

Instrument: Pegasus® HRT+ 4D

家庭内ハウスダスト中のペルフルオロアルキル化合物およびポリフルオロアルキル化合物（PFAS）とその他汚染物質の特性解析：GC×GC-HRTOFMSとスペクトル解析ツール（SAT）を用いた評価

LECO Corporation; Saint Joseph, Michigan USA

Key Words: PFAS, GCxGC, High-Resolution Time-of-Flight Mass Spectrometry, Mass Defect Plots



Introduction

近年、屋外および屋内環境における有害物質のスクリーニングに対する関心が高まっています。大気、水、土壌の清浄性は持続可能な生活の基盤であり、仕事・休息・遊びといった日常のあらゆる場面で吸入や摂取を介して有害物質に頻繁に曝露すると、健康に深刻な影響を及ぼす可能性があります。そのため、環境中に存在する既知および未知の毒性物質を定期的にスクリーニングすることが重要です。

しかし、残留性有機汚染物質（POPs）をはじめとする有害化学物質のモニタリングは、化合物数の膨大さ、濃度範囲の広さ、物理化学特性の多様性から、非常に困難です。家庭内のハウスダストはその代表例であり、多種多様な物質の貯留媒体であることから、化学曝露を評価するうえで優れた指標となります。¹ また、これまでに多くの研究者がさまざまな分析手法を用いてハウスダストを調査しています。²

本研究の目的は、標準ハウスダスト試料（NIST 2585）に加え、家庭およびオフィス環境から採取したダストを対象に、レガシー汚染物質と新興汚染物質の双方を包括的に網羅するノンターゲット（NTS）分析手法を確立することでした。この手法は二次元ガスクロマトグラフィー（GC×GC）と高分解能飛行時間質量分析（HR-TOFMS）を用い、サンプル中の複数の汚染物質クラス——ペルフルオロアルキル化合物およびポリフルオロアルキル化合物（PFAS）、ポリ塩化ビフェニル（PCB）、農薬類など——を一度に評価できます。これは、特定の化合物のみを監視対象とする従来のターゲット分析とは大きく異なるアプローチです。

さらに、新興汚染物質の一例である揮発性PFASの多くは、既存のターゲットスクリーニング手法やデータベースに含まれていません。こうした化合物は分析が特に難しいですが、本研究ではGC×GC-HRTOFMSのEIおよびCIデータを組み合わせ、Spectral Analysis Tools（SAT）などの高度な解析ソフトウェアを用いることで、これらの化合物の注釈付け（アノテーション）にも対応しました。

これらのツールにより、複雑なダストサンプルに対する高分解能負イオン化（NCI）データのGC×GC等高線図（contour plot）には数千のピークマーカが表示されますが、PFASに特徴的なフッ素や、PCBやクロルデン類に含まれる塩素など、特定元素を含むアナライトのみを抽出して可視化することが可能になります（図1）。このアプローチにより、複雑な環境試料に対するノンターゲットスクリーニングが容易になるとともに、特定クラスの有害物質にフォーカスした詳細調査が効率的に行えます。

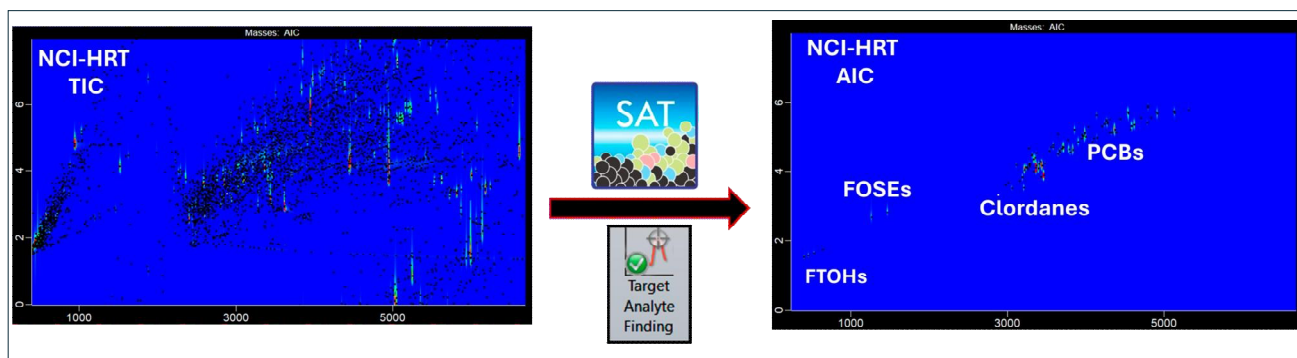


図1. 参照ダスト標準物質における、ピーク探索（ノンターゲット）処理後に数千のピークマーカが表示された負化学イオン化-HRT等高線図（TIC）（左）。ソフトウェア内のSpectral Analysis Tools（SAT）およびTarget Analyte Finding（TAF）機能を用いることで、微量のパーフルオロオクタンスルファンアミドエタノール類（FOSEs）、フルオロテロマーアルコール（FTOHs）、ポリ塩化ビフェニル（PCBs）、クロルデン類を特定することができた（右）。この汎用的な手法は、ノンターゲットスクリーニングと特定の有害物質に着目した詳細レビューの双方を可能にする。

Experimental

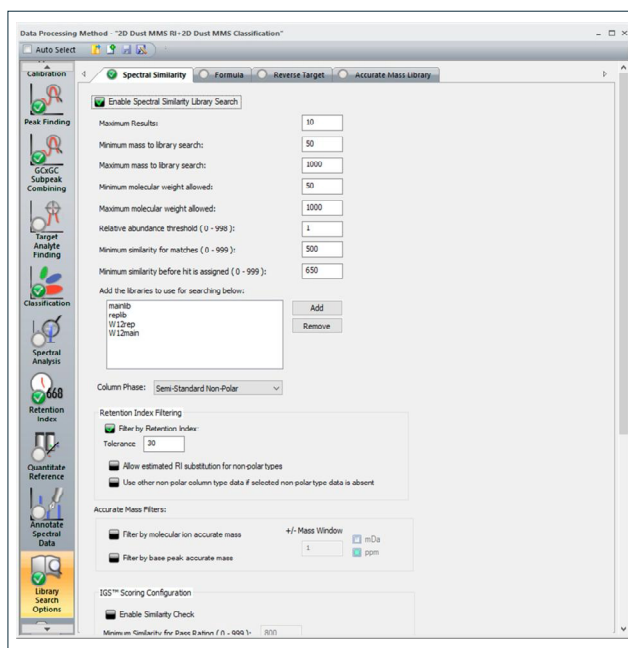
本アプリケーションノートで示す結果は、NISTハウスホールドダスト標準試料（SRM 2585）に基づくものです。ダストサンプル（0.14 ± 0.01 g）を量り取り、10 mLガラス遠心管に移した後、抽出溶媒としてジクロロメタン／ヘキサン（3:1）混合溶媒を3 mL加え、キャップを閉めました。ヘテロな混合物を10秒間ボルテックスした後、20分間超音波抽出を行いました。上澄みを除去し、残渣に対してさらに3 mLの溶媒で再抽出を実施しました。抽出液を合算し、遠心分離（10分、3500 rpm）した後、残存するダスト粒子を除去するためシリジフィルターでろ過しました。その後、N₂ガス下で抽出溶媒を蒸発させました。得られた残渣をジクロロメタン400 µLで再溶解し、GC分析用の2 mLバイアルに移しました。

データ取得には、Electron Ionization (EI)、Positive Chemical Ionization (PCI)、Negative Chemical Ionization (NCI) を同一ハードウェアで取得可能な新規マルチモードイオン源 (MMS) を搭載した LECO Pegasus HRT+ 4D を使用しました。分析条件は表1に示します。

表1. 分析条件

Gas Chromatograph	Agilent 8890 with LECO Dual Stage QuadJet™ Modulator
Injection	2 µL liquid injection, Splitless, 70 °C to 300 °C at 500 °C/min (Agilent MMI)
Carrier Gas	He @ 1.0 mL/min, Corrected Constant Flow
Primary Column	HP-5MS UI, 30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm
Secondary Column	BPX-50, 0.60 m x 0.10 mm x 0.10 µm
Temperature Program	80 °C (1 min) ramp 20 °C/min to 140 °C (Hold 30 min), then ramp to 200 °C at 10 °C/min, and ramp 1.5 °C/min to 300 °C (Hold 5 min). Secondary oven maintained +5 °C relative to primary oven
Modulation Period	8.0 s; modulator maintained +15 °C relative to secondary oven
Transfer Line	300 °C
Mass Spectrometer	LECO Pegasus HRT+ 4D
Source Temperature	EI, 250°C; PCI, NCI, 165 °C
Acquisition Mode	High Resolution, R ≥ 25,000 for m/z 219, Mass Accuracy ≤1 ppm
Ionization	EI, PCI/NCI (Reagent Gas = CH ₄)
Mass Range (m/z)	EI 50-1000; PCI 60-1000; NCI, 30-1000
Acquisition Rate	125 sps

GCxGC-EI-HRTOFMSデータは、自動ピーク探索（ノンターゲット）処理により化合物を特性評価するために用いました。この処理には、大規模スペクトルデータベースを利用したスペクトル類似性検索、保持指標によるフィルタリング、高分解能かつ高質量精度イオンを利用した組成式推定が含まれます（図2）。加えて、正・負のCIスペクトルは、化合物アノテーションの確度を高める補完情報を提供しました。



- ✓ Peak Find (Deconvolution)
- ✓ Group Classification
- ✓ Database Searches
 - NIST
 - Wiley
 - ChemSpider
 - EPA ChemTox
- ✓ Retention Index Filtering
- ✓ Formula Determinations
 - Molecular Ions
 - Fragment Ions
 - Adducts

図2. ピーク探索データ処理ワークフロー。

Results and Discussion

このワークフローと標準的なピーク探索ソフトウェアにより、複雑なサンプルに対して包括的なノンターゲットスクリーニングを実施できます。本分析手法により、炭化水素、酸、アミン、アルコール、アルデヒド、ケトン、フェノール、テルペン、脂肪酸、ステロイド、リン酸エステル、違法薬物、市販薬、そしてダスト中に比較的高濃度で存在する残留性有機汚染物質（POPs）など、多数の化合物を高い信頼度でアノテーションできました。³

さらに、追加のソフトウェアツールにより、豊富な網羅的データの中から低濃度の対象化合物を効率良く検索することが可能になりました。例えば、複雑なダストマトリックスに含まれる微量のペルフルオロアルキル化合物（PFAS）およびPOPsを検索するため、データは高度なSpectral Analysis Tools（SAT）とTarget Analyte Finding（TAF）を用いて処理しました（図3）。これらの汚染物質は、EI、PCI、NCIの高分解能・高質量精度データを組み合わせることで特性評価しました。

加えて、SATのスケールド質量欠損（mass defect）プロット機能を用いることでPFASの位置を効率的に特定し、データ処理を大幅に簡素化しました。たとえば、フルオロテロマーアルコール（FTOHs）やパーフルオロオクタンスルファンアミドエタノール（FOSEs）がアノテーションされました。

処理ワークフロー（図3）には以下が含まれます。1) EI-HRT 等高線図（TIC、ピークマーカー表示）の全イオンを合算
2) SATの質量欠損機能を用いて（CF₂）スケールし、特定のPOPsクラス（例：フラグメントイオンにおけるPFAS oddなど）を表示するため質量欠損プロットをフィルタリング
3) 簡略化した等高線図（XIC）上に対象クラスを表示

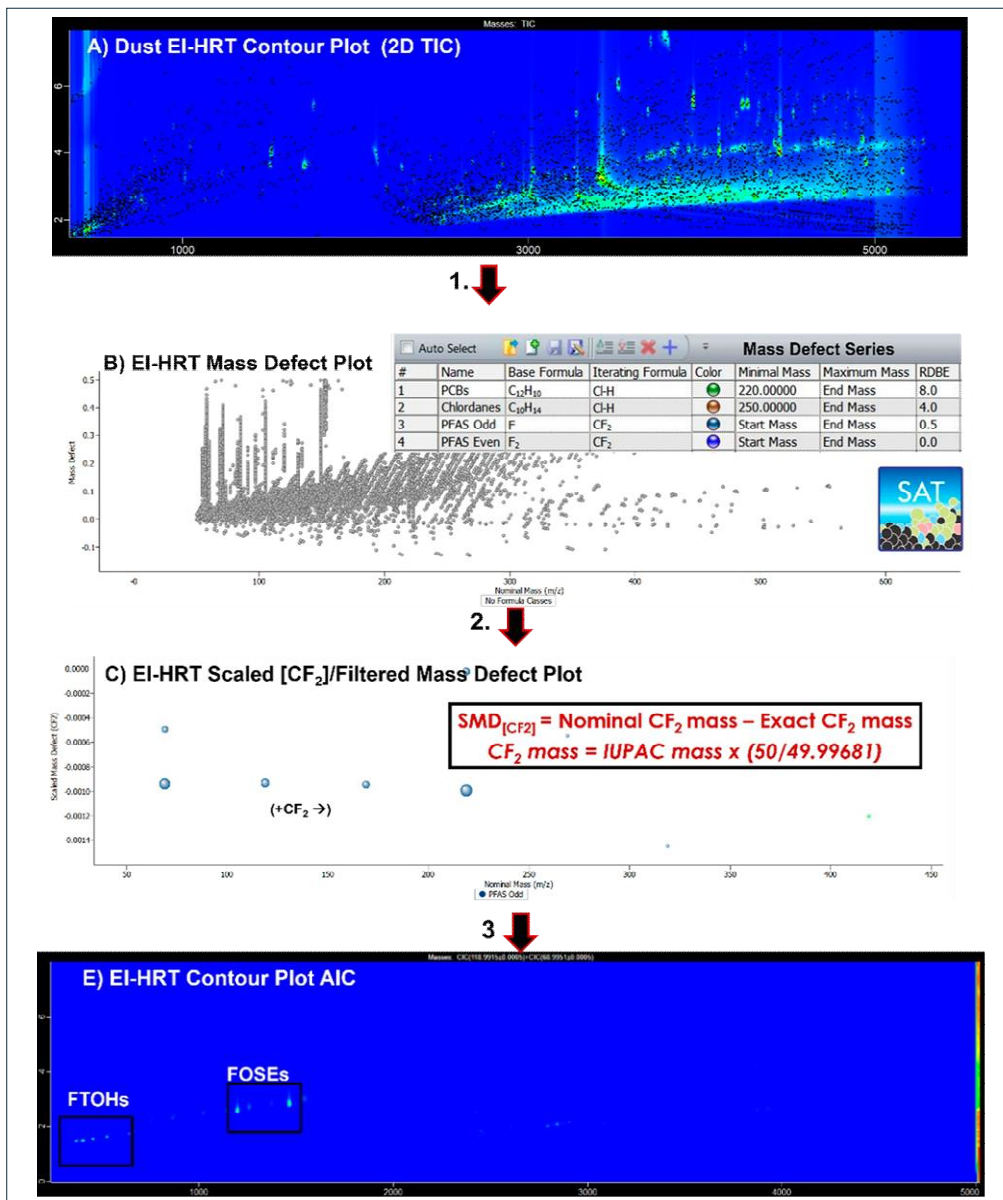


図3. SATを活用してGCxGC-EI-HRTデータから複雑なサンプル中のPFASを迅速に特定・簡略化した例

特定の化合物クラスをハイライトした後 (図3)、各クラスの分析物を評価しました。例えば、PFASはPeak True (デコンボリューション済み) EIおよびPCI-HRTデータの組み合わせによりアノテーションされました (図4)。EIスペクトルはN-MeFOSEのライブラリ質量スペクトルと良好に一致 (Similarity = 808/1000) しました。観測されたスペクトルおよびライブラリスペクトルのいずれにも分子イオンは確認されませんでした。補完的なPCI-HRTデータでは強いプロトン化分子イオン $[MH]^+$ ($m/z = 558.00217$ 、質量精度 = -0.81 ppm、同位体忠実度 = 980/1000) が観測され、アノテーションを裏付けました。

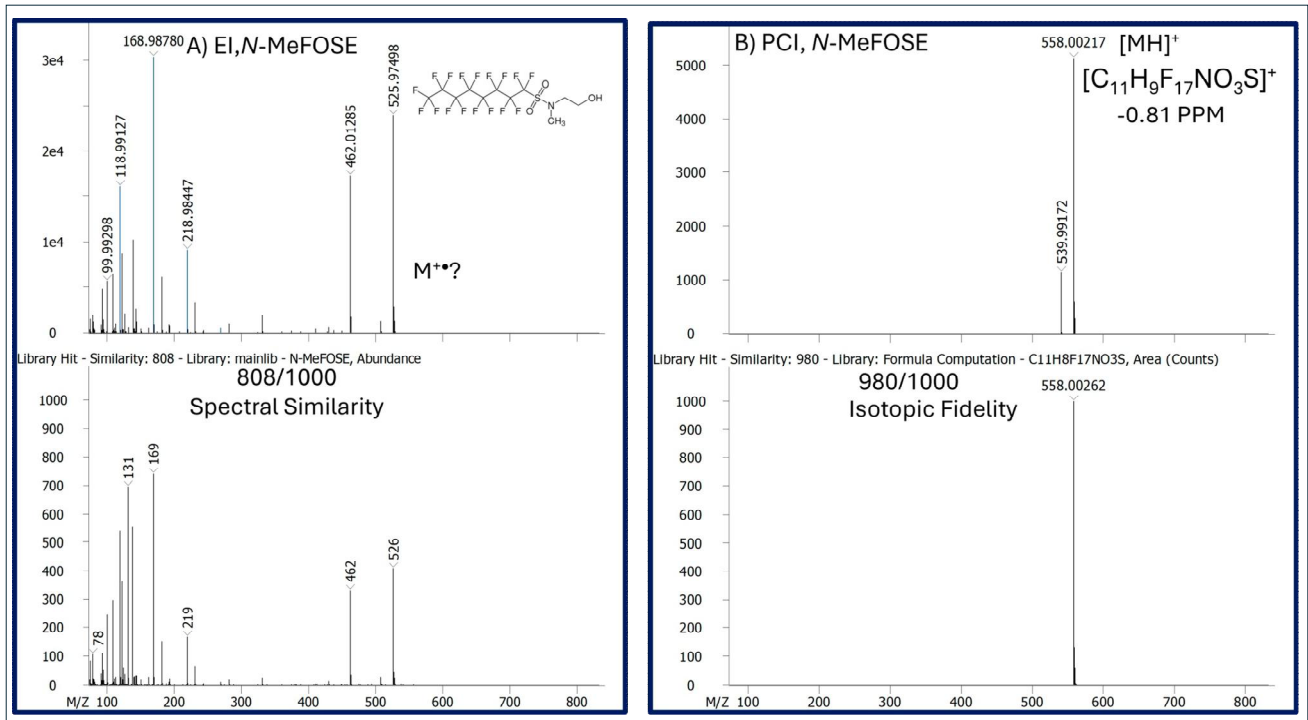


Figure 4. A) N-MeFOSEのEI-HRTデータ (上段) およびライブラリ質量スペクトル (下段)。B) N-MeFOSEのPCI-HRTデータ (上段) および理論的同位体忠実度の比較 (下段)。

他の場合では、CIデータは、EI-HRTスペクトルとデータベースを比較した際に発生する誤ったアノテーションを修正し、化合物の正しいアノテーションを可能にしました。例えば、Figure 3で示したFTOHsのホモログ系列のEIスペクトルは非常に類似しており、分子イオンが観測されなかったため、初期のアノテーションは誤っていました (Figure 5)。しかし、補完的に取得されたPCIデータは、分子式情報 (質量精度および同位体忠実度) を提供し、FTOHsの正しいアノテーションを助けました (Figure 6)。EI-HRT質量スペクトル (上段) およびライブラリ照合による8:2 FTOH (下段) には分子イオンがなく、データベースマッチの類似度スコアは536/1000と低値でした。対応するPCIスペクトルでは、CHFOの分子式に対応する強い $[MH]^+$ イオンが観測され、同位体忠実度は990/1000と良好でした。 $[MH]^+$ イオンに加え、 $[M+C]^+$ および $[M+C+H]^+$ の付加イオンも、10:2 FTOHの正しいアノテーションを裏付ける根拠となります。

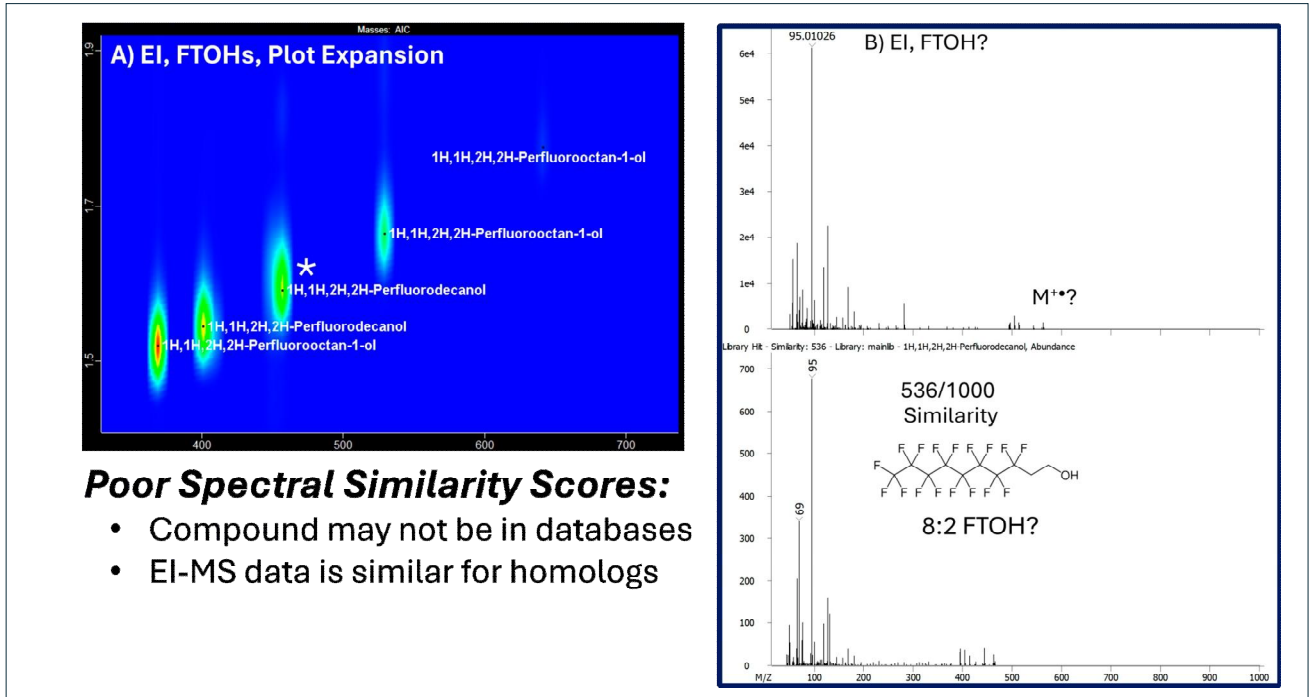


Figure 5. A) FTOHsのホモログ系列を示すEI-HRT等高線図の拡大、B) 誤ったライブラリ照合結果として得られた8:2 FTOHの質量スペクトル。PCI解析 (Figure 6参照) により、誤ったアノテーションが修正されました。

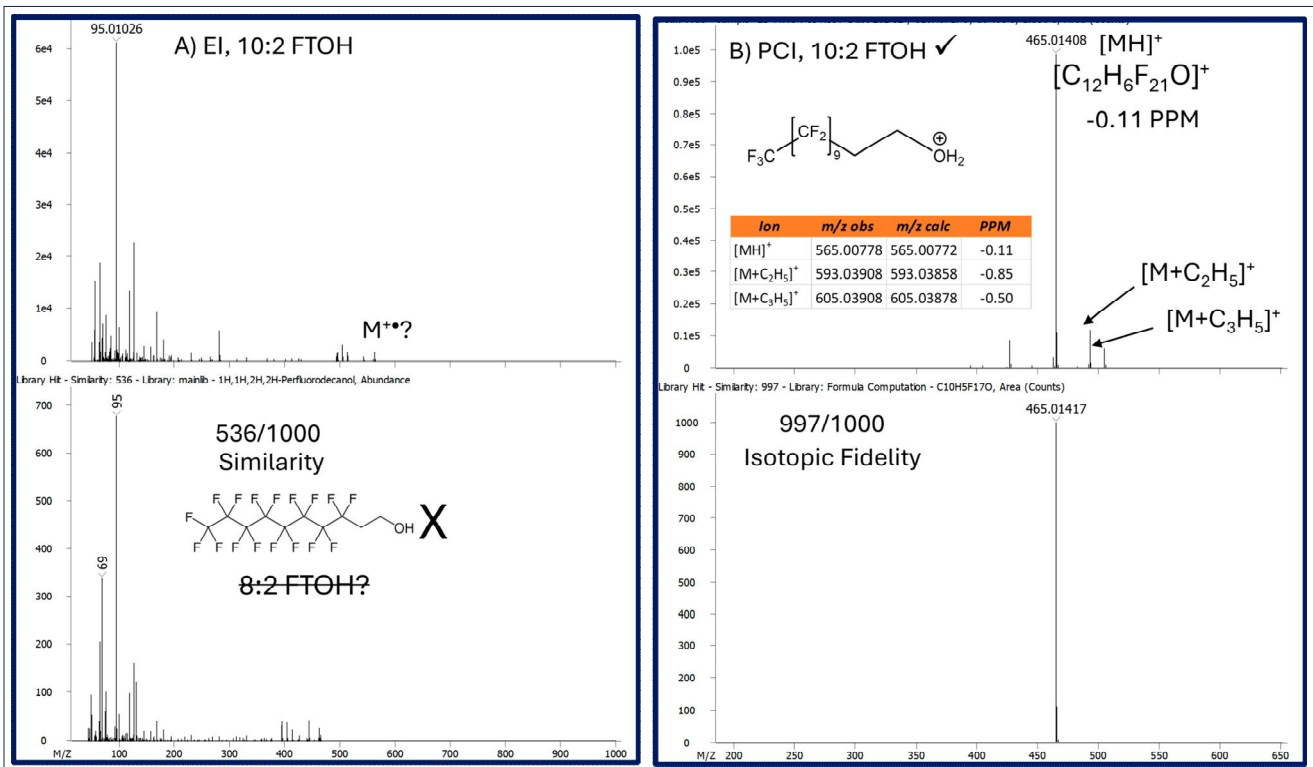


Figure 6. A) 未知FTOHのEI-HRT質量スペクトル (上段) および誤ったライブラリ照合結果 (下段)。B) 補完的に取得したPCI質量スペクトル (上段右) および理論的同位体忠実度比較 (下段) により、10:2 FTOHの正しいアノテーションが裏付けられました。

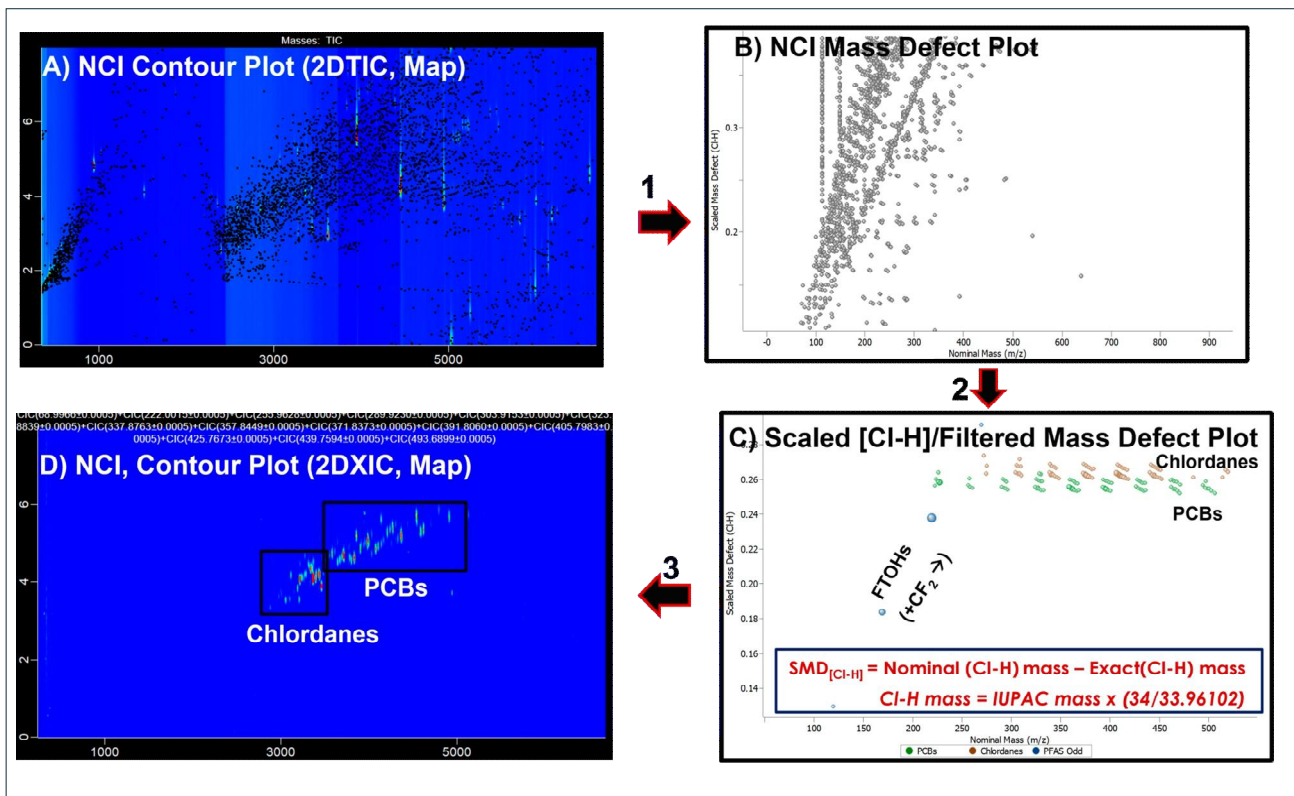


Figure 7. A) ピークマーカー付きNCI等高線図、B) 質量欠損プロット、C) スケーリング・フィルタリング後の質量欠損プロット、D) ChlordaneおよびPCBの位置を示すNCI-HRT等高線図 (XIC) /NIST家庭用ダストSRM。

このアノテーション戦略は、PCBsやChlordanesなどの微量POPsの解析にも拡張可能です。改良された処理ワークフロー (Figure 7) は以下を含みます：

1. NCI-HRT等高線図上の全イオンを合算 (TIC、ピークマーカー表示)、
2. SATの質量欠損機能を使用し、質量欠損プロット (Cl-H) をスケーリング・フィルタリングして特定のPOPsクラス (例：PCBs、Chlordanes) を表示、
3. 選択したクラスを簡略化した等高線図 (XIC) に表示。

POPsの位置が特定された後、Target Analyte Finding (TAF) でデータ処理を行います。TAFでは、各アナライズの保持時間ウィンドウおよび高分解能正確質量イオンを含むターゲットPOPsリスト (Figure 8参照) を使用します。TAF処理により、NISTダストSRM中のFTOHs、FTOSEs、PCBs、およびChlordanesがアノテーションされました (Table 2)。

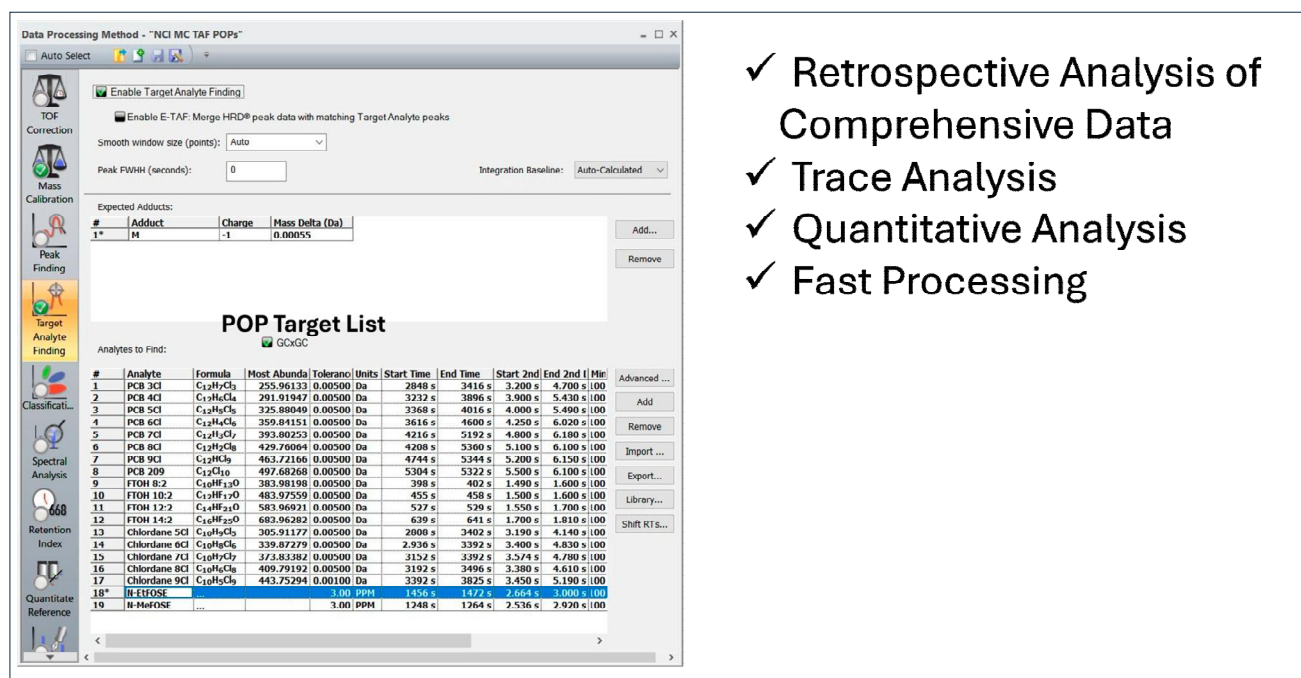


Figure 8. TAF処理法：保持時間ウィンドウと高分解能正確質量イオンを含むターゲットリスト。

Table 2. TAF処理結果：アナライト名、保持時間（R.T.）、信号対雑音比（S/N）、ピーク面積を含む。

Name	R.T. (s)	Peak S/N	Area	Name	R.T. (s)	Peak S/N	Area	Name	R.T. (s)	Peak S/N	Area
FTOH 8:2	400, 1.536	122	39745	Chlordane 7Cl	3392, 4.104	22	2114	PCB 6Cl	4032, 5.288	40	11070
FTOH 10:2	456, 1.584	182	45139	PCB 5Cl	3400, 4.224	249	54028	PCB 6Cl	4080, 4.872	51	14033
FTOH 12:2	528, 1.648	134	30844	PCB 5Cl	3424, 4.296	37	6008	PCB 6Cl	4104, 4.960	46	10259
FTOH 14:2	640, 1.760	59	8830	Chlordane 9Cl	3432, 3.848	54	5514	PCB 6Cl	4136, 5.632	127	39203
N-MeFOSE	1264, 2.688	126	135734	Chlordane 8Cl	3440, 4.176	1547	338027	PCB 6Cl	4144, 4.976	85	27026
N-EtFOSE	1464, 2.832	220	136663	Chlordane 9Cl	3464, 3.888	1733	336210	PCB 6Cl	4208, 5.312	34	6945
Chlordane 5Cl	2880, 3.344	28	2646	Chlordane 8Cl	3480, 4.232	85	9885	PCB 7Cl	4240, 5.376	160	38110
Chlordane 6Cl	2976, 3.632	34	3439	PCB 5Cl	3536, 4.616	65	19898	PCB 6Cl	4240, 5.384	22	4263
Chlordane 6Cl	3008, 3.688	25	2541	PCB 5Cl	3552, 4.720	52	11263	PCB 6Cl	4264, 5.456	58	10772
Chlordane 6Cl	3056, 3.536	126	15791	PCB 5Cl	3584, 4.720	227	44766	PCB 7Cl	4264, 5.496	80	15711
Chlordane 6Cl	3112, 4.184	151	16657	PCB 4Cl	3584, 4.784	88	23079	PCB 6Cl	4272, 5.392	302	70449
Chlordane 7Cl	3152, 3.744	23	2265	PCB 6Cl	3640, 4.536	130	23649	PCB 7Cl	4272, 5.432	23	4796
Chlordane 7Cl	3192, 3.840	240	26166	PCB 5Cl	3640, 5.080	23	4069	PCB 8Cl	4304, 5.128	36	7095
Chlordane 6Cl	3192, 3.848	63	7242	PCB 6Cl	3648, 4.520	128	23937	PCB 6Cl	4304, 5.504	52	9809
Chlordane 8Cl	3208, 3.552	354	33778	PCB 6Cl	3664, 4.632	80	14882	PCB 7Cl	4328, 5.120	109	26105
Chlordane 7Cl	3216, 4.056	601	97391	PCB 6Cl	3672, 4.576	60	11216	PCB 6Cl	4328, 5.136	26	4923
Chlordane 6Cl	3216, 4.064	558	85421	PCB 5Cl	3672, 4.592	67	14750	PCB 7Cl	4368, 5.200	995	397534
Chlordane 5Cl	3216, 4.064	84	10839	PCB 5Cl	3688, 4.664	130	23845	PCB 6Cl	4368, 5.216	283	78439
Chlordane 6Cl	3232, 4.128	88	17716	PCB 4Cl	3688, 4.672	25	4730	PCB 7Cl	4384, 5.128	42	8583
Chlordane 7Cl	3240, 4.112	94	22096	PCB 5Cl	3704, 4.688	32	5461	PCB 8Cl	4440, 5.528	50	10118
Chlordane 6Cl	3248, 4.128	34	3064	PCB 6Cl	3704, 4.736	257	54959	PCB 7Cl	4536, 5.720	370	86694
PCB 4Cl	3256, 4.088	22	3550	PCB 5Cl	3712, 4.712	902	307906	PCB 6Cl	4536, 5.728	129	27998
PCB 4Cl	3272, 4.192	133	23439	PCB 4Cl	3712, 4.720	97	29719	PCB 7Cl	4544, 5.672	277	74844
Chlordane 6Cl	3272, 4.688	59	8262	Chlordane 5Cl	3776, 4.912	24	3820	PCB 6Cl	4544, 5.680	88	22186
Chlordane 7Cl	3280, 4.240	25	2758	Chlordane 9Cl	3784, 4.656	365	56822	PCB 8Cl	4568, 5.216	21	4613
Chlordane 6Cl	3280, 4.248	21	2174	PCB 6Cl	3800, 4.576	208	44400	PCB 8Cl	4584, 5.312	318	119235
Chlordane 6Cl	3288, 4.136	25	2490	PCB 5Cl	3800, 4.584	23	3756	PCB 7Cl	4584, 5.320	91	32680
Chlordane 7Cl	3288, 4.168	35	3687	PCB 6Cl	3832, 4.640	957	285099	PCB 6Cl	4584, 5.336	20	3297
PCB 4Cl	3288, 4.224	54	9950	PCB 5Cl	3832, 4.656	99	18983	PCB 8Cl	4616, 5.360	427	152732
Chlordane 7Cl	3312, 4.472	119	21062	PCB 6Cl	3848, 5.216	22	7996	PCB 7Cl	4616, 5.376	103	38093
Chlordane 6Cl	3312, 4.504	39	7612	PCB 4Cl	3856, 5.200	46	9766	PCB 7Cl	4704, 5.552	31	6906
Chlordane 8Cl	3336, 4.000	51	4735	PCB 5Cl	3856, 5.208	329	74091	PCB 9Cl	4784, 5.416	70	16203
Chlordane 7Cl	3336, 4.360	614	111800	PCB 6Cl	3904, 4.872	339	85405	PCB 8Cl	4792, 5.864	73	27430
Chlordane 6Cl	3336, 4.360	85	15672	PCB 5Cl	3904, 4.888	31	5130	PCB 7Cl	4792, 5.912	22	5032
Chlordane 7Cl	3352, 4.408	92	16486	PCB 6Cl	3944, 4.968	45	13273	PCB 9Cl	4832, 5.560	26	5294
Chlordane 8Cl	3360, 4.112	3127	945592	PCB 6Cl	3952, 5.064	46	8259	PCB 7Cl	4904, 5.728	22	5236
Chlordane 7Cl	3360, 4.112	825	413840	PCB 6Cl	3960, 5.024	41	8148	PCB 8Cl	4912, 5.672	308	97987
Chlordane 6Cl	3360, 4.120	352	143938	PCB 6Cl	3976, 5.024	107	21750	PCB 7Cl	4912, 5.680	116	26947
Chlordane 5Cl	3360, 4.120	41	7889	PCB 6Cl	3984, 5.096	714	280450	PCB 9Cl	5128, 5.720	150	51490
PCB 5Cl	3368, 4.168	49	13475	PCB 5Cl	3984, 5.120	138	34941	PCB 8Cl	5128, 5.760	51	10527
PCB 4Cl	3368, 4.552	80	17205	PCB 6Cl	4000, 5.016	198	39233	PCB 8Cl	5136, 5.688	34	7760
Chlordane 8Cl	3392, 4.096	1115	145220	PCB 5Cl	4000, 5.016	24	4921	PCB 209	5312, 5.792	51	10229

Conclusion

LECO社のPegasus HRT+ 4Dは、今回のワークフローの検証に使用されたNIST家庭用ダストSRMのような複雑な環境サンプルの解析に適した強力な分析ツールです。本装置はターゲットを絞らないデータを取得でき、さまざまなソフトウェアツールで評価可能です。自動Peak Find処理では、高分解能・高精度質量イオンを用いたスペクトル類似度検索や化学式決定により、広範なサンプル成分のアノテーションリストを得られます。一方で、Spectral Analysis Tools (SAT) およびTarget Analyte Finding (TAF) を併用することで、サンプル中の微量PFASやその他の持続性有機汚染物質 (POPs) のより確実な特定が可能となります。これらの解析手法を組み合わせることで、複雑な環境サンプルから得られる豊富なデータを網羅的に解析することができます。

References

- ¹⁾Pelley J., "Dust, Unsettled" ACS Cent. Sci. 2017, 3, 5-9.
- ²⁾Haglund, P., et al, "The strength in numbers: comprehensive characterization of house dust using complementary mass spectrometric techniques" Anal. Bioanal. Chem. 2019 411, 1957-1977.
- ³⁾Alonso, D.E. and Richards, T., "Comprehensive Screening of Pollutants in Household Dust Using High-Resolution Mass Spectrometry with Enhanced Chromatographic Resolution" Current Trends in Mass Spectrometry, 2022, 20(1), 7-12.

LECO Corporation | 3000 Lakeview Avenue | St. Joseph, MI 49085 | Phone: 800-292-6141 | 269-985-5496
 info@leco.com • www.leco.com | ISO-9001:2015 Certified | LECO is a registered trademark of LECO Corporation.
 Pegasus, ChromaTOF, QuadJet are trademarks of LECO Corporation.