

熱分解ガスクロマトグラフィー質量分析法の 異物分析への応用に関する研究

木下 健司*¹⁾

Study on Pyrolysis-Gas Chromatography/Mass Spectrometry for Contamination Analysis Kenji Kinoshita*¹⁾

In order to construct a current system of contamination analysis, pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry (Py-GC/MS) was investigated and data collected. No databases are currently available for identifying the contaminants, because their targets are mainly synthetic polymers. Critical data on carbohydrates, natural resins, proteins, biological samples etc., were obtained in this study. Marker compounds for identification were also examined and were found to be effective for analyzing biological contaminants. The Py-GC/MS method is useful for contamination analysis, which will assist the identification with Fourier transform infrared spectrometry.

キーワード：熱分解ガスクロマトグラフィー質量分析法, 異物分析, データベース

Keywords : Pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry, Contamination analysis, Database

1. まえがき

現在, 異物分析に関する依頼試験ならびに相談は比較的多く, 週に数件の割合で新たな異物分析へ対応することが求められている。そのために, 短時間で信頼性の高い分析が要求される。異物となりうる対象は, 混入物や付着物等の外的異物のみならず, 不純物や析出物等の内的異物, そして物質欠落など多様であるため⁽¹⁾, 測定対象について多角的に捉え, 総合的な判断を行うことが重要となる。即ち一つの異物に対して, 状態の確認には各種顕微鏡を用いた外観観察, 金属等の無機物成分の確認には元素分析, 樹脂片の特定等には有機物成分分析を行う必要がある。有機物系異物の分析には, 一般に主としてフーリエ変換赤外線分光分析法 (FT-IR) が使用されており, 迅速かつ微量での測定が可能であること, そして成分特定のためのデータベースが豊富であること等多くの利点を有する。その一方で, 試料が混合物など複雑な組成である場合には解析が困難であり, 異物特定に至らないだけでなく解析を誤る危険性も考えられる。それ故, 新たに異物分析の体制を改善することが必要であった。

新たな体制を検討するにあたり, 通常の FT-IR による分析に相補的な分析手法が必要と考えられ, 相補的な分析手法となるには実際の多くの試料に対応する迅速な測定能力を有し, FT-IR には得られない解析能力が求められた。有機物の解析に用いられる手法として, FT-IR の他にガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC/MS) や核磁気共鳴分光法 (NMR)

などが挙げられるが, 微量分析が可能であることや分離能力や同定能力に優れること, そして固体試料を煩雑な前処理を必要とせず分析が可能であることから熱分解装置を搭載した熱分解 GC/MS を選択した。熱分解 GC/MS は様々な研究分野で広く使われているものの, 異物分析に利用するには, 測定データについて比較するためのデータベースが十分ではないために, 測定から異物特定へ繋げることが困難であった。以上の背景から, 異物分析に対する体制を補強することを目的として, 熱分解 GC/MS を応用するための検討を行ったので報告する。

2. 方法

2.1 測定試料 多種多様な対象が異物となり得るために, ある特定の分野について対象を絞らずに広範囲にわたり市販品を含めて試料の収集を行った。合成高分子系試料を 113 種, 天然高分子系試料を 85 種, 生物系試料を 30 種, その他低分子系試料等を 78 種収集した。

2.2 装置 熱分解装置はフロンティアラボ製 PY-2020iD を用いた。ガスクロマトグラフ質量分析計はアジレントテクノロジー製 7890A/5975 C を用いた。発生ガス分析に用いるチューブには Restek 製 Rxi Guard Column (5 m×0.25 mm) を用いた。瞬時熱分解法に用いる分離用分析カラムは, アジレントテクノロジー製 DB-5MSUI (30 m×0.25 mm, 0.25 μm) を一般分析用に使い, 生物系試料については Phenomenex 製 ZB-MultiResidue-1 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm) を用いて検討を行った。また, キャピラリー・フロー・テクノロジーモジュールであるスプリッターを搭載し, 分離

*¹⁾ 城南支所

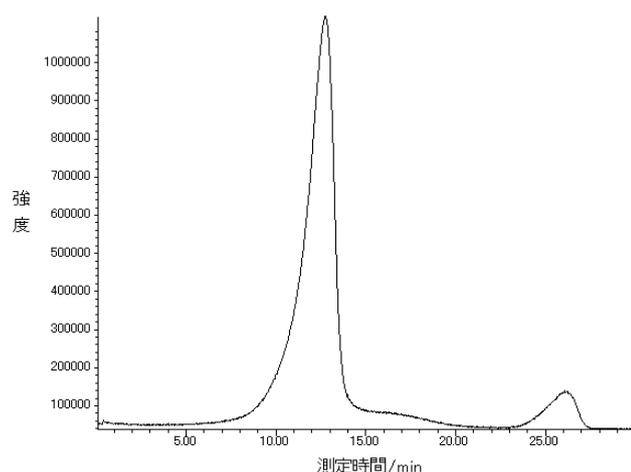


図1. サーマグラム例 (コピー用紙)

昇温速度を一定としているため、横軸は加熱温度として読み取ることも可能である。

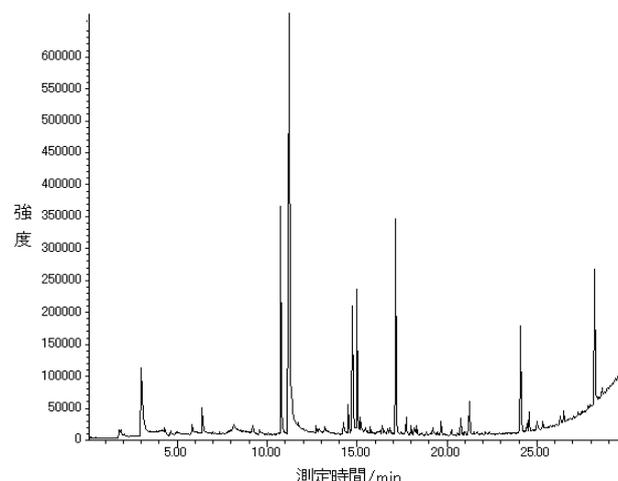


図2. パイログラム例 (ポリエチレンテレフタレート)

検出器である質量分析計で各ピークについて化合物の同定を行い、検出された化合物のパターンから元の試料を推定する。

分析において毎測定後にバックフラッシュを行うことにより、カラム内に残留する成分の除去を行った。

2.3 分析手法 通常の異物分析においては、測定対象を予め定めることができないために広い対象に対応できる分析条件が必要である。本研究に用いた熱分解装置には加熱方式が数種類あり、ある温度範囲について一定の速度で昇温させる「発生ガス分析法」ならびに数百度の高温で瞬時に試料を分解させる「瞬時熱分解法 (以下熱分解法)」がある。発生ガス分析法は試料を昇温加熱しながら試料に存在する低分子成分を揮発させたり、固体試料を熱分解させたりすることで気化し、発生したガス成分を直接検出器へ導入する手法であり、測定時間 (加熱温度) とガス発生の関係を示したサーモグラムが得られる。例を図1に示す。サーモグラムより、混合物か否かの確認、さらに熱分解法における最適加熱温度を求めることができる。そのために、発生ガス分析法は熱分解GC/MSによる異物分析の第一段階として使用した。

一方、熱分解法は試料を瞬時に分解させ気化した後に、GC/MSで分離検出を行う手法であり、分離した熱分解生成物を示したパイログラムが得られる。例を図2に示す。得られたパイログラムを基に、検出した個々の熱分解生成物を解析して元の対象成分の特定が期待されることから、異物分析の第二段階として使用した。

2.4 データベース検索 得られたサーモグラムおよびパイログラムについて、データベースとの比較を行う際に、ピーク成分を一つずつ解析していく方法の他に、パソコン上での自動検索を検討した。その為に検索用ソフトウェアとしてF-Search (フロンティアラボ製) を使用し、得られたデータを登録した。

2.5 油系試料の識別 異物分析においてはある程度成分の素性が判明しており、比較対象との比較を目的とすることがある。油系試料は鉱物油系、合成油系、植物油系などに分類されるが、その中で実際の異物分析の対象として

特に鉱物油を主成分とした試料が多くみられた。FT-IRによる測定では鉱物油系である事は判明するものの、混在する微量成分の特定や基油の識別などを明確に行うことは困難である。そのために、熱分解GC/MSの装置を用いた識別の方法を検討した。

2.6 マーカー化合物の検討 血液等の試料の場合、成分が生体由来であるかどうかを重要とされ、FT-IRでは十分な結果を導くことができないことがある。これらの点に対応するために、特定や比較の上で重要となるマーカー化合物の探索を行った。

3. 結果

3.1 測定条件 異物分析においては、通常測定試料の成分が未知であることが多いために、一般条件として全てのサンプルに対応する条件でなければならない。第1段階として選択した発生ガス分析においては、100℃を起点に昇温速度を20℃/minとして測定を行った。全測定サンプルのうち、一部のシリコン系高分子化合物および二酸化炭素を発生する炭酸塩等を除き、最高温度が700℃で熱分解が終了したことから、試料情報を得るための未知試料測定条件の温度範囲を100℃から700℃までとした。

第二段階とした熱分解法については、一般条件のための条件として分離用カラムの最適な極性を検討した。無極性、微極性、極性の3種のカラムを検討した結果、微極性カラムによりバランスの良い分離が達成された。また、GCオープン温度は最低温度を40℃とし、最高温度を320℃として昇温速度を10℃/minとすることで比較的バランス良く分離が達成された。

3.2 データベース検索 サンプル種によりパイログラム上の主成分が二酸化炭素となることがあるが、二酸化炭素は試料を特徴づけるものとはならない。パイログラムを登録する際には、主要ピークの質量スペクトルを積算した

表1. データベース自動検索結果

測定データ：血液		
検索順位	データベース化合物	一致率(%)
1	血液	95
2	かさぶた	92
3	皮膚(ささくれ)	88
4	クロレラ	86
5	魚粉	86

測定データ：藍藻(スピルリナ)		
検索順位	データベース化合物	一致率(%)
1	スピルリナ	98
2	クロレラ	91
3	クラミドモナス	90
4	フケ	89
5	イトミミズ	87

ものを情報として入れ込むために、該当するサンプルについて情報を登録すると、試料の性状の全く異なるものが検索結果の上位に現れる可能性が生じる。そのために、幾つかの対象サンプルについて二酸化炭素などを除いた情報を登録し、検索における信頼性の向上を試みた。

自動検索例として、データベースへ登録していない測定データについて、検索を行った。結果を表1に示す。現在市販されているデータは工業材料に関するものが多いものの、表1に見られるように、生物系の試料においても性状の近い物質や生物が検索結果の上位を占めた。上記の結果より、新たに作成したデータベースが異物解析へ活用できる可能性が期待された。

3.3 油系試料の識別 潤滑油など鉱物油にはパラフィン系やナフテン系の基油，ならびに酸化防止剤など様々な添加剤が含まれており，一部には合成油なども用いられている⁽²⁾。よって，上記の成分を分離することにより識別が可能となる。また，基油は高沸点の成分が多いために，3.1で示した一般条件のうち，最高温度の状態を15分間保持させることにより，基油成分を溶出した。図3に示すように，低級アルケン化合物等の低沸点成分，添加物や高級脂肪酸等，ピークの塊として検出される基油成分を確認することができた。

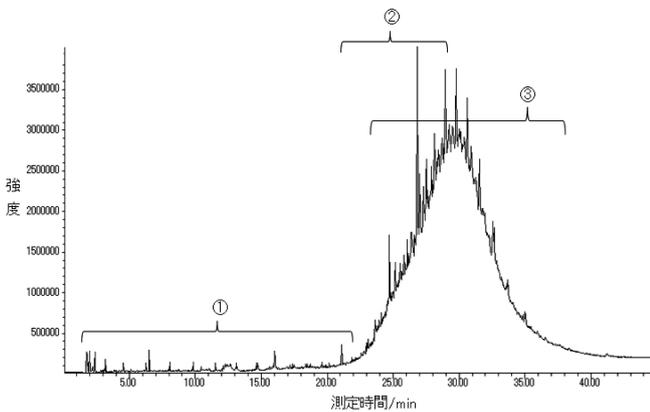


図3. 油系サンプルのピログラム例
(潤滑油とオリーブオイルの混合物)

- ①低級アルケンなどの低沸点化合物
- ②添加剤や高級脂肪酸化合物などがピークとして検出される
- ③基油が個々に分離されずに溶出される。

また，基油自体についてもピークの塊の部分について比較する際に，質量電荷比(m/z) 57, 83, 97についてマスキロマトグラムを調べることで，図4に示すように，パラフィン系およびナフテン系化合物等の存在を目立たせることができ，基

油部分についてさらなる詳細な比較を行うことが可能であった。

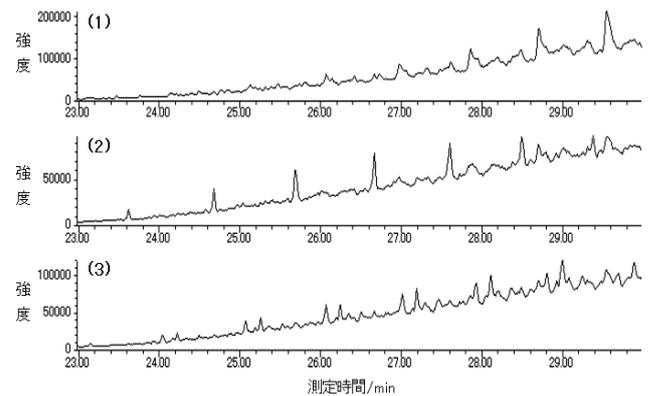


図4. 基油成分部分におけるマスキロマトグラム(拡大)

- (1) m/z 57: パラフィン系炭化水素の確認を容易にする
- (2) m/z 83: ナフテン系炭化水素の確認を容易にする。
- (3) m/z 97: その他ナフテン系炭化水素などの確認を容易にする。

以上より，FT-IRで識別が困難であった鉱物油系試料について，明確な識別を可能とする条件を導くことができた。

3.4 生物系サンプルにおけるマーカー化合物

3.4.1 植物組織

植物細胞は細胞を構成する一部である細胞壁を有しており，細胞壁の主成分はセルロースからなる。そのために，熱分解GC/MSで測定を行うとセルロースの主要熱分解化合物であるレボグルコサン(図5)が検出される⁽³⁾。セルロースを含むサンプルは様々であり，レボグルコサンはマーカー化合物の一つとなるもののそれ以外の成分が重要となる。得られたピログラムには特徴として多価フェノール誘導体(図5;例メトキシオイゲノール)が検出され，木材には顕著に確認された。

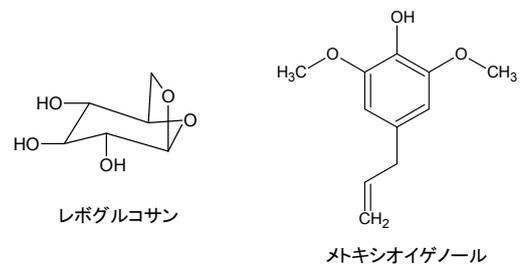


図5. 植物組織分析における特徴的な熱分解生成物の例

検出された芳香族化合物は，リグニンの熱分解生成物やその他の植物組織内で生合成された天然の芳香族化合物に由

来するものと考えられ、それらをマーカー化合物とすることにより植物組織の存在を示唆することが可能となった。

3.4.2 動物組織 動物組織をFT-IRで測定すると、主成分としてタンパクに関連するスペクトルが観察されるものの、それ以外に得られる情報は少ない。一方熱分解GC/MSで測定を行うと、主成分としてタンパク質に関連する数多くの比較的小さなピークや、高級脂肪酸化合物、脂肪酸エステル、脂肪酸アミドをはじめとする脂質由来のピークが検出された。脂質のパターンはヒト由来の組織であっても、皮膚(ささくれ)、血液、フケなどの試料の間に相違が確認された。動物組織から検出される化合物として、その他に数種のステロイドが検出された。例として、図6にヒト血液のパイログラムを示す。パイログラム上には測定時間30分以降に3種のステロイドが検出された。

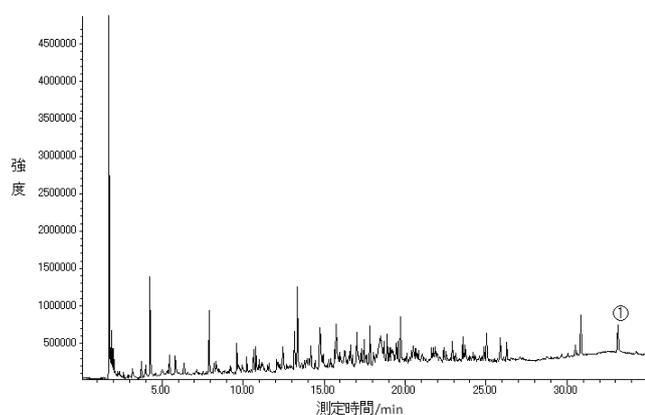


図6. ヒト血液のパイログラム

生物試料にはステロイドが検出されるが、ステロイドは生物種によって異なっており、微細藻類であるクラミドモナスからはヒト血液とは異なるステロイドが検出された。図7にパイログラムを示す。

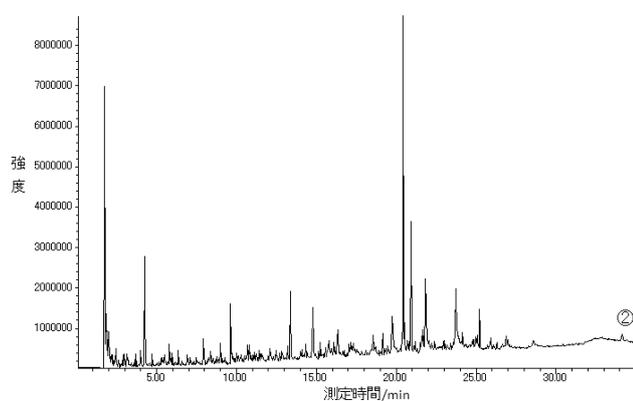
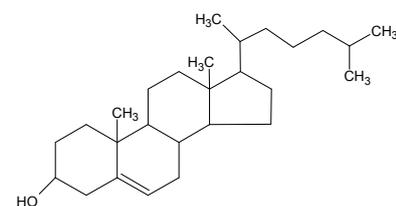


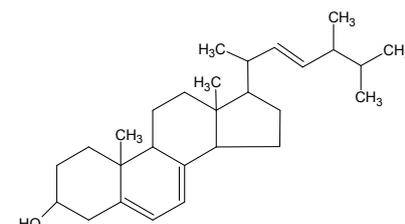
図7. クラミドモナスのパイログラム

パイログラム上に確認された代表的なステロイドを図8に示す。以上の結果より、タンパクや脂質以外の情報として、ステロイドのパターンを利用することにより、各動物組織の

存在を確実にすることが可能となった。



コレステロール(図6-①において検出)



エルゴステロール(図7-②において検出)

図8. 検出されたステロイド化合物の例

4. まとめ

異物分析に関する技術改善のために、熱分解GC/MSを応用することを目的として、幅広い対象で約300種類の試料について測定データを集め、新たなデータベースの構築を図った。また、生物試料等では識別を特徴づけるマーカー化合物の探索を行った。本研究で得られた知見を基に熱分解GC/MSを応用することで、現在異物分析における第一選択となっているFT-IRを補完する手法として有用であり、本法による依頼試験における飛躍的な解析可能範囲の拡大が期待される。今後は特にFT-IR単独では解析が困難である生体由来の試料等をはじめとして、データ数を増加させることにより対象範囲の拡大を図り、利用価値を高めていく予定である。

(平成23年5月20日受付, 平成23年7月5日再受付)

文 献

- (1) 異物の顕微赤外スペクトル集—相補改訂版—, p. 9-12 技術情報協会 (2008年)
- (2) 潤滑経済 臨時増刊号 No.513, p.22-28 および 177-198, 潤滑通信社 (2008年)
- (3) Serban C. Moldobeanu, *Analytical pyrolysis of natural organic polymers*, p.237-256, Elsevier, Amsterdam, 1998.