

(研究課題名)

高分解能飛行時間型質量分析計と選択型検出器を併用した  
堆積物コア試料中有機ハロゲン化合物探索手法の評価

(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)

化学物質の数が増加の一途をたどり、環境に排出される化学物質の量や種類も増加していると推測される中、対象物質を限定せずに測定を行う環境試料ノンターゲット分析のニーズが国際的に高まっている。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構築を行ってきた。GC×GC - HRTofMS は、従来の GC - MS を用いたターゲット分析と比較して各段に多くの情報を得ることが出来るが、データ解析手法には未だ課題も多い。2019 年度の es-BANK 利用型共同研究では、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>。2021 年度の es-BANK 利用型共同研究では、EI データの解析において見えてきた課題を克服すべく、ソフトイオン化法の適用に取り組んできた。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、残留性有機汚染物質である芳香族有機ハロゲン化合物を対象として、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イオン化条件を見出した<sup>(2)</sup>。Ar イオン化法と従来の EI 法の 2 つを用いて、兵庫県香美町沖の日本海深海堆積物コア試料を GC×GC - HRTofMS にて測定し、独自のデータ解析プログラムやマススペクトルライブラリーを用いて解析を行った結果、堆積物コア試料中に天然起源の有機ハロゲン化合物 HNP (ハロゲン化メチルビピロール; C<sub>9</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>ClBr<sub>6</sub> など) や、未知の塩素/臭素化合物などの有機ハロゲン化合物を検出した。その際、Ar イオン化法のみで検出された化合物がある一方で、Ar イオン化法を併用しても見逃している有機ハロゲン化合物がある可能性が示された。

そこで本年は、これまで開発してきた GC×GC - HRTofMS による環境試料ノンターゲット分析手法に、あらたに選択型検出器である電子捕獲検出器 (ECD) 法の併用を検討した。堆積物コア試料に適用することで得られる結果を相互に比較し、HRTofMS と ECD で検出される物質数の比較や併用法の効果について考察することを目的とした。

#### (研究内容)

日本海深海堆積物コア 19 試料のうち、表層試料 (1~3 cm) の抽出液について、GC×GC - HRTofMS と ECD を用いて測定を行った。HRTofMS のイオン化には、EI 法と Ar イオン化法の 2 種類を用いた。得られたデータを比較解析し、環境試料中有機ハロゲン化合物の探索手法における検出器併用の評価を行った。

#### (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) のうち、表層試料 (1~3 cm) 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)

堆積物コア試料は、解凍して風乾させた後に均質化し、重量を測定した。表層 1~3 cm の試料 (合計 13.6 g) を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た。抽出液は 9 mL に定容した後、1/3 (3 mL) は粗抽出液として保管した。残り 2/3 のトルエン抽出液 6 mL は、ヘキサンに転溶した後、2-プロパノール 20 mL と亜硫酸水素テトラブチルアンモニウム 10 mL を加えて振とうした。続いて亜硫酸ナトリウム 0.1 g とヘキサン飽和水 50 mL を加えてさらに振とうし、静置して水層を廃棄した。再びヘキサ

ン 50 mL とヘキサン飽和水 50 mL を加えて同様の作業を行った後に脱水し、約 5 mL まで濃縮した。ヘキサン抽出液は、次にフロリジルカラム処理を行った。カラムに試料を添加した後、5%ジエチルエーテル/ヘキサン 100 mL を流し F1 とし、次に 20%ジエチルエーテル/ヘキサン 100mL を流し F2 とした。その後 F1 はシリカゲルカラム処理を行った。カラムに F1 を添加した後、ヘキサン 30 mL を流し F3 とした。続けて 25%ジエチルエーテル/ヘキサン 30 mL を流して F4 とした。各抽出液は 50  $\mu$ L まで濃縮し、F4 の 1  $\mu$ L を GC $\times$ GC - EI/Ar イオン化 - HRTofMS と GC $\times$ GC - ECD で別途測定した。Ar イオン化法は、ネガティブイオンを検出した。

(研究成果)

### GC $\times$ GC - ECD の感度評価

これまでの研究により環境試料ノンターゲット分析用に最適化した GC $\times$ GC - HRTofMS 条件を採用し、カラム流量は 1.8 mL/min、GC オープンは 50 $^{\circ}$ C - 3 $^{\circ}$ C/min - 350 $^{\circ}$ C、モジュレーションピリオドは 6.5 秒とした。ECD の検出器温度は 340 $^{\circ}$ C とし、データ取り込み

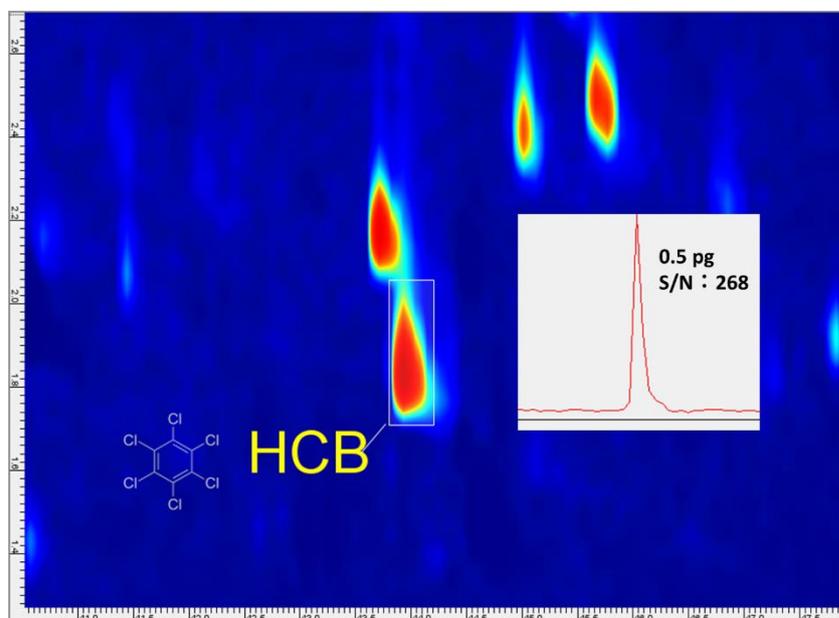


図1 GC $\times$ GC - ECD によって得られた 2D map と

HCB 0.5 pg のピークの S/N

速度は 100 Hz とした。本条件で有機ハロゲン化合物混合標準溶液 ES-5521 (CIL Inc.) を測定し、GC Image ソフトウェア (GC Image Inc.) を用いてヘキサクロロベンゼン (HCB) 0.5 pg のピークのシグナルノイズ (S/N) 比を暫定的に算出した結果、268 であった (図 1)。GC $\times$ GC - EI - HRTofMS (データ取り込み速度 : 約 20 Hz) で測定した HCB 0.5 pg の S/N 比は 8 であり、ECD の方が約 35 倍高感度であった。その一方で、ECD は HRTofMS のように検出器のクリーニングを行うことが出来ないため、測定する試料マトリックスには注意が必要である。今後、ECD を用いる際に適した試料前処理方法についても検討したい。

## HRToFMS (EI/Ar イオン) 法、ECD 法による有機ハロゲン化合物の検出力の評価

各手法における有機ハロゲン化合物の検出力の評価を行うために、GC×GC - EI/Ar イオン化 - HRToFMS と GC×GC - ECD を用いて日本海深海堆積物コア試料（表層）抽出液の測定を行った。前述の理由から、本研究では従来のターゲット分析と同様の手法でクリーンアップした抽出液を測定した。図 2 に、HRToFMS (EI 法) と ECD の結果を示す。HRToFMS では、測定時間の後半に低極性のマトリクス成分が高い強度で検出され、微量のピークの存在を視覚的に確認することは困難だったが、ECD では、同じ保持時間に同様のマトリクスは検出されておらず、高選択的な検出が実現していた。そのため ECD では、測定時間の全範囲に渡ってピークの分離・検出を視覚的に確認することが可能であった。

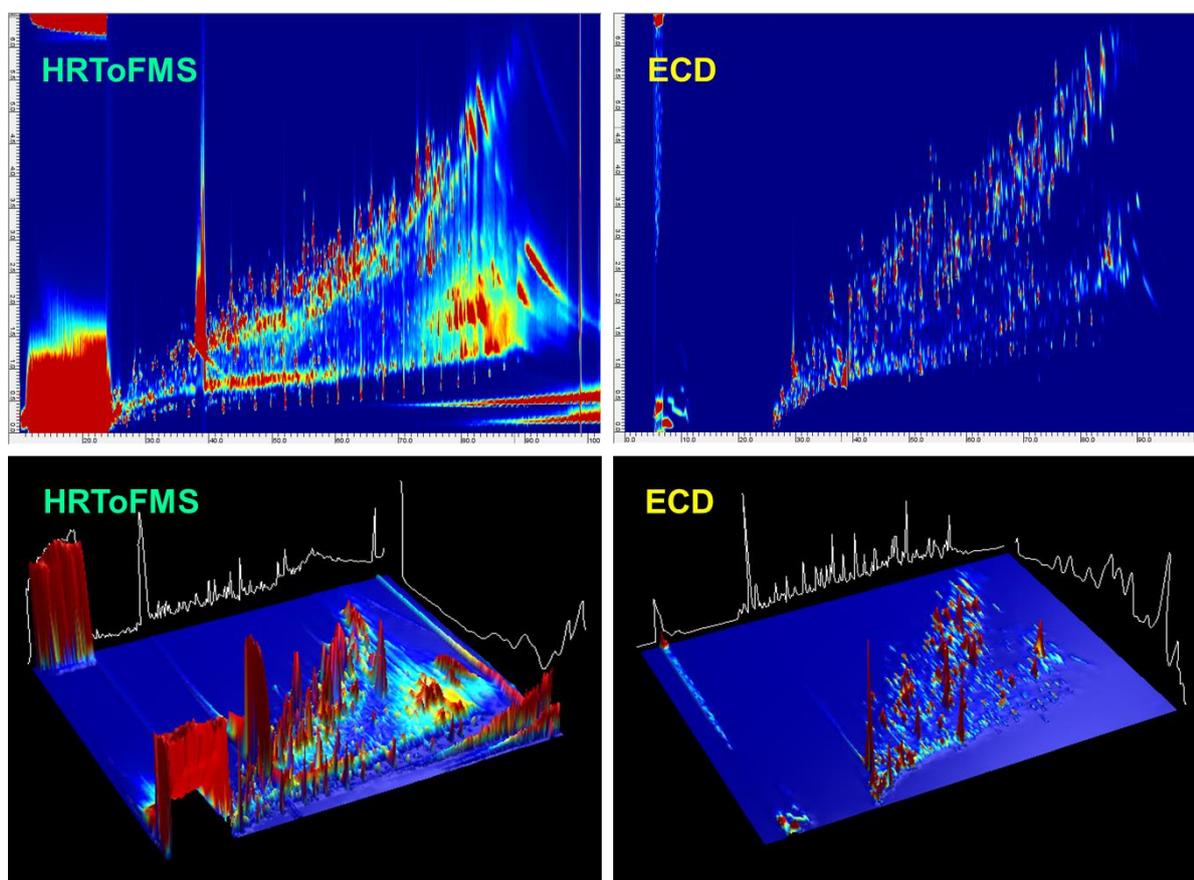


図 2 GC×GC - HRToFMS と GC×GC - ECD による堆積物抽出液の 2D map と 3D view

その一方で、2D map 上でピークが検出された領域は、HRToFMS と ECD では若干異なっていた。この点については、今後、GC×GC カラムの出口に HRToFMS と

ECD を分岐接続して測定する方法を検討したい。

次に、各手法で検出されたピーク数の比較を行った。図 3 に、HRTofMS (EI 法) と ECD で測定して得られた 2D map、HRTofMS (Ar イオン化法) で得られたデータから Br<sup>-</sup>イオンと Cl<sup>-</sup>イオンを用いて描いたマスクロマトグラムの 2D map、各データ上で検出されたピーク数を示した。HRTofMS (EI 法) では、網羅的 (非選択的) な検出が行われた結果、1257 ピークが検出された。ECD は、電子親和性の高い化合物に対する選択的検出器であり、有機ハロゲン化合物や有機金属化合物、ジケトン類などの検出が可能である。本研究では、ECD によって日本海深海堆積物コア試料 (表層) 抽出液から 785 ピークを検出した。ECD では、芳香族有機ハロゲン化合物が検出される領域 (2D map の上方部) のみならず、極性の低い化合物が検出される領域にも多数のピークが検出された。これらのピークについては、前述の HRTofMS と ECD の分岐接続の検討後、詳細解析を試みたい。

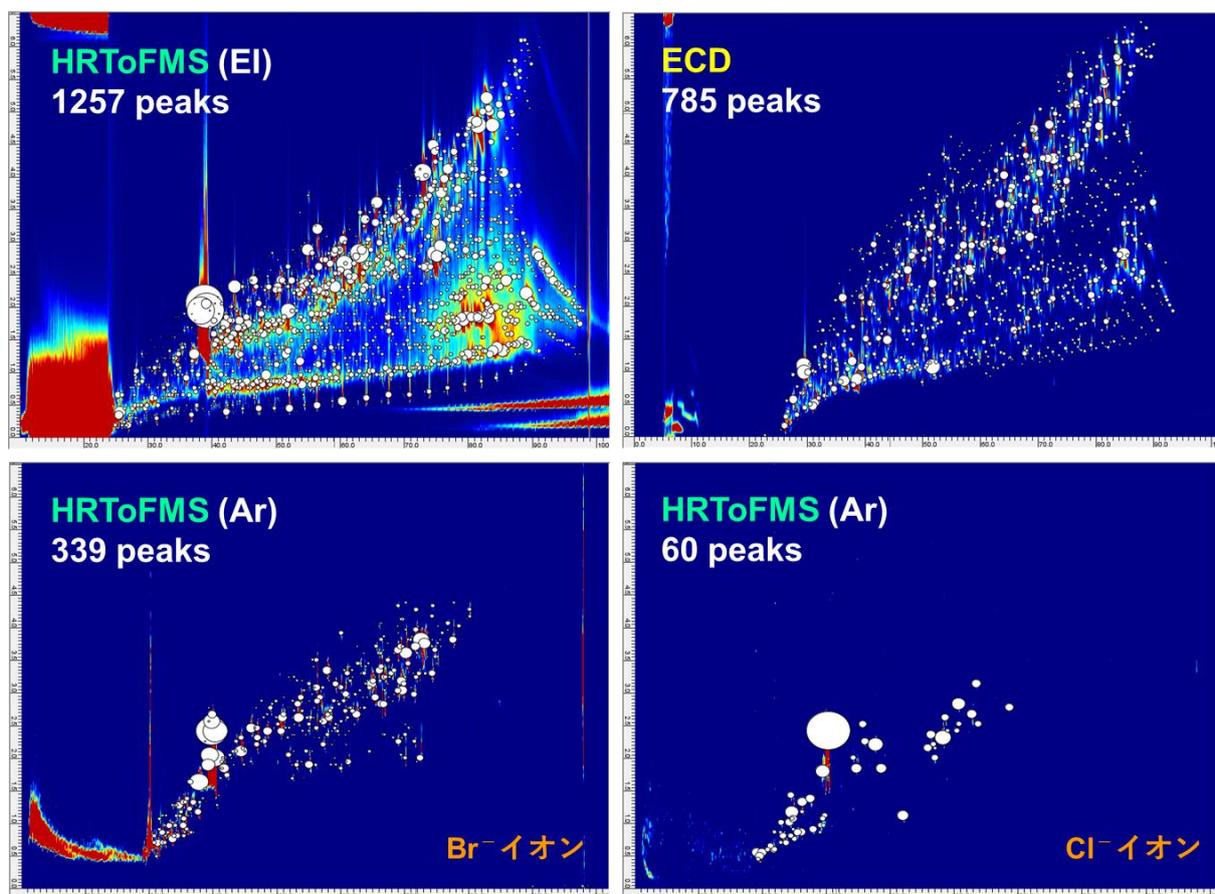


図 3 GC×GC - EI/Ar イオン化 - HRTofMS と GC×GC - ECD による堆積物抽出液の測定

Ar イオン化法では、芳香族有機ハロゲン化合物（特に高塩素化体）の分子イオンの高感度かつ高選択的な検出が可能な一方で、分子イオン検出が難しい有機ハロゲン化合物については、Br<sup>-</sup>イオンや Cl<sup>-</sup>イオンを用いた網羅的な探索が可能なことがわかっている<sup>(2)</sup>。本試料においては、Br<sup>-</sup>イオンのマスクロマトグラム上に 339 ピーク、Cl<sup>-</sup>イオンのマスクロマトグラム上に 60 ピークを検出した。Br<sup>-</sup>イオンのほうが検出数が多かった点について、ポリ臭化ジフェニルエーテル（PBDEs）は、Ar イオン化法においても、従来のメタンを用いた化学イオン化（CI）法と同様に、Br<sup>-</sup>イオンが生成されることが確認されている<sup>(2)</sup>。そのため、Br<sup>-</sup>イオンのマスクロマトグラム上で検出されたピークの中には、PBDEs のような臭素系有機化合物が多く含まれる可能性がある。また Ar イオン化法は、芳香族有機ハロゲン化合物の分子イオン（M<sup>-</sup>）の高感度検出が可能な一方で、多環芳香族炭化水素（PAHs）も検出される。そのため Ar イオン化法で取得したデータは、Br<sup>-</sup>イオンや Cl<sup>-</sup>イオンを用いた有機ハロゲン化合物の網羅的探索に加え、ECD で検出されたピークについてフィルタリングしてからデータ解析を行うことで、より効率的な解析が可能になると示唆された。

（まとめ）

GC×GC - EI/Ar イオン化 - HRTofMS に、あらたに ECD 法を併用することで、高感度な網羅分析により検出可能な化合物の範囲がこれまで以上に広がると推察された。また、データ解析において ECD データを併用することで、環境試料ノンターゲット分析におけるデータ解析効率が向上する可能性が示唆された。今後は、GC×GC カラムの出口に HRTofMS と ECD を分岐接続して同時測定を行う条件を検討したい。

（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)