

励起エネルギー移動を利用した多環芳香族炭化水素のフェムトモル分析

Femto molar detection of polycyclic aromatic hydrocarbons

using excitation energy transfer from anthracene

藤野 竜也* 許 家璋*

1. はじめに

多環芳香族炭化水素 (PAHs) は環境汚染物質として広く知られている。人体に対する有害性が認められているものもあり、発がん性、遺伝子変異、内分泌かく乱作用などが報告されている¹⁾。環境中の PAHs を検出するために様々な手法が用いられており、特にガスクロマトグラフィー質量分析法(GC-MS)の有効性が示されている^{2,3)}。しかしながら GC-MS の計測範囲は 300Da 程度の低分子量試料に限られることが多く、高い分子量を持ついくつかの PAHs に対して適用することが難しい。一方 PAHs は紫外・可視領域に強い吸収を持つ分子が多く存在するため、レーザーイオン化質量分析法(LDI-MS)やマトリクス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI-MS)も有効であると思われる。しかしながら、効率は悪く検出限界は $\sim 10^{-7}$ mol であると報告されている⁴⁾。MALDI-MS の場合、用いるマトリクス分子の開裂によって生じた無数のイオンにより低分子量領域が妨害されるため、低濃度の PAHs 検出に用いることはさらに難しくなる。

近年我々は、PAHs 分子の一つであるアントラセンを励起レーザー光のエネルギー捕集アンテナ分子として用い、他の PAHs 分子への励起エネルギー移動を起こさせることで、特にペリレン、ベンゾ a ピレンを高効率に検出する手法を開発した⁵⁾。この手法はアントラセンをマトリクス分子、PAHs を試料分子として用いた MALDI-MS の一部として考えられるが、 $\sim 10^{-15}$ mol とした極低濃度の PAHs までも高効率に検出できることが分かった。また上記の手法をさらに発展させ、アントラセンから他の PAHs への一段階の励起エネルギー移動で終わらず、その励起エネルギーをさらに別の PAHs 分子に移す。この 2-Step の励起エネルギー移動

により、マトリクス分子のアントラセンの発光スペクトルと小さな重なり積分しか持たない PAHs 分子高効率イオン化検出にも成功した⁶⁾。本稿では特に 1-Step の励起エネルギー移動を利用した方法について解説する。

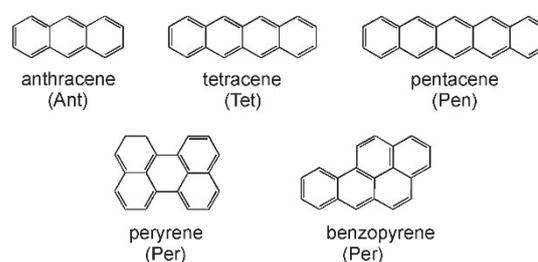


図1. 芳香族炭化水素(PAHs)の例

2. 実験

濃度 3.3×10^{-3} mol dm⁻³ のアントラセン(Ant)溶液(溶媒はベンゼン)を調製した。また濃度が 3.4×10^{-5} 、 3.4×10^{-6} 、 3.4×10^{-7} 、 3.4×10^{-8} 、 3.4×10^{-9} であるペリレン(Per)溶液、及びベンゾ a ピレン(BaP)溶液(溶媒は共にベンゼン)を調製した。同体積の Ant 溶液と Per 溶液(または BaP 溶液)をバイアル管に移し、混合した後、0.7 μ L をステンレス基板上に滴下した。溶媒が揮発した後、出来た混合結晶を PDA (perylene doped anthracene) または BDA (benzopyrene doped anthracene) と略記した。このためステンレス基板上の混合結晶中には物質質量 12 pmol、1.2 pmol、120 fmol、12 fmol、1.2 fmol の Per 又は BaP 分子が存在する。

作製した PDA 及び BaP 混合結晶は、Waters 社製 MALDI 装置(micro MX, 励起波長 337 nm、パルス幅 2.5 ns)により分析を行った。

3. 結果と考察

3. 1 PDA 混合結晶

*理工学部 応用化学科

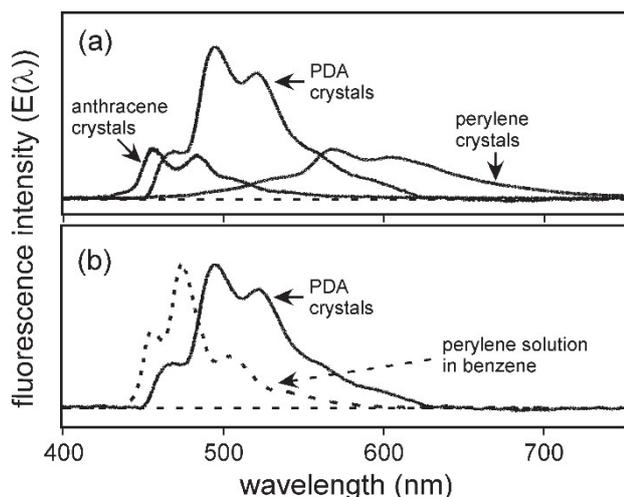


図2. (a)PDA 混合結晶からの定常蛍光スペクトル。Ant 及び Per 単結晶からのスペクトルも比較のため表示してある。(b)PDA 混合結晶とベンゼン中の Per 分子の蛍光スペクトルの比較

図2(a)に作成した PDA 混合結晶の定常蛍光スペクトルを示した。比較のため Ant 及び Per 単結晶の定常蛍光スペクトルも示した。PDA 混合結晶における Ant 及び Per 分子の物質量はそれぞれ 1.2nmol、12pmol であり、モル比で 1:0.01 である。図2(a)から PDA 混合結晶の蛍光スペクトルは単結晶のアントラセン及びペリレンのものとは異なることが分かった。さらに図2(b)から PDA 混合結晶の定常蛍光スペクトルは、スペクトルのピークが 600cm^{-1} ほど長波長シフトをしているもののベンゼン溶液中での Per 分子のスペクトルに似ていることが分かった。このことから、PDA 混合結晶において Per 分子は Ant 結晶中にほぼ単分散した形で存在していることが示唆された。PDA 混合結晶中の Per 分子の吸収スペクトルも蛍光スペクトルと同様に長波長シフトしていることを仮定し、かつ混合モル比 (Ant:Per= 1: 0.01)を考慮すると、励起波長 337nm における吸光度(OD)の比は Ant:Per=145:1 となり、大量に存在する Ant 分子が主に励起光を吸収し、Per 分子の直接励起はほぼ無視できることが分かった。

3. 2 レーザー脱離イオン化質量スペクトル

次に、PDA 混合結晶をレーザー脱離イオン化質量分

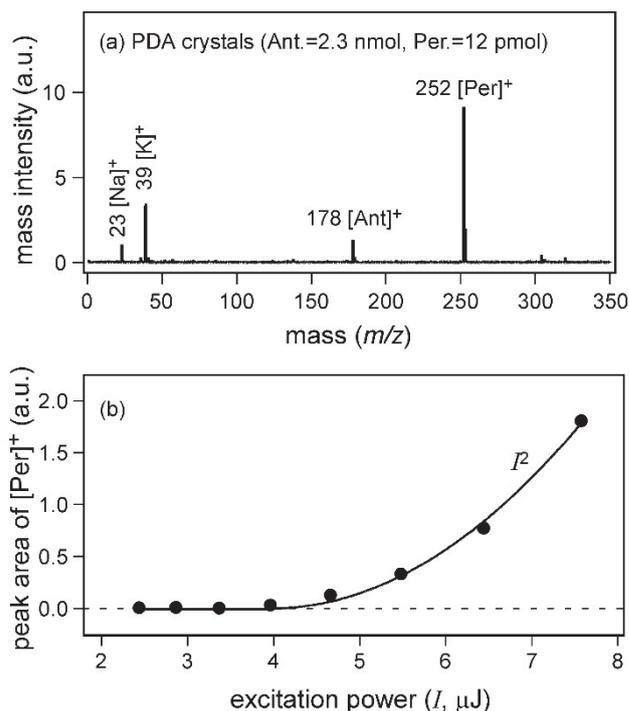


図3. (a) PDA 混合結晶の質量スペクトル (b)[Per]⁺強度の励起光パワー依存性

析法により解析した。物質量比 Ant:Per=2.3nmol:12pmol の PDA 混合結晶を測定に用いた。その結果を図3(a)に示した。スペクトルには質量電荷比(m/z)=252の場所にペリレンカチオン([Per]⁺)のピークが観測された。測定に用いた PDA 結晶では Ant 分子が 200 倍の物質量で存在するにも関わらず、アントラセンカチオン([Ant]⁺)のピークは $m/z=178$ に [Per]⁺の強度に比べ低い強度で観測された。これは、初めに励起光を吸収した Ant 分子から Per 分子へ励起エネルギー移動が起きていることを示唆している。このことは我々が以前に Ant 分子とテトラセン分子(Tet)間で観測した現象と同じである⁷⁾。PDA 混合結晶中の Ant 分子が励起光の光子を吸収して生成した励起子がポテンシャルの低い Per 分子に局在化し S₁ 状態の Per 分子が生成する。さらに S₁ 状態の Per 分子が同じく励起子による励起を受け、イオンが生成される。つまりこのことは二個の光子による Per 分子のイオン化を示唆する。

このことを確かめるために、[Per]⁺強度の励起光強度 (I) 依存性を測定した。その結果を図3(b)に示した。

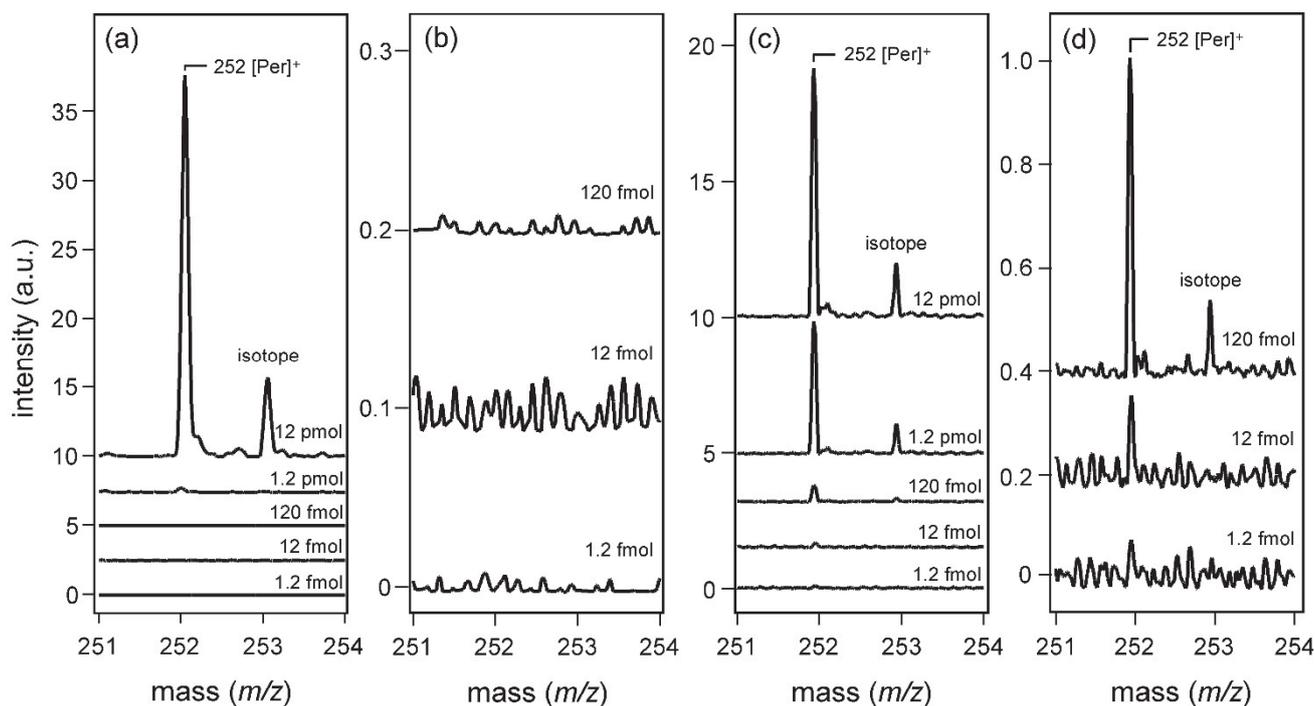


図4. Per 単結晶及び PDA 混合結晶から得られた質量スペクトル

[Per]⁺の強度（ピーク面積）を(●)で示してある。また曲線はフィッティングによる曲線である。[Per]⁺強度は励起光強度の2乗(I^2)の曲線により良く再現できることが分かった。このことから Per 分子のイオン化は2光子過程により行われていることが理解できた。また、集光領域、Ant 分子の吸光度、励起に用いたレーザーの時間幅を考慮することにより、励起速度を見積もった。その結果、4, 5, 6, 7 μJ の励起においては、それぞれ 1.5ns, 1.2ns, 1.0ns, 0.87ns に一回光励起が行われることが分かった。このため、およそ $5\mu\text{J}$ 以上の励起光強度で二光子励起が行われることが理解できた。実際、図 3(b)において[Per]⁺は、およそ $5\mu\text{J}$ 以上の励起光強度から観測されており、上の見積りと合っている。

3. 3 励起エネルギー移動を利用したフェムトモル検出

(1) PDA 混合結晶

次にこれまで紹介した手法を高効率検出に応用した。図 4(a)はペリレンの単結晶をレーザー脱離イオン化法

により観測した質量スペクトルを示している。Per 分子の物質量は 12pmol から 1.2fmol まで変化させてある。測定は励起光強度 $5.8\mu\text{J}$ で測定した。物質量 12pmol の場合、[Per]⁺が $m/z = 252$ に観測され、また炭素の同位体を含む[Per]⁺が $m/z = 253$ に観測された。しかしながら、物質量 1.2pmol では[Per]⁺強度が激減し、それ以下の物質量では[Per]⁺も含め、何も観測されないことが分かった。図 4(b)は物質量 120fmol, 12fmol, 1.2fmol における測定結果を拡大表示したものである。縦軸の表示スケールの問題では無く、実際[Per]⁺は全く検出されていないことが分かる。

しかしながら、この検出限界は PDA 混合結晶を利用することで大幅に改善できることが分かった。図 4(c)に Ant 分子の物質量を 2.3nmol に固定した上で Per 分子の物質量を 12pmol から 1.2fmol まで変化させて作成した PDA 混合結晶から得られた質量スペクトルを示した。図 4(a)では Per 分子が励起光を吸収し、図 4(c)の PDA 混合結晶では Ant 分子が励起光を吸収する。337nm における Per 分子と Ant 分子の吸光度の違いにより、物質量 12pmol のスペクトルにおいては、[Per]⁺強度が約 1/3 に減少している。しかしながら、図

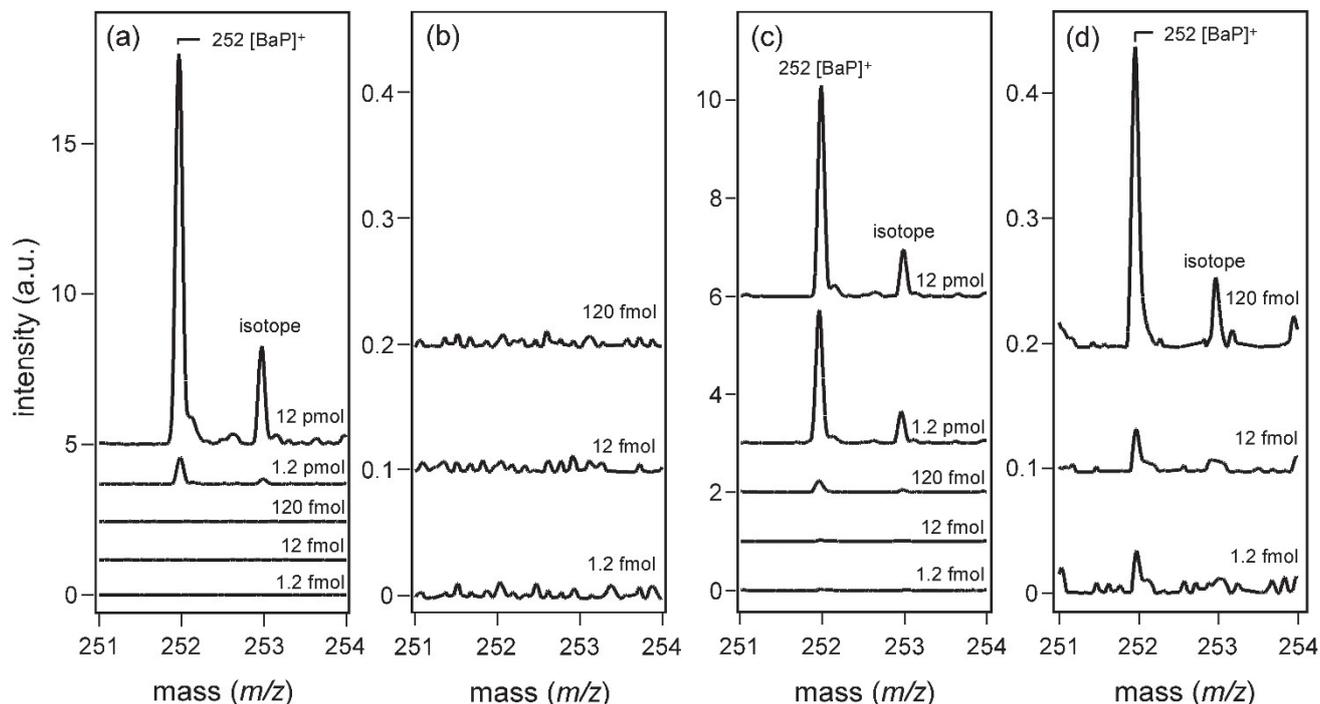


図5. BaP 単結晶及び BDA 混合結晶から得られた質量スペクトル

4(a)とは異なり、PDA 混合結晶からは物質量 1.2pmol でも高強度に[Per]⁺が観測された。[Per]⁺はさらに Per 分子の物質量が低い PDA 混合結晶からも観測された。図 4(d)は物質量 120fmol, 12fmol, 1.2fmol における測定結果を拡大表示したものである。一般の MALDI 質量分析法においては、PAHs の検出限界はサブ nmol (~10⁻⁷) と報告されている⁴⁾。しかしながら、Ant 分子から Per 分子への励起エネルギー移動を利用した我々の方法を用いると、フェムトモル(fmol)のオーダーで PAHs の観測ができることが分かった。つまり、我々の実験条件下では単結晶のレーザー脱離イオン化法に比べて、約 1000 倍の高感度検出を実現できた。

(2) BDA 混合結晶

次に他の PAHs 分子の検出を同様の方法により試みた。図 5(a)に BaP 単結晶から測定したレーザー脱離イオン化質量スペクトルを示した。物質量 12pmol の場合、[BaP]⁺による非常に強いピークが $m/z = 252$ に観測さ

れた。さらに炭素の同位体を含む[BaP]⁺のピークも $m/z = 253$ に観測された。(1)で示した Per 分子の場合と同様に、物質量 1.2pmol の場合では[BaP]⁺のピーク強度が激減した。図 5(b)の拡大図に示したように、120fmol 以下ではピークは全く検出されないことが分かった。

しかしながら Ant 分子を、励起エネルギーを BaP 分子へ渡すドナーとして利用することにより、BaP 分子の高強度検出を実現できた。図 5(c)に Ant 分子の物質量を 2.3nmol に固定した上で BaP 分子の物質量を 12pmol から 1.2fmol まで変化させて作成した BDA 混合結晶から得られたレーザー脱離イオン化質量スペクトルを示した。337nm における BaP 分子と Ant 分子の吸光度の違いにより、物質量 12pmol では図 5(a)に比べて低い[BaP]⁺強度が観測されたものの、物質量 1.2fmol においても、[BaP]⁺が観測できていることが分かった(図 5(d))。このため、Per 分子の場合と同様に、BaP 分子のフェムトモル分析が実現できた。

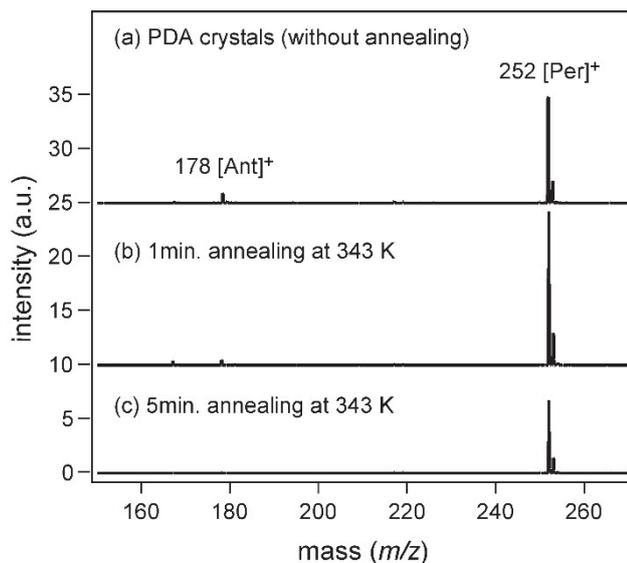


図6. アニール処理による影響

我々は、他の PAHs 分子に対しても Ant 分子を励起光のアンテナ分子として用いた混合結晶を作成してレーザー脱離イオン化質量スペクトルを測定したところ、テトラセン(Tet)、コロネン、ベンゾ(ghi)ピレンについて高効率検出を実現できた一方、ベンゾ(a)アントラセンに関しては高効率検出が実現できなかった。これは Ant 分子の蛍光スペクトルと PAHs の吸収スペクトルの重なり積分が重要であることに加え、Ant 分子と PAHs 分子間の距離を左右する PAHs の分子構造も高効率検出 (高い励起エネルギー移動の効率) には重要であるためと考えられた。先に述べたように、光励起により生成した Ant 結晶内の励起子が移動し、ポテンシャルの低い他の PAHs 分子に励起子が局在化する。これにより PAHs 分子を S₁ 状態へ電子励起し、さらに別の励起子によってイオン化される。このため PAD や BDA 混合結晶中に励起子を局在化させてしまう欠陥(デフェクト)が多く存在すると、効率的な励起エネルギー移動が妨げられてしまう可能性がある。このことを検証するために PDA 混合結晶をアニール(焼成)し、欠陥の数を少なくする作業を行った。まず、図 6(a)にアニール処理を行う前の PDA 混合結晶から得られた質量スペクトルを示した。この結果は図 3(a)の結果と基本的に同じものであり、Ant と Per 分子の物質質量比は 2.3nmol:12pmol である。アニール処理を 343K で 1 分

行った後の PDA 混合結晶から得られた質量スペクトルを図 6(b)に示した。わずか 1 分のアニール処理によって [Per]⁺強度が増加し、逆に [Ant]⁺強度が減少していることが分かる。具体的に、アニール処理前の [Ant]⁺ と [Per]⁺のピーク強度比は 1:10.6 だったのに対し、アニール処理後には 1:29.5 まで上昇していた。つまり励起子を束縛してしまう Ant 結晶中のディフェクトの数がアニール処理によって減少し、効率的な励起エネルギー移動が行われるようになったことを示している。さらに 5 分間アニール処理を行ったところ、[Ant]⁺ と [Per]⁺のピーク強度は減少してしまった (図 6(c))。これは PAHs 分子が揮発し始めたことによると考えられる。スペクトル形状はアニール処理 1 分のものほとんど変わりがなかったことから、5 分間のアニール処理によりディフェクトの少ない PDA 結晶がすでに出来上がっていると考えられる。

4. まとめ

アントラセン(Ant)分子と他の芳香族炭化水素(PAHs)の混合結晶を作成し、Ant 分子と PAHs 分子間の励起エネルギー移動を利用することにより、レーザー脱離イオン化質量分析法を用いてフェムトモルの PAHs 分子を検出することに成功した。

参考文献

- 1) A. K. Haritash, C. P. Kaushik, *J. Hazard. Mater.*, **169**, 1 (2009).
- 2) W. Lindner, W. Posch, O. S. Wolfbeis, P. Trittert, *Chromatographia*, **20**, 213 (1985).
- 3) A. L. Lafleur, K. Taghizadeh, J. B. Howard, J. F. Anacleto, M. A. Quilliam, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **7**, 276 (1996).
- 4) J. Zang, X. Dong, J. Cheng, J. Li, Y. Wang, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **22**, 1294 (2011).
- 5) K. Fujimori, T. Fujino, *Chem. Phys.* **419**, 97 (2013).
- 6) Y. Fujii, T. Fujino, *Bunseki Kagaku*, **66**, 115 (2017).
- 7) Y. Minegishi, D. Morimoto, J. Matsumoto, H. Shiromaru, K. Hashimoto, T. Fujino, *J. Phys. Chem. C* **546** 159 (2012).