

# Application News

## GC-CI-MS/MSを用いた多環芳香族 (PAH) 異性体の質量分離分析法

石井 寿成

### ユーザーベネフィット

- ◆ 区別の難しいマススペクトルを有する多環芳香族異性体を分離し、擬陽性リスクの低減と分析の高速化ができます。
- ◆ 特異的なトランジションによる分離と、高強度トランジションによる高感度分析の両方が可能です。
- ◆ 夾雑の影響を受けにくく、簡便な前処理手法でも良好な回収率を得ることができます。

### ■はじめに

多環芳香族炭化水素 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: PAH) はベンゼン環が2つ以上結合した化合物群であり、有機物の不完全燃焼や熱分解などで生成し、食品や環境水に混入することがあります。代表的な物質であるベンゾ[a]ピレンには発がん性があり、その他PAHの一部についても発がん性を有する疑いがあるとされています。このような理由から、PAHの一部が国内外で規制されており (図1)、GC/MS法やLC/MS法による分離分析法が公定法として使用されています。PAHはベンゼン環結合位置の違いによる複数の異性体が存在し、それらは同じ質量数を示します。これらは安定構造を持つため、EI法や、MS/MSのCID (衝突誘起解離) ではマススペクトル上で違いが確認できません。また、極性、沸点などの物性も近いため、専用カラムを用いてもクロマトグラム分離が不十分であることが課題となっています。

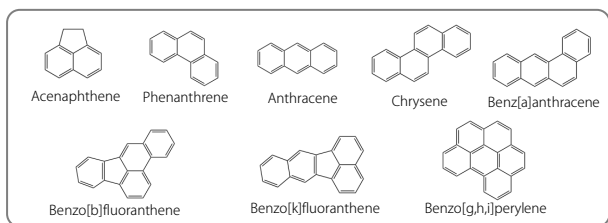


図1 規制対象PAHの例

### ■CI-MS/MS法を用いた分析手法

本稿では、付加反応によってPAHの安定性が変化する点に着目し、CI-MS/MS法を用いたクリセンとトリフェニレンの分析を行いました。分離が難しい異性体の組み合わせとして、クリセンとトリフェニレンが挙げられます。クリセンは規制対象であるのに対し、トリフェニレンは規制対象外であるため、これらの分離は特に重要とされています。

安定構造を持ち、フラグメントイオンが生じにくいPAHでも、電子供与基が結合することで、HOMO-LUMOのエネルギー差が小さくなり開裂が起こりやすくなります。CI法によって試薬ガス由来の電子供与基を付加し (図2)、MS/MSでPAHの特異的なフラグメントを得ることができました。また、プロトン付加イオンが高強度で出るため、このイオンを使用することで高感度分析も可能となりました。

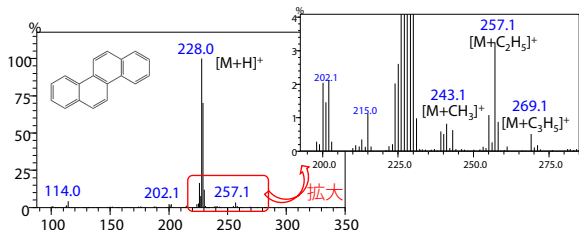


図2 クリセンのCIマススペクトル

### ■標準試料の分析

表1に示した分析条件で、ベンズ[a]アントラセン、トリフェニレン、クリセンを分析しました。混合標準品はアセトニトリルで50 ng/mLに希釈して分析しました。また、クロマトグラムでは示していませんが、本手法を用いてベンズ[b]フェナントレン、ベンズ[k]フェナントレン、ベンズ[j]フェナントレンのような高沸点PAHが分離できることを確認しています。

表1 分析条件

[装置構成]	
GC-MS	: GCMS-TQ8050 NX
カラム	: SH-I-PAH (P/N 227-36074-02) (60 m x 0.25 mm I.D., df = 0.10 μm)
[GC]	
注入口温度	: 250°C
注入量	: 1 μL
注入方式	: スプリットレス
キャリアガス	: He
制御方式	: 線速度制御 (42.5 cm/sec)
Oven Temp.	: 50°C (2 min) → (40°C/min) → 200°C → (25°C/min) → 250°C (3 min) → (15°C/min) → 350°C (5 min) <b>Total 23 min</b>
[MS]	
インターフェース温度	: 330°C
イオン源温度	: 250°C
イオン化モード	: PCI (メタン)
データ取得モード	: MRM

図3に混合標準品の分析結果を示しました。[M+C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>イオン由来のトランジションをピンク色で示しました。このMRMクロマトグラムでは、規制対象物質のベンズ[a]アントラセンとクリセンにのみ感度があることが分かります。ベンズ[a]アントラセンとクリセンはC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>付加により、安定性が下がり、付加した部分からCID開裂が促進されたと考えられます。一方、トリフェニレンは他の異性体よりも共鳴安定性が高く、イオン付加後も開裂を起こしづらかったと考えられます。

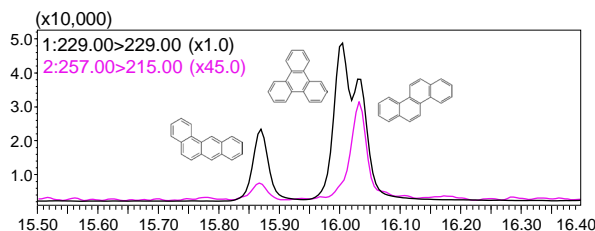


図3 PAH混合標準品の分析結果

## ■ 感度と直線性の確認

クリセンの感度、直線性を確認しました。クリセンとベンズ[a]アントラセンを含む標準溶液をアセトニトリルで1 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、500 ng/mLの濃度に調製して分析しました。それぞれ、クリセン-d12を10 ng/mLずつ添加し、これを内部標準としました。

特異的なトランジションでは、5 ng/mLでS/Nが11.3 (図4)、1 ng/mLでS/N 2.6と十分実用的な感度があることが分かりました。また、高感度トランジションでは、1 ng/mLでS/Nが59.4 (図5)、標準偏差σが0.01であり、定量下限値が0.1 ng/mL (10σ) 程度であると推測されます。直線性はどちらもR<sup>2</sup>が0.999を上回り、良好な結果を得ることができました。

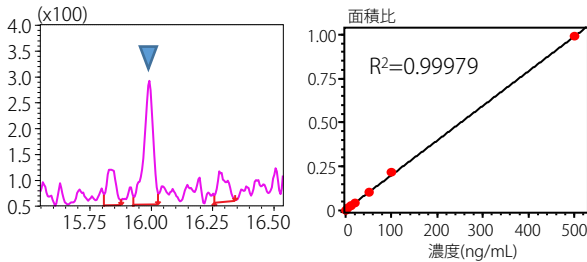


図4 クリセン特異的トランジションの感度確認 (5ppb) と検量線

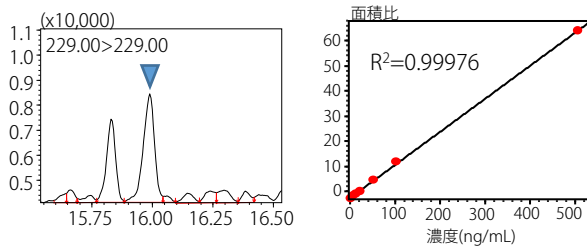


図5 高強度トランジションの感度確認 (1 ng/mL) と検量線

## ■ 食品試料の分析結果

ドライソーセージをサンプルとして、PAHを標準添加して分析を行いました。前処理フローを図6に示します。まず、粉砕したソーセージ10 gに水5 mLを加え、クリセン、ベンズ[a]アントラセン、トリフェニレンの標準品およびクリセン-d12を、それぞれサンプル重量に対して10 ng/mLになるよう添加しました。これをnon-buffered QuEChERS法でアセトニトリル10 mLを用いて抽出しました。遠心分離後、上層の3 mLのみを採取し、0.75 gのZ-sep (Supelco) を用いた分散固相抽出により精製し、分析試料としました。

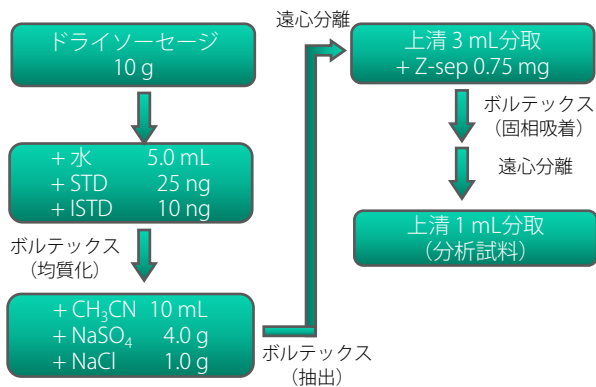


図6 前処理フロー

GCMS-TQ は、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

## ■ 結果

分析結果を図7に示しました。クロマトグラムを確認すると、高感度トランジションでサンプル由来の夾雑ピークが検出されている一方、特異的なトランジションではベンズ[a]アントラセンとクリセンのみが特異的に検出されていることが分かります。拡大図を確認すると、標準試料と同様にクリセンとトリフェニレンが分離されていることが分かります。

また、面積比からクリセンの回収率を求めました。高感度トランジションを用いる場合、トリフェニレンとピークを分割して面積値を求める必要があります。これにより、面積値が実際よりも小さくなるため、クリセンの回収率は73.7%と算出されました。一方、特異的なトランジションを用いた場合、トリフェニレンの影響を受けないため、回収率が105.9%と良好な値を示しました。

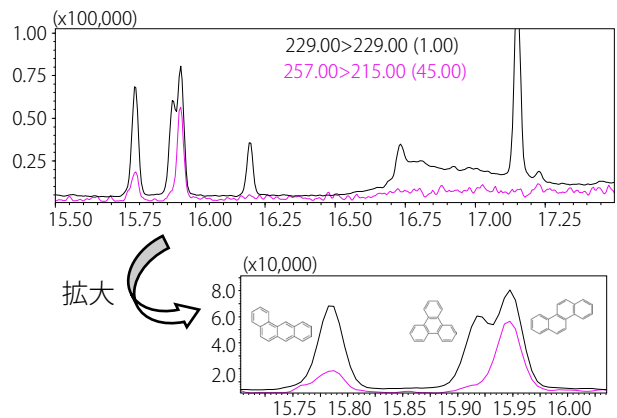


図7 実試料分析結果

## ■ まとめ・考察

トリプル四重極型GC-MS (図8) を用いたメタンによるCI-MS/MS法を応用することで、共鳴安定性の違いが開裂パターンに影響を与え、クリセンとトリフェニレンを分離することができました。また、従来のMS/MS法では、プリカーサーイオンと同じ、もしくはヒドリド脱離したイオンをプロダクトイオンとして選択しており、選択性が低いことが懸念されていました。本手法では、より選択性が高く、食品試料の夾雑の影響を受けにくいことが分かりました。

検討の結果、より分子量の大きいベンズ[b]フェナントレン、ベンズ[k]フェナントレン、ベンズ[j]フェナントレンなどはC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>以外の付加イオンにより、異性体ごとのイオン強度比が大きく異なるという知見が得られました。



図8 GCMS-TQ™ 8050 NX

＞ アンケート

**関連製品** 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



＞ GCMS-TQ™8050

NX

トリプル四重極型 ガスクロマトグラフ質量分析計

## 関連分野

＞ 食品・飲料

＞ 栄養・機能性成分

＞ 環境

＞ 有害物質の分析

＞ 価格お問い合わせ

＞ 製品お問い合わせ

＞ 技術お問い合わせ

＞ その他お問い合わせ