

光イオン化イオン源 (PI) を搭載した GC×GC-TOFMS を用いた 石油試料中のバイオマーカーの分析



企業レポート

上田 祥久*

Analysis of biomarkers in oil samples by using GC×GC-TOFMS System with photo ionization ion source

Key Words : GC×GC, Photo ionization, TOFMS, biomarker

1. はじめに

近年、ガスクロマトグラフ (以下、GC と略す) 技術の一つとして、より複雑な成分組成を有する化学物質群の分離分析に対し高度なキャピラリカラムの技術を応用した Comprehensive two dimensional GC (以下 GC×GC と略す) が開発されている [1, 2]。

GC×GC は、直列に接続した分離モードの異なる 2 種類のキャピラリカラムと、1 段目のカラムと 2 段目カラムの間に設置されたクライオトラップシステム (モジュレータ) により構成されており、一度の分析で 2 種類の分離モードでの分離分析を行うことが可能となる。GC×GC の分析では、一定時間ごとに溶出成分をクライオトラップでトラップするため、溶出成分のピーク幅は非常に狭く、見かけの感度は高くなる。また、2 段目のカラムでの分離が非常に短時間で行われるため、2 段目のカラムでの分離分解能を維持するためには高速にシグナルを収集する必要がある。この GC×GC の検出器としての MS を考えた場合、高速にスペクトルの収集が可能な飛行時間型質量分析計 (以下、TOFMS と略す) が理想的であるといえる。このような背景から、当社では、2004 年以來、GC×GC と弊社で開発した高分解能 TOFMS を組み合わせた GC×GC-TOFMS システムを構築し、種々の複雑系サンプルの分析にご利用頂いている [3-6]。本稿では弊社

GC-TOFMS の最新機種である JMS-T200GC Accu-TOF™ GCx とそのオプションイオン源である「光イオン化イオン源」、さらには GC×GC を組み合わせたシステムを用いて、石油試料中のバイオマーカー分析を行った事例を紹介する。

2. GC×GC-PI-TOFMS システム

2.1 GC×GC システム

弊社では、GC×GC システムとして、米国 Zoex 社の製品を採用している。2 つのカラムの接続部分には図 1 に示したような「モジュレータ」が設置されており、1st カラムから溶出された成分は一定時

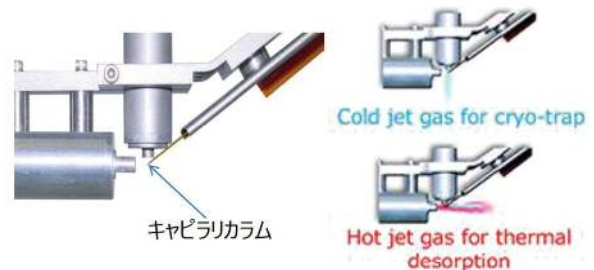


図 1. GC×GC モジュレータ模式図

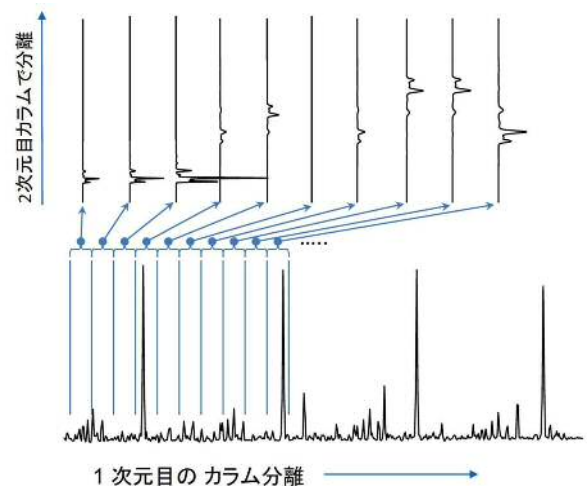


図 2. GC×GC で得られる 2次元クロマトグラムの概念図



* Yoshihisa UEDA

1963年7月生
群馬大学大学院工学研究科応用化学専攻
修士課程終了 (1988年)
現在、日本電子株式会社
MS事業ユニット ユニット長
機器分析、環境化学
TEL : 042-542-2125
FAX : 042-546-8068
E-mail : yueda@jeol.co.jp

間 (5～10 秒) モジュレータ部の Cold jet によりカラムの一部分にクライオトラップされた後、ほんの短い間の Hot jet により加熱されることにより、2nd カラムに送り込まれる。2nd カラムには内径が細く長さの短いカラムが使用され、1st カラムからの溶出物がトラップされている間 (5～10 秒) の非常に短時間で分離が行われる。この動作を一定時間間隔 (5～10 秒間) で連続的に行うことにより図2に示したようにクロマト分離が2次元的に行われることになる。

2.2 光イオン化イオン源 (PI)

GC-MS で最も広く使われているイオン化法は電子イオン化 (EI) 法であるが、このイオン化法ではイオン化エネルギーが高く、フラグメントイオン由来のイオンが多数検出される。フラグメントイオンが得られることは、分析対象化合物の部分構造を得ると言う目的、もしくはマススペクトルのパターンからライブラリサーチによる化合物同定を行う目的では有用であるが、分析対象化合物の分子量情報を得ると言う観点では、分子イオンを得にくいため理想的なイオン化法とはいえない。この様に高いイオン化エネルギーを用いるイオン化法を「ハードイオン化法」と呼ぶのに対し、エネルギーの低い状態で分析対象物質をイオン化する方法は「ソフトイオン化法」と呼ばれる。GC-MS の分野で利用されるソフトイオン化法としては「化学イオン化 (CI) 法」が一般的であるが、弊社では CI 法に加え、真空紫外

(VUV) 光を用いて分析対象物質をイオン化する「光イオン化 (PI) イオン源」を開発し、GC-TOFMS (JMS-T200GC AccuTOF™ GCx)、もしくは GC-QMS (JMS-Q1500GC) のオプションイオン源として販売している。

本PIイオン源は図3に示したとおりEIイオン化用のフィラメントも搭載されており、VUV光をOFFにし、フィラメントをONにすることによりEIイオン源としても利用できる。よって、ユーザーは、イオン源周りのハードウェアを変更することなしに、EIイオン化とPIイオン化を逐次切り替えることが可能となっている。

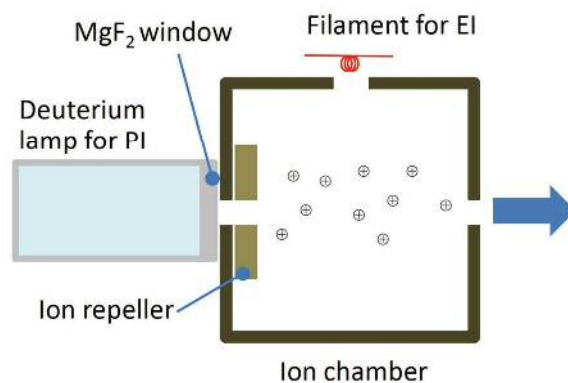


図3. PIイオン源模式図

2.3 高分解能 TOFMS システム

JEOL社製AccuTOF™ GCシリーズの概観、及びイオン源、イオン輸送系、イオン光学系の模式図を図4に示した。GC-MSでは、GCのキャリアガスとし

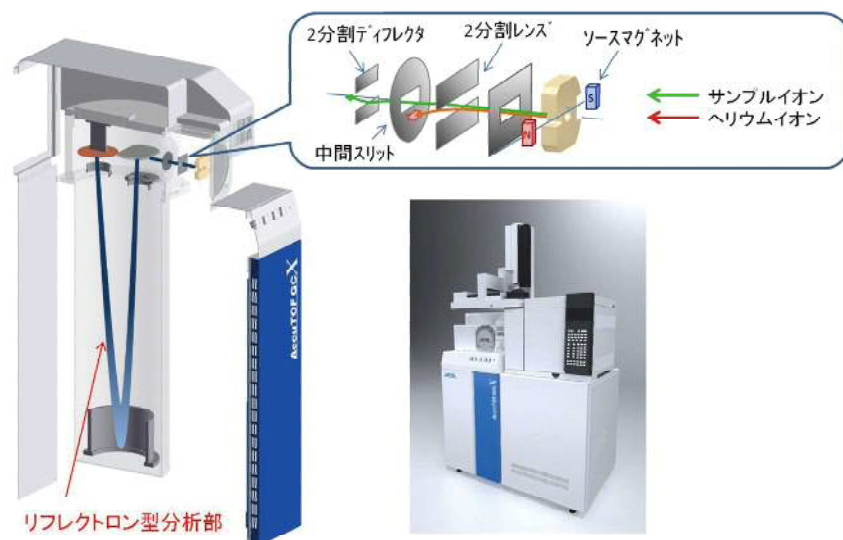


図4. JMS-T200GCの各部模式図

てヘリウムガスが用いられ、EI法では、これらヘリウムもイオン源でイオン化される。分析部に導入されたイオンは全て検出器まで到達するというTOFMSの特性から、EI法では大量のヘリウムイオンが分析部に導入されることとなり、このことはひいては検出器の急激な劣化につながる事となる。このため本装置では、イオン源内にあるソースマグネットやイオン輸送系のレンズ電圧のバランスをとることにより、ヘリウムイオンの99.9%以上を排除するイオン輸送系を実現した。

3. GC × GC-PI-TOFMS を用いた石油試料中のバイオマーカーの分析

石油探鉱の一つの指標として、原油やその根源岩に含まれているバイオマーカーの分析が行われている。バイオマーカーは石油の起源となった生物に特異的な有機化合物であり、原油内に含まれているバイオマーカーを特定することにより、石油を生成した根源岩の起源となっている有機物の種類や堆積環境、熟成度などの情報が得られると言われている。しかしながら、石油試料は炭化水素の集合体であり、またバイオマーカーとされている物質も炭化水素であることから、石油試料の中に含まれるバイオマーカーを網羅的に検出することは非常に困難な作業となる。

そこで本報告では、GC × GCの高い分離分析能と、PIイオン化によるソフトなイオン化法、さらには、TOFMSによる高い質量分解能を組み合わせることにより、石油試料中のバイオマーカーの網羅的検出を試みた。

3.1 測定条件

詳細な測定条件を表1にまとめた。GC × GC シス

表1. 測定条件

Instrument	日本電子(株)AccuTOF™ GCシリーズ
	Zoex ZX2 thermal modulator
1 st Column	BPX5, 30m × 0.25mm, 0.25μm
2 nd Column	BPX50, 3m × 0.1mm, 0.1μm
Modulator period	6 sec
Inlet pressure	350kPa (Out flow : 1.75mL/min)
Inlet mode	Cool on column, Oven track mode, 1μL Injection
Oven Temp.	50°C(2min) → 10°C/min → 250°C
Ion Source	EI/PI Combination Ion Source
Ionization mode	PI+ (D ₂ lamp, 115~400nm)
m/z range	m/z 35~700
Spectrum recording speed	25 spectra / sec

テムは「Zoex ZX2」であり、1stカラムには微極性カラムを用い、2ndカラムとしては極性カラムを用いた。サンプルは原油流分Aと原油流分Bの2種類とし、それぞれに含まれているバイオマーカーの検出を試みた。

3.2 測定結果

図5には、代表的なバイオマーカーである Cholestane、及び Adamantane を PI法で測定した際に得られるマススペクトルを示した。いずれの化合物においても、分子イオンに由来する M⁺イオンがベースピークとして検出され、これらの物質の分子イオンの観測にPI法が有用であることがわかった。

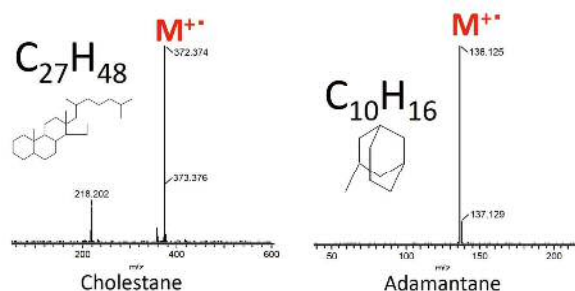


図5. Cholestane 及び Adamantane のPIマススペクトル

次に図6及び図7に2種類の原油流分サンプルのGC × GC/PIでの2次元TICクロマトグラムを示した。いずれのサンプルからも一連のn-Alkane類(C_nH_{2n+2})やCycloalkane類(C_nH_{2n})が観測されているのと同時に、2ndカラムのリテンションタイムの遅い側に多数の化合物が検出された。いくつかのピークからPI法により得られたマススペクトルを解析することにより、これらの化合物はn-Alkane類やCycloalkane類よりも不飽和度の高い、C_nH_{2n-4}やC_nH_{2n-6}、C_nH_{2n-8}であることがわかった。同じ2

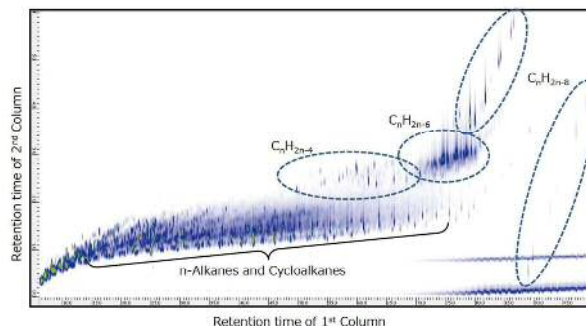


図6. 原油流分AのGC × GC/PIの2次元TIC

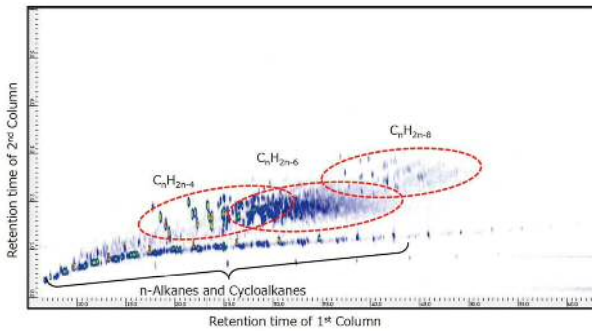


図7. 原油流分BのGC×GC/PIの2次元TIC

種類の原油流分試料を、まったく同じGC×GC条件でEI法を用いて測定した結果から、これらのC_nH_{2n-4}、C_nH_{2n-6}、C_nH_{2n-8}に相当するピークのEI法によるライブラリサーチの結果から、原油流分Aで

表2. 代表的なバイオマーカーとその分子イオンのm/z

Compounds	Rational Formula	m/z
18-Norabietane	C ₁₉ H ₃₄	262.2661
Cholestane	C ₂₇ H ₄₈	372.3756
Hopane	C ₃₀ H ₅₂	412.4069
Adamantane	C ₁₀ H ₁₆	136.1252
Iceane	C ₁₂ H ₁₈	162.1409
Diamantane	C ₁₄ H ₂₀	188.1565

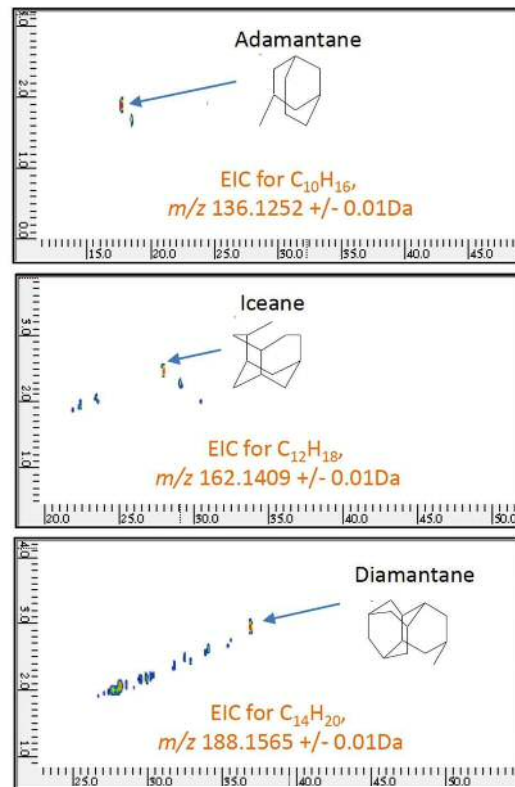


図9. 原油流分BのGC×GC/PI 2次元EIC (m/z 136.1252, 162.1409, 188.1565)

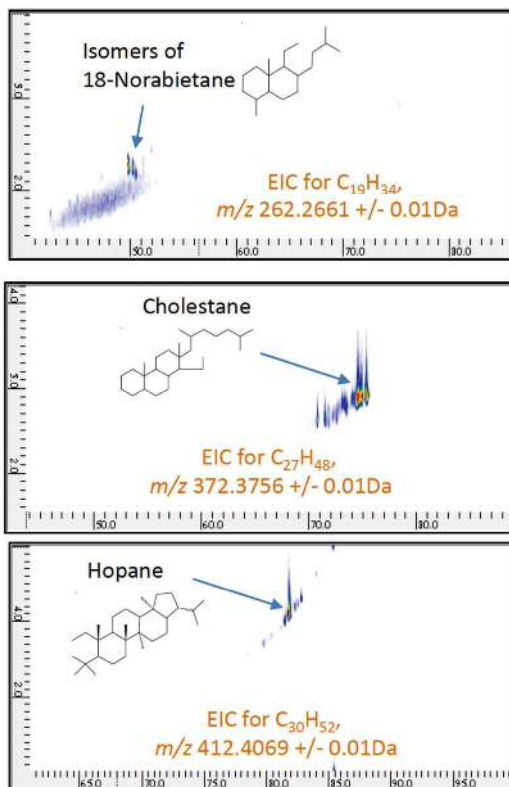


図8. 原油流分AのGC×GC/PI 2次元EIC (m/z 262.2661, 372.3756, 412.4069)

は Cholestane に代表される多環系飽和炭化水素類であり、原油流分Bでは Adamantane に代表される飽和の橋かけ環状炭化水素類であることがわかった。そこで、バイオマーカーとして一般的に知られている表2に示した6つの化合物に関して、PI法による測定結果から、その分子イオンを基にしたm/zを用いて高質量分解能状態での2次元EIC (Extracted Ion Chromatogram) を作成したところ、図8及び図9に示したように、原油流分Aからは、18-Norabietane、Cholestane、Hopane が、原油流分Bからは Adamantane、Iceane、Diamantane が特異的に検出されることがわかった。そこで、それぞれのバイオマーカーの類縁化合物の存在を系統的に評価するため、異なる炭素数におけるC_nH_{2n-4}やC_nH_{2n-6}、C_nH_{2n-8}に相当する高質量分解能2次元EICの合算クロマトグラムを作成し図10及び図11に示した。その結果、前述したバイオマーカーの類縁化合物が、それぞれの炭素数の違いにより、各々の原油流分に含まれていることを明確に見出すことができた。PI法では、それぞれのバイオマーカーの類縁化合物についても、選択的に分子イオンを観測することができるため、GC×GCの高分離能と組み合わせるこ

とにより、バイオマーカーの存在量を系統的に評価することが可能となった。

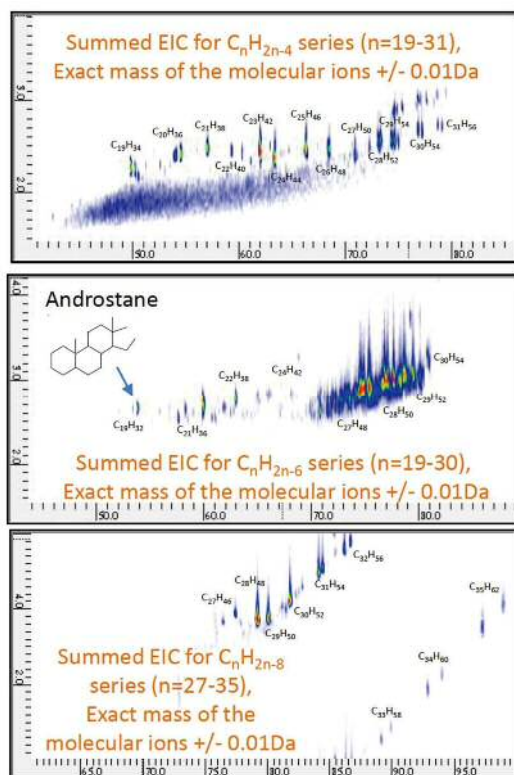


図10. 原油流分AのGC×GC/PI 合算2次元EIC (C_nH_{2n-4}:n=19~31, C_nH_{2n-6}:n=19~31, C_nH_{2n-8}:n=27~35)

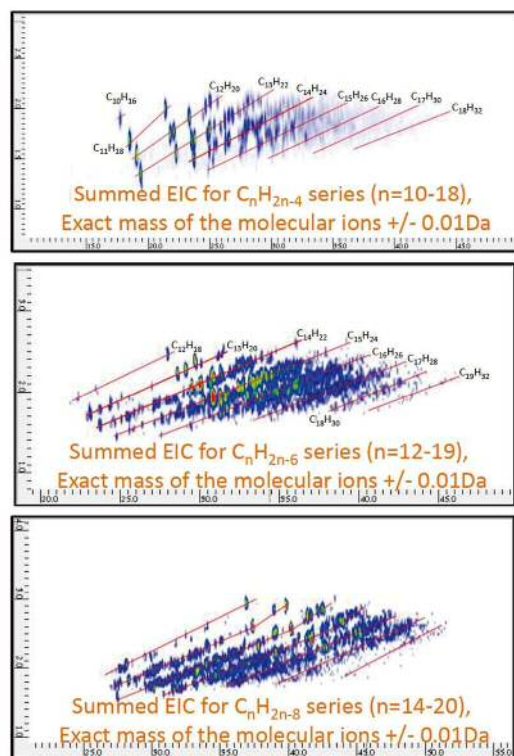


図11. 原油流分BのGCxGC/PI 合算2次元EIC (C_nH_{2n-4}:n=10~18, C_nH_{2n-6}:n=12~19, C_nH_{2n-8}:n=14~20)

4. まとめ

GC×GCの分離分析能はこれまでのGC分離に比較して飛躍的に高いが、その高い分離分析能を最大限に引き出すためには、高質量分解能状態で高速にマススペクトルの収集が可能なTOFMSや、複数の視点からマススペクトルを得る手段、具体的にはハードイオン化法とソフトイオン化法を組み合わせた形での分析が有用であるといえる。このことから、GC×GCと、炭化水素化合物の分子イオンを検出することができるPIイオン源、さらには高質量分解能状態で非常に高速にマススペクトルを取得できるAccuTOF™ GCシリーズを組み合わせたGC×GC-PI-TOFMSシステムは、石油試料中のバイオマーカーのような複雑な混合物の分析には非常に強力なツールといえる。

- [1] Z. Liu, J. B. Phillips, J. Chromatogr. Sci., 29 227 (1991)
- [2] J. C. Giddings, Anal. Chem., 56 1258A (1984)
- [3] ゲステル株式会社, 落合伸夫, 「GC×GC-TOFMSによる環境汚染物質の超微量分析」, JEOL MS ユーザーズミーティング (2008)
- [4] S. Hashimoto, Y. Takazawa, A. Fushimi, H. Ito, K. Tanabe, Y. Shibata, M. Ubukata, A. Kusai, K. Tanaka, H. Otsuka, K. Anezaki, J. Chromatogr. A., 1178 187 (2008)
- [5] 一般社団法人九州環境管理協会, 上田守男, 「GC×GC-HRTOFMSを用いた燃料油中の有機化合物の定性および定量」, JEOL MS ユーザーズミーティング (2010)
- [6] Anupam Giri, et al., Anal. Chem., 2017, 89(10), pp5395-5403