

GC-MS用AEIイオン源を用いた、化合物同定を目的としたマススペクトルマッチングの比較分析

著者

Amit Gujar,¹ Tim Anderson,¹
Daniela Cavagnino,² and Amy Patel¹

¹Thermo Fisher Scientific,
Austin, TX, USA

²Thermo Fisher Scientific, Milan, Italy

キーワード

ガスクロマトグラフィー-質量分析、GC-MS、ISQ 7000、advanced electron ionization、AEIイオン源、ライブラリマッチ、NIST、Wiley、スペクトルマッチング、化合物同定

目的

Thermo Scientific™ Advanced Electron Ionization (AEI) イオン源を使用して得たイオンスペクトルのスペクトルマッチングを、市販のライブラリのリファレンスマススペクトルに対して評価する。

はじめに

電子イオン化 (EI) モードによるシングル四重極GC-MSは、汎用的な技術として、特に環境モニタリングや食の安全、法医学および毒物、医薬品、産業分析などの幅広いアプリケーションに長い間使用されてきました。GC-MSは、「既知の化合物」と「未知の物質」のどちらの分析に対しても定性的および定量的な分析ツールです。GC-MSによる未知の物質の分析は、ユーザーによるマススペクトルの解釈に加えて、市販のマススペクトルライブラリ (NIST™、Wiley™など) に対するスペクトルマッチを使用した化合物同定に頼ることがよくあります¹。EIマススペクトルのフラグメンテーションパターンをスペクトルマッチングによりライブラリのリファレンスマススペクトルと比較し、最良の (フォワードまたはリバース検索) マススペクトルマッチングスコア (999が完全一致) に基づいて、もっとも可能性の高い分子のリストが作成されます²。

Thermo Scientific ISQ™ 7000シングル四重極質量分析計は、AEIイオン源を用いて構成できます。AEIイオン源は、GCキャピラリーカラムから溶離する化合物のイオン生成量を高めるよう、特別に設計されています。これにより、最終的に機器の感度が向上します。AEIイオン源は、粒子線加速磁場およびイオン化ビームと同一方向のフィラメントを利用し、電子の静電ミラーリングとともに、イオン源内で生成されるイオンの収量を大幅に増やします³。

最大限の感度を得るためにEIモードで使用される電子エネルギーは70 eVです。このため、市販のほとんどのライブラリのスペクトルは、このエネルギーで取得されています。ほとんどの分子のイオン化効率率は10~20 eVで指数的に増加し、その後、生成されるフラグメントイオンは35 eV付近で一定になります⁴。40 eV超での電子イオン化では非常に再現性の高いスペクトルが生成され、安定した分子フィンガープリントが得られることがよく知られています⁵。AEIイオン源では、電子エネルギーを45 eVに設定した場合にイオン生成量が最適となります。

一方で、NISTの文書に記載されている、NIST MSデータベースに寄与するための最低許容基準によれば、「同位体比が大きくゆがめられないような条件下で20 eV以上の電子イオン化を取得する…」必要があります⁶。したがって、NISTライブラリ検索に必要とされる条件として、70 eV以外の電子エネルギー（ただし20 eV以上）を用いることは問題ありません。

AEIイオン源の感度向上の例を図1に示します。35~550 Daの質量範囲をフルスキャンモードで取得したテルブチラジン10 pgのオンカラムでは、Thermo Scientific ExtractaBrite™イオン源のような従来のイオン源で得られるシグナルの10倍を超える面積カウントの増加が認められました。

このテクニカルノートの目的は、最適なイオン化子電圧で作動させたAEIイオン源を用いて得たEIマスペクトルのスペクトルマッチングが、市販のリファレンスマスペクトルよりも優れていることを実証することです。

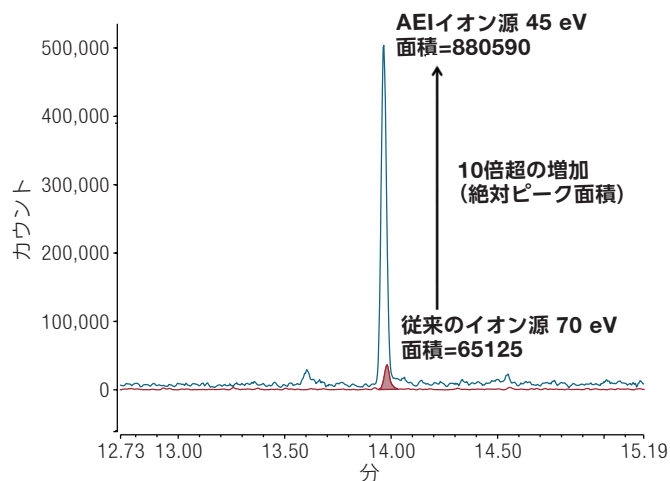


図1：AEIイオン源によりオンカラムのテルブチラジン10 pgの感度が従来のイオン源より向上した例（35~550 Daフルスキャン）

実際には、化合物の最適な同定とは、多くの場合、単に測定したスペクトルとライブラリリファレンスペクトルの良好な適合を表す類似性スコアが最高であるものです。このため、マスペクトルマッチングの解釈に、表1のNISTライブラリガイドラインを使用しました²。

表1 NISTライブラリガイドライン

一致係数 (SI) または 逆一致係数 (RSI) の閾値	質量 スペクトルマッチ
900以上	Excellent (優れている)
800~900	Good (良い)
700~800	Fair (まあまあ)
<600	Poor (不十分)

GC-MSでの分析頻度が高い三つの分類（半揮発性有機化合物、農薬、テルペン類）の化合物を試験しました。

実験

試料

半揮発性有機化合物

分析前に、Restek™ 8270 MegaMix™標準品をジクロロメタンで10 ppmに希釈しました。

農薬

2種の多成分残留農薬標準品（有機塩素化合物#2、Restekカタログ番号32564および有機リン化合物#5、Restekカタログ番号32567）を、分析前にトルエンで2 ppmに希釈しました。

テルペン類

個々のテルペン標準品は、Santa Cruz Biotechnology, Inc. (米国テキサス州ダラス) から入手し、分析前にヘキサンで10 ppmに希釈しました。

AEIイオン源およびExtractaBrite EIイオン源を搭載したISQ 7000シングル四重極GC-MSは、これらの標準品混合物の分析に使用されています。取得したフルスキャンスペクトルは、市販のMSライブラリと比較され、一致しています。

マススペクトルライブラリ

半揮発性化合物および多成分農薬の検討には、NIST 17 マススペクトルライブラリ (mainlib) を使用しました。テルペン類の検討には、WileyのFlavors and Fragrances of Natural and Synthetic Compounds (FFNSC) (第2版) をNIST 17ライブラリと併せて使用しました。

GCおよびMS条件

これらの実験に使用した一般的な条件を表2に示します。データはフルスキャンモードで取得し、Thermo Scientific Dionex™ Chromeleon™ 7.2 クロマトグラフィーデータシステム (CDS) ソフトウェアで処理しました。

表2: GCおよびMSのパラメーター

Thermo Scientific TRACE™ 1310 GCシステム	
カラム:	Thermo Scientific TraceGOLD™ TG-5ms GCカラム、30 m ×0.25 mm×0.25 µm (P/N 26098-1420)
ライナー:	Thermo Scientific LinerGOLD™スプリットレスライナーシングルテーパー、ウール付き、内径4 mm、78.5 mm長さ (P/N 453A0924)
SSLモード:	スプリット (スプリット比は多様)
注入口温度:	300℃
セプタムパージ流量:	5.0 mL/分
キャリア流量:	1.2 mL/分の定常He流
オーブンプログラム:	35℃ (2.25分)、 18℃/分で100℃まで (0.1分)、 23℃/分で280℃まで (0.1分)、 10℃/分で320℃まで (5.0分) (SVOCおよび農薬)、 35℃ (2分)、 20℃/分で250℃まで (1.0分) (テルペン類)
ISQ 7000シングル四重極GC-MSシステム	
MS取得:	フルスキャン
MSトランスファー ライン温度:	300℃
イオン源温度:	300℃
イオン化モード:	EI
電子エネルギー:	AEIイオン源 45 eV、ExtractaBriteイオン源 70 eV
エミッション電流:	50 µA
質量範囲:	35~500 Da (SVOCおよび農薬) 35~300 Da (テルペン類)
積分時間:	0.2秒

結果と考察

半揮発性有機化合物 (SVOC)

SVOCは、特に環境モニタリングの分野でGC-MSによりルーチン分析される、重要な化合物の分類です。土壌や水などのマトリックス中の環境汚染物質の確実な化合物同定には、良好なスペクトルマッチングがカギを握ります。図2に、クロマトグラフィーで分離した化合物について、AEIイオン源とExtractaBriteイオン源を使用して分析したSVOCのNISTライブラリー一致係数 (SIスコア) を示します。NISTの検索の際、両方のイオン源の一致係数は非常に近い結果となり、ほとんどの化合物のスコアは900超

(優れている一致) でした。一方、すべての化合物の一致係数は、NISTライブラリスpekトルとのpekトル一致が「良い」から「優れている」である870超でした。39種の化合物については、AEIイオン源を使用して取得したpekトル (平均一致係数929) と、ExtractaBriteイオン源を用いて得たpekトル (平均一致係数921) の間に、平均一致係数スコアの有意差は認められませんでした。図3に、NISTリファレンスpekトル (下部) と比較した、検討対象の2種のイオン源で取得したヘキサクロロブタジエンのpekトルの例を示します。どちらの場合もライブラリー一致係数は優れており、非常に類似していました (ExtractaBriteイオン源で936、AEIイオン源で938)。

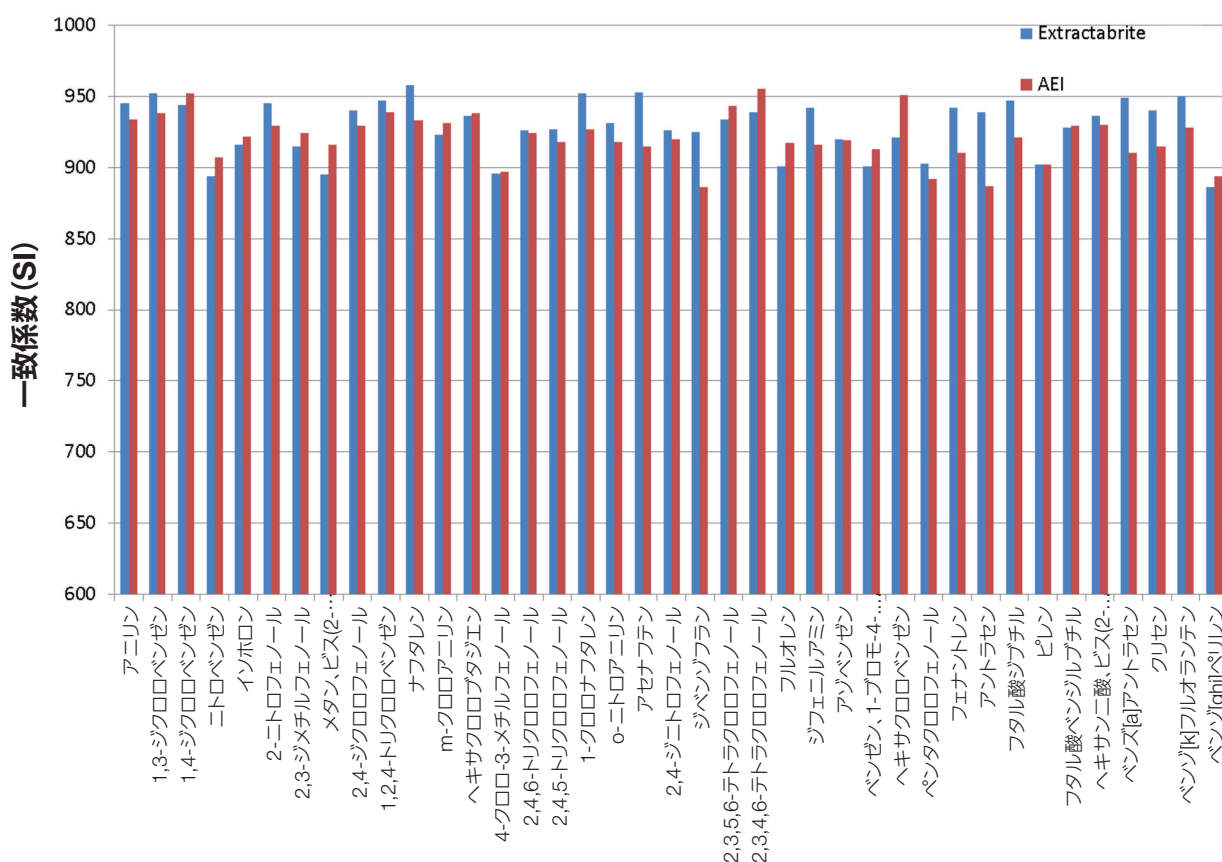


図2: 従来のEIイオン源 (ExtractaBriteイオン源) およびAEIイオン源で分析した半揮発性化合物のNIST 17質量スペクトルライブラリー一致係数 (一部を示す)

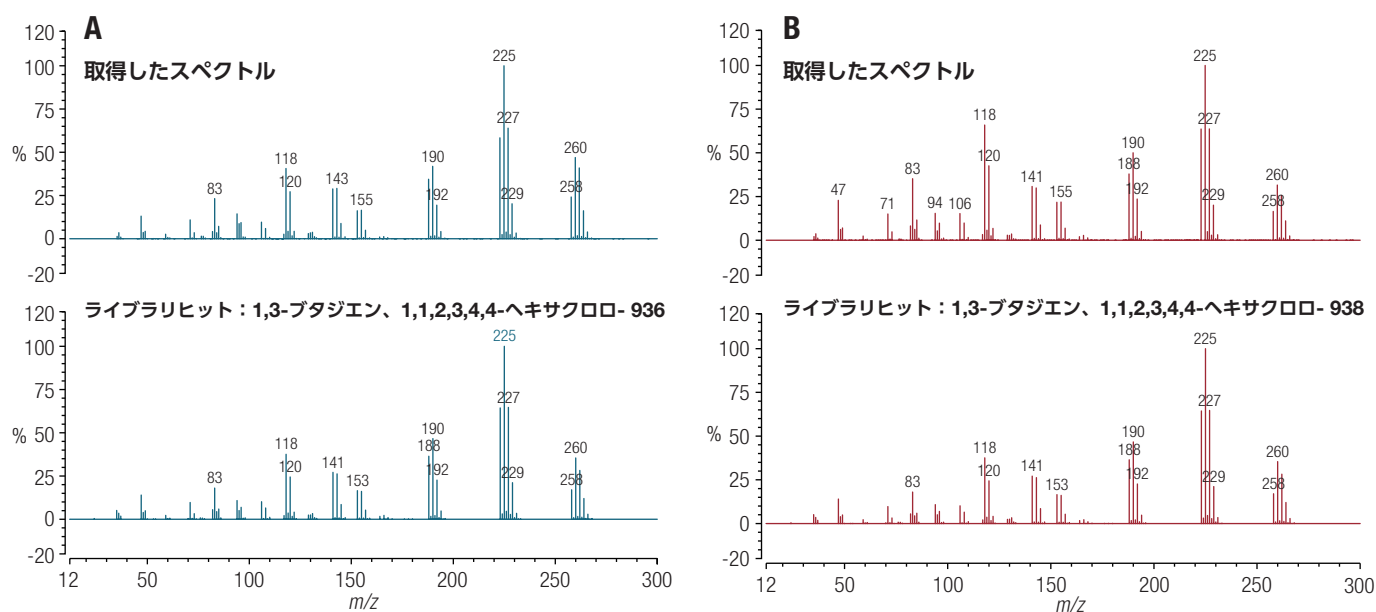


図3：(A) ExtractaBriteイオン源および (B) AEIイオン源で得たヘキサクロロブタジエンのマススペクトル

農薬

農薬は、食物および環境マトリックス中で常にモニタリングされている化合物です。図4に、さまざまな有機塩素および有機リン系農薬のNISTライブラリー一致係数を示します。NIST検索の結果から、AEIイオン源で得たマススペクトルはExtractaBriteイ

オン源で得たものに匹敵することが示され、いずれの場合もほとんどの化合物について一致係数は900超となりました。AEIイオン源について、一致係数が950超となるメタクリホスのマススペクトルの例を図5に示します。

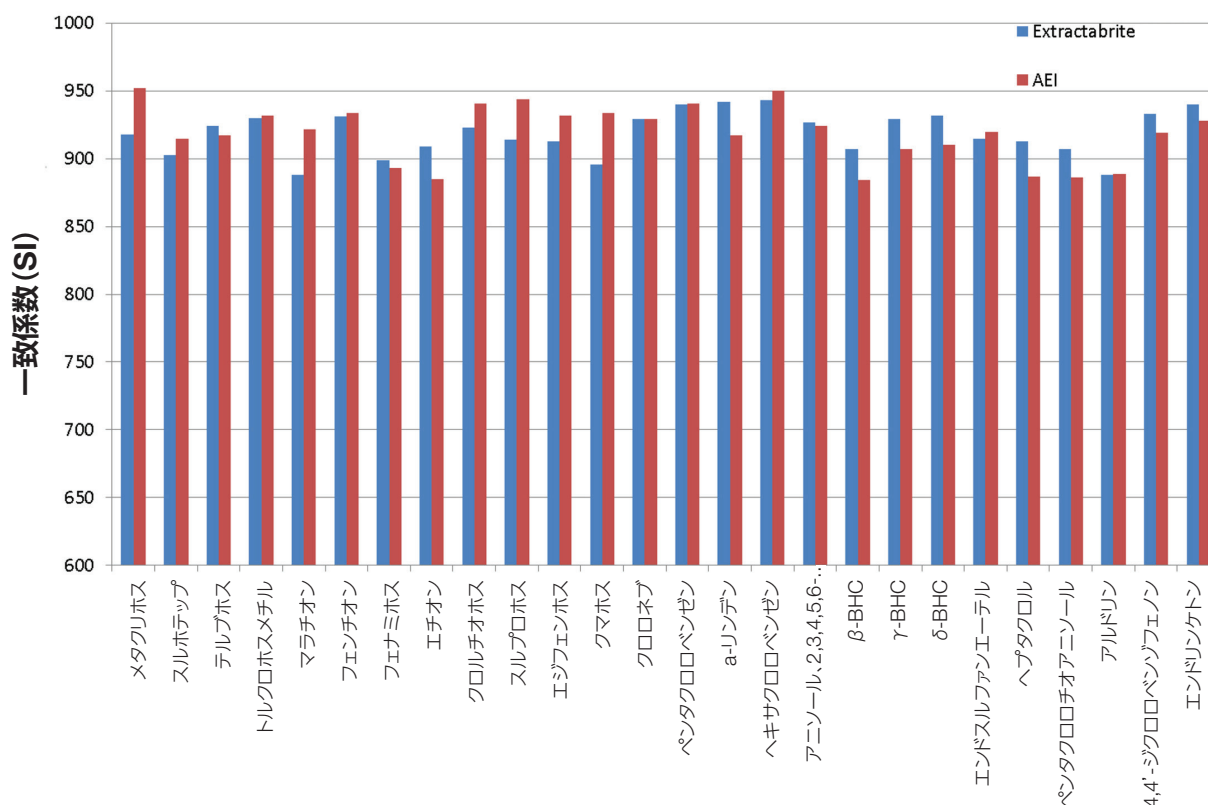


図4：ExtractaBriteイオン源およびAEIイオン源で分析した農薬のNIST 17質量スペクトルライブラリー一致係数（一部を示す）

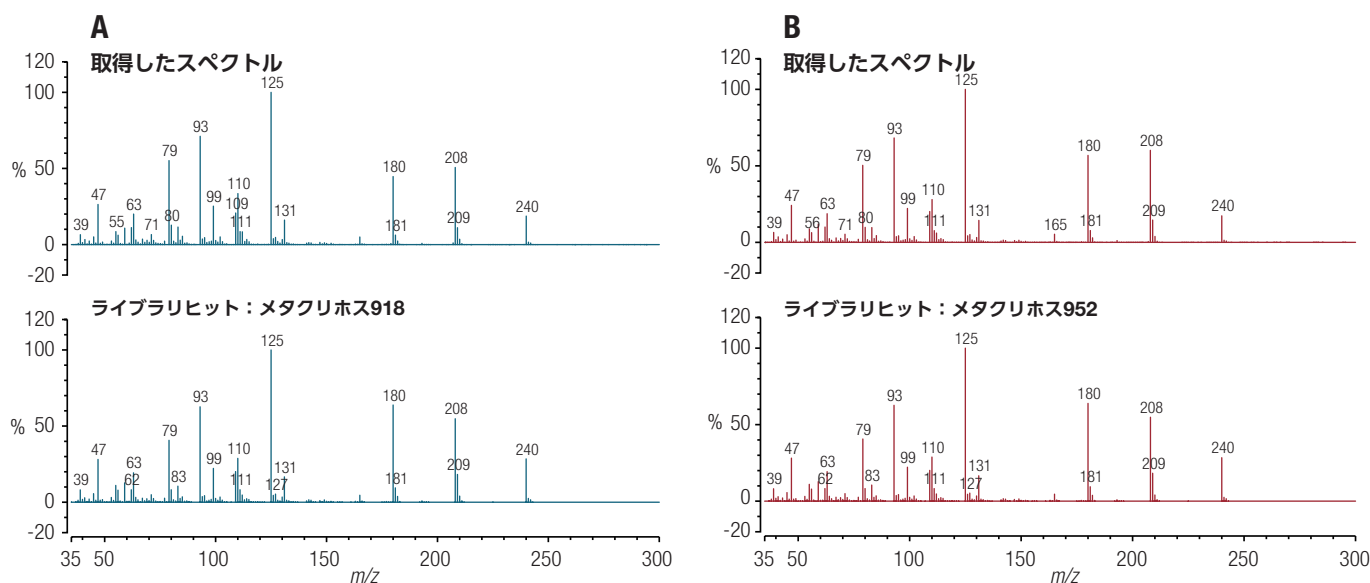


図5: (A) ExtractaBriteイオン源および (B) AEIイオン源で得たメタクリホスのマスマスペクトル

テルペン類

テルペン類の同定は、特に食品および香料産業においてGC-MSの重要なアプリケーションです。多くのテルペン類は構造が似ているため、フラグメンテーションパターンが非常によく似ており、共通のフラグメントを持っています。このため、正しいテルペンを識別し確実な化合物同定を行うには、GC-MSによるライブラリマッチングスコアが大きいたことが極めて重要です。図6に、AEIイオン源を搭載したISQ 7000システムでの個別注

入で試験した各種テルペン類のNIST一致係数 (SI) と逆一致係数 (RSI) を示します。システムに注入したすべてのテルペン類はライブラリ検索後の最初のヒットとして返され、フォワードおよびリバーススコアは900超でした。図7に、WileyのFFNSC MSスペクトルライブラリと比較したリナロールのAEIイオン源マスマスペクトルの例を示します。図8に、リナロールの16回連続注入の一致係数スコアを示します。いずれの注入も優れた再現性を示し、すべてのSIスコアは950超でした。

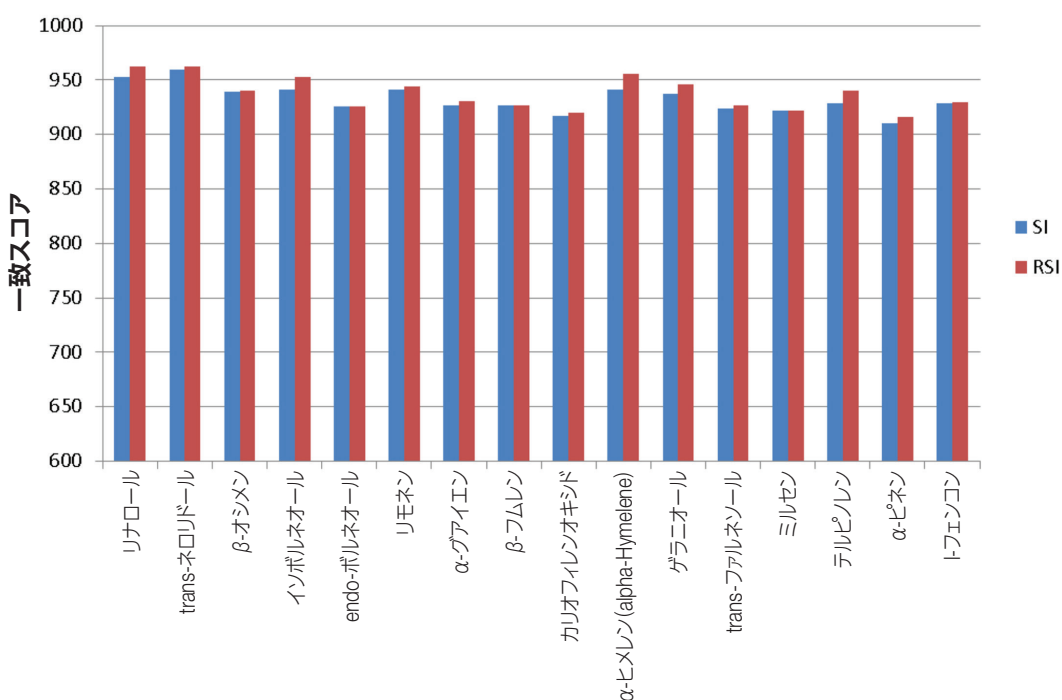


図6: AEIイオン源で分析したテルペン類のNIST 17マスマスペクトルライブラリー一致係数

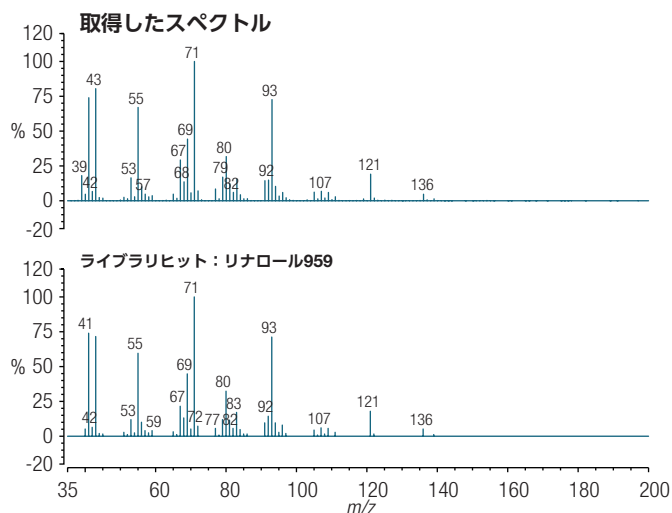


図7：リナロールのマススペクトルのフラグメンテーションパターンとWileyのFFNSC (第2版) との比較ライブラリ

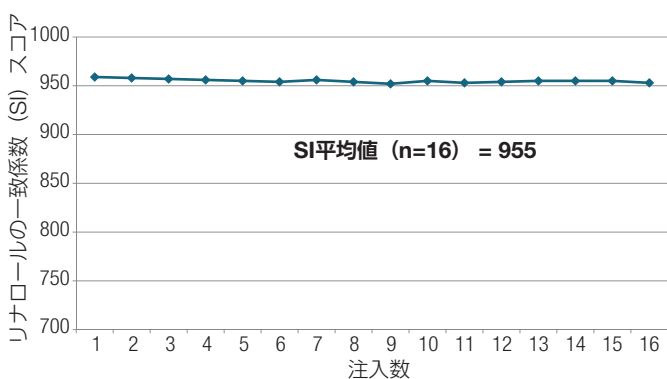


図8：AEIイオン源を使用したリナロールの一致係数 (SI) の再現性

まとめ

これらの研究の結果、以下のことが示されました。

- AEIイオン源は、従来のEIイオン源よりも高感度を得られるよう設計されています。45 eVの最適なイオン化電圧設定で、スペクトルの結果を損なうことなく最高レベルの性能を示します。

- AEIイオン源を使用して得たマススペクトルは、分析した化合物のほとんどについて「優れている」一致を示しました。分析したすべての化合物のフォワード一致スコアの最小値は870超でした。
- AEIイオン源で得たNIST一致スコアは、従来のEIイオン源で得たスコアと同等であることが判明しました。
- AEIイオン源を使用して分析した16種のテルペン類について得たスペクトル一致スコアは、WileyおよびNIST 17ライブラリに含まれるものと非常によく一致しており、いずれの場合も正しい同定を最初の「ヒット」として返しました。

以上を踏まえ、上記の結果から、AEIイオン源またはExtractaBriteイオン源を用いて構成したISQ 7000 GC-MSシステムでは、いずれの場合も非常に高品質のマススペクトルが得られることが示されました。どちらの構成でも、利用可能な市販のマススペクトルライブラリを用いたスクリーニング実験において、対象外の化合物の同定にISQ 7000 GC-MSを確信を持って使用することができます。さらにAEIイオン源により、イオン化効率が向上し困難なマトリックスへの堅牢性が拡大することで、ラボの分析能力の拡大も期待できます。したがって、AEIイオン源を用いて構成したISQ 7000 GC-MSシステムは、困難な分析ニーズに対し非常に高い感度と堅牢性が必要な場合、いつでも有効なソリューションとなります。

参考文献

1. Sparkman, O. D.; Penton, Z. E.; Kitson, F. G. *Gas Chromatography and Mass Spectrometry – A Practical Guide*; Academic Press, 2011.
2. *Basis for Interpretation of the Library Search Results*, NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 17) and NIST Mass Spectral Search Program (Version 2.3) user's guide, page 41.
3. Thermo Fisher Scientific Technical Note TN 10597: Practical determination and validation of instrument detection limit for the Thermo Scientific ISQ 7000 Single Quadrupole GC-MS system with Advanced Electron Ionization source, 2018.
4. Watson, J. T.; Sparkman, O. D. *Introduction to Mass Spectrometry*; Wiley, 2008, page 318–319.
5. Stein, S. Mass spectral reference libraries: An ever-expanding resource for chemical identification, *Anal. Chem.* **2012**, 84, 7274–7282.
6. APPENDIX 7: *Contributing EI Mass Spectra to the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library* in NIST Standard Reference Database 1A, NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 17) and NIST Mass Spectral Search Program (Version 2.3) user's guide.

© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. 無断複写・転写を禁じます。 GCMS097_A18050B
ここに記載されている会社名、製品名は各社の商標または登録商標です。
ここに記載されている内容は予告なく変更することがあります。
ここに記載されている製品は研究用機器であり、医療機器ではありません。

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

分析機器に関するお問い合わせはこちら

TEL: 0120-753-670 FAX: 0120-753-671
Analyze.jp@thermofisher.com

facebook.com/ThermoFisherJapan

@ThermoFisherJP

www.thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC