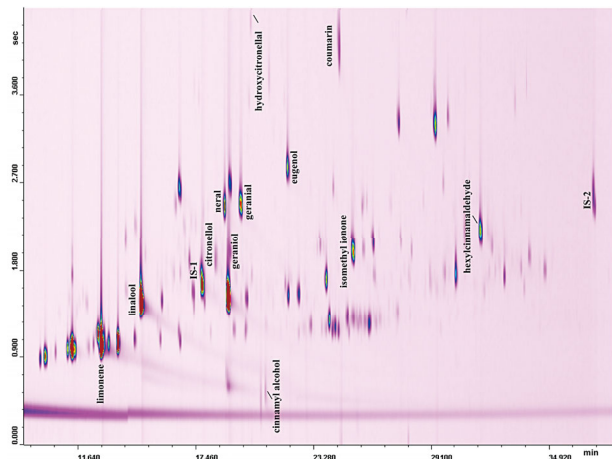


Fig. 1 市販香料のGC×GC-qMSクロマトグラム

名称を記載した化合物はアレルゲン物質、IS-1とIS-2は内部標準
Reprinted with permission from *Anal. Chem.*, 2010, 82, 8583-8590.
Copyright 2010 American Chemical Society.

Table 1 市販香料で同定、定量されたアレルゲン (n=3)*

Reprinted with permission from *Anal. Chem.*, 2010, 82, 8583-8590.
Copyright 2010 American Chemical Society.

Compound	Concn (mg/L)	CV (%) (n=3)	1D t_R (min)	SD	2D t_R (min)	SD
limonene	4102.7	8.1	12.797	0.000	2.826	0.012
linalool	2721.1	5.3	14.755	0.001	3.288	0.047
citronellol	73.3	7.5	18.437	0.002	3.683	0.081
citral (neral)	455.1	3.0	18.895	0.001	4.232	0.065
geraniol	56.1	3.9	19.163	0.044	3.777	0.035
citral (geraniol)	519.3	3.6	19.671	0.043	4.266	0.042
hydroxycitronellal	12.5	7.7	20.202	0.001	1.607	0.053
cinnamyl alcohol	54.8	11.4	20.889	0.002	2.304	0.071
eugenol	301.9	11.3	22.052	0.001	0.127	0.058
coumarin	187.9	1.7	24.622	0.001	1.319	0.046
isomethyl ionone	506.9	1.8	25.213	0.044	3.770	0.046
hexylcinnamaldehyde	462.1	2.3	31.492	0.001	3.984	0.042

*Retention times in the first and second dimensions (1D t_R and 2D t_R) are reported, along with the standard deviation (SD)

クロマトグラフの条件は、最適な条件になるよう調整した。スキャン速度20,000 u/s、スキャン待ち時間5 ms以下、質量範囲m/z 40-330の条件で質量範囲を限定したり、SIMモードを使用しなくても50 Hzの収集周波数でデータ測定ができた。ピークの再現程度を評価するため、4種類の化合物を選んだ。Table 2からわかるように、25 Hzでは、ピーク幅が400 msを超える場合にのみ10点/ピークのデータ点数が可能であるのに対し、50 Hzで動作させた時にはピークあたり20点以上のデータ点を取ることができる。

また、Table 2には強度比を評価するのに用いたターゲットイオン (T)と確認イオン(Q1およびQ2)を示す。Fig. 2には3種類のサンプリング周波数に対し、スペクトル類似度 (MS%)、T/Q1比、T/Q2比、Q2/LM比 (ここでLMは測定した最低の質量、つまり m/z 55)

の4つのパラメータをプロットした図を示す。このようなスペクトルの質の解析を4つの化合物ピークに対し行ったが、どのピークでも各データ点で一定のMS%値を示し、同じT/Q比を示した(スキューニングが少ない)。

Table 2 linalool, eugenol, linal, benzyl salicylateの各化合物のターゲットイオン(T)と確認イオン(Q1、Q2)

これらの化合物のモジュレートされたピークのベースラインと半値のところでピーク幅とデータ数

Reprinted with permission from *Anal. Chem.*, 2010, 82, 8583-8590.

Copyright 2010 American Chemical Society.

compd	T	Q1	Q2	LM	50 Hz				33 Hz				25 Hz			
					peak width (ms)	no. of points	half-peak (ms)	no. of points	peak width (ms)	no. of points	half-peak (ms)	no. of points	peak width (ms)	no. of points	half-peak (ms)	no. of points
linalool	93	71	121	55	360	18	180	9	360	12	180	6	360	9	180	4
eugenol	164	103	149	55	480	24	240	12	480	16	240	8	480	12	240	6
linal	189	147	204	57	420	21	190	10	420	14	180	6	360	9	180	5
benzyl salicylate	91	228	65		480	24	240	12	480	16	240	8	480	12	240	6

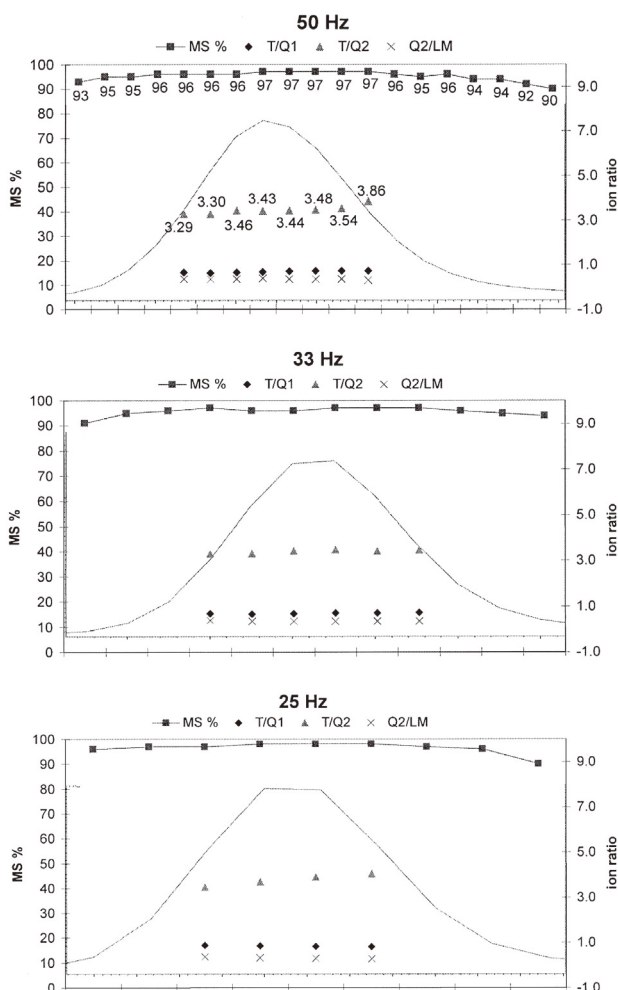


Fig. 2 25、33、50 Hzでのlinaloolのスペクトルの評価

データ採取点でのマススペクトルの類似度 (MS%)と半値幅のところでイオンの比: T, 93 m/z ; Q1, 71 m/z ; Q2, 121 m/z ; LM, 55 m/z 。50 Hzの図には各データポイントのところにMSとT/Q2の値を示す。

Reprinted with permission from *Anal. Chem.*, 2010, 82, 8583-8590.

Copyright 2010 American Chemical Society.

4. 結論

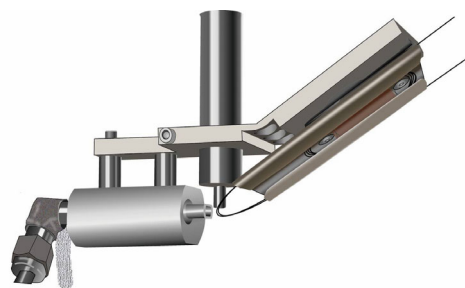
この研究において、新しい四重極MSをGC×GCに使用したときの、定量信頼性が確認できた。ピークあたり15点以上のデータ点が得られ、良好なピーク再構築ができたことにより、新しく開発された四重極GC/MSが、GC×GCの新しい検出器として利用できることがわかった。

References

- [1] Deans, D.R.; Huckle, M.T.; Peterson, R.M. *Chromatographia*, **1971**, *4*, 279-285.
- [2] Dugo, G.; Dugo, P.; Mondello, L. *Multidimensional Chromatography*; Mondello, Lewis and Bartle, Eds.; John Wiley & sons, England, **2002**; pp. 217-250.
- [3] Jennings, W. *Analytical Gas Chromatography*, Academic Press: Orlando, FL, USA, **1987**.
- [4] Mondello, L.; Catalfamo, M.; Proteggente, A.R.; Bonaccorsi, I.; Dugo, G. *J. Agric. Food Chem.*, **1998**, *46*, 54-61.
- [5] Harynuk, J.; Górecki, T.; Campbell, C. *LCGC North America*, **2002**, *20* (9), 876-892.
- [6] Adahchour, M.; Brandt, M.; Baier, H.-U.; Vreuls, R.J.J.; Batenburg, A.M.; Brinkman, U.A.Th. *J. Chromatogr. A*, **2005**, *1067*, 245-254.
- [7] Korytár, P.; Parera, J.; Leonards, P.E.G.; de Boer, J.; Brinkman, U.A.Th. *J. Chromatogr. A*, **2005**, *1067*, 255-264.
- [8] Purcaro, G.; Tranchida, P.Q.; Ragonese, C.; Conte, L.; Dugo, P.; Dugo, G.; Mondello, L. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 8583-8590.
- [9] Directive 2003/15/EC of the European Parliament and of the Council of 27 February 2003.

(このレポートはLuigi Mondelloによる“GC×GC Handbook”から抜粋したものです。)

島津 GC×GC-MSシステム



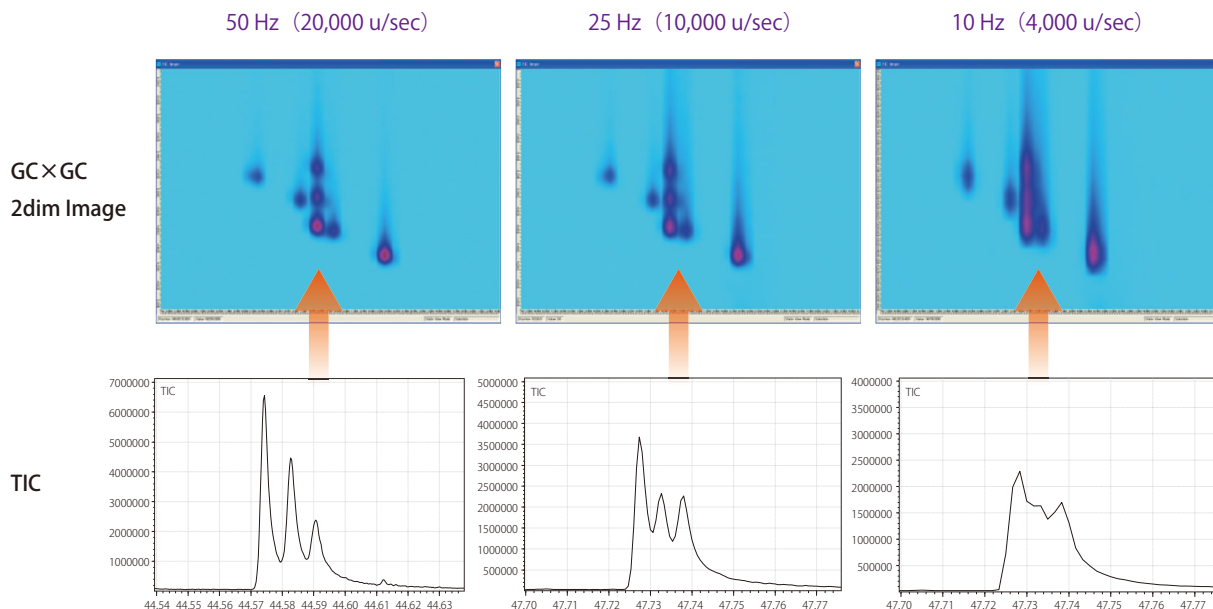
優れたモジュレーションを実現する
Zoex ZX1 2段階サーマルモジュレータ



最大 20,000 u/sec でスキャン可能な
高速四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計
GCMS-QP2010 Ultra

脂肪酸の2次元クロマトグラムとスキャン速度

GCMS-QP2010 Ultraの高速性は2次元側の分離能を向上させる効果があります。
これにより高感度で扱いやすい経済的な四重極型MSがGC×GCに利用しやすくなります。



株式会社 島津製作所
分析計測事業部 <http://www.an.shimadzu.co.jp/>

本資料の掲載情報に関する著作権は当社または原著者に帰属しており、権利者の事前の書面による許可なく、本資料を複製、転用、改ざん、販売等することはできません。掲載情報については十分検討を行っていますが、当社はその正確性や完全性を保証するものではありません。また、本資料の使用により生じたいかなる損害に対しても当社は一切責任を負いません。本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

初版発行：2013年8月
© Shimadzu Corporation, 2013