

GC/MS による含フッ素未知ピークの 判別方法



要旨

著者

小笠原 亮

アジレント・テクノロジー
株式会社

ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/MS）でライブラリにヒットしない未知ピークの分子組成を決定する場合、フッ素は最も厄介な元素のひとつです。フッ素が安定同位体を持たないことや、現状でフッ素選択的な GC 検出器が入手できないことなどが理由として挙げられます。

本アプリケーションノートでは Agilent 7250 四重極飛行時間型（Q-TOF）GC/MS と様々な既知の含フッ素化合物を用い、未知ピークがフッ素を含有するか否かをマススペクトルから判定する方法について検討しました。

Key word : GC/MS、フッ素、分子組成、CI、マススペクトル、TOF・Q-TOF

はじめに

有機フッ素化合物

フッ素を含む化合物は天然の有機物には極めて稀ですが、樹脂や薬品およびそれらの原料など、人工的に合成されたものは我々の生活のいたるところで利用されています。また一部の化合物は難分解性とされ、環境への影響が問題視されています。そうした理由から研究開発や品質管理、環境分析などの分野において、有機フッ素化合物は分析対象になることも多い化合物です。

GC/MSとEIマスペクトルライブラリを用いた化合物定性は非常に簡便で精度も高いためによく用いられる手法であり、一定のスコア以上でライブラリにヒットした場合には高い確率で化合物を同定することができます。しかし、NISTやWILEYに代表される膨大な収録数のデータベースを使用しても化合物がヒットしないケースは多くあります。

そのような未知ピークについては、TOFなどの高分解能MSとCIなどのソフトイオン化により分子組成を決定したうえで構造を推定することになりますが、フッ素はそれが組成に含まれるか否かを正確に判定するのが最も困難な元素の一つです。それはフッ素には安定同位体が存在しないためにマスペクトルの同位体分布パターンに特徴をおよぼしにくいこと、また硫黄における化学発光硫黄検出器（SCD）や窒素およびリンにおける窒素リン検出器（NPD）といった元素選択型GC検出器がフッ素については存在しないため、その含有を裏付ける方法が限られてしまうからです。

例えば図1は $C_{23}H_{19}NO_3^+$ (m/z 357.1359)と $C_{15}H_{20}F_5NO_3^+$ (m/z 357.1358)のマスペクトルをシュミレーションソフトウェア（分解能10,000相当）で比較した例になりますが、両者の差は1ppm未満である上に同位体分布パターンもよく似ています。これは決して特殊な例ではなく、精密質量も同位体分布パターンも似通った組成というのはいくらでも存在します。そのような中で未知ピークの分子組成を決定するには、フッ素の有無を判定できるような手法が必要です。

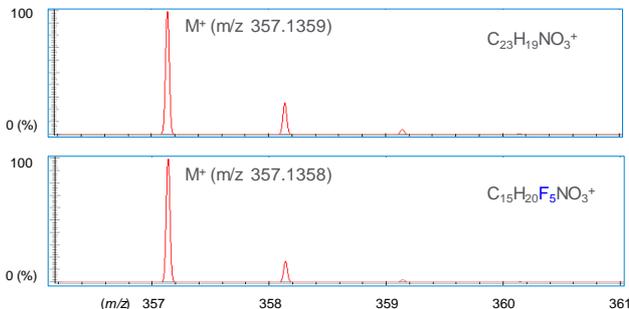


図1 $C_{23}H_{19}NO_3^+$ (m/z 357.1359)と $C_{15}H_{20}F_5NO_3^+$ (m/z 357.1358)のマスペクトルのシュミレーションによる比較

本アプリケーションノートではAgilent 7250 Q-TOF GC/MSと様々な既知の含フッ素化合物を用い、未知ピークがフッ素を含有するか否かをマスペクトルから判別する方法について検討しました。

実験方法

サンプル

フッ素を含有する分子量110~574 uの54化合物の標準品をアセトンまたはヘキサンで溶解して100ppmに調製し、測定サンプルとしました。含有フッ素数は1つ-18化合物、2つ-5化合物、3つ-17化合物、4つ-1化合物、5つ-5化合物、6つ-3化合物、7つ-1化合物、17つ-4化合物です。

測定条件

測定条件を表1に、イオン源温度条件については別途表2に示します。Q-TOF GC/MSのTOFモードを用い、イオン化法はEI、正イオン化学イオン化法 (PICl)、負イオン化学イオン化法 (NICl) について検討しました。CI試薬ガスにはメタンを用いました。EIではフッ素由来のフラグメントイオンである HF^+ に、NIClでは F^- に注目しました。PIClではアニオン脱離反応で生じる $[M-F]^+$ に注目しました。対象が未知ピークの場合、 $[M-F]^+$ はプロトン付加分子 $[M+H]^+$ との質量差から同定することになるため、 $[M+H]^+$ の生成・同定も必須条件となります。

その他、Q-TOFモード(MS/MS)や他のPICl試薬ガスでも予備検討を行いました。

表1 測定条件

装置	
ガスクロマトグラフ	Agilent 7890B
オートサンブラ	Agilent 7693A
質量分析計	Agilent 7250
条件	
カラム	HP-5ms, 30m x 0.25mm ID x 0.25 μ m (P/N: 91091S-433)
注入量	1 μ L
注入モード	スプリット (1:10~1:100) (化合物・測定モードにより適宜変更)
注入口温度	200°C
オープン温度プログラム	35°C (3min) - 25°C/min - 250°C
キャリアガス	ヘリウム
キャリアガス流速	1.0mL/min (一定)
トランスファーライン温度	250°C
イオン化モード	EI, PICl, NICl
C試薬ガス	メタン, 1.0mL/min (PICl), 2.0mL/min (NICl)
四重極温度	150°C
測定モード	TOF

表2 各イオン化におけるイオン源温度

イオン化法	イオン源温度 (°C)	注目するイオンなど
EI	350	HF^+ (m/z 20.0057)
	230	出現頻度の高い含フッ素フラグメントイオン
NICl	350	F^- (m/z 18.9990)
PICl	180	$[M-F]^+$ ($[M+H]^+$ との質量差 (20.0062 u))

結果と考察

イオン化法

テストした各イオン化法で最も良い結果が得られたのはPICIで、54化合物中53化合物について[M-F]⁺を確認できました。一方、EIでHF⁺を確認できた化合物は32化合物、NICIでF⁻を確認できた化合物は16化合物でした。なお、EIおよびNICIでは装置のキャリブントとして用いるPerfluorotriethylamine (PFTBA, C₁₂F₂₇N) およびPerfluoro-5,8-dimethyl-3,6,9-trioxidodecane (PFDTD, C₁₁HF₂₃O₃)が残存している状況においてはその干渉を受ける場合があり、特にNICIでは直前にキャリブレーションを行わないなどの注意が必要でした。その点においてもキャリブントの干渉の心配がないPICIは有利でした。

メタンPICIマススペクトル

得られたメタンPICIマススペクトルの代表例をいくつか紹介します。図2のPerfluorooctylethyl acrylateのようなパーフルオロ化合物では、[M-F]⁺は容易に確認できました。

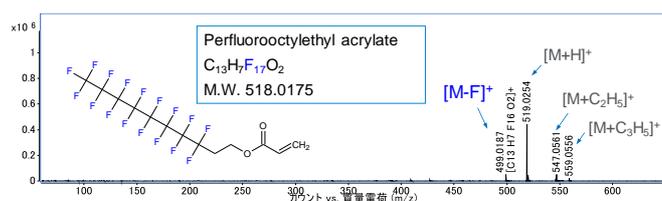


図2 Perfluorooctylethyl acrylateのメタンPICIマススペクトル

また、図3のFlumioxazinのように含有フッ素数が1~2つの化合物では総じて[M-F]⁺の相対強度は弱いものの、予想されるm/z 範囲を拡大すればほとんどの化合物で[M-F]⁺を明確に確認することができました。

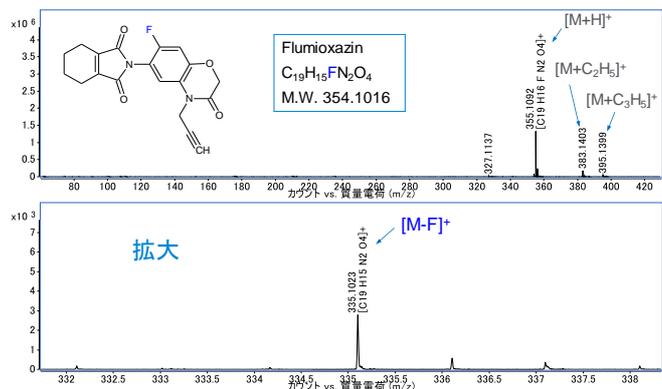


図3 FlumioxazinのメタンPICIマススペクトル

[M-F]⁺の相対強度は必ずしも含有フッ素数に比例するわけではなく分子構造にも依存しますが、概ね含有フッ素数の多い化合物ほど[M-F]⁺の相対強度が大きい傾向がありました。

[M-F]⁺が同一化合物由来の他のフラグメントイオンの干渉を受ける可能性はあまり高くはないと考えられますが、一部の化合物ではそうした例が見られました。図4に示したようにMethyl 2-fluorobenzoate では[M-F]⁺のごく近傍に[M+C₃H₅-CO₂CH₄]⁺が存在します。これらのデータは約25,000の分解能で取得されているため両者は十分に分離できていますが、低分解能の測定条件ではこれらを判別することは困難です。

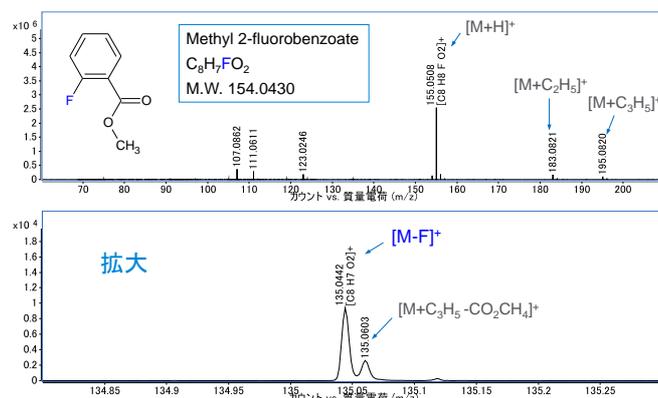


図4 Methyl 2-fluorobenzoateのメタンPICIマススペクトル

Q-TOFモード

Q-TOFモード (MS/MS) による干渉の排除の可能性について検討するために[M+H]⁺のMS/MSを行いました。[M-F]⁺を確認できた化合物数はTOFモードに比べて少数にとどまりました。MS/MSにおけるコリジョン誘起乖離ではPICIにおけるアニオン脱離反応と同様の反応は起こりにくいことや、Q-TOFモードがTOFモードに比べて選択性は勝るものの絶対感度では劣ることなどが理由として考えられます。

CI試薬ガス

PICIにおいて[M-F]⁺を生じるようなアニオン脱離反応はメタンに比べ他の試薬ガスでは起きにくいと、本件の試薬ガスとしてメタンは必須です。逆にメタンPICIの欠点としては、[M+H]⁺が得られない化合物が少なからず存在する点が挙げられます。対象が未知ピークの場合、[M-F]⁺は[M+H]⁺との質量差から求められるため、[M-F]⁺の有無を確認するためには[M+H]⁺が生成し同定される必要があります。また、[M+H]⁺以外のカチオン付加分子 ([M+X]⁺) から同様に[M-F]⁺は求められます。メタンに比べて[M+H]⁺が生成し易い試薬ガスとしてはイソブタンが、[M+X]⁺が生成し易い試薬ガスとしてはメチルアミン/メタン混合ガスが知られています (X=CH₃NH₂)。メタンPICIで[M+H]⁺が同定できない場合には、代わりにこれらの試薬ガスを用いて[M+H]⁺や[M+CH₃NH₂]⁺を同定する必要があります。

[M-F]⁺を検出できなかった例

測定した54化合物中唯一[M-F]⁺を検出できなかった Cyfluthrinの例を図5に示します。この化合物のメタンPICIマススペクトルの特徴としては[M+H]⁺の強度が非常に弱く、それに対してフラグメントイオンm/z 226 ([Fr+H]⁺とします) がベースイオンで、これは図5に示したようなフッ素を含む部分構造由来でした。[M-F]⁺は相当領域を拡大しても確認できませんでしたが(図5-拡大1)、[Fr-F]⁺は確認されました(図5-拡大2)。

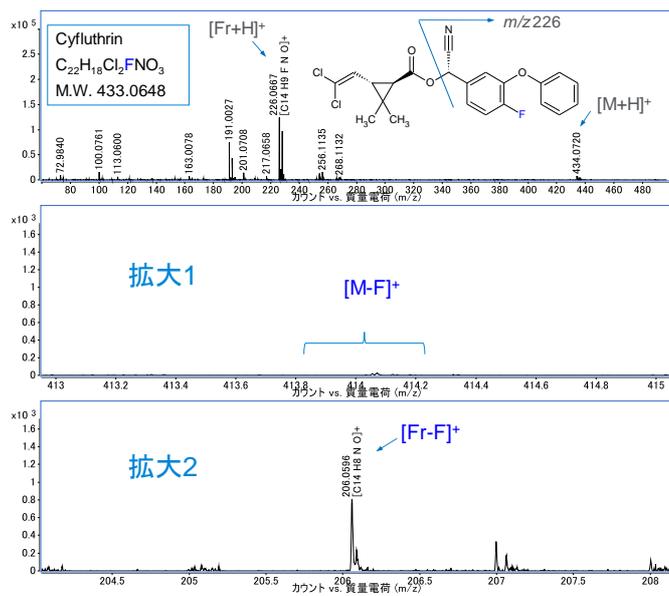


図5 CyfluthrinのメタンPICIマススペクトル(拡大1および拡大2のY軸レベルは合わせてあります)

Cyfluthrinの例から、特に[M+H]⁺の強度が非常に弱い未知ピークの場合には[M-F]⁺だけでなく主要なフラグメントイオン[Fr+H]⁺に対する[Fr-F]⁺についても確認が必要であることがわかります。さらに、その場合にはベースイオンだけでなく主要な複数のフラグメントイオンについて同様の確認をする必要があります。仮に未知ピークがフッ素を含有していたとしても、ベースフラグメントイオンがたまたまフッ素を含まない部分構造由来であった場合には[Fr-F]⁺は検出されないからです。取りこぼしを防ぐためには主要な複数のフラグメントイオンについて[M-F]⁺を確認することが推奨されます。

出現頻度の高い含フッ素フラグメントイオンの検出

ここまでは汎用的な含フッ素化合物判定方法について述べてきましたが、フッ素を含む構造には比較的出現頻度が高いと考えられる構造があります。それらについては、由来するフラグメントイオンを直接探索することで簡単に有無がわかります。この場合のイオン化には通常のEIが適しており、感度的に有利です。GC/MSの定性分析では最初にEI測定を行なってライブラリ検索にかけるのが一般的な流れであり、そのデータを用いることができます。

例えばパーフルオロアルキル基 (CF₃(CF₂)_n-)を持つ化合物の場合、CF₃⁺(m/z 68.9947)は必ず検出されます。同様にジフルオロメチル基 (CHF₂-)を持つ化合物ではCHF₂⁺(m/z 51.0041)が、モノフルオロベンジル基 (C₆H₄F-)を持つ化合物ではC₆H₄F⁺(m/z 95.0292)が検出されます。これらのイオンは今回測定した該当化合物において例外なく検出されましたが、イオン強度は他の官能基の有無や化合物構造の影響を受けるため、その点は注意が必要です。また、一般にEIではm/z 50~100の領域は様々なフラグメントイオンが生成してスペクトルが干渉を受けやすいので、十分な分離を得るためには高分解能が必須です。図6にDithiopyrの例を示します。CF₃⁺およびCHF₂⁺がそれぞれ検出されていますが、近傍に複数の干渉スペクトルが存在することがわかります。

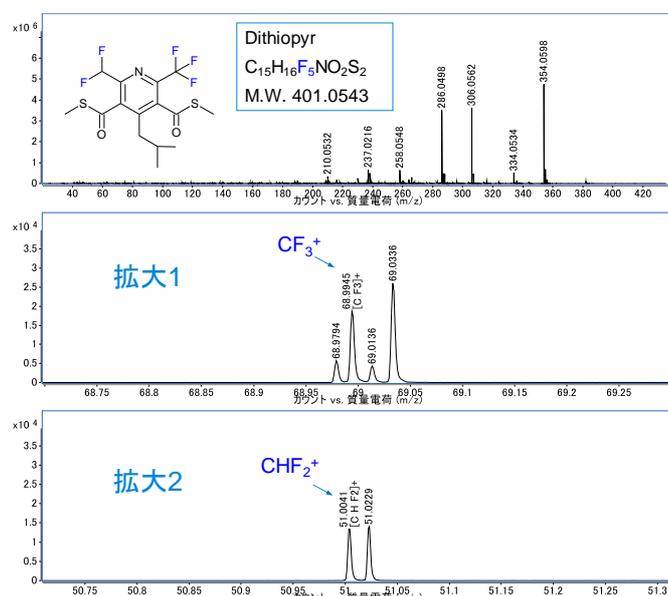


図6 DithiopyrのEIマススペクトル(拡大1および拡大2のY軸レベルは合わせてあります)

結論

GC/MSで含フッ素未知ピークを判別するためには次の方法・手順が有効であると考えられます。尚、擬陽性を避けるためには25,000以上程度の質量分解能が推奨されます。

1. EIのTOFモードで得られたマススペクトル中にCF₃⁺、CHF₂⁺、C₆H₄F⁺などの出現率の高い含フッ素フラグメントイオンの有無を確認する
2. メタンPICIのTOFモードで得られたマススペクトル中に[M-F]⁺、さらに主要な複数のフラグメントイオンについて[Fr-F]⁺の有無を確認する

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

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。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2021

Printed in Japan, February 2, 2021

DE44230.9850231481

GC-MS-2021020G-001

