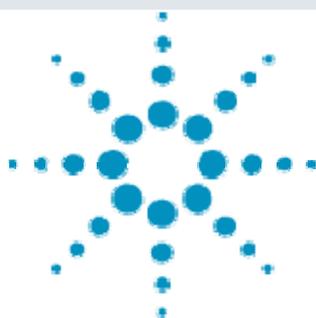


GC/Q-TOF による 未知物質の分子組成決定例



＜要旨＞ GC/MS 分析においてライブラリ検索に頼らない定性分析の需要が増えています。ライブラリ検索でヒットしない未知物質の定性には、正確な分子組成の決定が前提となります。

本アプリケーションノートでは、正イオン化学イオン化 (Positive Ion Chemical Ionization: PICI) と GC/Q-TOF の TOF および Q-TOF モードを使った未知物質の分子組成決定のテクニックについて、事例を通して紹介します。

Key Words: GC/MS、定性、分子組成、PICI、GC/Q-TOF

* * * * *

1. はじめに

GC/MS による定性分析というと、電子イオン化 (Electron Ionization: EI) で得られたマススペクトルを汎用あるいは専用ライブラリで検索することを最初に思い浮かべるかもしれませんが。GC/MS では長年にわたって蓄積されたマススペクトルライブラリが充実しているので、最初はそれを活用するのが最も効率的な手順であると言えます。しかし、現在 GC/MS がカバーする分析の範囲は非常に多岐にわたり、分野やサンプルにもよりますが、ライブラリ検索でヒットしない成分が頻繁に現れます。そうした場合、自分自身でそれを定性することが必要になることもあるかもしれません。GC/Q-TOF はそのような場面でこそ最も力を発揮できる GC/MS であると言えます。

ライブラリに登録されていない化合物を定性する場合、まずは分子組成を正確に決定することが必要です。正確な分子組成の決定無くして正しい構造推定はあり得ません。本アプリケーションノートでは GC/Q-TOF を用いた、ある脱法ハーブ抽出物中の未知成分の分子組成決定例をご紹介します。

2. 測定条件

測定条件を Table1 に示しました。

Table1 測定条件

装置 : Agilent 7200 GC/Q-TOF
注入量 : 1 μ L
カラム : DB-5ms (30m, 0.25mm, 0.25 μ m)
注入口温度 : 250°C
注入法 : スプリットレス

カラム流量 : 1.2 mL/min (He, コンスタントフローモード)
GC オープン温度 : 90°C (1min) - 20°C/min - 320°C (2.5min)
インターフェース温度 : 280°C

イオン源温度 : 230°C (EI), 200°C (PICI)
PICI ガス : 2%メチルアミン/メタン (0.5mL/min)
四重極温度 : 150°C
コリジョンガス : N₂ (1.5mL/min)

測定モード : MS (TOF), Target MSMS (Q-TOF)
測定質量範囲 : m/z 40-600 (EI, TOF), 90-600 (PICI, TOF), 20-300 (PICI, Q-TOF)
取り込み速度 : 5Hz

3. 結果及び考察

はじめに、上記測定条件で得られた保持時間 7.06 min のピークについて、EI マススペクトルを NIST 2011 ライブラリで検索しましたが、スコア 800 未満で同じようなスコアを示す化合物が多数存在し、同定には至りませんでした。そこで次に PICI マススペクトルから分子量関連イオンの確認を行うことにしました。Fig. 1 に PICI マススペクトルと確認された付加イオンを示します。

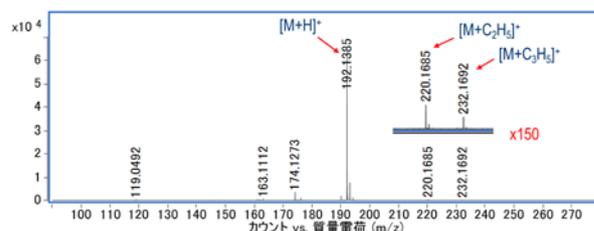


Fig. 1 未知成分の PICI マススペクトル



各付加イオンは、 $[M+C_2H_5]^+$ と $[M+H]^+$ の質量差 ($\Delta=28.0313$) および $[M+C_3H_5]^+$ と $[M+H]^+$ の質量差 ($\Delta=40.0313$) から容易に帰属されました。得られたパターンは2%メチルアミン/メタンPICIの典型的なパターンの1つで、ほぼベースガスのメタンだけが関与したカチオン付加反応で生成したと考えられます^[1]。

続いて $[M+H]^+$ で組成計算を行い、結果をTable2に示しました。計算に用いた元素はC、H、N、O、S、FおよびPです。質量誤差、同位体分布および同位体質量差を加味した結果、 $C_{12}H_{17}NO$ (スコア 96.16) と $C_9H_{18}FNO_2$ (スコア 95.54) がほぼ同スコアでヒットしました。一般にスコアが90以上の場合、それが正しい組成である可能性はかなり高いと言えます。

Table 2 組成計算結果

ベスト	式	質量 (MFG)	スコア (MFG)	DBE
1	$C_{12}H_{17}NO$	191.131	96.16	5
2	$C_9H_{18}FN O_2$	191.1322	95.54	1

$[M+H]^+$ の実測値と $[C_{12}H_{17}NO+H]^+$ および $[C_9H_{18}FNO_2+H]^+$ の理論値との相対質量誤差はそれぞれ-1.32ppm、4.63ppmでした。スコアの差と同様、この差は非常に小さなものであるため、これだけではどちらが正しい組成かを定めることはできませんでした。

そこで次にQ-TOFモードで得られた $[M+H]^+$ のプロダクトイオンについて、計算に用いる元素の種類と数をそれぞれC(12)、H(18)、N(1)、O(1) ($C_{12}H_{17}NO$) およびC(9)、H(19)、F(1)、N(1)、O(2) ($C_9H_{18}FNO_2$) に設定し、主要なプロダクトイオンの組成の帰属を試みました。帰属には相対質量誤差<10ppmという制限を設けました。結果をそれぞれFig. 2、Fig. 3に示します。

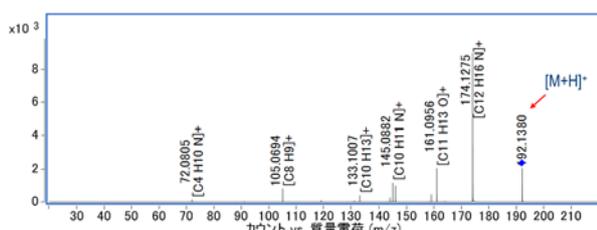


Fig. 2 分子組成を $C_{12}H_{17}NO$ と仮定した場合のPICIプロダクトイオンスペクトル中各イオンの帰属

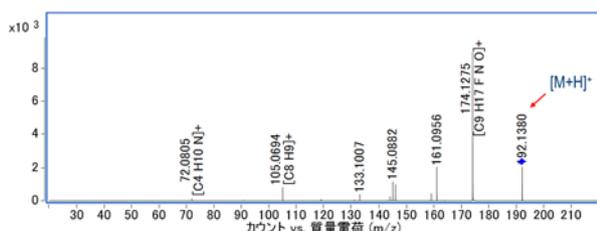


Fig. 3 分子組成を $C_9H_{18}FNO_2$ と仮定した場合のPICIプロダクトイオンスペクトル中各イオンの帰属

組成が表示されていないイオンは相対質量誤差<10ppmに該当するイオンが存在しなかったことを示します。分子組成を $C_{12}H_{17}NO$ に仮定した場合は、主要なプロダクトイオンがすべて帰属されました (Fig. 2)。一方、分子組成を $C_9H_{18}FNO_2$ に仮定した場合は、 m/z 161、145、133など、主要なプロダクトイオンのいくつかは帰属されませんでした (Fig. 3)。仮定した分子組成が真の組成であれば、プロダクトイオンもその元素および数の範囲で帰属されるはずですが、真の組成でない場合は必ずしも帰属されるとは限りません。したがって、ここで紹介した保持時間7.06 minのピークの正しい分子組成は $C_{12}H_{17}NO$ であると結論付けることができます。

このようにGC/Q-TOFでは、ソフトイオン化であるPICIと高分解能・高質量精度の測定が可能なTOFモード、さらにMS/MSであるQ-TOFモードを組み合わせることで、未知物質の分子組成を決定できる可能性が飛躍的に高まります。

PICIプロダクトイオンの代わりにEIのフラグメントイオンでも同様の確認を行うことはできますが、前提として分子組成候補がある程度絞られている必要があります、いずれにせよPICI測定は必須です。また、EIのフラグメントイオンを用いる場合は、夾雑物のスペクトルが干渉しないように十分注意を払う必要があります。その点プロダクトイオンではMS/MSの選択性が働くため、夾雑物のスペクトルの影響を受ける可能性はかなり抑えられます。稀にPICIのプロダクトイオンやEIのフラグメントイオンでは結論が出ない(仮定した複数の分子組成で主要なイオンがすべて帰属される)ケースもありますが、そのような場合はEIのプロダクトイオン(プリカーサイオンとしてフラグメントイオンを使用し、実質 MS^3 に相当)で同様の確認をしていくと、多くの場合、最終的に分子組成が判明します。

4. 参考文献

[1] [GC-MS-2014090G-001] (2014) GC/Q-TOFを用いたPICIによる未知物質の分子組成決定
Agilent Technologies Application Note

【GC-MS-2015060G-001】

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる障害について一切免責とさせていただきます。また、本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
〒192-8510 東京都八王子市高倉町9-1
www.agilent.com/chem/jp

