

Agilent 7200 GC/Q-TOF を用いた 原油中バイオマーカーの分析

アプリケーションノート

石油化学、環境

著者

Frank David
Research Institute for Chromatography,
Kennedypark 26, B-8500 Kortrijk,
Belgium

Sofia Aronova
Agilent Technologies, Inc.
Santa Clara, CA,
USA

概要

原油に含まれる (アルキル-) ジベンゾチオフェン、ホパン、ステランなどのバイオマーカーの分析は、原油源の分析、石油流出源の特定といった多くの石油化学アプリケーションで用いられています。この分析は通常、複雑なサンプル前処理および分離ののちに、GC/MS によりおこなわれます。

高分解能飛行時間型質量分析を使えば、分離をおこなわずに希釈サンプルを分析することができます。優れた選択性により精密質量で任意のイオンを抽出することで、分析対象のバイオマーカーを測定できます。

システムの優れた感度により、ジベンゾチオフェン、アルキル化ジベンゾチオフェン、ホパンの選択的検出が可能です。Agilent GC/Q-TOF システムを MS/MS モードで使えば、低濃度のステランも選択的に検出できます。



Agilent Technologies

はじめに

生物学的マーカー (バイオマーカー) には、アルカン、多環脂肪族、多環芳香族炭化水素など、環境中に存在するさまざまな炭化水素が含まれます。これらのバイオマーカーは、原油源の分析などの多くの石油化学アプリケーションにおいて、原油の熟成や風化の指標として利用できます。また、原油流出による環境汚染源の特定にも使用できます [1,2]。

一般的なバイオマーカーとしては、アルキル-ジベンゾチオフェンなどの複素多環芳香族炭化水素、ホパンなどの五環トリテルペン、ステラン (コレスタンなど) などのステロール派生多環アルカンなどがあります。通常、これらのバイオマーカーの分析には、GC/MS が用いられます。分析に先立ち、液液抽出、カラムクロマトグラフィー、固相抽出を用いたサンプル分離により、アルカンや芳香族フラクションを分離します。最後に、抽出物を GC で分離し、選択的イオンモニタリング (SIM) モードの MS により検出します。多数のマーカーをモニタリングするため、多くの場合は複数の分析を実行し、各グループのマーカーをモニタリングする必要があります。

このアプリケーションノートでは、Agilent 7200 Q-TOF システムを用いて、原油希釈液の直接注入により、原油中のジベンゾチオフェン (DBT)、ホパン、ステランを分析しました。この飛行時間型システムは、高感度と高分解能、精密質量測定機能を兼ね備えています。これにより、複雑なマトリクスに含まれる微量物質の検出において、独自の選択性が得られます。GC/Q-TOF アプローチでは、(シングル四重極またはトリプル四重極システムを用いた SIM または MRM 分析などのように) あらかじめ選択された特定の化合物グループだけに限定されず、選択イオンの精密質量における抽出イオンクロマトグラムを用いて、さまざまなクラスのバイオマーカーを検出および同定、定量することが可能です。また、MS/MS モードを用いることで、フルスキャンモードでの選択性が十分でない場合にも、微量レベルでのさらなる選択性が得られます。

実験手法

化学物質とサンプル

ジベンゾチオフェンを含む参照溶液 NIST SRM 2260a (LGC、モルセム、フランス) を用いて、機器性能を確認しました。分析用サンプルは、ヘキサンで 10 倍に希釈しました。ジベンゾチオフェンの最終濃度は 0.38 ng/μL です。

原油を Total (フランス) から入手しました。原油 100 mg を計量し、超音波処理によりヘキサン 10 mL 中に抽出しました。この溶液を遠心分離にかけ、透明な上澄みをヘキサンで 10 倍に希釈しました (最終原油濃度は 1 mg/mL)。

GC および MS 条件

スプリット/スプリットレスを搭載した Agilent 7890A GC システムと 7200 Q-TOF システムを使用しました。

分析条件を表 1 にまとめています。

表 1. GC/Q-TOF 条件

注入	注入口タイプ モード 温度 注入量	スプリット/スプリットレス スプリットレス 300 °C 1 μL
カラム	DB-5MS、30 m x 0.25 mm、0.25 μm	
キャリアガス	1.5 mL/min、ヘリウム、コンスタントフロー	
GC オープン	50 °C (1 分) - 10 °C/min - 320 °C (8 分)	
検出	イオン化モード MS モード 取り込み速度 MS/MS モード	EI スキャン 40~500 Da 5 Hz スキャン 40~500 Da CE : 10 eV
	イオン源温度 四重極温度	280 °C 150 °C

結果と考察

最初に、0.38 ng/μL ジベンゾチオフェンを含む参照サンプルを分析しました。クロマトグラム (溶出域 5~23.5 分) を図 1 に示しています。DBT は 16.3 分で溶出しています。質量スペクトルを図 1B に示しています。分子イオンに対応するもっとも量の多いイオンは、 m/z 184.0338 で検出されています。質量エラーは、分子イオンの精密質量 ($C_{12}H_8S$ 、 $M^{++} = 184.0341$) に対して 2 ppm 未満でした。

次に、同じメソッドを用いて原油サンプルを分析しました。トータルイオンクロマトグラムを図 2a に示しています。プロフィールは、n-アルカンの一般的なホモログシリーズにより特定しています。ジベンゾチオフェンの溶出時間を矢印で示しています。図 2b に示すように、シングル四重極 MS システムで一般的におこなわれている手法と同じく、 m/z 184 ± 0.5 amu における抽出イオンクロマトグラムを用いてジベンゾチオフェンを検出することができます。しかし、特に 14~18 分の時間内では、その他の複数の化合物も検出されています。これらの化合物 (おそらく C4-ナフタレン、 $C_{14}H_{16}$ 、MW = 184) は、選択したバイオマーカーに干渉する可能性があります。

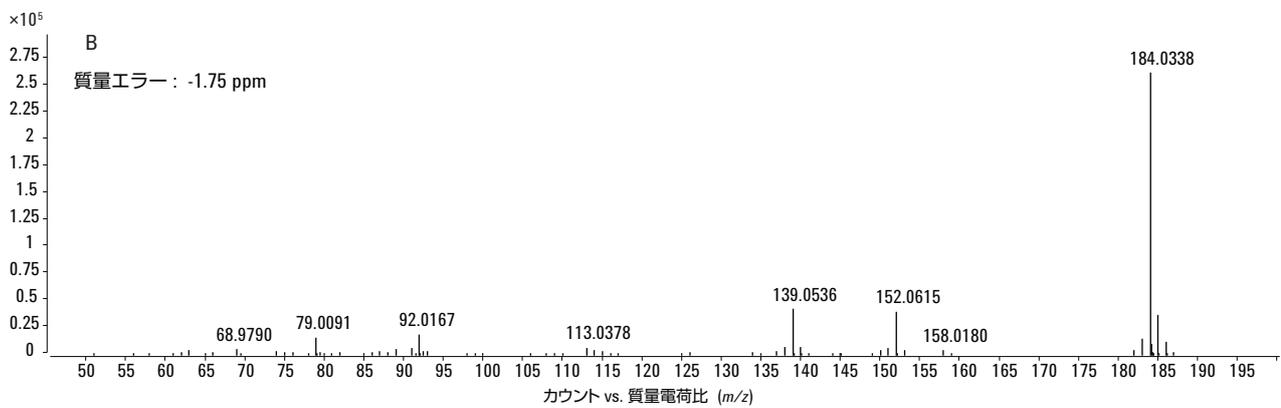
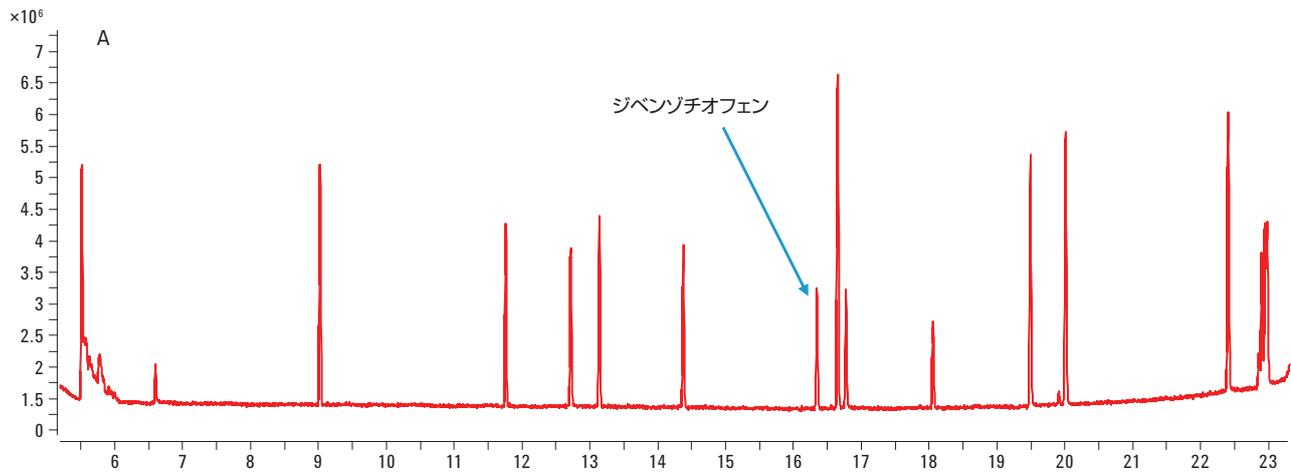


図 1. 芳香族炭化水素標準混合物の GC/Q-TOF 分析。ジベンゾチオフェン ($C_{12}H_8S$, $M^{++} = 184.0341$) 0.38 ng で得られたスペクトルを B に示しています

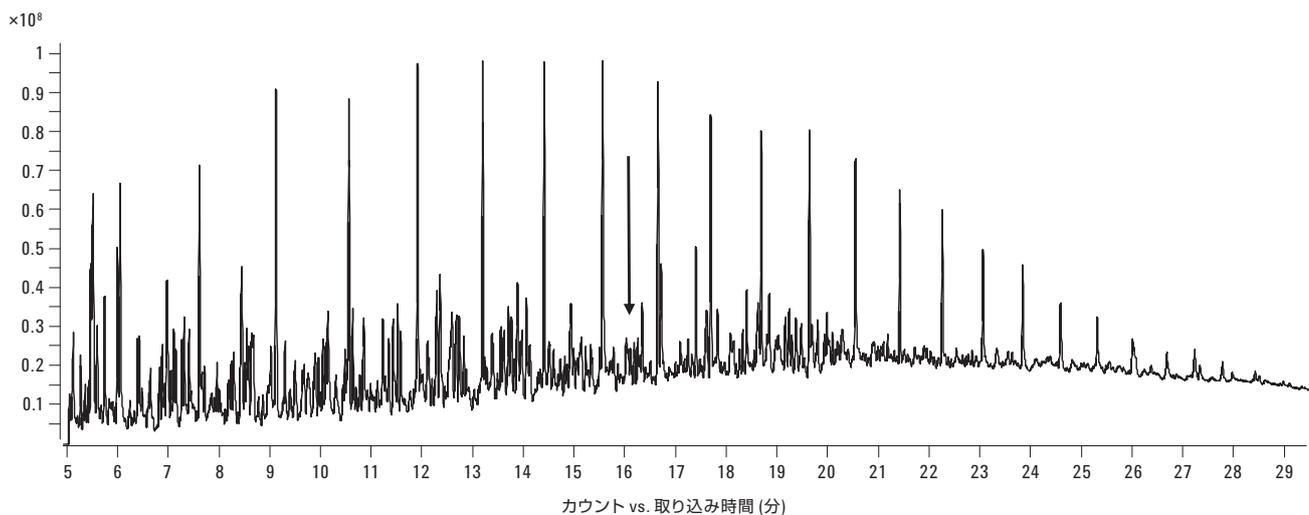


図 2a. 原油のトータルイオンクロマトグラム。DBT の溶出時間を矢印で示しています

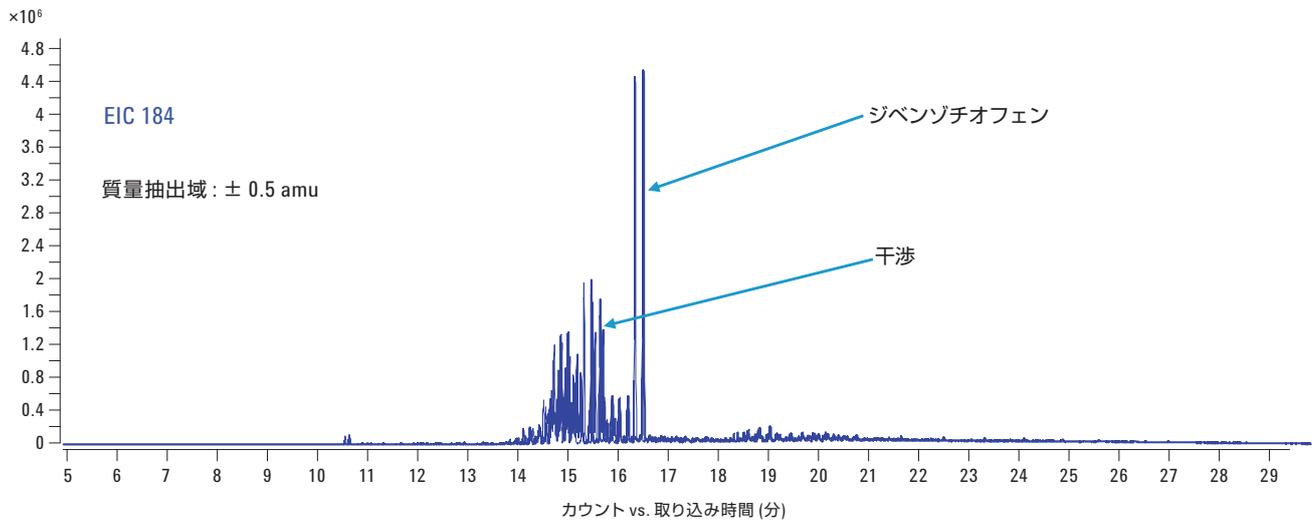


図 2b. 84 ± 0.5 amu の抽出イオンクロマトグラム

図 2c に示すように、精密質量 (184.0341 ± 5 ppm) における抽出イオンクロマトグラムを用いれば、選択性を大幅に高めて、すべての干渉を除去することができます。16.32 分で採取された質量スペクトルを図 2d に示しています。2 ppm を下回る質量エラーでは、複雑なマトリクスに含まれる DBT の質量精度 (m/z 184.0339) は大きな影響を受けません。

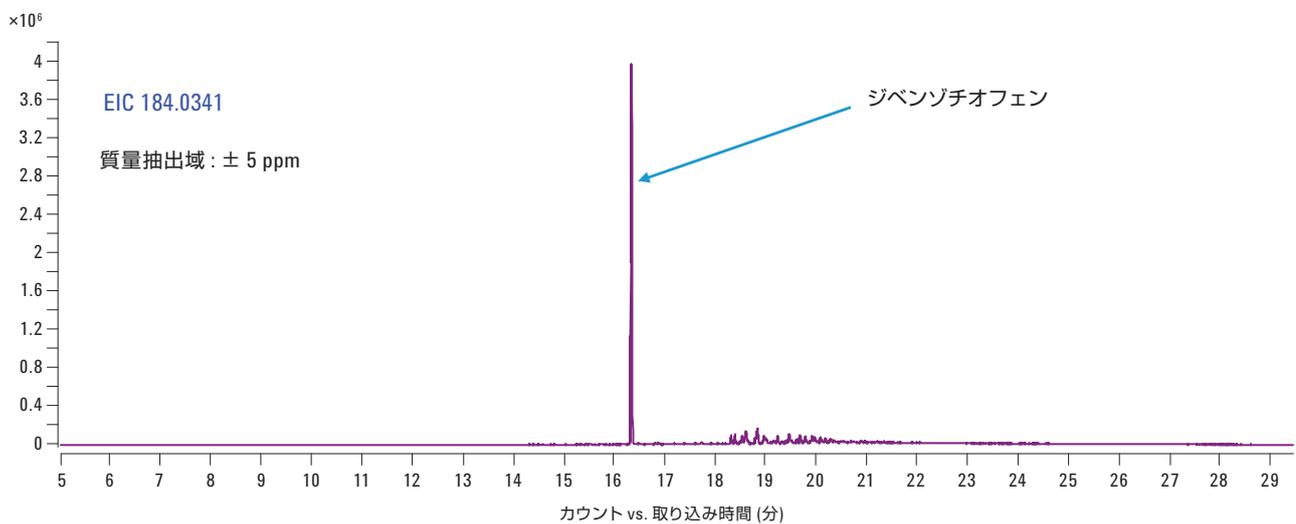


図 2c. 184.0341 ± 5 ppm の抽出イオンクロマトグラム

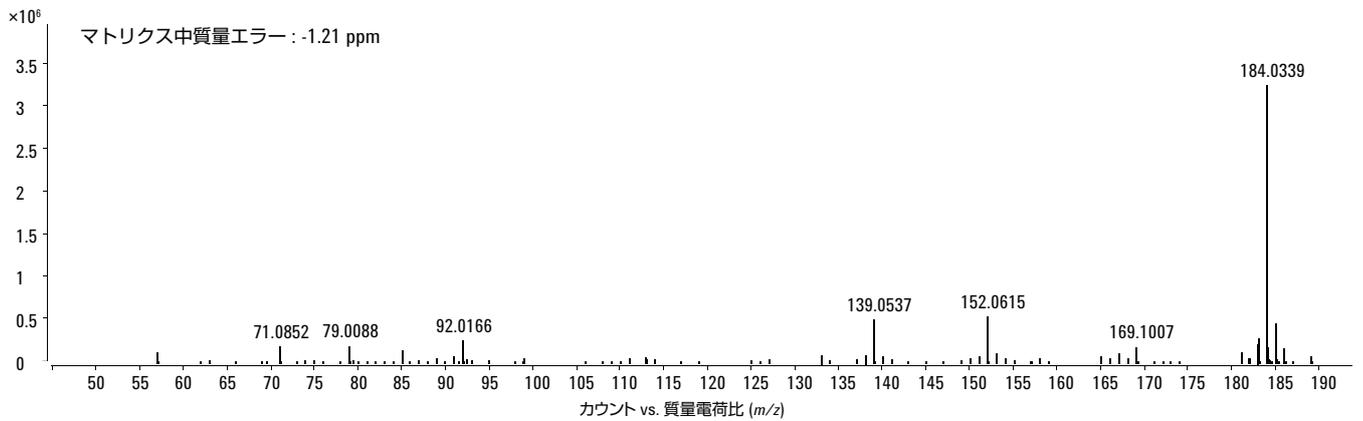


図 2d. 原油マトリクス中ジベンゾチオフェンの質量スペクトル

同じ方法で、 m/z 198.0498 におけるメチル-ジベンゾチオフェン (C1-DBT、4 異性体、3 つのみクロマトグラフィー分離) と m/z 212.0645 における C₂-ジベンゾチオフェンのイオンクロマトグラムを抽出することができました。図 3 に示すように、これらの DBT バイオマーカーは簡単に検出することができます。

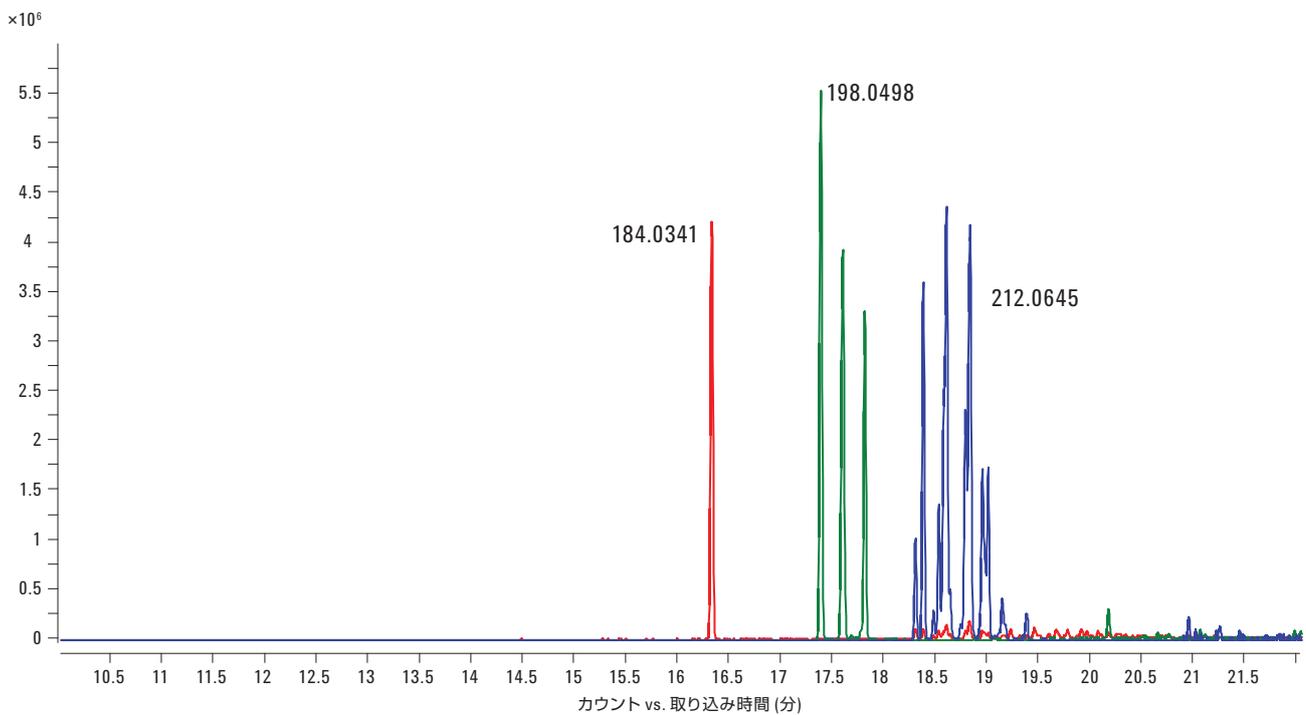


図 3. DBT (イオン 184.0341)、メチル-ジベンゾチオフェン (イオン 198.0498)、C₂-ジベンゾチオフェン (イオン 212.0645) の精密質量 (± 5 ppm) における抽出イオンクロマトグラム

硫黄含有 PAH のほか、ホパンとステランも重要なバイオマーカーです。複雑な原油マトリクスに含まれるこれらの化合物についても、先ほどと同じ方法で精密質量における抽出イオンクロマトグラムを用いて、選択的に検出することができます。図 4 では、 $191 \pm 0.5 \text{ amu}$ (上) と $191.1794 \pm 10 \text{ ppm}$ (下) における抽出イオンクロマトグラムを比較しています。精密質量検出を用いれば、選択性が大幅に高まり、その結果シグナル/ノイズ比が向上します。26 分から 30 分までの溶出域で、複数のホパンが検出されました。メインピーク (27~28 分) は、ノルホパン ($\text{C}_{29}\text{H}_{50}$ 、MW=398) に対応するものと考えられます。

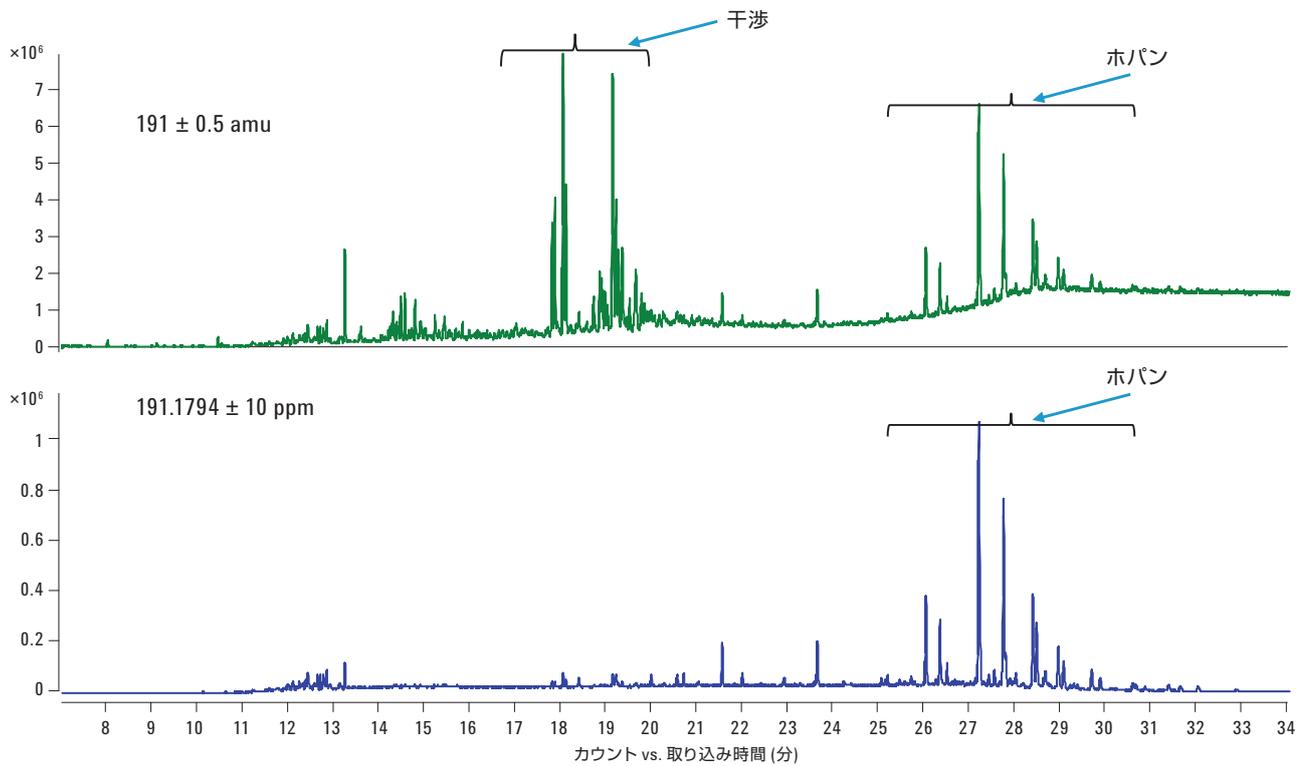


図 4. $191 \pm 0.5 \text{ amu}$ (上) と精密質量 ($191.1794 \pm 10 \text{ ppm}$) (下) における抽出イオンクロマトグラムを用いたホパン検出

最後に、ステラン固有のイオンを抽出しました。これらの分析対象物は、サンプル中に低濃度で存在しているため、図 5 に示すように、精密質量 EIC を用いた場合でもマトリクスイオンによる干渉を受けます。GC/Q-TOF は MS/MS モードでも使用できるため、プリカーサイオンとしてイオン 400 (M^+ , $C_{29}H_{52}$ = エチルコレスタン) を用いて、分析を再度行いました。図 6 に示すように、217.1951 におけるプロダクトイオンの EIC では、エチルコレスタステランの検出選択性が向上しています。

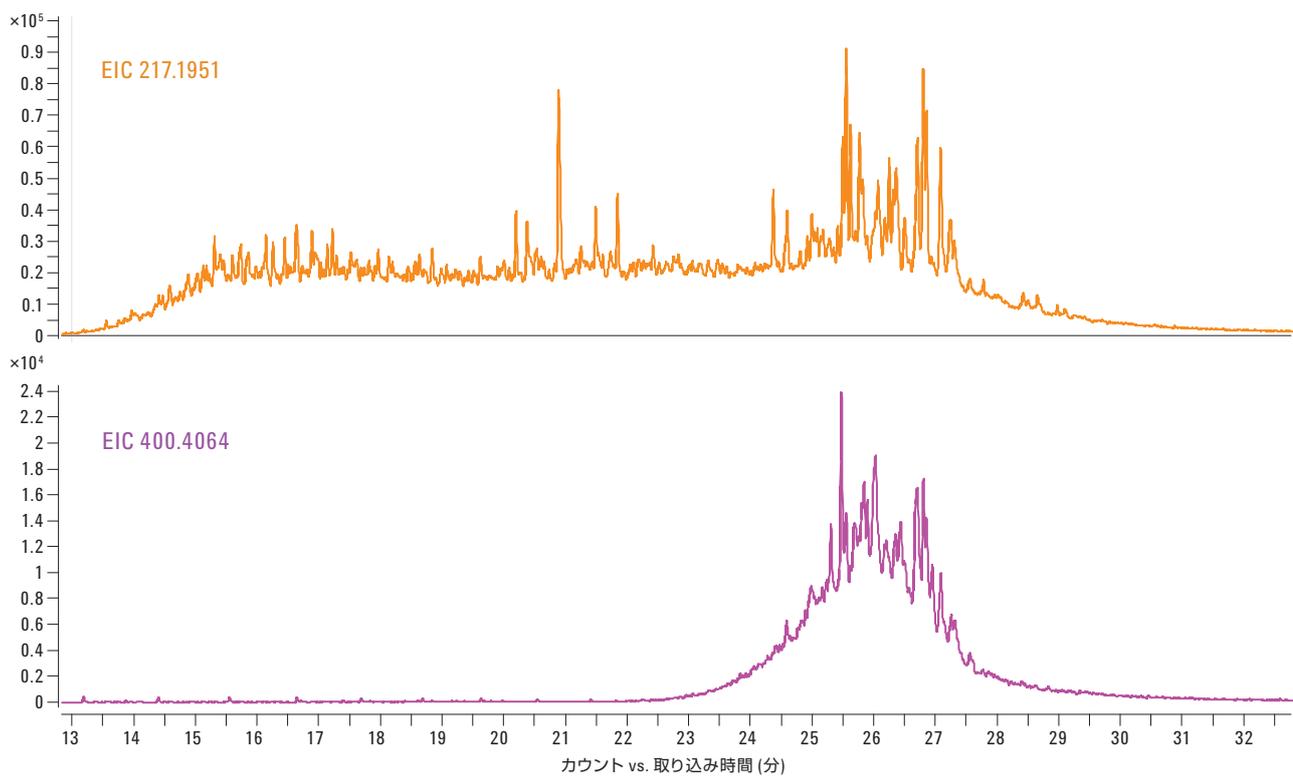


図 5. 精密質量 ($217.1951 \pm 10\text{ppm}$ および $400.4064 \pm 10\text{ppm}$) における抽出イオンクロマトグラムを用いたステラン検出

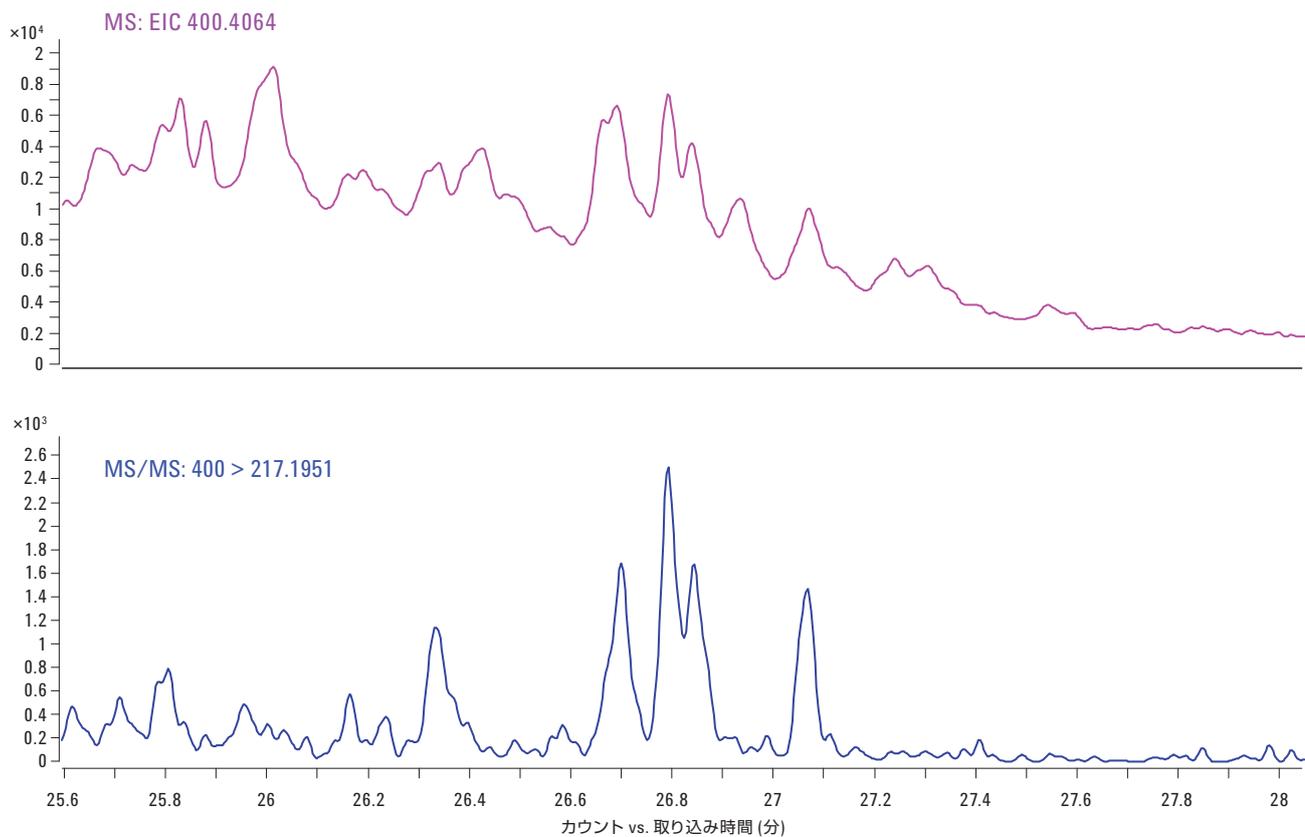


図 6. ステラン検出において、フルスキャンモードで得られた精密質量 (400.4064 ± 10 ppm) の抽出イオンのクロマトグラム (上) と、MS/MS モードで得られた抽出プロダクトイオン ($400 > 217.1951 \pm 10$ ppm) のクロマトグラム (下) の比較

結論

Agilent 7200 Q-TOF システムを使えば、前処理の分離をおこなわずに、原油に含まれる幅広いバイオマーカーを分析できます。希釈原油を直接分析し、精密質量の抽出イオンクロマトグラムと狭い抽出域を用いて、ジベンゾチオフェンやホバンといったバイオマーカーを選択的にモニタリングすることが可能です。

7200 Q-TOF システムを MS/MS モードを使えば、微量ステランの選択的検出も可能です。

このことから、Agilent 7200 GC/Q-TOF システムは、石油分析におけるターゲットおよびノンターゲットバイオマーカー分析に効果的に活用できるといえます。

参考文献

1. Z. Wang and M. Fingas, Developments in the analysis of petroleum hydrocarbons in oils, petroleum products and oil-spill-related environmental samples by gas chromatography, *J. Chromatogr. A* 774 (1997) 51-78.
2. Z. Wang, M. Fingas, C. Yang and B. Hollebone, Biomarker Fingerprinting: Application and Limitation for Correlation and Source Identification of Oils and Petroleum Products, *Prep. Pap.-Am. Chem. Soc., Div. Fuel Chem.* 49 (1) (2004) 331-334.

詳細情報

ここに記載されたデータは、一般的な結果です。アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc., 2011

Printed in Japan

December 2, 2011

5990-9477JAJP



Agilent Technologies