

異物分析における熱分解ガスクロマトグラフィー質量分析法の活用

熱分解ガスクロマトグラフィー質量分析法は固体や液体に対し、前処理不要で高感度、高分離能で測定が可能であり、異物分析において第一手法的に適用されている FTIR で解析が困難となる混合物など複雑な組成のサンプル対応手法として期待できる。異物分析に応用するためには、広範囲にわたる参照データの蓄積や物質ごとの特徴的な熱分解生成物の把握が重要となる。本稿ではその概要についてまとめる。

木下 健司

1 はじめに

異物は生産現場や流通過程などあらゆる過程で発生し、生産や製品流通を中断されることにもつながり得る悩みの種であり、その解決の一步として異物の正体を突き止めるべく、日々異物分析が行われる。なお、「異物」という言葉は、一部定義づけがなされているものがあるものの、日常的には共通の定義に基づいた形で用いられているわけではなく、同じ物体であっても、「異物」や「ごみ」など主観的に言葉が選択されている。本稿では「当事者間でその存在が想定外である物体」程度の意味合いをもった対象を「異物」とする。

2 異物分析法概要

実際に異物として現れる物体は多種多様であり、存在形態としては外部からの混入、移行や変質など内部成分に由来するもの、表層の微小な凹みや荒れによって目視では異成分が存在しているように見えるものの他、分析の際には、「トラブルの原因として異物があったのではないか」と、その存在が仮定されたものもある。サイズ的には目視確認の難しい μm オーダーから cm オーダーまで様々である。成分的には有機物、無機物、また生物（由来成分）も異物になり得る。さらに単体とは限らず多種混合状態であることも多い。そのため、異物の成分調査を行うには多角的な視野が要される。異物分析の大まかな流れとして、はじめに十分な状態観察（光学顕微鏡、レーザー顕微鏡など）を行った後、成分分析に進む。成分分析については非破壊で測定後にサンプル回収が可能である手法から順々に行い、蛍光 X 線分析や SEM-EDS などによる元素分析やフーリエ変換赤外分光分析 (FTIR) などによる有機分析が適用される。本論ではこうした分析手法の中で有機分析手法に着目し、そ

の手法の一つである熱分解ガスクロマトグラフィー質量分析法 (Py-GC/MS) の適用について示す。異物分析の手法として必要となる主な要素を以下に挙げる。

- ・得られる結果から構造の推定につなげられること
- ・微小な物体でも測定が可能であること
- ・固体や液体を直接測定対象とできること

最初の要素は、データベースなど参照データが広範囲で存在し、得られるデータがサンプル間で識別が可能であることを意味する。

一般に有機物を対象とする際には第一手法的に FTIR が適用されている。FTIR は簡便・迅速にスペクトルが得られる他、データベースが豊富であること、赤外顕微鏡により微小試料（約 $10 \mu\text{m}$ ）の測定が可能であること、液体や固体を直接測定可能であること、測定後の試料回収が可能であることなど様々な特徴があり、それらは異物分析における利点となる。一方、弱点として数 μm 以下の極微小物体や多成分混合物は解析が困難となる場合が多くなる。前者に対しては代替手法として顕微レーザーラマン分光分析などが期待できる。しかしながら混合物に対しては、分光分析的手法では各成分を足し合わせたスペクトルとなるため、解析の顕著な改善は難しい。また、異物のような組成が不明で少量もしくは微小であるサンプルには、前処理で成分分離を適用することが難しい。上記の理由から、複数成分混合状態の異物の対策として、成分分離の要素を含む Py-GC/MS を挙げるができる。

3 Py-GC/MS について

Py-GC/MS はポリマーなど固体試料をはじめとする難揮発性成分を GC で分析する方法であり、熱分解装置（パイロライザー）を試料導入部の上流側に設置し、固体試料を数百度で加熱して生じる熱分解生成物をガスクロマトグラフへ導入し分離検出する。図 1 に概要を示す。得られるクロマトグラムはパイログラムと呼び、解析は 2 段階で行う。すなわち、はじめに通常の GC/

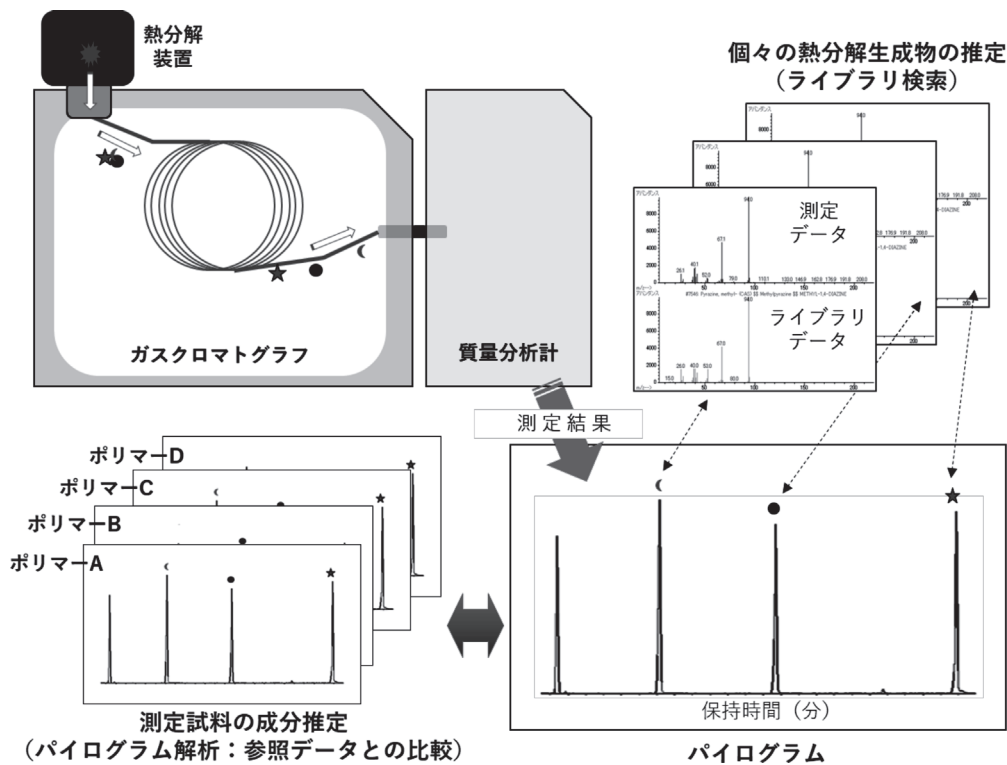


図1 Py-GC/MSの概要

MSと同様に検出されたピークについて、ライブラリ検索を行いながら化合物推定を行い、その後に検出された成分の全体的なパターンから熱分解したサンプルがどういった物質であったのかを推定する。ポリマーにはJIS規格 (JIS K6231) にあるように、主要な分析方法の一つとして用いられている。

Py-GC/MSを異物分析で適用する際の測定条件は限定的とする必要はないものの、条件設定について大まかな目安を以下に示す。熱分解装置のタイプは小型加熱炉型やキューポイント型などがあり、いずれの方式も適用可能と考えられるが、前もって試料加熱温度の検討を行うには、昇温加熱を行いながら生じたガス成分を分離せずに質量分析計へ直結する方法 (発生ガス分析) が可能なタイプが望ましい。また、GC条件について、異物の構成成分は多様であり、熱分解生成物は保持の弱い成分から高沸点成分まで検出されるため、耐熱性の高いカラムを使用してカラムオープン温度を低温から高温まで広範囲で設定することが薦められる。なお、本稿に示した各図における測定条件は、熱分解温度を600℃ (反応熱分解法は300℃)、微極性カラムを適用し、オープン温度40℃から330℃前後までの昇温条件としている。

Py-GC/MSの特徴として、固体・液体がそのまま前処理を要せずに測定可能であること、合成高分子を中心として成分未知試料から構造情報を得られること、高感度で必要サンプル量が少量 (多くの場合0.1 mg未満) であることのほか、キャピラリーカラムによる高分離能

という利点がある。異物分析のための手法という観点から考えると、先に示した分析手法に求められる要素に加え、成分分離という大きな利点を有する。しかしながら、定性に際し必要となる参照データについて、合成高分子は既に成書などある程度まとめられたものがある一方、それ以外については比較的少ないという弱点がある。FTIRが異物分析手法として優れている点は先に示したが、中でも他の手法と比較して優位性が高い点としてデータベースが豊富であることと、歴史が長く吸収ピークについての解釈の深さが挙げられる。後者については吸収ピークと官能基の関係性の把握を深くすることで、解析結果の信頼性を増すことができる。Py-GC/MSにおいても、異物分析の手法として適用するうえで最も重要となる要素は、参照データ (データベース) の充実と各物質における特徴的な熱分解生成物の把握と考えられ、広範囲な対象について測定データを収集することが求められる。そして、FTIRにおいて、赤外線吸収スペクトル上のピークと官能基の関係性についての知見が蓄積されているように、Py-GC/MSにおいても、パイログラム上のピーク (熱分解生成物) と測定対象の関係性についての知見を蓄積する必要がある。ある物質における特徴的な分解生成物 (パターン) を把握し、それらを指標として解析を行うことで、多成分混合異物から複数の成分の存在を推定することが期待できる。

4 特徴的な成分の探索

ある対象（群）における特徴的な成分を探索する流れについて主なものを示す。

4.1 合成高分子

ゴムやプラスチックについては、データの蓄積が豊富でありデータ集や書籍も市販されている。図2に4種のポリマーについてパイログラム例を示す。全体的な傾向として、モノマーもしくはそれに近い形態の熱分解生成物が検出される。図2-(a)を例にとると、メタクリル酸メチル（MMA）の高いピークが確認できるが、アク

リル系ポリマーは様々なコポリマーが存在しており、熱分解生成物としてMMAを持つコポリマーは多数に及ぶ。そのために他のモノマーの存在にも注意したうえで、MMAのみが検出されるという特徴をPMMAと推定する際の指標とする。また、図3に混合物パイログラム例を示す。多数のピークが確認できるが、このパイログラムからアルカジエン/アルケン/アルカンからなる炭化水素群（炭素数10の場合1,9-デカジエン/1-デセン/デカン）の連鎖と安息香酸や安息香酸ビニルなどの組み合わせを確認し、それぞれポリエチレンの特徴とポリエチレンテレフタレートの特徴であることを見いだすことで、両者の混合物であることを推定できる。

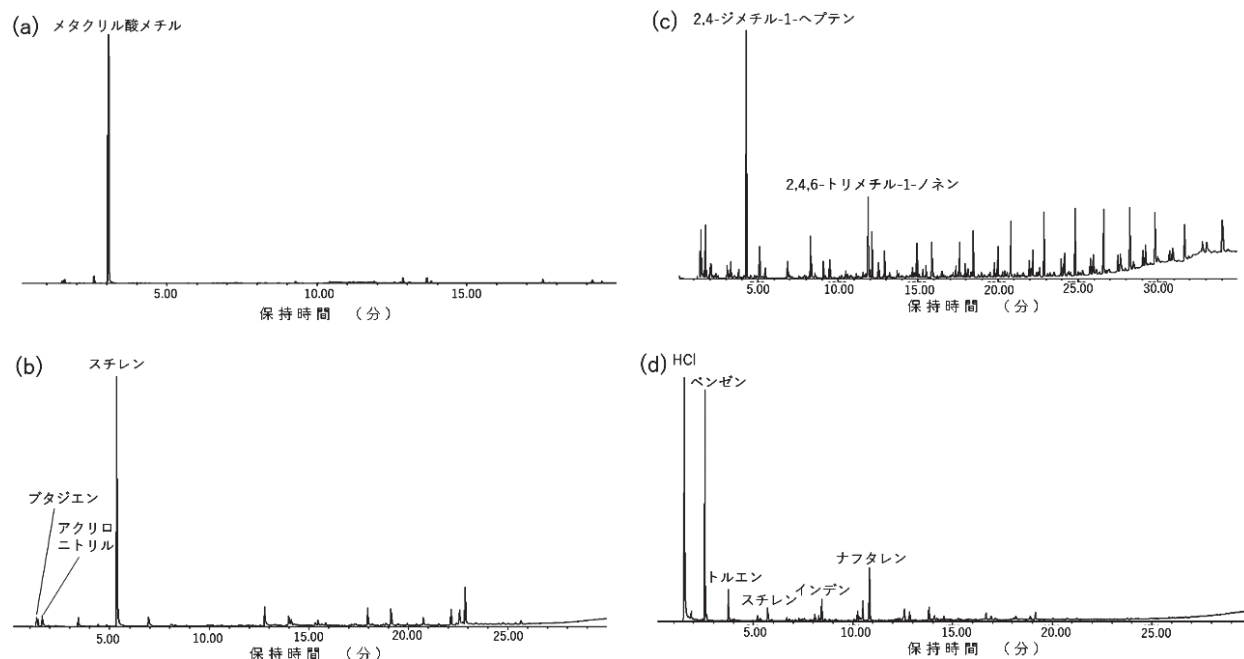


図2 合成高分子のパイログラム例

(a) ポリメタクリル酸メチル, (b) ABS樹脂, (c) ポリプロピレン, (d) ポリ塩化ビニル

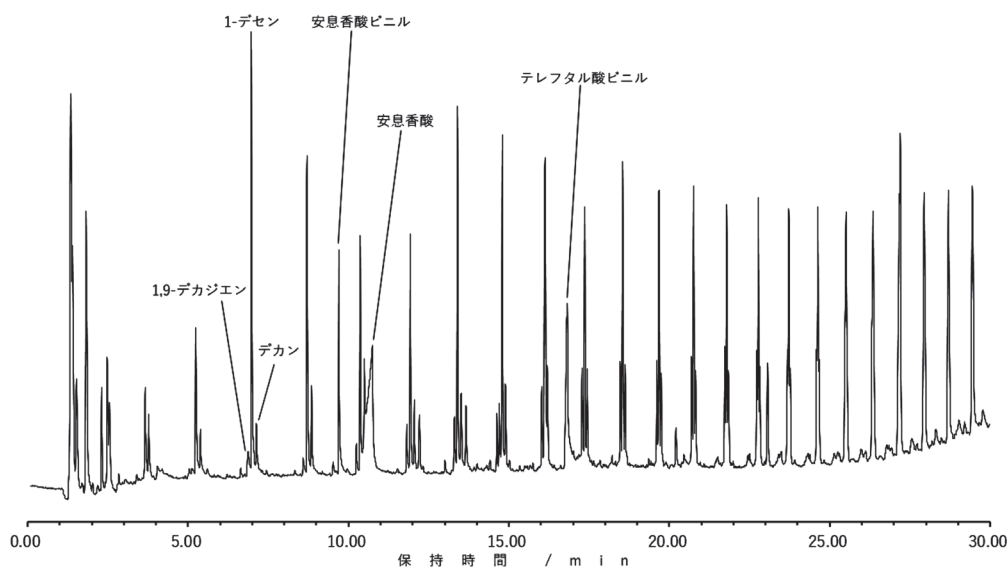


図3 混合物パイログラム例

4・2 類似するパイログラムを示すサンプルが複数存在する場合

世に存在する物質は無数であり、それぞれ固有の熱分解生成物を見出すことは難しい。そのため、類似する性質の個体同士をまとめ、それらに共通する特徴を見いだすことが薦められる。図4に3種の動物組織のパイログラムを示す。

動物組織はFTIRで測定するとタンパクのスペクトルを主体とした波形を示すが、Py-GC/MSにおいてもパイログラムの大半はタンパク由来成分が占める。そのほかに共通する成分として、動物ステロール類が検出される。そのために、動物組織としての特徴はタンパク熱分解生成物や動物ステロール類とまとめることができる。(例外的に食餌の影響により小型の虫等では動物ステロールと共に植物ステロールが検出される場合がある。)動物組織の中でさらに細かく分類することを試みる場合、複雑なパイログラムから指標となる化合物を探索する作業となるため、必要に応じて多変量解析を用いたデータ解析なども適用しながら解析を行う。その更なる分類の例として、図4-(b)は二硫化炭素のピークが確認でき、爪や角、髪などの硬タンパクを多く含有する組織の特徴と考えられる。(c)はトリメチルアミンが検出され、海生生物の組織に共通して確認される。

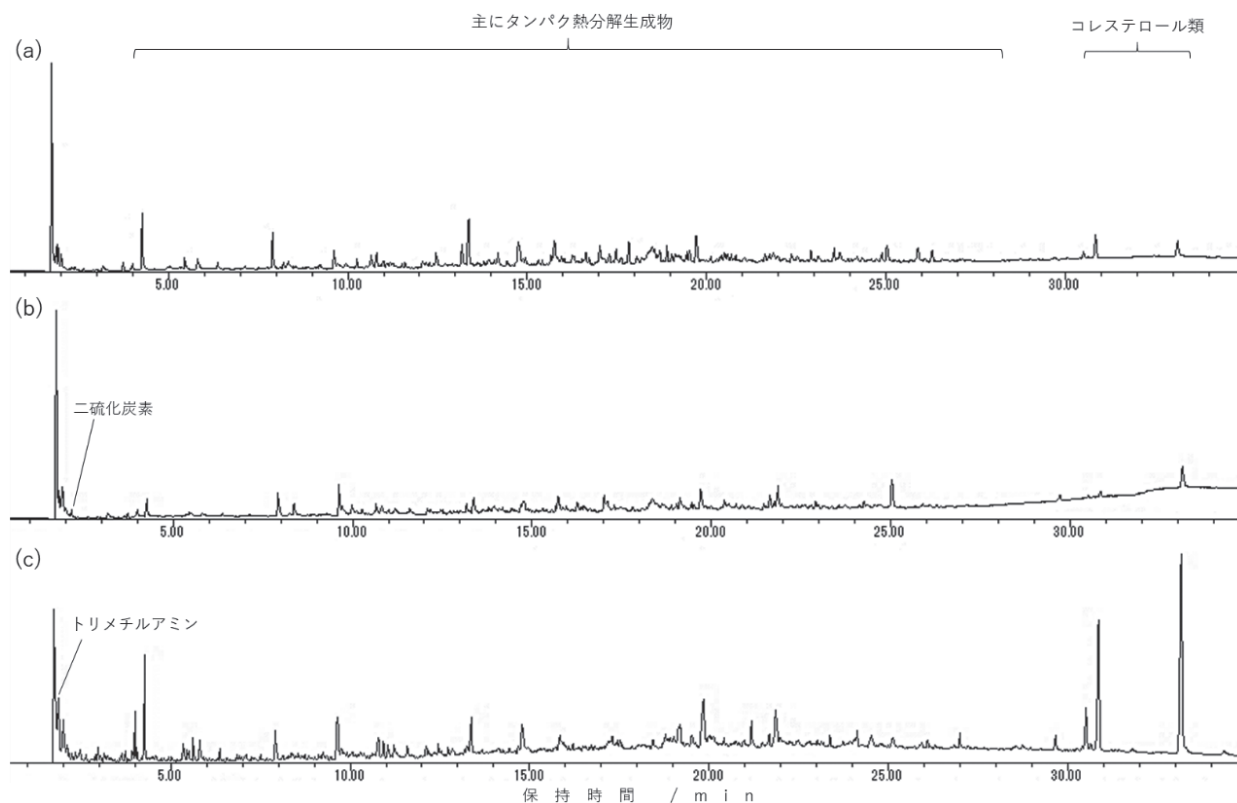


図4 動物組織のパイログラム例
(a) 血液, (b) 爪, (c) 魚粉

4・3 構造推定が困難なピークが多い場合

一般にポリマーの熱分解生成物は多数に及び、特に天然高分子において、構造推定に至らない化合物の比率が多くなる。例としてロジンサンプルのパイログラムを図5に示す。図5-(a)においてはピークの塊が確認できるものの、デヒドロアビエチン酸メチル以外は、ライブラリ検索からアビエチン酸系化合物である可能性を考

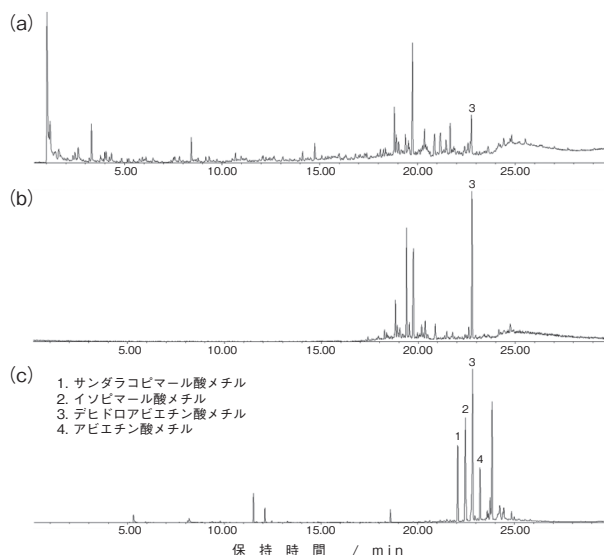


図5 ロジンサンプルのパイログラム例
(a) TIC, (b) m/z 239-248 マスククロマトグラム, (c) 反応熱分解法

えられても化合物推定には至らない。このパターンはピーク面積のバランスに差異はあるものの、他のロジン系物質にも共通して確認される。そのため、それらをアビエチン酸系ピーク群と見なし、デヒドロアビエチン酸メチルと合わせてロジン系物質の特徴とする。ロジン関連成分は工業材料においても、粘着賦与剤やフラックスにも用いられており、クロマトグラム上で目立たず他の成分に紛れた状況で検出される場合が多く、図5-(b)のようなマスクロマトグラムにてピーク群を確認することが有用である。

4.4 メチル誘導体化が有効な場合

エステル結合を有する化合物は分解パターンが比較的複雑で、構造推定が難しい熱分解生成物が多い。エステル系成分である可能性が考えられた場合、メチル誘導体化を伴う反応熱分解法が適する。その手法は単純であり、測定容器にサンプルと共にテトラメチルアンモニウムなどの試薬を滴下し、同時に加熱することでエステル結合が加水分解されると同時にメチルエステル化された分解生成物が検出される。上記で示したロジン系物質の場合、反応熱分解法を適用すると図5-(c)に見られるように複数のアビエチン酸系化合物のメチルエステル体が検出され、それらはロジン系物質における分かりやすい特徴となる。

5 異物分析への適用

事例を想定しながら三つのケースを挙げて、異物分析におけるPy-GC/MSの活用を示す。

5.1 FTIRでは主要成分の検出が難しいもの

主要ポリマーの共存成分に無機が多く含まれる素材をFTIRで測定すると、ポリマーの吸収ピークの重要部分がフィラーのピークに埋もれてしまい解析が難しくなる。比較的頻度の高いサンプルの例として無機充填剤(フィラー)を多量に含むゴム材がある。ゴム材の多くはプラスチックと比較して添加剤や充填剤の割合が多く、ポリマー以上にスペクトルの面積を占める場合がある。

ある異物についてFTIRで測定したスペクトルを図6-(a)に示す。スペクトルにはシリカの幅広い吸収が目立っており、辛うじてニトリルゴム(NBR)が存在する可能性が考えられる程度であった。同サンプルのピログラムを図6-(b)に示す。無機フィラーは不揮発性であるため、一部炭酸塩における二酸化炭素の発生などを除き、Py-GC/MSではピークは現れない。ピログラムにはFTIRにてその存在が示唆されたNBRの熱分解生成物であるブタジエンやアクリロニトリルが検出され、明確にその存在を示すことが可能である。さらに、NBR由来以外の成分としてクロロプレンやその二量体

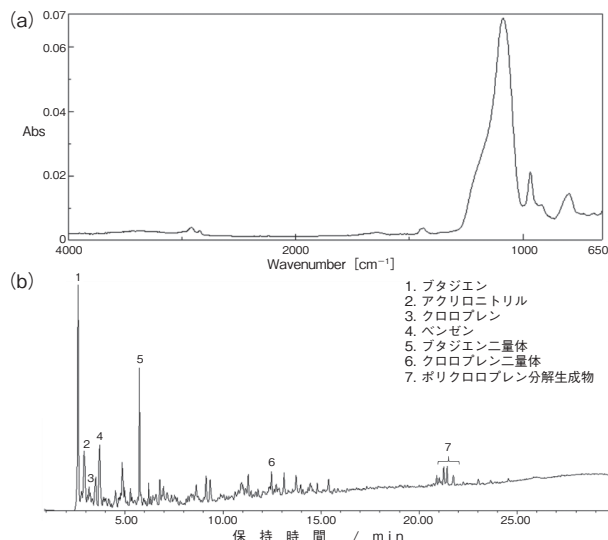


図6 異物サンプルの測定結果比較
(a) 赤外線吸収スペクトル, (b) ピログラム

なども同時に検出されており、NBR以外にクロロプレンゴムが共存していることも推定できる。

5.2 油脂を主体とした異物

異物の形態は固体に限らず、液状～半固形状など様々であり、そうした性状で確認される物質の一つに油脂がある。Py-GC/MSにおいてはそのまま熱分解すると複雑なピログラムとなる一方、メチル化を伴う反応熱分解では高級脂肪酸メチル化体が目立ち、解析しやすいピログラムが得られる。脂肪酸組成に着目すると、植物油をはじめとして不飽和脂肪酸の組成が多様であり、確認される組成のパターンからある程度の範囲において油脂の識別を期待できる。しかしながら油脂が異物として現れる場合、幾ばくかの変質(酸化劣化)を生じていることが多く、その変化はピログラムにも反映される。図7に酸化劣化前後のサラダ油のピログラムを示す。劣化後では不飽和脂肪酸のピークが減少または消失し、その代わりにアゼライン酸ジメチルなどカルボン二酸やエポキシ化高級脂肪酸、低級脂肪酸(いずれもメチル化体)が検出される。そのため、不飽和脂肪酸を指標とした解析が行えず、油脂間の識別できる範囲は狭くなる。逆に、「油脂が酸化劣化したもの」を示すためにはカルボン二酸ジメチル化体やエポキシ化脂肪酸メチル化体は指標として適用することができる。

実際には関連する油脂サンプルとの比較や識別が求められるケースもあり、不飽和脂肪酸以外の成分から解析を行わなければならない。ある事例においてエラストマー部品に少量の液状の異物が発見され、先にFTIRで測定した結果、油脂が酸化劣化したものである可能性が考えられた。その結果をもとに、何に由来するのかを調べるために、液状異物および使用環境で用いられていた植物油数種についてそれぞれ反応熱分解法で測定し、パ

イログラムを比較した。図8に液状異物のパイログラムを示す。パイログラム上には不飽和脂肪酸は飽和脂肪酸よりも小さなピークであり酸化劣化の兆候が示唆された。また、飽和脂肪酸に着目すると、ミリスチン酸/ペンタデカン酸/パルミチン酸/マルガリン酸/ステアリン

酸のバランスが他の油脂サンプルと異なるほか、イソミリスチン酸など分岐型の炭素鎖を持つ脂肪酸が目立つ程度に検出されていることが確認され、それらの飽和脂肪酸のパターンは年齢や発生場所によって変化はあるものの、皮脂の飽和脂肪酸組成¹⁾に近似すると考えられた。

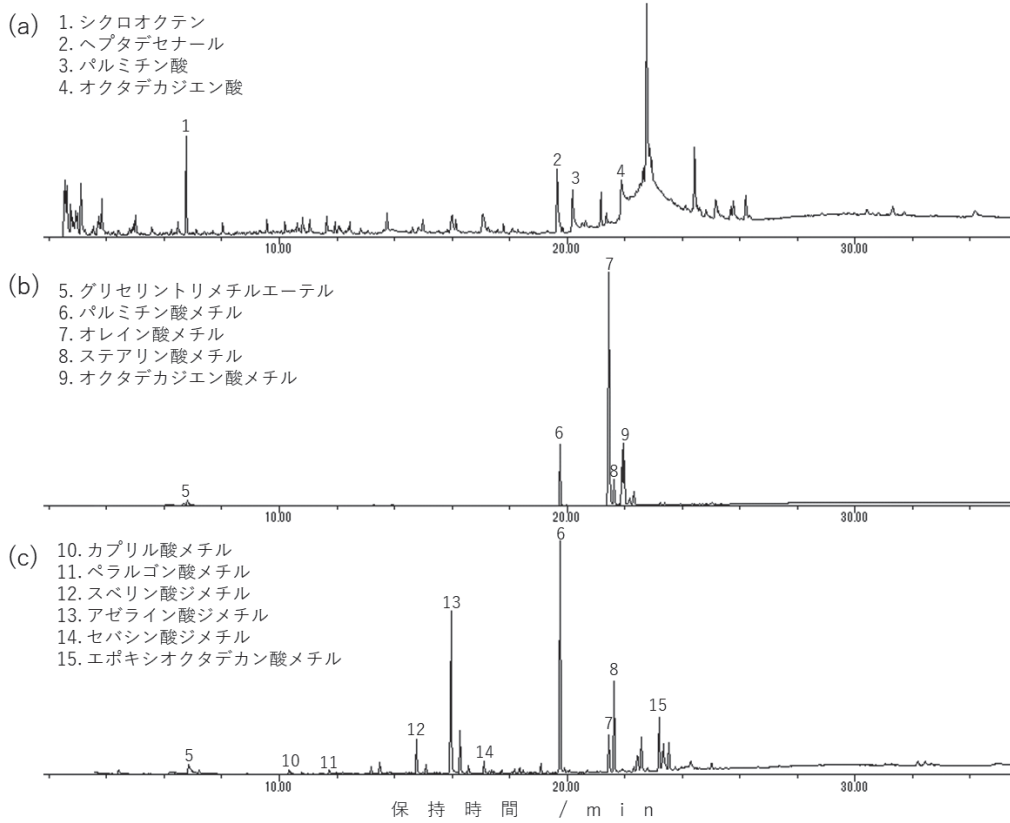


図7 サラダ油のパイログラム例

(a) 未劣化/瞬間熱分解, (b) 未劣化/反応熱分解, (c) 劣化/反応熱分解

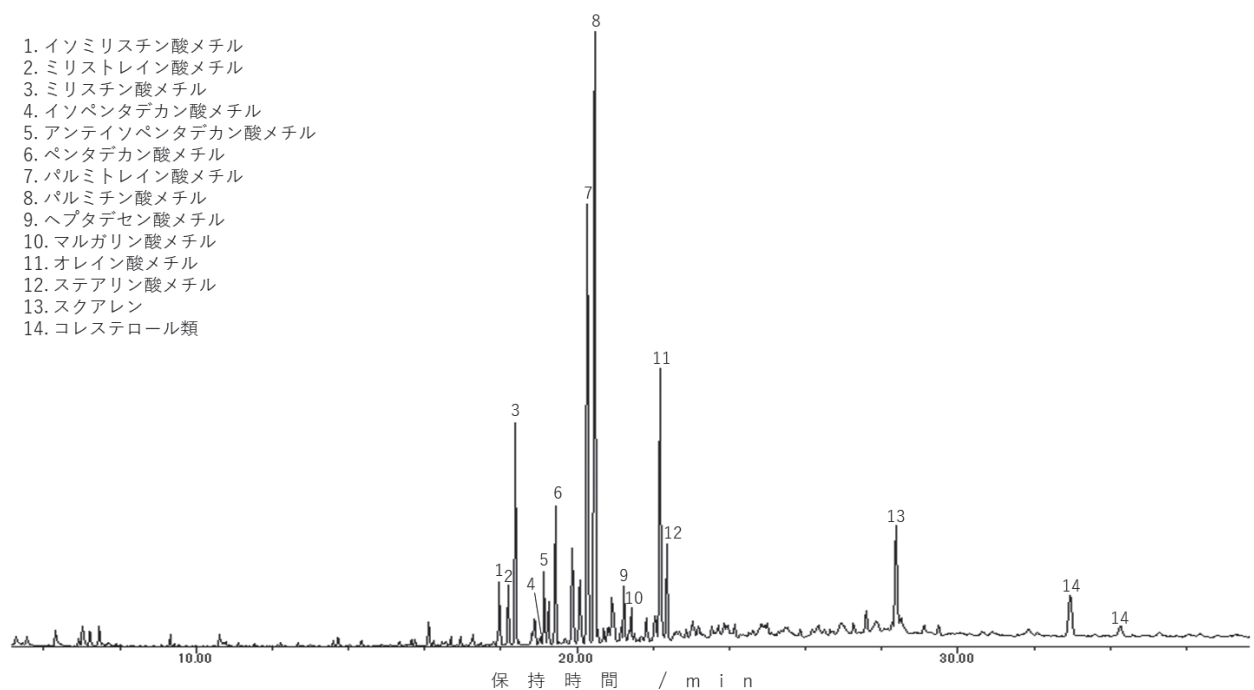


図8 液状異物のパイログラム

また、脂肪酸以外にスクアレンやコレステロール類が検出され、いずれも皮脂の含有成分である²⁾。こうしたパイログラムのパターンやエラストマー部品が顔に接触することもあることから、液状異物は使用された植物油でなく、皮脂に由来すると考えられた。

5.3 菌類の確認を要する場合

異物の中には生物に由来するケースもあり、虫などの場合には拡大観察を行うことで翅^{はね}や体の一部といった組織を確認できることが多いものの、カビをはじめとする菌類は観察による判断は困難となる。実例においても異物が発生した環境に水分がある場合には、外観の印象として菌類が予想されるケースが多く、当事者にとって異物が菌類であるか否かの判別は印象的にも重要であり、客観的で正確な判断を行わなければならない。必要とされる情報が「菌類かどうか」のみに絞られるのであれば、成分分析的な手法でなくとも、異物を採取し培養して確認される物体を調べることができる。しかしながら、実際に必要な情報は「異物が菌類（もしくはそれに由来するもの）かどうか」の他に、「菌類でない場合にはそれが何であるか」や「菌類がいた場合でもそれ以外にどのような成分があるのか」といった内容を含んで

おり、そうした課題にも回答を得なければならない。それゆえに、菌類の関与の確認を含めた異物分析手法に必要な条件は、測定結果から主な成分が菌類であるかを推定でき、なおかつ菌類以外の成分情報も得られることと考えられる。FTIRにて菌類を測定するとある程度特徴的なスペクトルを得ることができるが、類似パターンの生物サンプルや多成分共存の可能性を鑑みると実際的な判断は難しい。

上記の背景から Py-GC/MS の適用可能性を確認するため、専用のラボで培養されたカビや酵母など 10 種以上の菌類を測定し、得られたパイログラムにおいて菌類に特徴的な成分、すなわち菌類に共通して検出され、かつ他の物体とは異なる熱分解生成物パターンの探索を行った。図 9-(a) に菌類のパイログラム例を示す。セルロース分解生成物、グルコサミン様化合物（ライブラリ検索では *N*-アセチルグルコサミンメチルエーテルが近いものとして確認される）、タンパク系、エルゴステロール類などが検出される。グルコサミン様化合物は菌類の細胞構成成分に由来すると考えられ³⁾、菌類以外では図 9-(b) のように軟骨や虫の組織などにおいても検出される。エルゴステロールは菌類の代表的なステロールであり⁴⁾、菌類以外では図 9-(c) のクラミドモナス

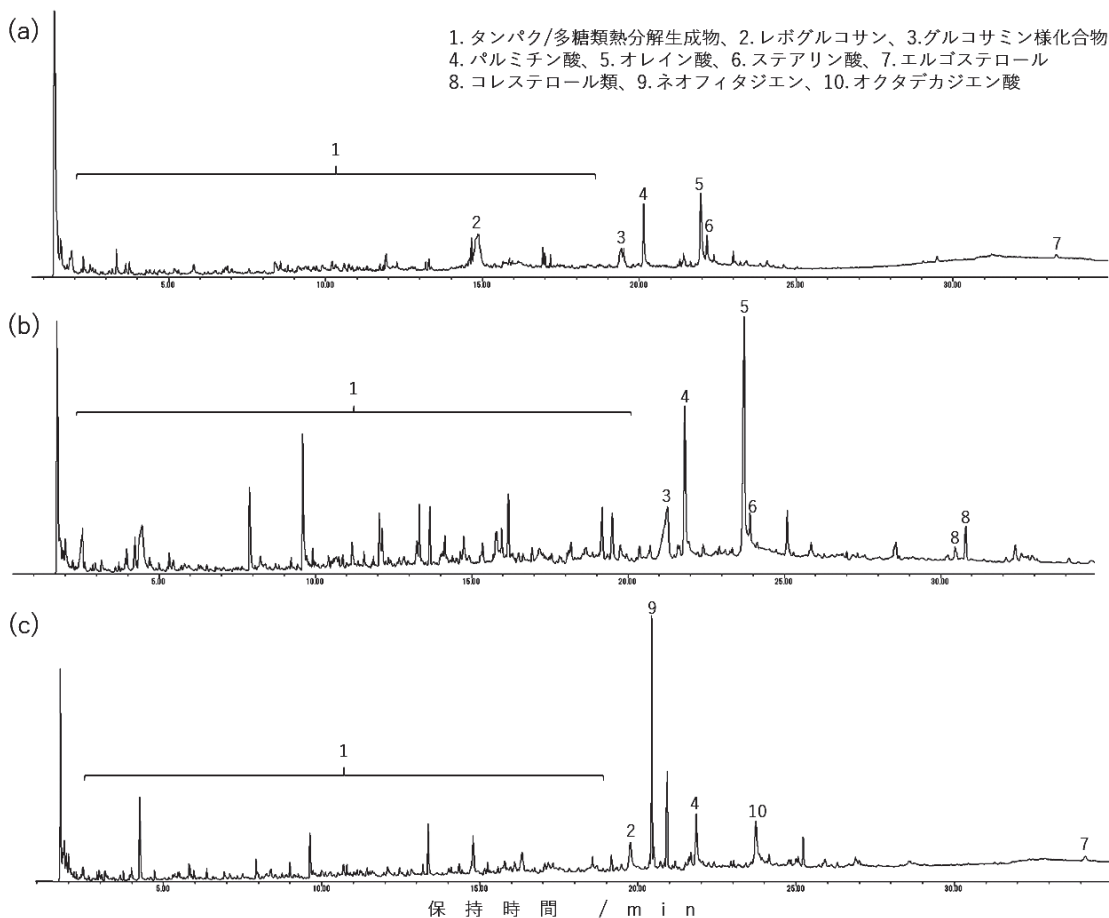


図 9 パイログラム例（測定条件と時期は異なる）
(a) クモノスカビ、(b) 蛾の触角、(c) クラミドモナス

(コナミドリムシ) などにおいても検出される。これらの熱分解生成物の一つ一つに注目すると他の対象群において確認されるものの、同時に検出されるパターンは菌類に特徴的と考えられる。

なお、筆者の経験した範囲において、実際に現れる異物は、上記の菌類に特徴的な成分のピーク面積の比がサンプル間で大きく異なることがあり、場合によりピークが小さく確認が難しくなる。また、プラスチック類と比較して明確なピークを得るための必要試料量は多めになるため、菌類が想定される場合には、サンプル量を通常よりも増加し、感度面で装置条件を調整したうえで測定を行うことが薦められる。

6 おわりに

本稿では異物分析の手法の一つとして Py-GC/MS を挙げてその特徴や活用法を示した。Py-GC/MS の活用は、得られる成分情報の拡大に寄与できるものの、まだ発展段階であり、その活用法について更なる深化が期待

される。

文 献

- 1) B. Boughton, R. M. B. Mackenna, V. R. Wheatley, A. Wormall : *J. Invest. Dermatol.*, **33**, 57 (1959).
- 2) D. T. Downing, J. S. Strauss, P. E. Pochi : *J. Invest. Dermatol.*, **53**, 322 (1969).
- 3) S.C. Moldoveanu : “*Analytical Pyrolysis of Natural Organic Polymers*”, p.300 (1998), (Elsevier, Amsterdam).
- 4) 秋久俊博, 小池一男, 木島孝夫, 羽野芳生, 堀田 清, 増田和夫, 宮沢三雄, 安川 憲, “資源天然物化学”, p.114 (2002), (共立出版).



木下健司 (Kenji KINOSHITA)

地方独立行政法人 東京都立産業技術研究センター (〒135-0064 東京都江東区青海 2-4-10). 東京薬科大学大学院 博士 (生命科学). 《現在の研究テーマ》材料の不具合解析のための分析手法開発. 《趣味》コントラパス.

E-mail : kinoshita.kenji@iri-tokyo.jp

原 稿 募 集

話題欄の原稿を募集しています

内容：読者に分析化学・分析技術及びその関連分野の話題を提供するもので、分析に関係ある技術、化合物、装置、公的な基準や標準に関すること、又それらに関連する提案、時評的な記事などを分かりやすく述べたもの。

但し、他誌に未発表のものに限ります。

執筆上の注意：1) 広い読者層を対象とするので、用語、略語などは分かりやすく記述すること。2) 啓蒙的であること。3) 図表は適宜用いてもよい。4) 図表を含めて4000字以内（原則として

図・表は1枚500字に換算）とする。

なお、執筆者自身の研究紹介の場とすることのないよう御留意ください。

◇採用の可否は編集委員会にご一任ください。原稿の送付および問い合わせは下記へお願いします。

〒141-0031 東京都品川区西五反田1-26-2

五反田サンハイツ 304号

(公社)日本分析化学会「ぶんせき」編集委員会

[E-mail : bunseki@jsac.or.jp]