

Agilent 7250 GC/Q-TOF と Agilent 6495C LC/MS/MS による 塩素化パラフィンの分析について

著者

笠松隆志、高桑裕史、
滝埜昌彦、加賀美智史

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

Agilent 7250 ガスクロマトグラフ飛行時間型質量分析計 (GC/Q-TOF) と Agilent 6495C 液体クロマトグラフトリプル四重極型質量分析計 (LC/MS/MS) を用いて塩素化パラフィンの分析について検討しました。塩素化パラフィン (SCCPs および MCCPs) を含む ABS 樹脂をそれぞれの装置で測定して定量を行ったところ、ほぼ同じような結果を得ることができ、ニーズに応じて GC/Q-TOF、LC/MS/MS を選択することによって塩素化パラフィンの分析が可能であることがわかりました。

はじめに

塩素化パラフィン（CPs）はすでに規制されている SCCPs（短鎖塩素化パラフィン：炭素数 10～13）に加え、MCCPs（中鎖塩素化パラフィン：炭素数 14～17）についても規制化の動きがあり、分析値の信頼性向上が求められています。理論上数千にも及ぶ異性体から構成される CPs の分析は、現在主に GC/MS と LC/MS が使用されていますが、装置の感度、分離能や選択性の違いから異性体や同族体の定量結果に差異が生じる懸念があります。さらに、低分解能質量分析計では鎖長の異なる同族体による相互干渉があることから測定が困難とされています。そこで、精度の高い分析法として報告されている EI（電子イオン化）および NCI（負イオン化学イオン化）を用いたガスクロマトグラフ飛行時間型質量分析計（GC/Q-TOF）¹⁾ およびエレクトロスプレーイオン化（ESI）を用いた液体クロマトグラフトリプル四重極型質量分析計（LC/MS/MS）²⁾ によって同じ実試料の測定を行い、各同族体の定量値について比較を行いました。

標準試料と定量試料

標準試料：同族体組成が値付けされた SCCPs 標品および MCCPs 標品を使用、これらを GC/Q-TOF 用はトルエン、LC/MS/MS 用はメタノールで希釈して検量線を作成しました。

定量試料：SCCPs および MCCPs を含む ABS 樹脂

試料の前処理：ABS 樹脂を凍結粉砕した後、0.1 mg を採り、トルエン 10 mL を用いて 10 分間超音波抽出し、アジレント製 Captiva シリンジフィルタ（p/n 5190-5111）でろ過したものを GC/Q-TOF 用試料としました。LC/MS/MS 用試料は GC/Q-TOF 用試料の一部をとって窒素で乾固し、等量のメタノールで再溶解したものとしました。

定量対象成分

3～11Cl の SCCPs、4～10Cl の MCCPs を定量対象としました。

分析条件の検討

塩素化パラフィンは化合物数が多く、各化合物の完全分離は不可能と考えられます。GC/MS においては、塩素化パラフィンのピーク分布の幅が広がります。そこで、なるべく同じ炭素数で同じ塩素数の化合物が固まって溶出するように短めのカラムを使用しました。また、分子量に近いフラグメントイオンで強度が高いものは EI では $[M-2H-3Cl]^+$ 、NCI では $[M-Cl]^-$ となるため（図 1）、これらをモニターイオンとしました。ただし、EI においては $C_{13}H_{22}Cl_6$ の $[M-2H-3Cl]^+$ などシステムからの妨害（カラムブリードなど）を受ける可能性があります（図 2）。電子イオン化のエネルギーを下げる（LEEI：低エネルギー電子イオン化）ことでこれら妨害物質のイオン化が低減されるため、15 eV を EI の場合のイオン化エネルギーとしました。NCI においては、3 および 4 塩素の化合物は検出が困難ですが、高塩素化合物は EI に比べて高感度に検出できました。LC/MS においては、GC/MS に比べて同じ炭素数で同じ塩素数の化合物がまとまって溶出します。各化合物の干渉を考慮すると分離が重要となることから、シアノプロピル基を有するカラムを選択し使用しました。モニター

イオンについては酢酸イオン付加分子である $[M+CH_3COO]^-$ が MS/MS に適したイオンとして観測されたため、これをプリカーサーイオンとし、プロダクトイオンは低塩素化物では酢酸イオンの $[CH_3COO]^-$ が、高塩素化物は酢酸が脱離した脱プロトン分子の $[M-H]^-$ が観測されたのでこれらをモニターしました（図 3）。

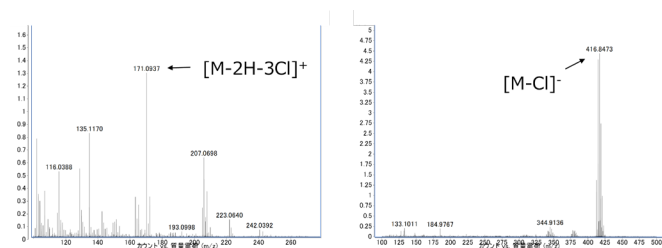


図 1. GC/Q-TOF におけるマススペクトル例
左：15 eV EI $C_{10}H_{18}Cl_4$ 右：NCI $C_{10}H_{13}Cl_9$

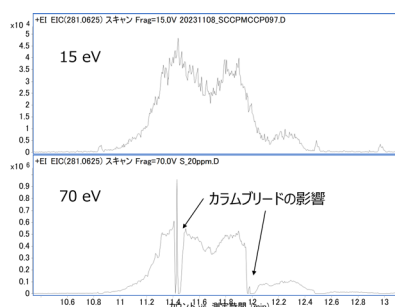


図 2. $C_{13}H_{22}Cl_6$ の $[M-2H-3Cl]^+$ (m/z 280.0625) のクロマトグラム（抽出幅： ± 10 ppm）

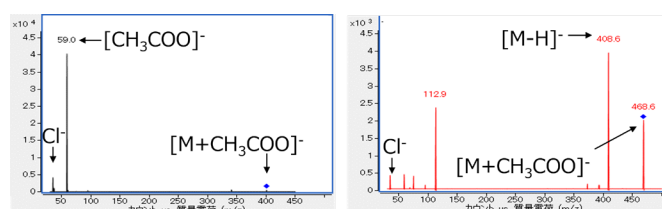


図 3. ESI のプロダクトイオンスペクトル
左： $C_{12}H_{21}Cl_5$ 右： $C_{12}H_{19}Cl_7$

分析条件

GC/Q-TOF

装置： Agilent 7250 GC/Q-TOF (8890 GC)

GC 条件

カラム： DB-5ms 0.25 mm × 15 m, 0.1 μm
(PN : 122-5011)

注入口温度： 300 °C

注入口ライナー： ウルトライナートスプリットレスライナ
ガラスウール付き (PN : 5190-2293)

注入モード： パルスドスプリットレス

キャリア流速： ヘリウム 1 mL/min

カラムオープン： 100 °C (5 min) −20 °C /min−300 °C (10 min)

注入量： 2 μL

MS 条件

イオン化法： 電子イオン化 (15 eV) および
負イオン化学イオン化 (試薬ガス：メタン)

イオン源温度： 200 °C

四重極温度： 150 °C

測定範囲： m/z 100 - 1200 (TOF モード)

データ取り込み： 3 スペクトル/秒

クエンチガス： ヘリウム 2.25 mL/min

LC/MS/MS

装置： Agilent 6495C LC/MS/MS (1260 Prime LC)

LC 条件

カラム： Poroshell 120 EC-CN 2.1 mm × 100 mm, 2.7 μm
(PN : 695775-905)

移動相： A : 5 mM 酢酸アンモニウム水溶液
B : メタノール
40 %B - (20 min) -100 %B

流量： 0.4 mL/min

カラムオープン： 40 °C

注入量： 5 μL

MS 条件

イオン化法： ESI (AJS*) (Negative mode)
* Agilent Jet Stream 高感度イオン源

乾燥ガス温度： 200 °C

乾燥ガス流量： 20 L/min

シースガス温度： 250 °C

シースガス流量： 12 L/min

測定モード： MRM

各装置のモニターイオンは表 1 ~ 4 の通りです。EI の $C_{13}H_{22}Cl_6$ は本アプリケーションノートでは $[M-2H-3Cl]^+$ (281.0625) ではなく、 $[M-2H-4Cl]^+$ の 245.0858 をモニターしました。

表 1. SCCPs のモニターイオン (GC/Q-TOF)

SCCPs	EI	NICI	SCCPs	EI	NICI
$C_{10}H_{18}Cl_3$	173.1092	209.0869	$C_{12}H_{22}Cl_3$	201.1405	237.1182
$C_{10}H_{18}Cl_4$	171.0935	243.0480	$C_{12}H_{22}Cl_4$	199.1248	271.0793
$C_{10}H_{17}Cl_5$	205.0545	279.0061	$C_{12}H_{21}Cl_5$	233.0858	307.0374
$C_{10}H_{16}Cl_6$	239.0156	312.9671	$C_{12}H_{20}Cl_6$	267.0469	340.9984
$C_{10}H_{15}Cl_7$	274.9736	346.9281	$C_{12}H_{19}Cl_7$	303.0049	374.9594
$C_{10}H_{14}Cl_8$	308.9347	380.8891	$C_{12}H_{18}Cl_8$	336.9660	408.9205
$C_{10}H_{13}Cl_9$	342.8957	416.8472	$C_{12}H_{17}Cl_9$	370.9270	444.8786
$C_{10}H_{12}Cl_{10}$	376.8567	450.8083	$C_{12}H_{16}Cl_{10}$	404.8881	478.8396
$C_{10}H_{11}Cl_{11}$	412.8148	484.7693	$C_{12}H_{15}Cl_{11}$	440.8462	512.8006
$C_{11}H_{20}Cl_3$	187.1248	223.1026	$C_{13}H_{24}Cl_3$	215.1561	251.1339
$C_{11}H_{20}Cl_4$	185.1092	257.0636	$C_{13}H_{24}Cl_4$	213.1405	285.0949
$C_{11}H_{19}Cl_5$	219.0702	293.0217	$C_{13}H_{23}Cl_5$	247.1015	321.0531
$C_{11}H_{18}Cl_6$	253.0312	326.9828	$C_{13}H_{22}Cl_6$	245.0858	355.0141
$C_{11}H_{17}Cl_7$	288.9893	362.9409	$C_{13}H_{21}Cl_7$	317.0206	388.9751
$C_{11}H_{16}Cl_8$	322.9503	394.9048	$C_{13}H_{20}Cl_8$	350.9816	422.9361
$C_{11}H_{15}Cl_9$	356.9113	430.8629	$C_{13}H_{19}Cl_9$	384.9426	458.8942
$C_{11}H_{14}Cl_{10}$	390.8724	464.8239	$C_{13}H_{18}Cl_{10}$	418.9037	492.8552
$C_{11}H_{13}Cl_{11}$	426.8305	498.7849	$C_{13}H_{17}Cl_{11}$	454.8618	526.8163

表 2. MCCPs のモニターイオン (GC/Q-TOF)

MCCPs	EI	NICI	MCCPs	EI	NICI
$C_{14}H_{27}Cl_3$	229.1718		$C_{16}H_{31}Cl_3$	257.2031	
$C_{14}H_{26}Cl_4$	227.1561	299.1106	$C_{16}H_{30}Cl_4$	255.1874	327.1419
$C_{14}H_{25}Cl_5$	261.1171	333.0716	$C_{16}H_{29}Cl_5$	289.1484	363.1000
$C_{14}H_{24}Cl_6$	295.0782	367.0326	$C_{16}H_{28}Cl_6$	323.1095	397.0611
$C_{14}H_{23}Cl_7$	331.0362	402.9907	$C_{16}H_{27}Cl_7$	359.0675	431.0221
$C_{14}H_{22}Cl_8$	364.9973	436.9518	$C_{16}H_{26}Cl_8$	393.0286	464.9831
$C_{14}H_{21}Cl_9$	398.9583	472.9099	$C_{16}H_{25}Cl_9$	426.9896	500.9412
$C_{14}H_{20}Cl_{10}$	432.9293	506.8709	$C_{16}H_{24}Cl_{10}$	460.9506	534.9022
$C_{15}H_{29}Cl_3$	243.1874		$C_{17}H_{33}Cl_3$	271.2187	
$C_{15}H_{28}Cl_4$	241.1718	313.1262	$C_{17}H_{32}Cl_4$	269.2031	341.1575
$C_{15}H_{27}Cl_5$	275.1328	349.0844	$C_{17}H_{31}Cl_5$	303.1641	377.1157
$C_{15}H_{26}Cl_6$	309.0938	383.0454	$C_{17}H_{30}Cl_6$	337.1251	411.0767
$C_{15}H_{25}Cl_7$	345.0519	417.0064	$C_{17}H_{29}Cl_7$	373.0832	445.0377
$C_{15}H_{24}Cl_8$	379.0140	450.9674	$C_{17}H_{28}Cl_8$	407.0442	478.9987
$C_{15}H_{23}Cl_9$	412.9739	486.9256	$C_{17}H_{27}Cl_9$	441.0052	514.9569
$C_{15}H_{22}Cl_{10}$	446.9350	520.8866	$C_{17}H_{26}Cl_{10}$	474.9663	548.9179

表 3. SCCPs のモニターイオン (LC/MS/MS)

SCCPs	プリカーサ イオン	プロダクト イオン	フラグメンター	コリジョン エネルギー	SCCPs	プリカーサ イオン	プロダクト イオン	フラグメンター	コリジョン エネルギー
C ₁₀ H ₁₈ Cl ₃	305	59.0	166	15	C ₁₂ H ₂₂ Cl ₃	332.8	59.0	166	7
C ₁₀ H ₁₈ Cl ₄	339	59.0	166	15	C ₁₂ H ₂₂ Cl ₄	366.8	59.0	166	7
C ₁₀ H ₁₇ Cl ₅	372.9	59.0	166	18	C ₁₂ H ₂₁ Cl ₅	400.8	59.0	166	13
C ₁₀ H ₁₆ Cl ₆	406.8	59.0	166	13	C ₁₂ H ₂₀ Cl ₆	434.8	59.0	166	13
C ₁₀ H ₁₅ Cl ₇	440.8	59.0	166	18	C ₁₂ H ₁₉ Cl ₇	468.8	59.0	166	18
C ₁₀ H ₁₄ Cl ₈	474.8	414.8	166	3	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₈	504.8	444.8	166	5
C ₁₀ H ₁₃ Cl ₉	508.8	448.8	166	3	C ₁₂ H ₁₇ Cl ₉	538.8	478.8	166	5
C ₁₀ H ₁₂ Cl ₁₀	542.8	482.8	166	3	C ₁₂ H ₁₆ Cl ₁₀	572.8	512.8	166	5
C ₁₀ H ₁₁ Cl ₁₁	576.8	518.8	166	5	C ₁₂ H ₁₅ Cl ₁₁	606.8	546.8	166	5
C ₁₁ H ₂₀ Cl ₃	319	59.0	166	13	C ₁₃ H ₂₄ Cl ₃	346.8	59.0	166	10
C ₁₁ H ₂₀ Cl ₄	352.8	59.0	166	13	C ₁₃ H ₂₄ Cl ₄	380.8	59.0	166	10
C ₁₁ H ₁₉ Cl ₅	386.8	59.0	166	13	C ₁₃ H ₂₃ Cl ₅	414.8	59.0	166	13
C ₁₁ H ₁₈ Cl ₆	420.8	59.0	166	18	C ₁₃ H ₂₂ Cl ₆	448.8	59.0	166	18
C ₁₁ H ₁₇ Cl ₇	458.8	59.0	166	18	C ₁₃ H ₂₁ Cl ₇	482.8	59.0	166	18
C ₁₁ H ₁₆ Cl ₈	490.8	430.8	166	2	C ₁₃ H ₂₀ Cl ₈	518.8	59.0	166	5
C ₁₁ H ₁₅ Cl ₉	524.8	464.8	166	5	C ₁₃ H ₁₉ Cl ₉	552.8	492.8	166	5
C ₁₁ H ₁₄ Cl ₁₀	538.8	498.8	166	5	C ₁₃ H ₁₈ Cl ₁₀	586.8	526.8	166	5
C ₁₁ H ₁₃ Cl ₁₁	592.8	532.8	166	5	C ₁₃ H ₁₇ Cl ₁₁	620.8	560.8	166	5

表 4. MCCPs のモニターイオン (LC/MS/MS)

MCCPs	プリカーサ イオン	プロダクト イオン	フラグメンター	コリジョン エネルギー	MCCPs	プリカーサ イオン	プロダクト イオン	フラグメンター	コリジョン エネルギー
C ₁₄ H ₂₇ Cl ₃	394.8	59.0	166	15	C ₁₆ H ₃₁ Cl ₃	423	59.0	166	18
C ₁₄ H ₂₆ Cl ₄	428.8	59.0	166	18	C ₁₆ H ₃₀ Cl ₄	456.8	59.0	166	18
C ₁₄ H ₂₅ Cl ₅	462.8	59.0	166	18	C ₁₆ H ₂₉ Cl ₅	490.6	59.0	166	13
C ₁₄ H ₂₄ Cl ₆	496.8	59.0	166	18	C ₁₆ H ₂₈ Cl ₆	524.8	59.0	166	18
C ₁₄ H ₂₃ Cl ₇	532.7	472.7	166	5	C ₁₆ H ₂₇ Cl ₇	560.8	500.8	166	5
C ₁₄ H ₂₂ Cl ₈	566.8	506.7	166	5	C ₁₆ H ₂₆ Cl ₈	594.8	534.8	166	8
C ₁₄ H ₂₁ Cl ₉	600.8	540.8	166	5	C ₁₆ H ₂₅ Cl ₉	628.8	568.8	166	7
C ₁₄ H ₂₀ Cl ₁₀	408.9	59.0	166	13	C ₁₆ H ₂₄ Cl ₁₀	437	59.0	166	18
C ₁₅ H ₂₉ Cl ₃	442.9	59.0	166	13	C ₁₇ H ₃₃ Cl ₃	471	59.0	166	18
C ₁₅ H ₂₈ Cl ₄	476.8	59.0	166	13	C ₁₇ H ₃₂ Cl ₄	504.6	59.0	166	18
C ₁₅ H ₂₇ Cl ₅	510.8	59.0	166	18	C ₁₇ H ₃₁ Cl ₅	538.7	59.0	166	18
C ₁₅ H ₂₆ Cl ₆	546.8	486.8	166	5	C ₁₇ H ₃₀ Cl ₆	574.6	514.8	166	5
C ₁₅ H ₂₅ Cl ₇	580.8	520.7	166	5	C ₁₇ H ₂₉ Cl ₇	608.5	548.8	166	8
C ₁₅ H ₂₄ Cl ₈	614.7	554.8	166	5	C ₁₇ H ₂₈ Cl ₈	642.8	582.7	166	9

結果

検量線は GC/Q-TOF、LC/MS/MS とともに CPs 全体の濃度として 0.5, 1, 2, 5, 10 µg/mL の注入濃度で作成をしたところ、含有率が数 % 以上あるものについては直線性良く (R2 で 0.999 程度) 作成することができました。

定量試料の各測定モードにおける SCCPs および MCCPs のクロマトグラムを図 4～9 に示します。クロマトグラムの右に記載されている数値は各化合物の定量値 (µg/g) になります。

また、試料の定量結果を図 10, 11 に示します。各塩素化パラフィンの定量結果の傾向はほぼ同じで、トータルの定量結果は EI、NICI、ESI の順に SCCPs で 720 µg/g、800 µg/g、791 µg/g、MCCPs で 733 µg/g、762 µg/g、856 µg/g と、GC/MS でも LC/MS でも同じような定量結果が得られました。また、当初 EI (15 eV) と ESI はほぼ同じような結果が得られましたが、NICI については EI と ESI より高い定量値が得られました。そこで、マトリックス効果が疑われるため、10 倍希釈した試料を測定したところ、他の方法とほぼ同等の定量値が得られました。確認のため、10 倍希釈した試料を EI (15 eV) で測定したところ、希釈しない場合と元の試料中に含有されると考えられる定量値がほぼ一致したため、NICI においてはマトリックス効果があったと考えられます。このように、場合によっては希釈を行った試料の測定により定量値の整合性を確認する必要があることが示唆されました。なお、図 6, 7 の NICI のクロマトグラムは 10 倍希釈したものを示してあります。

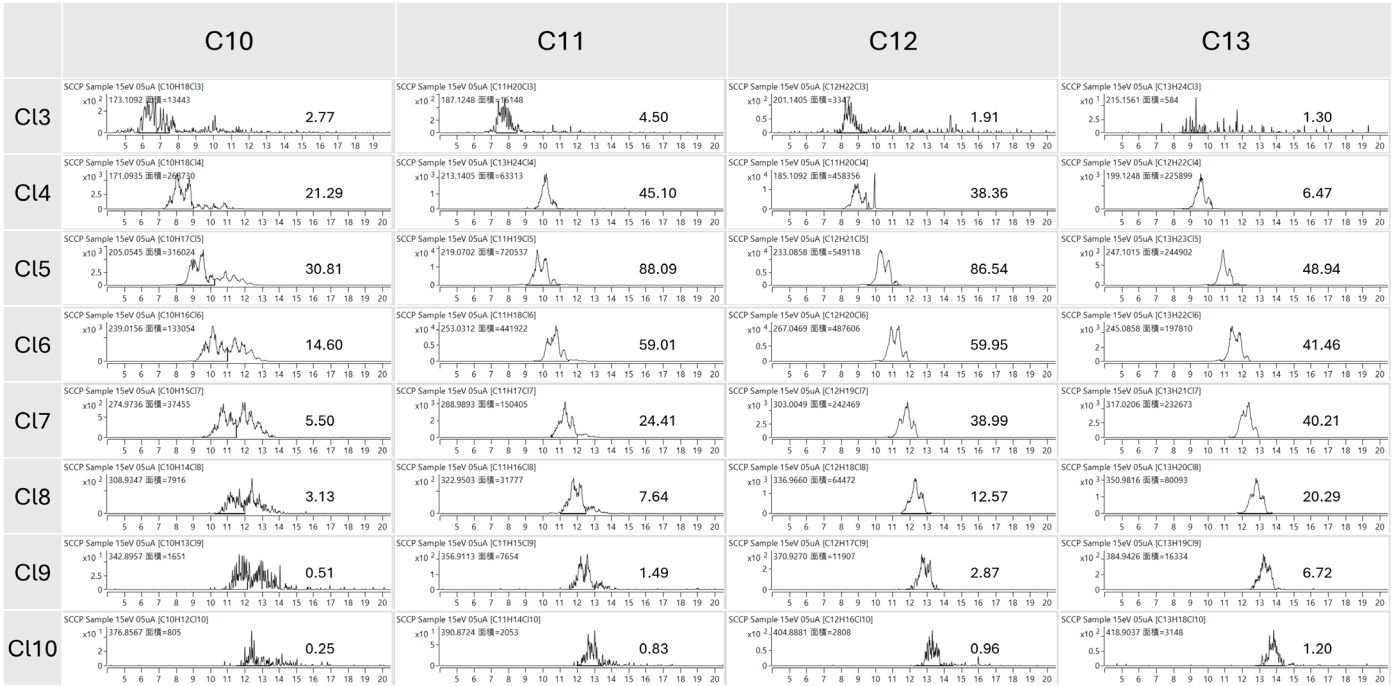


図 4. 実サンプル (0.01 mg/mL) での SCCPs のクロマトグラム (EI)

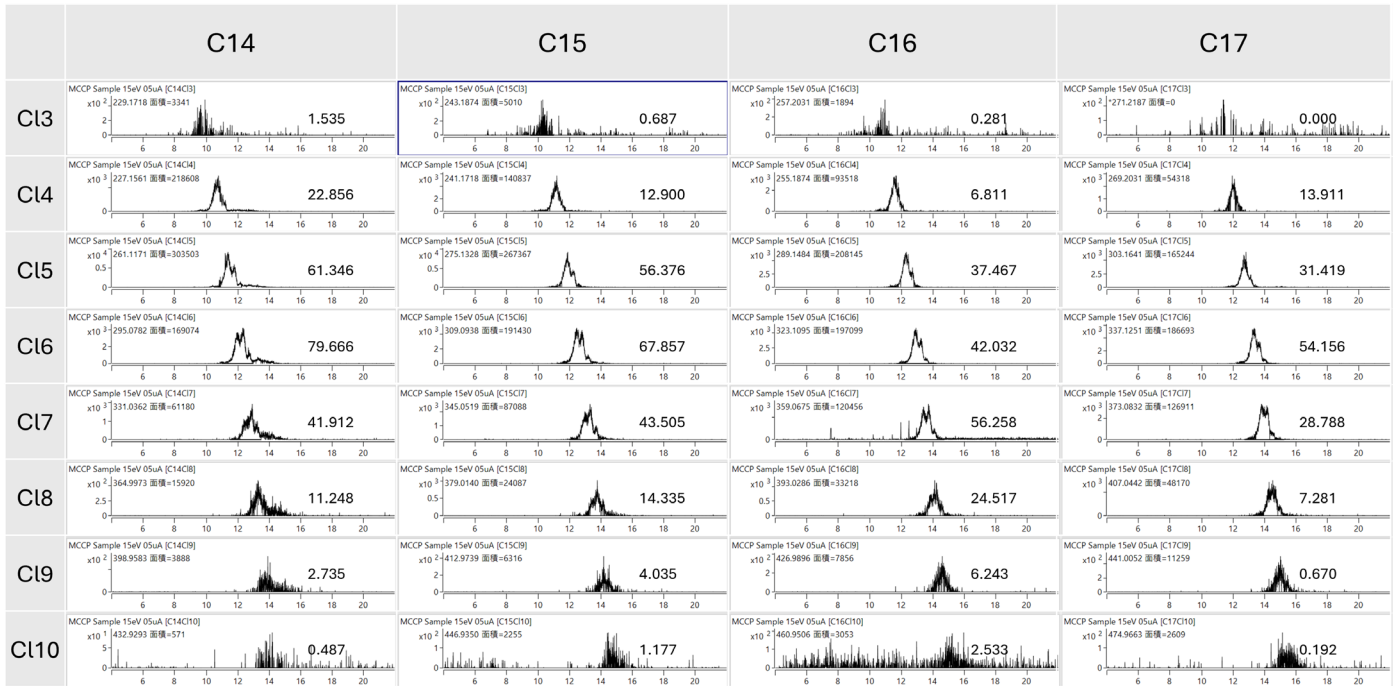


図 5. 実サンプル (0.01 mg/mL) での MCCPs のクロマトグラム (EI)

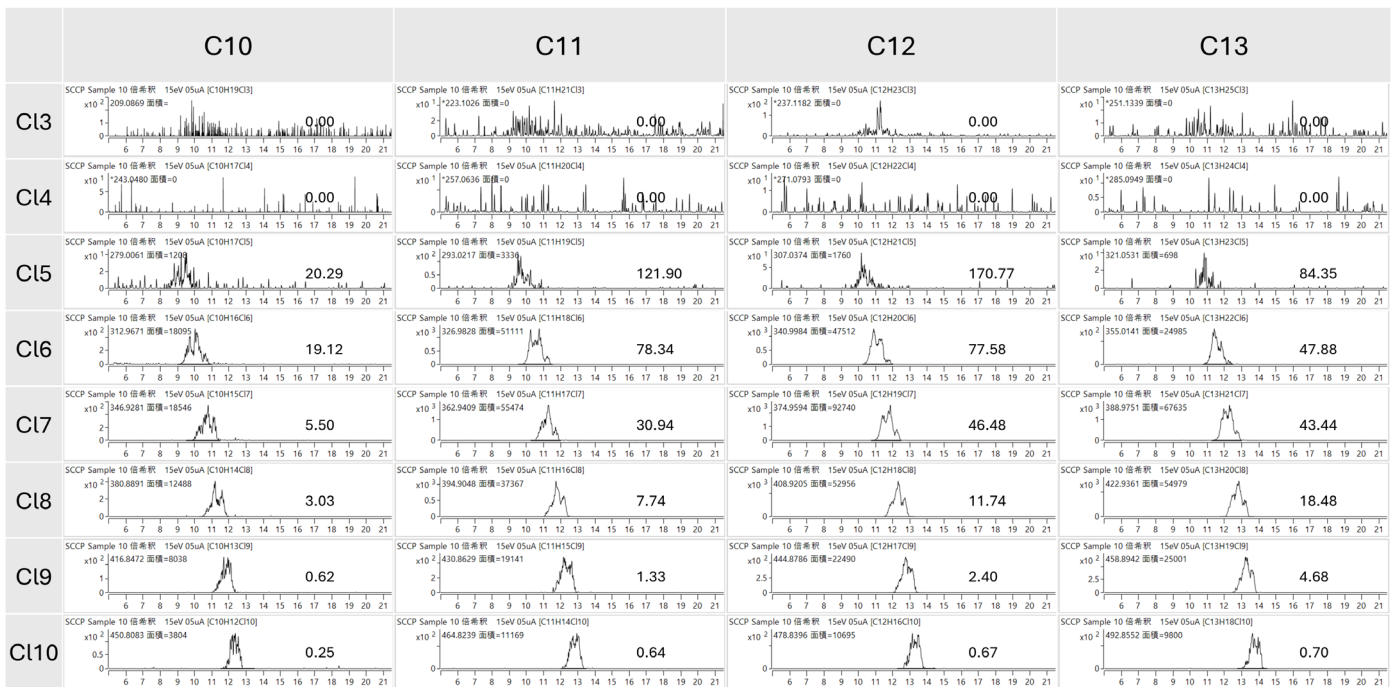


図 6. 実サンプル (0.001 mg/mL) での SCCPs のクロマトグラム (NIC)

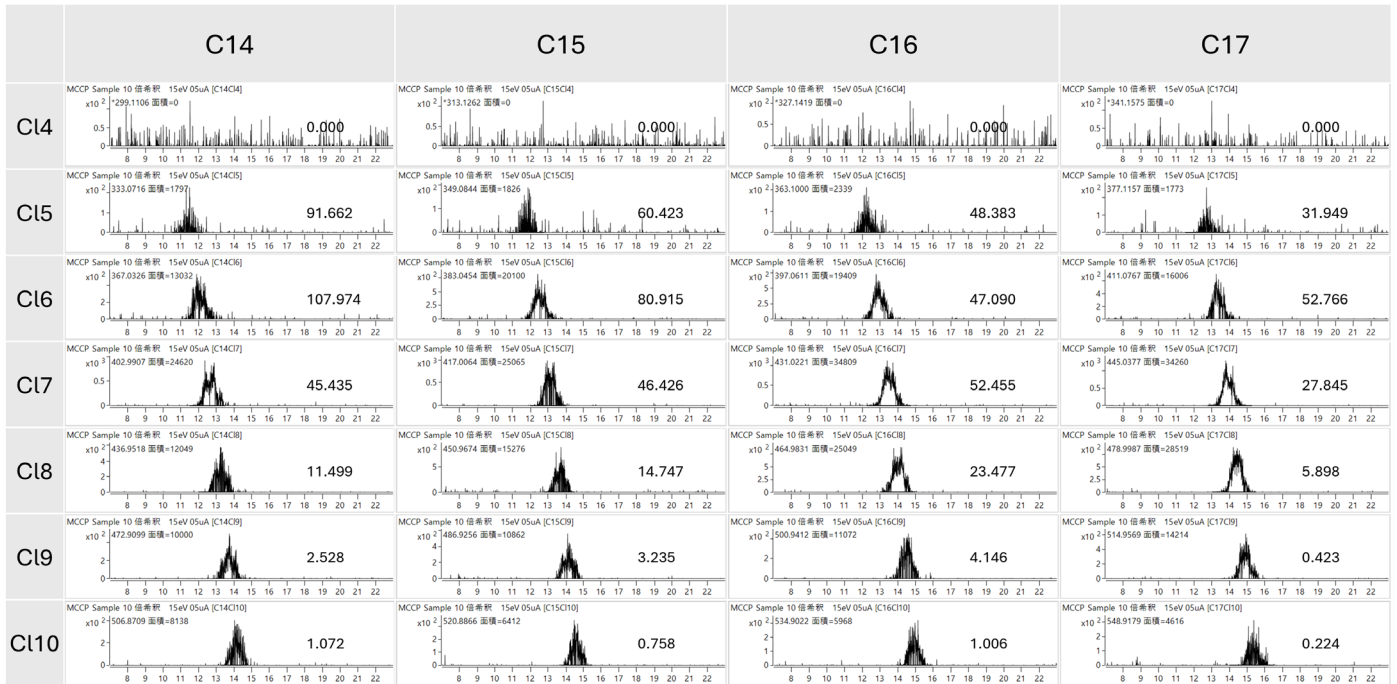


図 7. 実サンプル (0.001 mg/mL) での MCCPs のクロマトグラム (NIC)

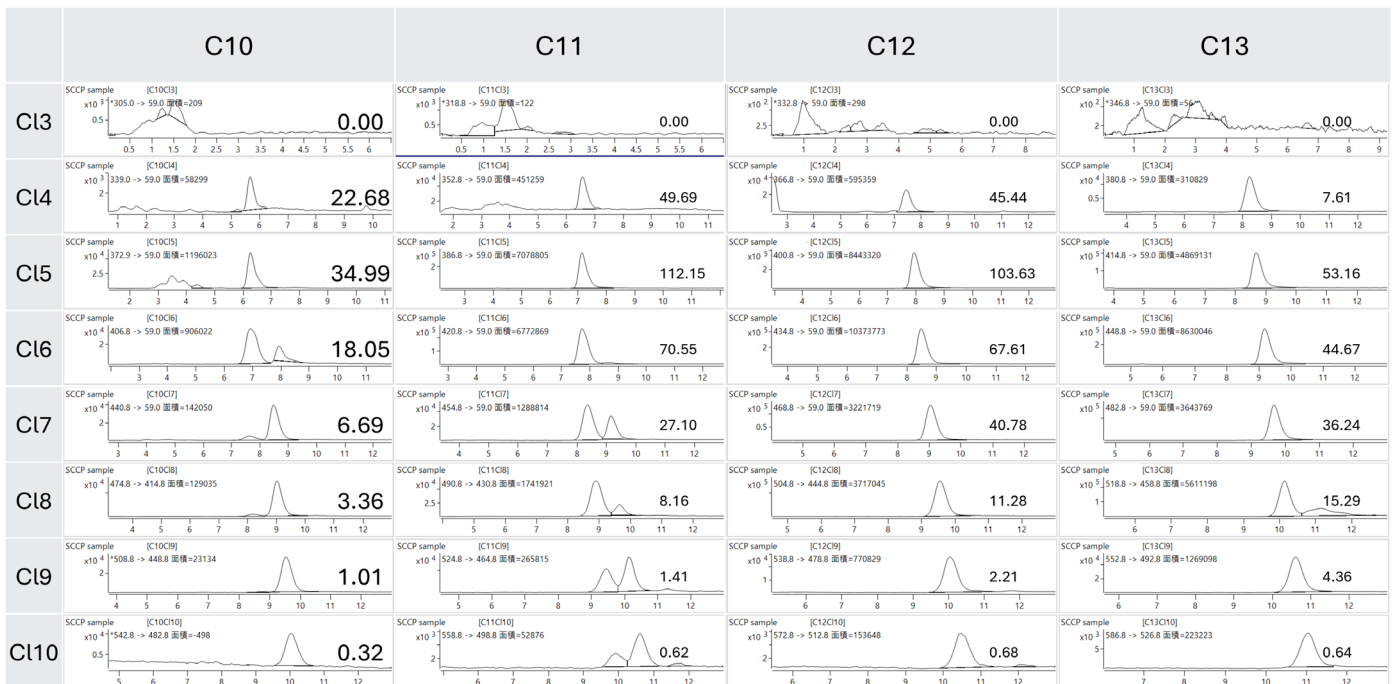


図 8. 実サンプル (0.01 mg/mL) での SCCPs のクロマトグラム (LC/MS/MS)

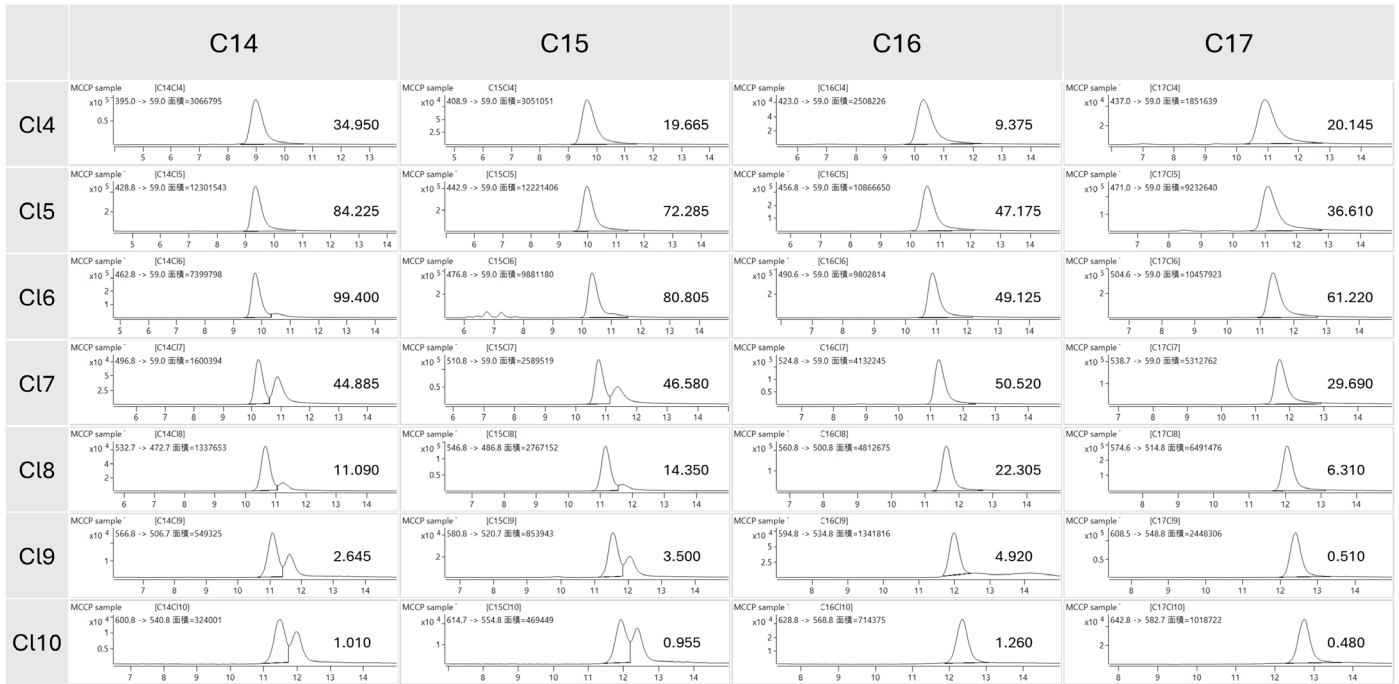


図 9. 実サンプル (0.01 mg/mL) での MCCPs のクロマトグラム (LC/MS/MS)

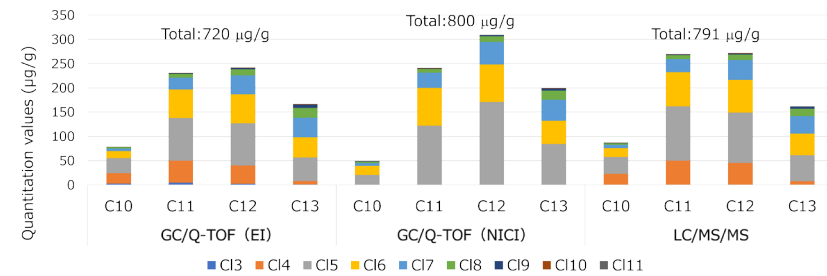


図 10. 実サンプルの定量結果 (SCCPs)

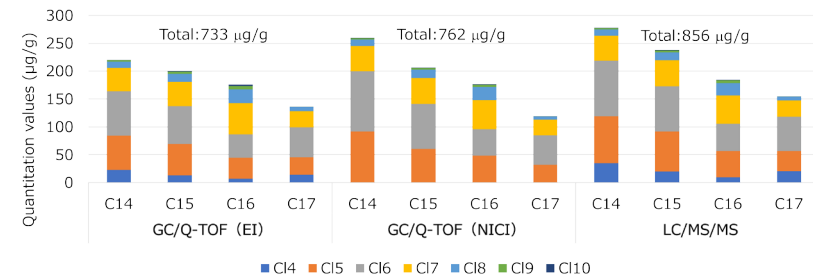


図 11. 実サンプルの定量結果 (MCCPs)

結論

Agilent 7250 GC/Q-TOF と 6495C LC/MS/MS で塩素化パラフィンの分析を検討したところ、抽出試料においてどちらの装置でも同じように定量できることがわかりました。

LC/MS/MS ではピークが単純化するため、抽出した試料の定量は比較的容易にできると考えられます。

GC/Q-TOF ではサーマルセパレーションプローブ³⁾などのオプションが取り付けられるため、樹脂などの固体を直接測定することもできる可能性があります。

どちらの装置でもほぼ同じように定量ができるため、状況に応じてGC/MS、LC/MSを使い分けて分析ができると考えられます。

謝辞

本アプリケーションノートの作成にあたり、国立研究開発法人産業技術総合研究所 物質計測標準 羽成修康様に試料のご協力をいただきましたので、ここに記して感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 笠松ら、第 29 回環境化学討論会要旨集、WO-009
- 2) Matsukami et al. (2020), Chemosphere
- 3) <https://www.chem-agilent.com/contents.php?id=1002095>

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-006194

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2025
Printed in Japan, April 28, 2025
5994-8393JAJP