

Instrument: Pegasus® HRT⁺ 4D

ネガティブ化学イオン化を用いた包括的GCxGC-HRTOFMSによる ポリ塩化パラフィンの定量分析の高度化

LECO Corporation; Saint Joseph, Michigan USA

Key Words: 定量分析、持続性有機汚染物質 (POPs)、塩化パラフィン、二次元ガスクロマトグラフィー (GCxGC)、高分解能飛行時間型質量分析 (HRTOFMS)、電子捕獲ネガティブイオン化 (ECNI)、GCxGC、HRTOFMS、ECNI

Introduction

家庭内ほこりは、有害化合物が蓄積する場であり、化学物質への曝露を示す重要な指標となります。1 人間は、ほこり中の農薬、難燃剤、持続性有機汚染物質 (Persistent Organic Pollutants, POPs) など、多種多様な有害物質に日常的に曝露されています。家庭内における危険化学物質の存在は、外部からの不意の流入だけでなく、カーペット、家具、塗料、繊維製品、電子機器など家庭用品中にも含まれるため、潜在的に高いと考えられます。家庭内ほこり中で検出される持続性有機汚染物質の一群として、ポリ塩化パラフィン (Polychlorinated Paraffins, PCPs) が挙げられます。PCPは直鎖アルカンの塩素化により合成される化合物で、一般式は $C_nH_{2n+2-2z}Cl_z$ 、塩素化率 (重量比) は30~70%です。PCPは年間100万トン以上の規模で商業的に生産され、難燃剤、可塑剤、金属加工用潤滑剤として広く使用されています。炭素鎖長に応じて、短鎖塩化パラフィン (Short-chain Chlorinated Paraffins, SCCP, C₁₀-C₁₃)、中鎖塩化パラフィン (Medium-chain Chlorinated Paraffins, MCCP, C₁₄-C₁₇)、長鎖塩化パラフィン (Long-chain Chlorinated Paraffins, LCCP, ≥C₁₈) に分類されます。従来のGC-MSやLC-MSでは、PCPの複雑さから分析が困難です。PCPの種類が非常に多いのは、異なる組成のホモログが多数存在するだけでなく、同一組成の構造異性体や立体異性体も含まれるためです。さらに高い塩素化率により、従来の電子イオン化法 (Electron Ionization, EI) では分子が強く断片化し、感度が低下します。加えて、試料中での濃度は、飽和炭化水素、多環芳香族炭化水素、フタル酸エステル類、その他のPOPsに比べて低く、これらの化合物が一次元クロマトグラフィーで共溶出すると、等重干渉 (isobaric interference) が生じ、定量値の正確性に影響を及ぼします。

本研究では、包括的二次元ガスクロマトグラフィー (Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography, GCxGC) と高分解能飛行時間型質量分析 (High-Resolution Time-of-Flight Mass Spectrometry, HRTOFMS)、および電子捕獲負イオン化 (Electron Capture Negative Ionization, ECNI) モードで動作するマルチモードイオン源を用いたPCP定量の改良分析手法を開発しました。ECNI-HRTOFMSにより、感度の大幅な向上、選択性の改善、PCPホモログ間や他のPOPsとの等重干渉の最小化が実現しました。GCxGCの導入により、SCCPおよびMCCPを連続するクロマトグラフィック群として十分に分離・定量することが可能となりました (図1)。本アプリケーションノートでは、PCPの「群 (groups)」および「クラウド (clouds)」という用語を同義に使用しています。

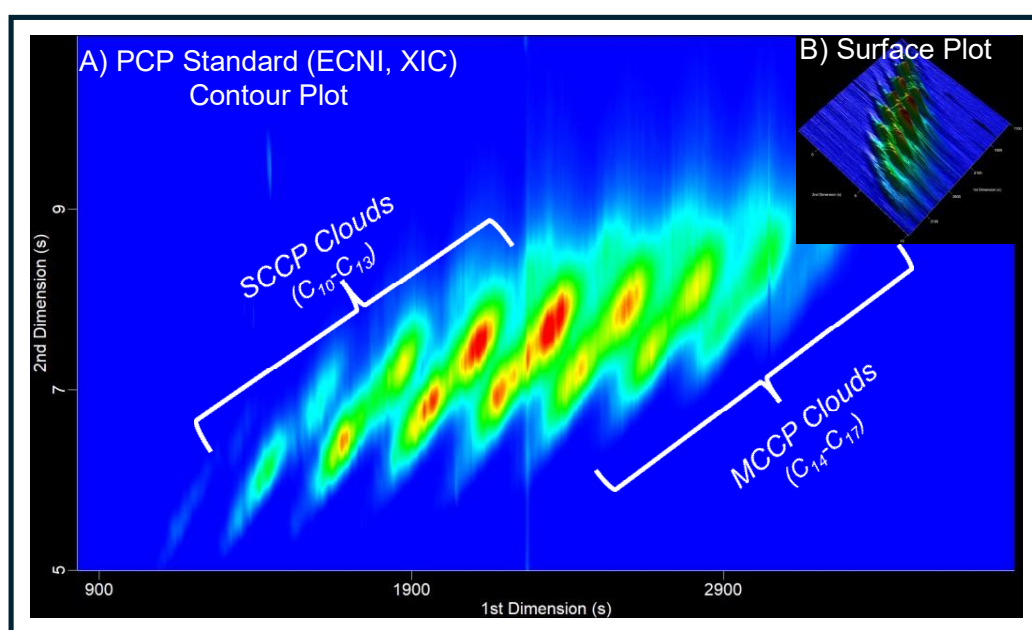


図1. A) ECNI等高線図および B) 表面プロットにより、標準混合液 (10 µg/mL) 中の短鎖および中鎖ポリ塩化パラフィン (PCP) のクラウドを示す。

Experimental

サンプルおよび標準品の調製

家庭および事業所で数週間使用された掃除機バッグからほこりサンプルを採取しました。標準物質 (SRM 2585) は米国国立標準技術研究所 (NIST) のウェブサイトから購入し、分析法開発に使用しました。ほこりサンプルを秤量 (0.14 ± 0.01 g) し、10 mLのガラス遠心チューブに移し、抽出溶媒 (ジクロロメタン/ヘキサン 3:1, 3 mL) を加え、チューブを密閉しました。混合物を10秒間ボルテックスし、次に超音波抽出で20分間処理しました。上清を回収し、残留ほこりに対して追加の溶媒3 mLで再度抽出しました。結合抽出液を注射器フィルターで濾過し、 N_2 ガス下で溶媒を蒸発させました。得られた残渣は350 μ Lのジクロロメタンに溶解し、 β -ヘキサクロロシクロヘキサン (^{13}C , 5 μ g/mL) を50 μ L加えて合計400 μ Lとしました。混合液を30秒間ボルテックスし、100 μ Lを2 mLバイアルに移して分析用サンプルとしました。

キャリブレーション標準液は、SCCP (シクロヘキサン中 100 μ g/mL、塩素含量 51.5、55.5、63 wt.%) およびMCCP (シクロヘキサン中 100 μ g/mL、塩素含量 42、52、57 wt.%) 標準液を混合し、 β -ヘキサクロロシクロヘキサン (^{13}C , 5 μ g/mL) 100 μ Lを加え、シクロヘキサンで希釈して1 mLの標準液を8濃度 (0.10、0.30、0.50、1.0、2.5、5.0、10.0、15.0 μ g/mL) 作製しました。サンプルは以下の装置条件で分析しました。

表1. GC×GC-TOFMS 分析条件

Gas Chromatograph	Agilent 7890B with LECO Dual Stage QuadJet™ Modulator
注入	3 μ L 液体注入、スプリットレス、280 ° C
キャリアガス	He @ 1.0 mL/min, 補正済定流量
一次カラム	HP-5MS UI, 30 m x 内径 0.25 mm x 膜厚 0.25 μ m
二次カラム	Rx/17Sil MS, 1.2 m x 内径 0.25 mm x 膜厚 0.10 μ m
昇温プログラム	60 ° C (1分保持)、40 ° C/minで140 ° Cまで昇温、その後2.5 ° C/minで320 ° Cまで昇温 (1分保持) 二次オープン是一次オープンより+15 ° C
モジュレーション周期	8.0 s、モジュレーターは二次オープンより+15 ° C
トランスファーライン	300 ° C
Mass Spectrometer	LECO Pegasus HRT+ 4D
イオン源温度	135 ° C
取得モード	高分解能 (m/z 219にて $R = 25,000$)、質量精度 = 1 ppm
イオン化	ECNI (試薬ガス= CH_4)
	50-1000
取得速度	50 spectra/s

Data Processing

データ処理は、質量校正 (PFTBA)、PCPクラウドの分類、および信号処理で構成されました。ChromaTOF® ソフトウェアの分類機能を用いて、ECNI 等高線図上における PCP グループ領域を定義しました (10 μ g/mL 標準 PCP 混合物の例を図2に示す)。各クラウド領域は、炭素原子と塩素原子の合計数が一定の PCP 化合物の組成式を示しています。たとえば、グループ4の化合物の組成式における炭素数と塩素数の合計は18 ($\#C + \#Cl = 18$) です。分類領域内での信号処理は、炭素数10-17、塩素数5-10の PCP に限定して実施されました (図3)。

標的塩素化パラフィンのクラウド内における $[M-Cl]^{\wedge-}$ または $[M-HCl]^{\wedge-}$ イオンクラスターで、最も高強度の高分解能精密質量 (HRAM) イオン2種が信号処理に使用されました。図4では、グループ4の2つの化合物式を例として示しています。指定されたグループ4領域における、 $C_{11}H_{17}Cl_7$ $[M+2-Cl]^{\wedge-}$ および $C_{12}H_{20}Cl_6$ $[M+2-HCl]^{\wedge-}$ の最も強度の高い HRAM イオンの質量精度は、それぞれ -1.14 ppm および 0.08 ppm でした。

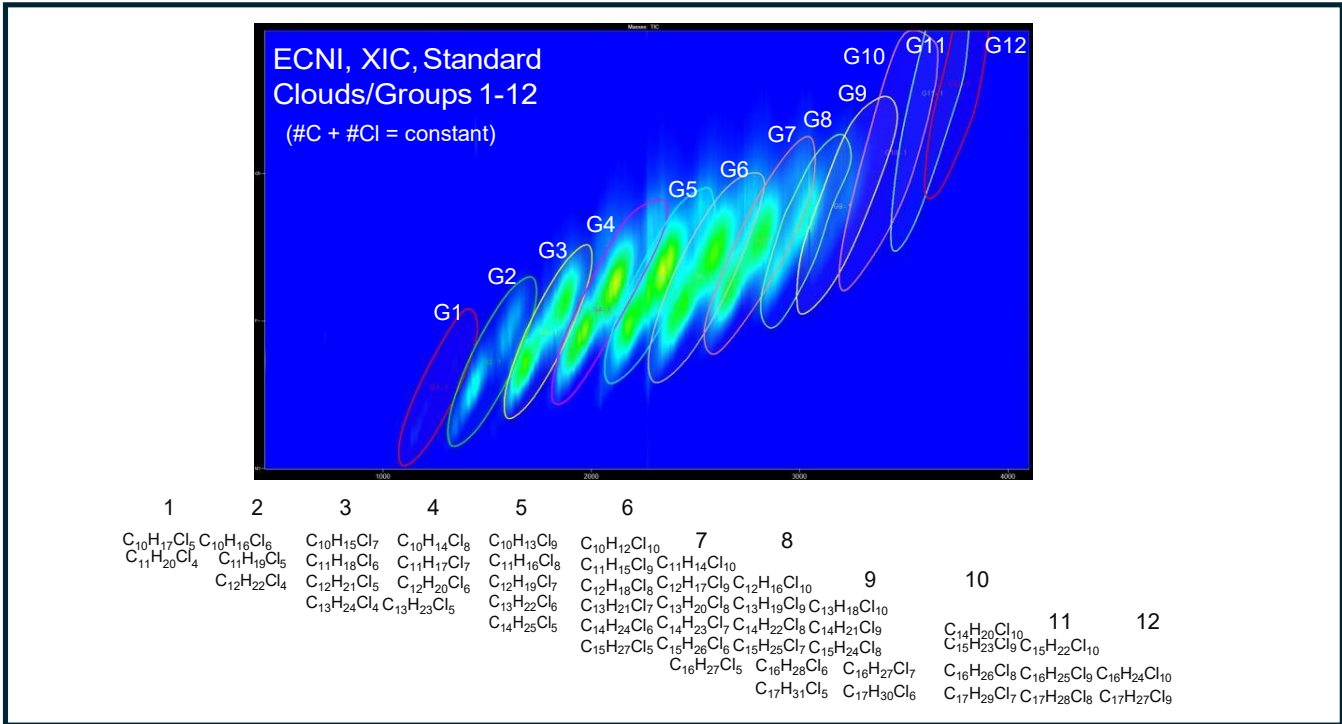


図 2. ECNI 等高線図：標準混合物 (10 µg/mL) における塩素化パラフィンのクラウド (グループ) を示す。各クラウドは、炭素と塩素の合計数が一定の PCP を表す。

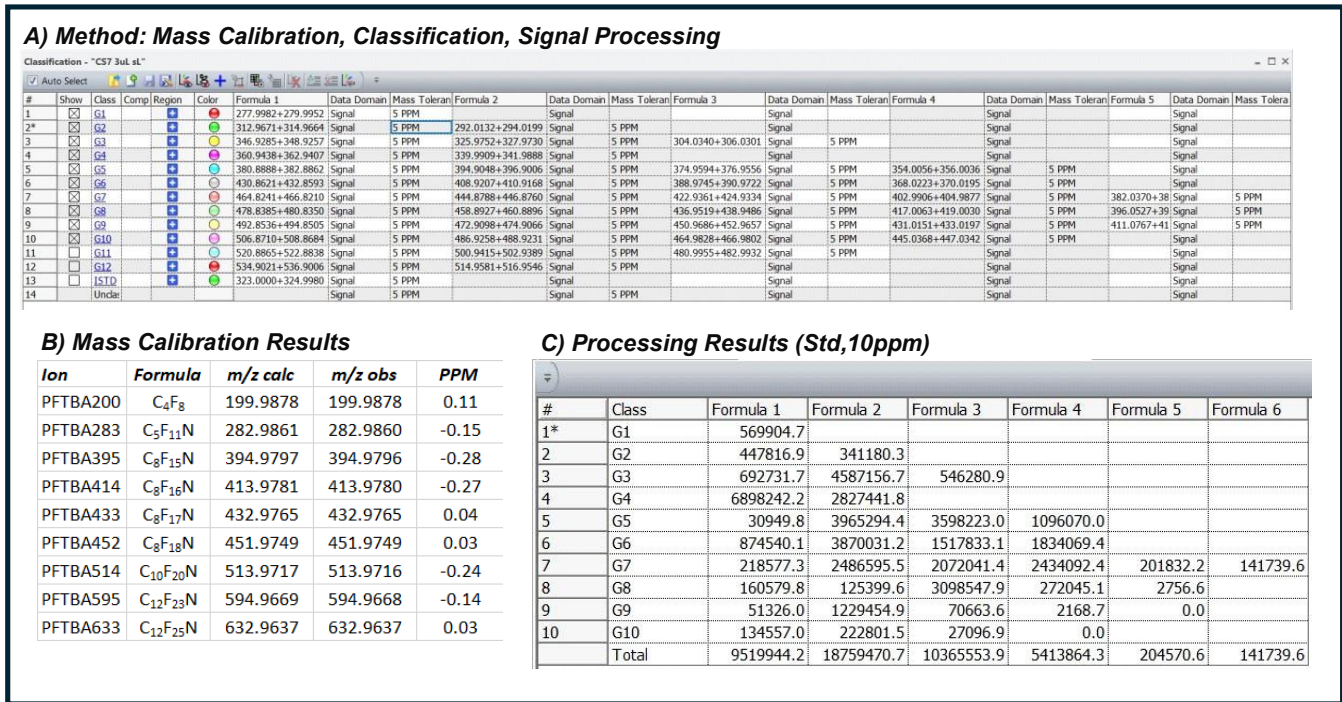


図3. A) クラウド定量処理方法：質量校正、分類、HRAM による信号処理 (G1-G10)。B) 質量校正結果。C) 10 µg/mL キャリブレーション標準混合物の処理結果。

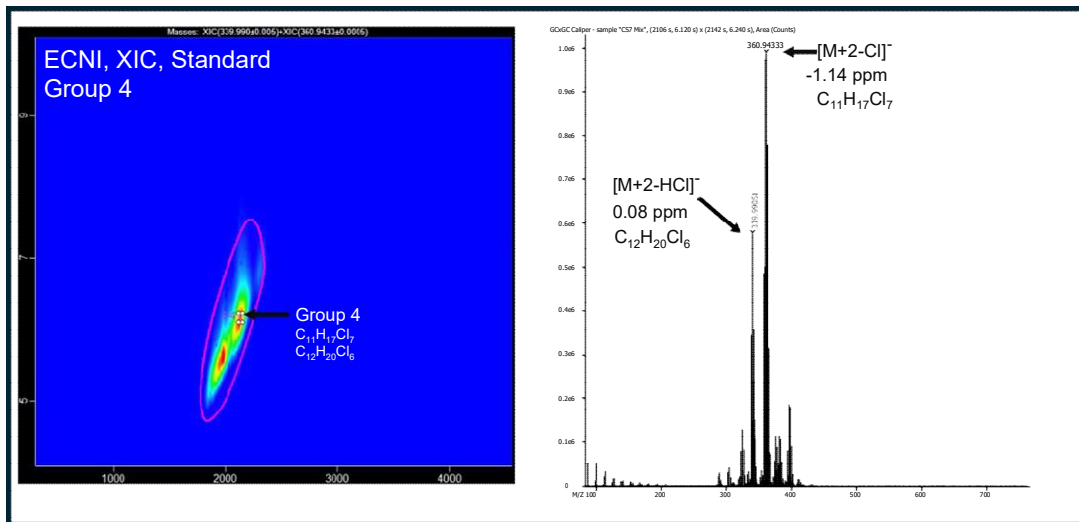


図 4. ECNI 等高線図：ダストサンプルにおけるグループ4分類領域 (左)。等高線図データは、 $C_{11}H_{17}Cl_7$ および $C_{12}H_{20}Cl_6$ の PCP について、HRAM 抽出イオンクロマトグラム (XIC) に基づく (右)。

Results and Discussion

GCxGC により、二次元分離の仕組みを活用したピーク容量の増大とクロマトグラフィー分離能の向上が実現され、PCP の連続グループの分離が可能となりました。GCxGC と HRTOFMS を組み合わせることで、PCP の定量データは非常に高精度となります。PCP の塩素原子数が増えるほど装置応答は強くなり、例えば八塩素化 PCP は同条件下の四塩素化 PCP よりも ECNI 応答が高くなります。定量解析においては、「マッチした PCP 標準」を用いることでバイアスの少ない測定が可能ですが、完全に標準と試料が一致した混合物は存在せず、従ってこの解析手法で得られる PCP の結果は定量的推定値となります。定量解析結果は使用する分析装置の種類に大きく依存します。従来の GC や LC-MS アプローチでは、クロマトグラフィー分離の欠如や等価質量干渉の可能性により、PCP 同族体の応答差を正確に評価することは困難です。

本研究では、SCCP および MCCCPCP 濃度の直接定量を目的として cloud quant 法を導入しました。この解析手法では、混合 PCP 標準を用いて等高線図上にクラウド領域を設定し、GCxGC-ECNI-HRTOFMS によるグループ選択定量を実施しました。濃度と装置応答には二次関数的関係が認められ、キャリブレーション標準セットのグループ5-8 で $R^2 > 0.99$ が得られています (図5)。

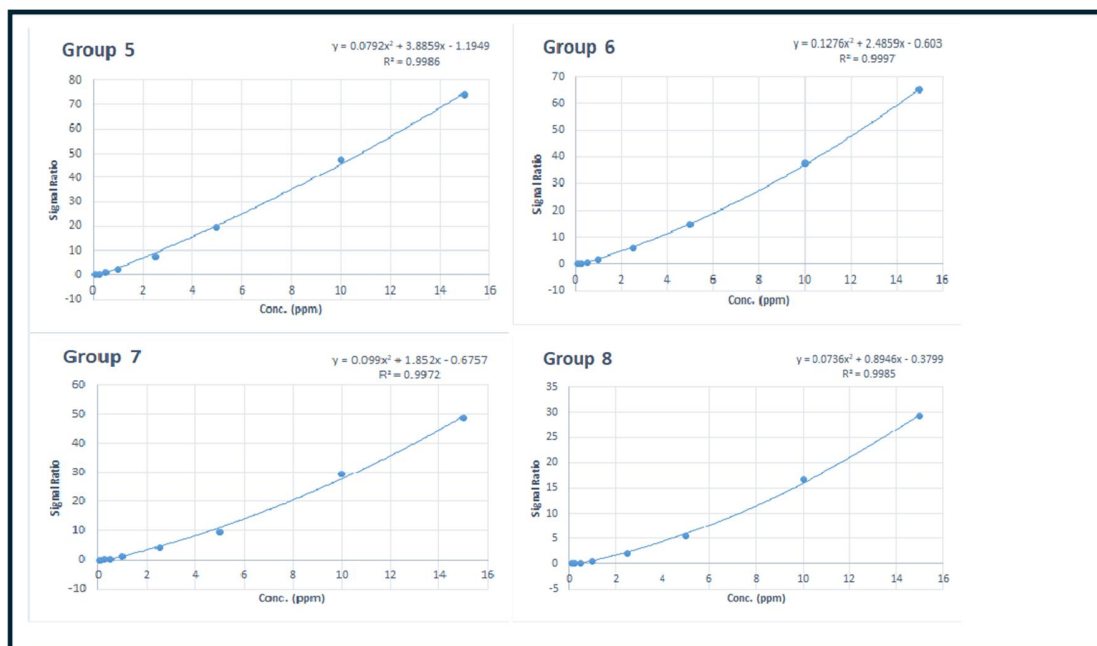


Figure 5. グループ5-8 のキャリブレーション曲線。 R^2 値はいずれも > 0.99

NIST 2585 SRM を用いて本手法を開発および検証しました。この SRM の SCCP および MCCP 濃度は既報で示されており、GCxGC-ECNI-HRTOFMS の性能評価の指標として利用できます。代表的な ECNI (XIC) プロットは、NIST SRM および家庭用ダストサンプルについて Figure 6 に示しました。各プロット内には、キャリブレーション標準セットに基づくグループごとの定量値 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) がまとめられています。例えば、SRM のグループ4 の値は $0.48 \mu\text{g}/\text{mL}$ であり、試料あたり PCP 濃度に換算すると $1.4 \mu\text{g}/\text{g}$ となります。SCCP および MCCP の全体濃度はそれぞれ $11.1 \mu\text{g}/\text{g}$ および $11.2 \mu\text{g}/\text{g}$ で、文献値 (SCCP $7.6\text{--}8.7 \mu\text{g}/\text{g}$ 、MCCP $10\text{--}16.4 \mu\text{g}/\text{g}$) と概ね一致しています。家庭用ダスト試料では、SCCP および MCCP の濃度はそれぞれ $8.1 \mu\text{g}/\text{g}$ および $8.8 \mu\text{g}/\text{g}$ となりました。

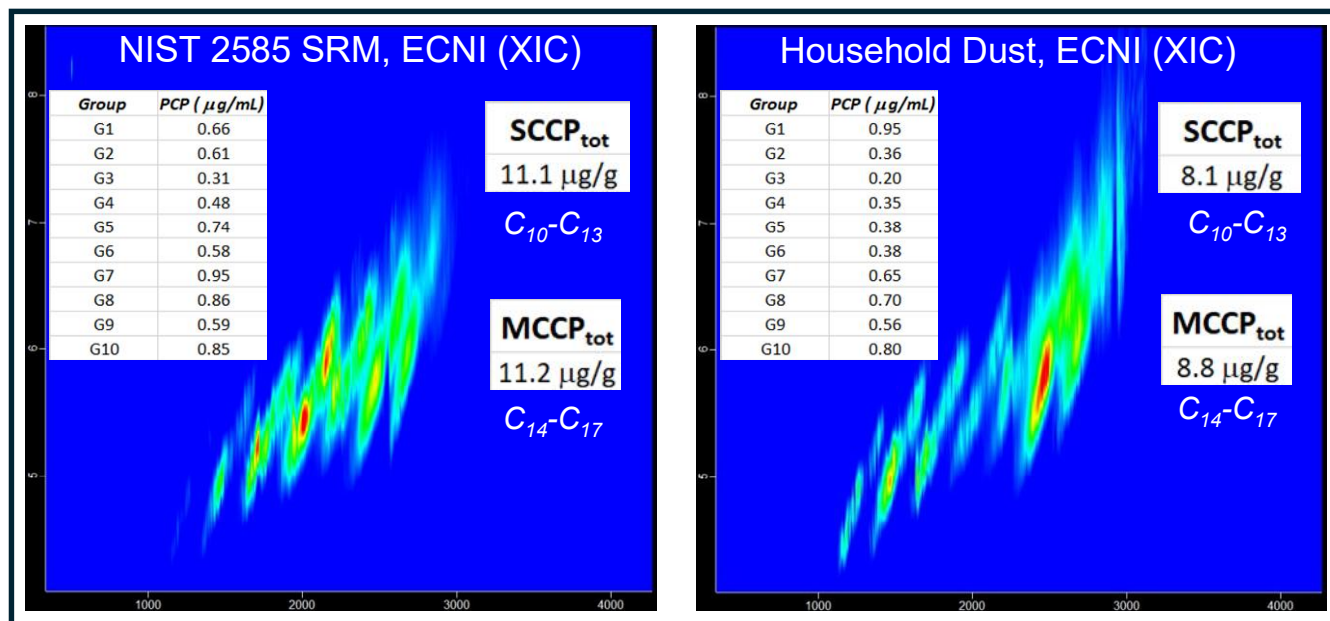


Figure 6. NIST 2585 SRM (左) および家庭用ダスト試料 (右) の ECNI (XIC) 等高線図と定量結果。

Conclusion

LECO Pegasus HRT+ 4D は、持続性有機汚染物質 (POPs) の定量に欠かせない装置です。本研究では、標準参照物質および家庭用ダスト試料中の PCP の定量のために、簡便な抽出および分析手法を適用しました。HRTOFMS の高分解能、高質量分解能、電子捕獲負イオン化 (ECNI) モードにより、ダスト試料抽出物中の PCP グループを検出・定量するために必要なクロマトグラフィー分離と質量スペクトル選択性が確保されました。PCP の「クラウド定量」は、高分解能・高精度質量データの質量校正、分類、信号処理を組み合わせることで実施しました。NIST 2585 SRM の解析結果は、他の分析装置を用いた研究者の報告値と概ね一致しました。

References

- ¹C. Moschet, T. Anumol, B.M. Lew, D.H. Bennett, T.M. Young, *Environ. Sci. Technol.* **5**(52), 2878–2887 (2018). DOI: 10.1021/acs.est.7b0576.
- ²H. Shang, X. Fan, C. Kubwabo, P.E. Rasmussen, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **26**, 7453–7462 (2019).
- ³M Brits, J. de Boer, E.R. Rohwer, J. De Vos, J.M. Weiss, S.H. Brandsma, *Chemosphere* **238**, 124643.
- ⁴S.H. Brandsma, M. Brits, Q.R. Groenewoud, M.J.M. van Velzen, P.E.G. Leonards, J. de Boer, *Environ. Sci. Technol.* **53**(13), 7595–7603 (2019).



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 Q-994 | LECO is a registered trademark of LECO Corporation.
Pegasus, StayClean are registered trademarks of LECO Corporation.