

食品中の 多環芳香族炭化水素類 (PAHs) の分析

トリプル四重極 GC/MS/MS とヘリウム/水素キャリアガスを用いた分析

ワークフローと消耗品ガイド



多環芳香族炭化水素（PAHs）は、魚・肉・油・牛乳などの脂肪の多い食品に生体蓄積する性質があり、低濃度でもきわめて強い毒性があります。¹米国食品医薬品局（FDA）は、海産食品に対して低 ppb レベルでの PAH 分析を義務付けています。²欧州連合の規則では、食品マトリックス中に含まれる一連の PAH を規制しており、乳幼児向けの穀物ベースの加工食品と離乳食に関する具体的なパラメータが規定されています。³

食品マトリックスからの分析対象物質の分離

脂肪を多く含んだ食品マトリックス中の PAH の分析における課題の一つは、食品マトリックスに含まれる大量の脂質から分析対象物質を抽出することです。Agilent Captiva Enhanced Matrix Removal (EMR) -Lipid パススルークリーンアップは実装が非常に簡単で、サンプルマトリックスを除去できるきわめて効率的な技術です。枝分かれのない炭化水素鎖（脂質）との選択的な相互作用は、脂肪の多い食品マトリックス中の複数種類の多成分残留分析に最適です。^{4~6}

GC/MS は、複雑なマトリックス中の微量濃度の PAH に対して高い選択性と感度を実現しています。一般的に GC/MS 分析用のキャリアガスとしてヘリウムが最適であると考えられていますが、ヘリウム不足の再発によりキャリアガスとして水素を使用する需要が高まっています。水素は反応性ガスであり、注入口やカラム内、時には MS EI イオン源内で化学反応が生じる可能性があり、分析結果が変わってしまうことがあります。Agilent HydroInert イオン源は、GC/MSD 用に新しく設計されたエクストラクタイオン源であり、これらの問題に対処し、GC/MS での H₂ キャリアガスの性能を向上させます。Agilent 8890 GC および 5977 GC/MSD で H₂ キャリアガスを用いるメソッドにより、乳児用ミルク中の低濃度の PAH を測定し、食品中の PAH の分析に対する EU の規制に適合させました。⁴

キャリアガスとしてヘリウムの代わりに水素を使用する際に考慮すべき要素

PAH は相対的に耐久性のある化合物であるため、ピークテーリングを回避するように、これらのアプリケーションノート^{7~9}で説明されている最適化されたメソッドを使用し、推奨事項に従って実行することにより、水素キャリアガスでの分析が可能となります。







表 1. 水素キャリアガスを使用する際に考慮すべき重要な要素

検討	説明
水素ガス	99.9999% 純度仕様の水素で、水および酸素がそれぞれ低濃度仕様のものでキャリアガスとして使用することを推奨します。クリーンな水素ガスの信頼できるソースを使用することが大切です。長期間使用する場合は、純度が > 99.9999% で、水と酸素についてはそれぞれ低濃度であることが仕様で示された発生装置を推奨します。水素発生装置とともに使用するためには水分フィルタを推奨します。短期間の使用には、クロマトグラフィーまたは研究グレードの水素ポンプの使用が可能です。
パルスドスプリットレス注入	特に高沸点の PAH の GC 注入口からカラムへの導入を最大化するために使用しました。
注入口ライナ	Agilent ユニバーサル UI ミッドフリット付き注入口ライナは、良好なピーク形状、不活性度、長寿命を示すことがわかりました。フリットによって熱が PAH に伝わり、注入口底部に直接触れなくなります。PAH が注入口底部で凝結すると、PAH の気化とカラムへの導入が難しくなります。
カラム寸法	バックフラッシュ構成内のガス流と注入口圧力を最適に維持するために、2本の Agilent J&W DB-EUPAH カラム（20 m × 内径 0.18 mm、0.14 μm）を使用することを推奨します。
8890 PSD モジュールとミッドカラムバックフラッシュ	Agilent 8890 GC ニューマティクスモジュールはニューマティクス切り替えデバイス（PSD）で、バックフラッシュアプリケーションに対して最適化されており、シームレスなパルスド注入を実行できます。この逆流は、アジレントのパージ付き Ultimate ユニオン（PUU）が提供する機能です。PUU は挿入して用いるティであり、今回の場合は 2本の同一の 20 m カラムの間に挿入します。分析中は、8890 PSD モジュールからの少量のメークアップキャリアガスで接続部をスワイプする必要があります。バックフラッシュ中は、PSD からのメークアップ流量を大幅に増やす必要があり、第 1 カラムは逆流、第 2 カラムは MS 側に流れることにより、高沸点汚染化合物を排出します。
HydroInert EI イオン源	Agilent HydroInert イオン源は、水素キャリアガスを使用する際のエクストラクタイオン源の代替品です。このイオン源は、水素と使用する際にスペクトルの忠実度を維持するために、イオン源での望ましくない反応を大幅に低減するような物質で構成されています。一般的に知られているように、PAH はヘリウムをキャリアガスとして使用した場合でも、MS EI イオン源に対して特有の課題を提起します。 ¹⁰ 水素キャリアガスを特に HydroInert イオン源と使用する場合、PAH での性能が向上します。9 mm エクストラクタレンスは標準で HydroInert イオン源に付属しており、最高の検量線直線性、レスポンス精度、ピーク形状を提供するため、PAH 分析に最適な選択肢です。 ^{11, 12}
コリジョンガス	GC/TQ で水素キャリアガスを使用する際にコリジョンガスとして使用できるのは、窒素のみです。コリジョンセルのヘリウム注入口フィッティングには蓋をする必要があります。窒素ガスの最適な流量は 1.5 mL/min です。この流量は、水素キャリアガスを用いた以前の PAH に関する実験においても最適であることが実証されています。 ⁹
MS/MS	GC/TQ の MRM モードの選択性が優れているため、マトリックスからの干渉レスポンスが低減または排除され、高マトリックスサンプルのデータ確認を GC/MS より容易に行うことができます。干渉レスポンスがあるときは多くの場合、定量イオンまたは確認イオンのマニュアル積分が必要になります。

PAH 異性体の分離

PAH を分析する際の課題の一つは、同じ化学構造を有する PAH 異性体をクロマトグラフィーで分離することです。質量分析計では、これら異性体は分子量が同じであるため、簡単には区別できません。EUPAH4 およびより広範な EUPAH (15+1) の両方に、GC 質量分析計では分離が困難で共溶出する重要なペアが含まれています。PAH に合った GC カラムの選択は、分析の目的に依ります。表 2 は、重要な規制食品の PAH および一般的な不純物を、推奨するカラムでどの程度うまく分離できるかについて示したものです。

表 2. 重要な規制対象 PAH : SCF (PAH15+1)、JECFA (PAH13)、CONTAM (PAH8)

分析対象物質リスト	DB-EUPAH ^{*,13~15}	Select PAH ^{*,16~17}	DB-5ms UI ^{*,16}
ベンゾ[a]アントラセン	x	x	x
シクロペンタ[c,d]ピレン	x	x	x
トリフェニレン (不純物)	共溶出	x	共溶出
クリセン		x	
ベンゾ[b]フルオランテン	x	x	共溶出
ベンゾ[j]フルオランテン	x	x	
ベンゾ[k]フルオランテン	x	x	x
ベンゾ[a]ピレン	x	x	x
インデノ[1,2,3-c,d]ピレン	x	x	x
ジベンゾ[a,h]アントラセン	x	x	x
ベンゾ[g,h,i]ペリレン	x	x	x
ジベンゾ[a,e]ピレン	x	x	x
コロネン (不純物)	x	x	x
ジベンゾ[a,h]ピレン	x	x	x
ジベンゾ[a,i]ピレン	x	x	x
ジベンゾ[a,l]ピレン	x	x	x
5-メチルクリセン	x	x	x
ベンゾ[c]フルオレン	x	x	x
トータル分析時間	< 28 分¹⁶	< 45 分¹⁷	< 22 分¹⁶
最大動作温度	320 ~ 340 °C	325 ~ 350 °C	325 ~ 350 °C
ラボにおける利点	PAH への高い特異性  経済性 	PAH への高い特異性  生産性 	汎用性  生産性 
選択ガイド	<ul style="list-style-type: none"> クリセンの分離が重要でない場合のトリフェニレンの分離に最適 	<ul style="list-style-type: none"> 16 種類すべての EPA PAH の正確な定量 特異的な選択性によりすべての異性体を分離 クリセン存在時にトリフェニレンからクリセンを分離する唯一のカラム 	<ul style="list-style-type: none"> 汎用カラム 報告が必要な PAH 異性体が少ない場合に、多くの EPA メソッドで有効

*x = 完全なベースライン分離

ディスクリミネーション

つぎのような場合、ディスクリミネーションが問題となります。

- 注入口の温度設定が低すぎ (< 300 °C)、注入口でのサンプル気化が不完全である場合。
- スプリットレス注入保持時間が、サンプルをすべて分析カラムのヘッドに効果的に移送するように最適化されていない場合。
- 選択された注入口ライナが不適切である場合。クロマトグラフでは、高分子量の PAHs の感度反応低下として観察されます。

分子量ディスクリミネーションを起こさせないための推奨事項、および GC/MS または GC/MS/MS での PAH 分析を最適化するその他のベストプラクティス：^{10, 18}

- 注入量：1 ~ 2 μ L
- 注入口、MS ソースおよびトランスファーライン温度：320 °C。温度が 300 °C より低いと、PAH テーリングを引き起こします。加熱ゾーンを十分に断熱して高温に保ち、システムのコールドスポット発生による感度低下を防ぎます。
- パージ時間：45 ~ 90 秒、スプリットレス。
- ミッドフリットまたはガラスウール付き 4 mm スプリットレスライナ。ライナ内部のフリットとウールによって熱が PAH に伝わり、注入口底部に直接接触しなくなります。PAH が注入口のベースで凝結すると、PAH の気化とカラムへの流入が難しくなります。ガラスフリット付きライナは、ウールが破損したりライナが動いたりするリスクがないため、ガラスウールの優れた代替品です。
- 20 ~ 50 psi で 0.9 分間パルスドスプリットレス注入を行い、高沸点の PAH をカラムに移動。PAH などの分子量が大きく沸点の高い分析対象物のスプリットレス/PTV/MMI タイプの注入には、液相の「コールドトラッピング」効果がよく用いられます。通常は初期オープン温度 75 °C で、多くのサンプル溶媒が優れたピーク形状を呈します。

- 内径 0.15/0.18 mm の高効率 GC カラムにより、分離度を損なうことなく分析時間を短縮。
- 高カラム流量で注入口（およびシステム）のドウェルタイムを最少化し、MS 検出器の感度を維持。分析を定流量モードで実施します。
0.15 mm：1.2 mL/min He
0.18 および 0.25 mm：1.2 ~ 1.4 mL/min He
注：内径 0.18 mm および 0.25 mm の GC カラムは高い流量を扱うことができますが、MS 感度の低下を招きます。HES ソースに対しては、1.5 mL/min を超える流量は推奨されません。
- リテンションギャップやバックフラッシュを活用することで、サンプルのキャリアオーバーをなくし、メンテナンスを削減して、分析サイクル時間を短縮。
- Agilent JetClean を用いることで、特に高マトリックスサンプルにおけるマニュアルでのイオン源クリーニング頻度を大幅に低減。水素（0.33 mL/min）でイオン源を連続的にクリーニングすることで、検量線の直線性と PAH 分析中のレスポンス精度が大幅に向上することが実証されています。
- 9 mm のエクストラクタレンズを用いて、PAH が堆積する可能性のある表面を最小化。このレンズは標準で HydroInert イオン源に付属しており、水素との使用に最適化されています。このレンズは、最高の検量線直線性、レスポンス精度、ピーク形状を提供するため、PAH 分析に最適な選択肢です。
- PAH の分子量が大きいと冷蔵保存中に溶液から析出することがあるため、PAH 標準はキャリブレーション混合物の希釈や調製前に室温に戻す。

参考文献

1. Honda, M., Suzuki, N., Toxicities of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons for Aquatic Animals, *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, 17(4), 1363
2. U.S. Food and Drug Administration, 2010, accessed July 2020, [Protocol for Interpretation and Use of Sensory Testing and Analytical Chemistry Results for Re-opening Oil-Impacted Areas closed to Seafood Harvesting due to the Deepwater Horizon Oil Spill](#).
3. The European Commission, Commission Regulation (EU) No 835/2011 of 19 August **2011** Amending Regulation (EC) No 1881/2006 as Regards Maximum Levels for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Foodstuffs, *Official Journal of the European Union*, L 215/4, rev 08.2011.
4. 乳児用調製粉乳中の多環芳香族炭化水素の抽出と分析—水素をキャリアガスに使用した GC/MS と Agilent Captiva EMR-Lipid カートリッジによる分析, [5994-5560JAJP](#)
5. サケと牛肉に含まれる 19 種類の多環芳香族炭化水素化合物の測定—Captiva EMR-Lipid クリーンアップと GC/MS/MS, [5994-0553JAJP](#)
6. 食用油中の多環芳香族炭化水素化合物 13 種の測定: Captiva EMR-Lipid クリーンアップと GC/MS/MS, [5994-1483JAJP](#)
7. 水素キャリアガスおよび Agilent HydroInert イオン源を用いた GC/MS による PAH の分析, [5994-5711JAJP](#)
8. 水素キャリアガスを用いた PAH の GC/MS/MS 分析—分析困難な土壌マトリックスでの Agilent HydroInert イオン源の利用, [5994-5776JAJP](#)
9. Optimized PAH Analysis Using Triple Quadrupole GC/MS with Hydrogen Carrier, [5994-2192EN](#)
10. 測定困難なマトリックスにおける PAH の GC/MS/MS 分析の最適化, [5994-0498JAJP](#)
11. Anderson, K. A. et al. Modified Ion Source Triple Quadrupole Mass Spectrometer Gas Chromatograph for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *J. Chromatog. A* **2015**, 1419, 89–98. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.09.054
12. Quimby, B. D. et al. In-Situ Conditioning in Mass Spectrometer Systems. *US* 8,378,293, **2013**.
13. Agilent J&W Select PAH GC カラムと Agilent Intuvo 9000 GC による EU および EPA の PAH 分析の再現性向上, [5994-0877JAJP](#)
14. GC/MS Analysis of European Union (EU) Priority Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Using an Agilent J&W DB-EUPAH GC Column with a Column Performance Comparison, [5990-4883EN](#)
15. Agilent 8890 GC による欧州連合多環芳香族炭化水素 (EUPAH) の分析, [5994-0485JAJP](#)
16. PAH Analysis with High Efficiency GC Columns: Column Selection and Best Practices, [5990-5872EN](#)
17. Separation of 54 PAHs on an Agilent J&W Select PAH GC Column, [SI-02232](#)
18. 測定困難なマトリックスにおける PAH の GC/MS 分析の最適化, [5994-0499JAJP](#)

標準品、カラム、消耗品などの情報

サンプル前処理製品

説明	部品番号
サケ、牛肉、乳児用調合乳	
QuEChERS 抽出塩パケット、元のメソッド (10 g サンプル)、遠心分離チューブなし、50 個	5982-6550
Captiva EMR-Lipid、3 mL カートリッジ、充填剤質量 300 mg、100 個	5190-1003
オリーブ、グレープシード、アボカド、アーモンドの各オイル	
Captiva EMR-Lipid、6 mL カートリッジ、充填剤質量 600 mg、100 個	5190-1004
Bond Elut Jr PSA、500 mg	12162042B
サンプル前処理消耗品	
セラミックホモジナイザ、15 mL チューブ、100 個	5982-9312
遠心分離チューブおよびキャップ、ポリプロピレン、15 mL、25 個	5610-2039
遠心分離チューブおよびキャップ、ポリプロピレン、50 mL、25 個	5610-2049
加圧式マニホールド 48 プロセッサ (PPM-48) *	5191-4101
コレクションラック、16 x 100 mm チューブ、PPM-48 用†	5191-4108
コレクションラック、12 x 32 mm オートサンブラバイアル、PPM-48 用†	5191-4109
SPE カートリッジラック、3 mL、PPM-48 用†	5191-4103
SPE カートリッジラック、6 mL、PPM-48 用†	5191-4104

*機器導入時のみ必要です。

標準**

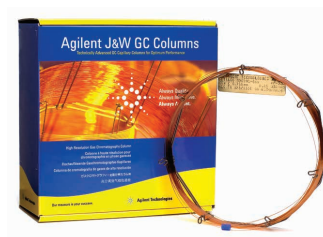
説明	部品番号
Agilent PAH アナライザキャリブレーションサンプルキット	G3440-85009
重水素化 PAH 内部標準混合液、内部標準	5191-4509

**カスタムの標準については、アジレントまでお問い合わせください。



GC カラム

説明	部品番号
Agilent J&W DB-EUPAH, 20 m x 0.18 mm x 0.14 µm (個数：水素キャリアガスを使用する場合は2個を推奨)	121-9627
Agilent J&W Select PAH, 30 m x 0.25 mm, 0.15 µm	CP7462
Agilent J & W Select PAH, 15 m x 0.15 mm, 0.10 µm	CP7461
Agilent J&W DB-5ms UI, 20 m x 0.18 mm, 0.18 µm	121-5522UI
不活性フューズドシリカチューブ, 5 m, 0.15 mm	160-7625-5



H₂ キャリアガスに切り替える際の HydroInert イオン源

説明	部品番号
5977 用 HydroInert イオン源アセンブリ	G7078-67930
7000 TQ 用 HydroInert イオン源アセンブリ	G7006-67930
HydroInert GC/MSD アップグレード、既存の 5977A/B/C イナートプラスイオン源のアップグレードに必要な部品を含む	5505-0083
HydroInert GC/TQ アップグレード、既存の 7000C/D/E イナートプラスイオン源のアップグレードに必要な部品を含む	5505-0084
GC 用据え付けキット、ステンレス、1/8 インチステンレスチューブ、フィッティング、ステンレスフィッティング付き大型ユニバーサルトラップ、ツールキットを含む	19199S



GC 消耗品

説明	部品番号
Agilent 注入口ライナ、ウルトライナー、スプリット、低圧力損失、ガラスウール入り (水素ガスの場合に推奨)	5190-2295
Agilent 注入口ライナ、ウルトライナー、スプリットレス、シングルテーパ、ガラスウール入り	5190-2293
高性能グリーンセプタム、ノンスティック、11 mm、50 個	5183-4759
GC 注入口シール、金メッキ、ワッシャ付き、ウルトライナー、1 個	5190-6144
パージ付き Ultimate ユニオンアセンブリ	G3186-80580
CFT フェラル Flex Gold フレキシブルメタルフェラル、金メッキ、内径 0.4 mm、内径 0.1 ~ 0.25 mm フューズドシリカチューブ用	G2855-28501
ALS シリンジ、ブルーライン、10 µL、ニードル固定型、23-26/42/コーン、PTFE チップ付きプランジャ	G4513-80203
フェラル、内径 0.4 mm、15% グラファイト/85% ポリイミド、0.1 ~ 0.25 mm カラム、10 個	5181-3323
セルフタイトカラムナット、カラー付き、注入口用	G3440-81011
セルフタイトカラムナット、カラー付き、MSD 用	G3440-81013



MS 消耗品

説明	部品番号
EI フィラメント (7000A/B/C/D 用、5977B イナートプラス、5977A エクストラクタ、不活性またはステンレスおよび 5975 システム)	G7005-60061
7010 トリプル四重極 GC/MS 用 HES フィラメント	G7002-60001
ドローアウトプレート、9 mm、不活性	G3440-20022
ドローアウトプレート、9 mm、エクストラクタイオン源* (ヘリウムキャリアガス用)	G3870-20449



*G3870-20449 には 3 mm ドローアウトプレートが含まれています。PAH アプリケーションでは、9 mm ドローアウトプレート (部品番号 G3440-20022) に置き換えてください。

ガスクリーンフィルタ

説明	部品番号
8890 および 8860 用ガスクリーンキャリアガスケット	CP179880
ガスクリーンキャリアガスフィルタ交換カートリッジ	CP17973
Intuvo 用ガスクリーンフィルタキット	CP17995



サンプル容器

説明	部品番号
A-Line スクリューバイアル、2 mL、茶色、ラベル付、100 個。バイアルサイズ：12 x 32 mm (12 mm キャップ)	5190-9590
キャップ、スクリュー、青、PTFE/赤シリコンセパタム、100 個キャップサイズ：12 mm	5182-0717



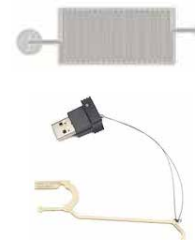
Intuvo GC カラム

説明	部品番号
Agilent J&W DB-EUPAH Intuvo、20 m x 0.18 mm、0.14 μm	121-9627-INT
Agilent DB-UI 8270D Intuvo、30 m x 0.25 mm、0.25 μm	122-9732-INT
Agilent DB-UI 8270D Intuvo、20 m x 0.18 mm、0.36 μm	121-9723-INT
Agilent J&W Select PAH Intuvo、30 m x 0.25 mm、0.15 μm	CP7462-INT
Agilent J&W Select PAH Intuvo、15 m x 0.15 mm、0.10 μm	CP7461-INT
Agilent J&W DB-5ms UI Intuvo、20 m x 0.18 mm、0.18 μm	121-5522UI-INT



Intuvo GC 消耗品

説明	部品番号
ガードチップ、Intuvo スプリット/スプリットレス	G4587-60565
Intuvo 注入口チップ	G4581-60031
フローチップ、Intuvo、D2-MS	G4581-60033
フローチップ、Intuvo、固定済み HES MS tail	G4590-60109
注入口/MSD (Intuvo) ポリイミドガスケット	5190-9072



アジレントは、EPA PAH- 500 μg/mL および EU PAH (15+1) - 250 μg/mL の標準と、食品マトリックス中の PAH を微量濃度でも高い信頼性と再現性をもって分析するために必要なすべての GC 消耗品を提供しています。

Agilent CrossLab : 「見えない価値」を「目に見える成果」へ

CrossLab では、機器にとどまらず、各種サービス、消耗品、およびラボ全体のリソース管理を通してお客様を総合的にサポートします。ラボの効率の向上、運用の最適化、機器の稼働時間の増加、スタッフのスキル育成などにお役立ていただけます。

Agilent CrossLab の詳細と、見えない価値から優れた成果を生み出す例については、[ホームページ](#)をご覧ください。

アジレント消耗品ワークフローガイドの詳細はこちら：
www.agilent.com/chem/ordering-guides

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。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。

DE.4042824074

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2023
Printed in Japan, June 8, 2023
5994-2016JAJP