

水素キャリアガスおよび Agilent HydroInert イオン源を用いた GC/MS による エッセンシャルオイルの定性分析



著者

Bruce D. Quimby
Agilent Technologies, Inc.

概要

ヘリウム (He) の価格高騰や供給の不安定化への懸念が続いており、ガスクロマトグラフィー/質量分析 (GC/MS) メソッド用の代替キャリアガスを探すラボも多くなっています。このアプリケーションノートでは、エッセンシャルオイル中の香料・香気成分の定性分析に使用される一般的な GC/MS メソッドでの、ヘリウムから水素 (H_2) への切り替えについて説明します。Agilent 8890 GC と Agilent 5977C GC/MSD システムを組み合わせて、水素オペレーションに最適化された新しいイオン源である Agilent HydroInert イオン源および水素キャリアガスとともに使用しました。HydroInert イオン源は、従来のほとんどの電子イオン化 (EI) イオン源とは異なり、水素を使用した場合に、香料成分に対して優れた質量スペクトル忠実度を実現します。化合物同定の信頼性をさらに高めるために、Agilent MassHunter Unknowns Analysis ソフトウェアのデコンボリュートした質量スペクトルと線形リテンションインデックス (RI) を、NIST23 質量スペクトルライブラリと照合して検索しました。Agilent メソッドトランスレータツールを使用することにより、一般的なヘリウムメソッドと比較して分析を 2.5 倍高速化できる、水素用のカラムとクロマトグラフィー条件を選択しました。水素キャリアガスを使用したシステムは、機器の構成と使用条件を適切に選択することにより、ヘリウムを使用したシステムと同等の結果を生み出すことができると同時に、分析時間を大幅に短縮します。

はじめに

エッセンシャルオイルは、食品と食品以外の両方の一般消費財において、香料・香気成分の発生源として広く使用されています。エッセンシャルオイルには、何百種類ものテルペンやテルペノイド化合物が含まれている場合があるため、その品質管理分析は、長い間困難であるとされてきました。これに対処するため、一般的に高分離能キャピラリー GC と MS を組み合わせたメソッドが使用されてきました。取り込んだ質量スペクトルを、香料・香気成分のライブラリと照合して検索することにより同定を行うことができますが、多くの化合物、特に異性体が類似したスペクトルを示すため、通常これでは不十分です。このため、より信頼性の高い同定を行うために、多くの場合、スペクトル照合を補完するものとして RI が使用されます。未知化合物に対して測定された RI は、スペクトルライブラリ検索の結果と組み合わせて使用され、同定のための最良の候補を決定します。

このアプリケーションノートでは、エッセンシャルオイル中の香料・香気成分の定性分析に使用される一般的な GC/MS メソッドでの、ヘリウムから水素への切り替えについて説明します。次に、この 2 つのメソッドを、ブラジル原産のオレンジ油と橙花油という、2 種類の一般的なエッセンシャルオイルの分析に適用して、比較します。スペクトル忠実度を維持するために最適なイオン源を決定するために、異なる EI イオン源コンポーネントを使用して、水素メソッドを詳細に評価しました。

ヘリウムキャリアガスから水素キャリアガスにメソッドを変換するには、カラムの選択、カラム流量、注入量、温度プログラム速度などのクロマトグラフィーパラメータを考慮する必要があります¹。さらに、カラム流量と MS イオン源の構成の MS パラメータを考慮することも重要です。このような考慮事項とパラメータはすべて、『Agilent EI GC/MS 機器でのヘリウムから水素へのキャリアガス切り替えユーザーガイド』に記載されています¹。

水素メソッドのクロマトグラフィーパラメータを決定する際には、次のような点を考慮したメソッドを推奨します。

- 流量を正確に制御するために、十分に高い注入口圧力が得られるカラム寸法
- オリジナルのヘリウムメソッドと同等のクロマトグラフィー分離能
- オリジナルのヘリウムメソッドと同じ分析対象物溶出順序の維持
- 使用するカラム径に対して最適に近いカラム流量の使用
- MS イオン源の感度に対して最適に近いカラム流量の使用

Agilent メソッドトランスレータツール^{2~4} は、このプロセスを大幅に簡略化するために設計されたカリキュレータです。このアプリケーションノートでは、このツールを使用しました。

MS パラメータについては、MS のレスポンスを最大にするために、カラム流量を約 0.8 ~ 1.4 mL/min の最適範囲内またはその近くに維持する必要があります。もう 1 つの重要な考慮事項は、MS EI イオン源のハードウェアの選択です。一部の分析対象物はイオン源内の水素と反応して、イオン比やスペクトルが変化するため、ライブラリ一致スコア (LMS) が低下し、誤同定につながる可能性があることが懸念されます。Agilent 5977 シリーズ GC/MSD システムで使用されている Agilent 不活性エクストラクタイオン源では、以前は直径が 9 mm と大きいエクストラクタレンスをすることにより、この影響を低減してきました。しかし、ニトロ化合物、一部のテルペンやテルペノイドなどの多くの化合物が依然として反応を示すため、この問題には部分的にしか対処できませんでした。このため、アジレントでは、このような反応を大幅に低減または除去する、Hydrolnert イオン源を開発しました^{5, 6}。Hydrolnert イオン源の有効性を評価するために、標準の 3 mm 不活性エクストラクタイオン源を使用したヘリウムメソッドと、デフォルトで 9 mm レンズが搭載された標準の Hydrolnert イオン源を使用した水素メソッドにおいて、2 種類の油の定性分析を実施しました。さらに、比較のために、3 mm と 9 mm 両方のエクストラクタレンスを備えた従来の不活性エクストラクタイオン源と水素メソッドを使用して、これらの油を分析しました。

次の考慮事項は、データファイルをどのように処理して各油成分の質量スペクトルを取得し、ライブラリと照合して検索するかということです。以前は主に、ピークの頂点または平均スペクトルを取得してから、ピークの横で取得したベースラインスペクトルを減算することにより、この処理を実行していました。その後、結果として得られたスペクトルを、スペクトルライブラリと照合して検索していました。このプロセスは、比較的適切に分離された数個のピークを処理する際には効果的ですが、ピークが多数存在する場合やピークが重なり合っている場合には、対応できなくなってしまいます。

幸いなことに、現在では、Agilent MassHunter Quantitative Analysis ソフトウェアスイートの一部で、Agilent MassHunter Unknowns Analysis (MHUA) と呼ばれる、質量スペクトル同定のための強力なソリューションがあります。MHUA は、スペクトルをデコンボリユートして、重なり合った複雑なピークのスペクトルからクリーンな分析対象物スペクトルを抽出します。デコンボリユーションおよびライブラリ検索プロセスは自動化されており、ファイルサイズ、ライブラリサイズ、コンピュータのハードウェアなどによって異なりますが、1 データファイルあたり約 1 ~ 8 分の時間を要します。その結果、従来のアプローチよりもクリーンなスペクトルが得られるため、LMS が向上し、ピーク同定の信頼性が向上します⁷。

MHUA の 2 番目の大きな特徴は、各ピークの RI を計算できることです。検索したライブラリにおいて、適切なリファレンス RI 値がスペクトルのエントリと関連付けられている場合は、未知のスペクトルに対して測定された RI 値を、スペクトルの検索結果のフィルタリングに使用できます。このことは、スペクトルが類似しているエッセンシャルオイル成分の同定において、特に重要になります。このような理由から、このアプリケーションノートでは、RI 値を使用しました。

香料・香気成分の RI が含まれている質量スペクトルライブラリは複数あります。例えば、Adams ライブラリ⁹ は、長年この分析に広く使用されてきました。最近、NIST は、多数の機能強化が施された、質量スペクトルライブラリの新バージョン (NIST23) をリリースしました。これらの機能強化には、Adams ライブラリ全体の組み込みや、すべての EI スペクトルを網羅するための標準非極性 RI エントリの拡張などがあります。「標準、非極性」とは、HP-5、DB-5、HP-5ms、その他の 5% フェニルメチルシリコンなどの相のことです⁹。新しい RI 値は、実験値 (入手可能な場合) または人工知能 (AI) が生成した値のいずれかです。AI が生成した値は、以前の「推定」値よりも精度が高くなっています。このタイプの固定相は、一般的に GC/MS によるエッセンシャルオイルの分析で使用されているため、新しい標準非極性値は特に注目される要素です。また、これらの値は、MHUA の RI 機能で現在使用可能な NIST23 の値です。MHUA の RI 機能を使用する場合、実験に基づく標準非極性 RI 値が入手可能な場合はその値を使用し、ない場合は AI が生成した値を使用します。そのため、ここではライブラリとして NIST23 を使用します。

実験手法

カラムの選択

基準とするヘリウムメソッドの場合、カラムと各種条件は、以前に一般的に使用されていたのと同じものを選択しました^{8,10}。30 m × 内径 0.25 mm、0.25 μm Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート (UI) カラム (p/n 19091S-433UI) を、範囲が 60 ~ 240 °C、昇温速度が 3 °C/min のオープン温度プログラムで使用しました。以前のメソッド¹⁰ では、カラム流量に定圧制御モードを使用しているものもありますが、MS 性能の点では定流量モードの方がはるかに優れています。ヘリウムの定カラム流量速度として、1.0 mL/min を使用しました。

水素メソッドでは、20 m × 内径 0.18 mm、0.18 μm Agilent J&W HP-5ms UI カラム (p/n 19091S-577UI) を選択しました。このカラムは、次のようないくつかの理由により優れた選択肢となります。

- そのカラム寸法により、流量を正確に制御するのに十分な、高い水素注入口圧力が得られる。
- ヘリウムメソッドと比較して、同等以上のクロマトグラフィー分離能が得られる。
- 相比が同じであるため、オリジナルのメソッドと同じ分析対象物溶出順序を維持できる。
- クロマトグラフィー分離と MS イオン源の感度の両方に対して、最適に近い水素カラム流量を使用できる。

メソッド変換

メソッドトランスレータツールは、Agilent MassHunter Acquisition ソフトウェアの一部として含まれていますが、スタンドアロンで使用するために、Agilent.com (<https://www.chem-agilent.com/contents.php?id=1000081>) からダウンロードすることもできます。無料でダウンロードできるツールとして、メソッドトランスレータ、気化容量カリキュレータ、圧力/流量カリキュレータ、溶媒ベントカリキュレータがあり、すべてが GC メソッドを開発する際に使用できます。

メソッドトランスレータは、インストール後にデスクトップ上のアイコンから開きます。メソッドトランスレータを開いた状態を図 1 に示します。最初に、[Original Method Parameters (オリジナルのメソッドパラメータ)] と表示された左側の列に、オリジナルのヘリウムメソッドのクロマトグラフィーパラメータを入力します。キャリアガスの種類 (He)、カラム寸法、カラム出口圧力、およびオープン温度プログラムの昇温速度を最初に入力する必要があります。次に、カラム出口流量を入力します。図 1 に示すように、相比、注入口圧力などの他の値は、自動的に計算されます。

次に、カリキュレータの右側の [Calculated Method Parameters (計算後のメソッドパラメータ)] 列に、水素メソッドのキャリアガスの種類 (H₂)、カラム寸法、およびカラム出口圧力を入力します。

入力後、水素パラメータの計算値が表示されます。左上隅に、分析時間の短縮の計算値が「2.5877」と表示されます。これは、水素メソッドで予測されるリテンションタイム (RT) が、ヘリウムメソッドの場合よりも約 2.6 倍速くなることを意味します。水素のオープン昇温速度の計算値は、7.763 °C/min となります。

ただし、オープンの昇温速度と分析時間の短縮をそれぞれ、7.5 と 2.5 に近づける方が簡単です。こうするには、**Speed gain** (分析時間の短縮) を選択して、フィールドに「2.5」と入力します。パラメータが再計算され、目的のパラメータが得られます。図 1 に結果を示します。図 1 に示す水素メソッドの流量の計算値は、0.84004 mL/min です。このメソッドを使用する前に、リテンションタイムロッキング (RTL) を使用して、水素

メソッドでの n-ペンタデカン の RT を、ヘリウムメソッドでの値よりも正確に 2.5 倍高速にしました。こうすることにより、RT の比較が容易になりました。RTL 後の水素メソッドの最終流量は、0.958 mL/min でした。ライブラリ検索では、RI キャリブレーションにより流量の違いが考慮されるため、このステップは必要ありません。

Method Translator

Last file imported: C:\MS General Consulting\Old Sandra Flavors

Speed gain
2.5000
 Translate
 Best Efficiency

Original Method Parameters		Calculated Method Parameters	
Gas: He		Gas: H2	
Length (m)	30 m	20 m	
Inner Diameter (µm)	250 µm	180 µm	
Film Thickness (µm)	0.25 µm	0.18 µm	
Phase Ratio	249.25	249.25	
Inlet Pressure (gauge)	8.2317 psi	7.596 psi	
Outlet Flow (mL/min)	1 mL/min	0.84004 mL/min	
Average Velocity (cm/s)	36.623 cm/sec	61.038 cm/sec	
Outlet Pressure (abs)	0 psi	0 psi	
Holdup Time	1.3653 min	0.54611 min	
Outlet Velocity (cm/s)	Infinity cm/sec	Infinity cm/sec	

#	Ramp Rate (°C/min)	Final Temp (°C)	Final Time (min)
Init		60	0
1	3	240	0

Total Run Time: 60.00 min

#	Ramp Rate (°C/min)	Final Temp (°C)	Final Time (min)
Init		60	0
1	7.5	240	0

Total Run Time: 24.00 min

Pressure Units: PSI

Original Column Capacity: 1.71

Translated Column Capacity: 0.61

The column capacity of the translated method is 36% of the original column capacity. You may need to adjust your injection volume.

図 1. Agilent メソッドトランスレータツール。ヘリウムメソッドを水素メソッドに変換するためのメソッドパラメータを決定するために使用します。

MS イオン源ハードウェア

3 mm エクストラクタレンスを備えた標準の不活性エクストラクタイオン源は、香料・香気成分を分析する際のヘリウムメソッドに最適であり、このアプリケーションノートでも使用しました。水素メソッドでは、9 mm エクストラクタレンスを備えた、HydroInert イオン源を使用しました。このイオン源は、水素とのイオン源内反応を低減して、ピーク形状を改善できるためです。水素メソッドは、3 mm と 9 mm 両方のエクストラクタレンスを備えた、従来の不活性エクストラクタイオン源でも実施しました。これらのデータを、HydroInert およびヘリウムの場合の結果と比較し、そのスペクトルと LMS 値を比較することにより、イオン源内反応の影響を最も受けやすい油の成分を特定しました。図 2 に、ヘリウムメソッドと水素メソッドのシステム構成を示します。

試薬および標準試料

99.9999 % 純度仕様の水素で、水および酸素がそれぞれ低濃度仕様のもの、水素メソッドのキャリアガスとして使用しました。同様の仕様のヘリウムを、ヘリウムメソッドのキャリアガスとして使用しました。

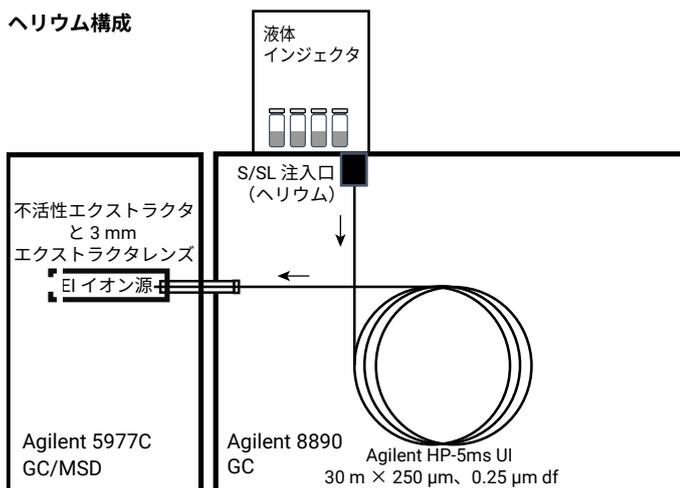
低圧搾オレンジ油（ブラジル原産）と橙花油（モロッコ原産）は、Sigma-Aldrich（ミルウォーキー、ウィスコンシン州、米国）から購入しました。これらの油を、エタノールで 20:1 (v:v) に希釈しました。

n-C₅ ~ n-C₄₀ と n-C₄₄ 由来のすべての n-アルカンで構成されるカスタム RI 標準溶液は、Ultra Scientific（現アジレント・テクノロジー）から購入しました。n-ヘキサン中でのアルカンの濃度は、n-C₁₃、n-C₁₈、n-C₂₂、n-C₂₈、n-C₃₁、n-C₃₉ では 1,000 ng/μL ですが、それ以外ではすべて 500 ng/μL でした。次に、標準溶液をイソオクタンで 50:1 (v:v) に希釈しました。

表 1. ヘリウムメソッドと水素メソッドの GC および MS 条件

メソッドパラメータ		
	ヘリウムメソッド	水素メソッド
注入口	EPC スプリット/スプリットレス	
モード	スプリット 25:1	
カラム流量	1.0 mL/min ヘリウム	0.958 mL/min 水素
注入量	1.0 μL	
注入口温度	250 °C	
注入口ライナ	Agilent 汎用低圧力損失 UI ライナ、ウール入り (p/n 5190-2295)	
カラム	Agilent J&W HP-5ms UI、30 m × 0.25 mm、0.25 μm (p/n 19091S-433UI)	Agilent J&W HP-5ms UI、20 m × 0.18 mm、0.18 μm (p/n 19091S-577UI)
カラム温度プログラム	60 °C (保持なし) 3 °C/min で 240 °C まで昇温 (保持なし)	60 °C (保持なし) 7.5 °C/min で 240 °C まで昇温 (保持なし)
分析時間	60 分	24 分
MSD イオン源	Agilent 不活性エクストラクタ (3 mm レンズ)	Agilent HydroInert イオン源 (9 mm レンズ)
トランスファライン温度	300 °C	
イオン源温度	300 °C	
四重極温度	150 °C	
EM、ゲインモード	0.1	
モード	スキャン 40 ~ 400 m/z	
TID、A/D サンプル	TID オン、8	TID オン、4
溶媒待ち時間	2.2 分	0.88 分
チューニング	etune.u	

ヘリウム構成



水素構成

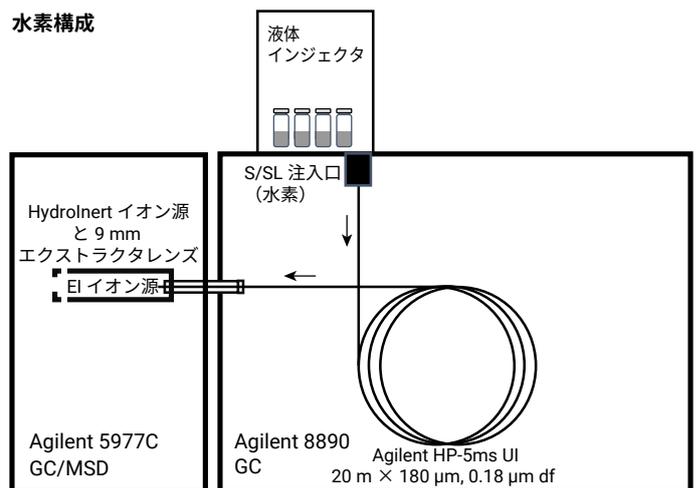


図 2. ヘリウムメソッドと水素メソッドのシステム構成

結果と考察

リテンションインデックスキャリブレーション

希釈した RI 標準溶液を、両方のメソッドで分析しました。クロマトグラムを 図 3 に示しています。油サンプルの分析は n-C₂₆ の前で終了していますが、標準溶液には、n-C₄₀ までの n-アルカンが含まれています。そのため、RI キャリブレーションメソッドの昇温をいずれも 300 °C まで延長して、n-C₄₀ が溶出するまで保持することにより、以降のクロマトグラムでのキャリーオーバーピークを防止しました。各クロマトグラムの赤い矢印は、油メソッドの通常の分析終了点を示しています。RI キャリブレーション化合物の RT を決定するには、トータルイオンクロマトグラム (TIC) よりも m/z 57 での EIC を積分する方が適していますが、これは S/N 比が向上するためです。

MHUA で RI 値を使用するには、メソッドごとにキャリブレーションファイルを作成する必要があります。このファイルは、Microsoft Excel で .csv ファイルとして、または Microsoft Windows のメモ帳でテキストファイルとして作成できます。図 4 は、メモ帳で作成したキャリブレーション .rtc ファイルを示しています。青いヘッダーは、このファイルには含まれていません。ここでは、入力フォーマットを示すために表示しています。各エントリは、フォーマット名、CAS 番号、RI、および RT で構成されており、関連するテキストファイルは、ファイル名に拡張子 .rtc を付けて保存されます。テキストファイルは通常、ライブラリディレクトリまたはデータファイルのあるディレクトリのいずれかに保存されます。

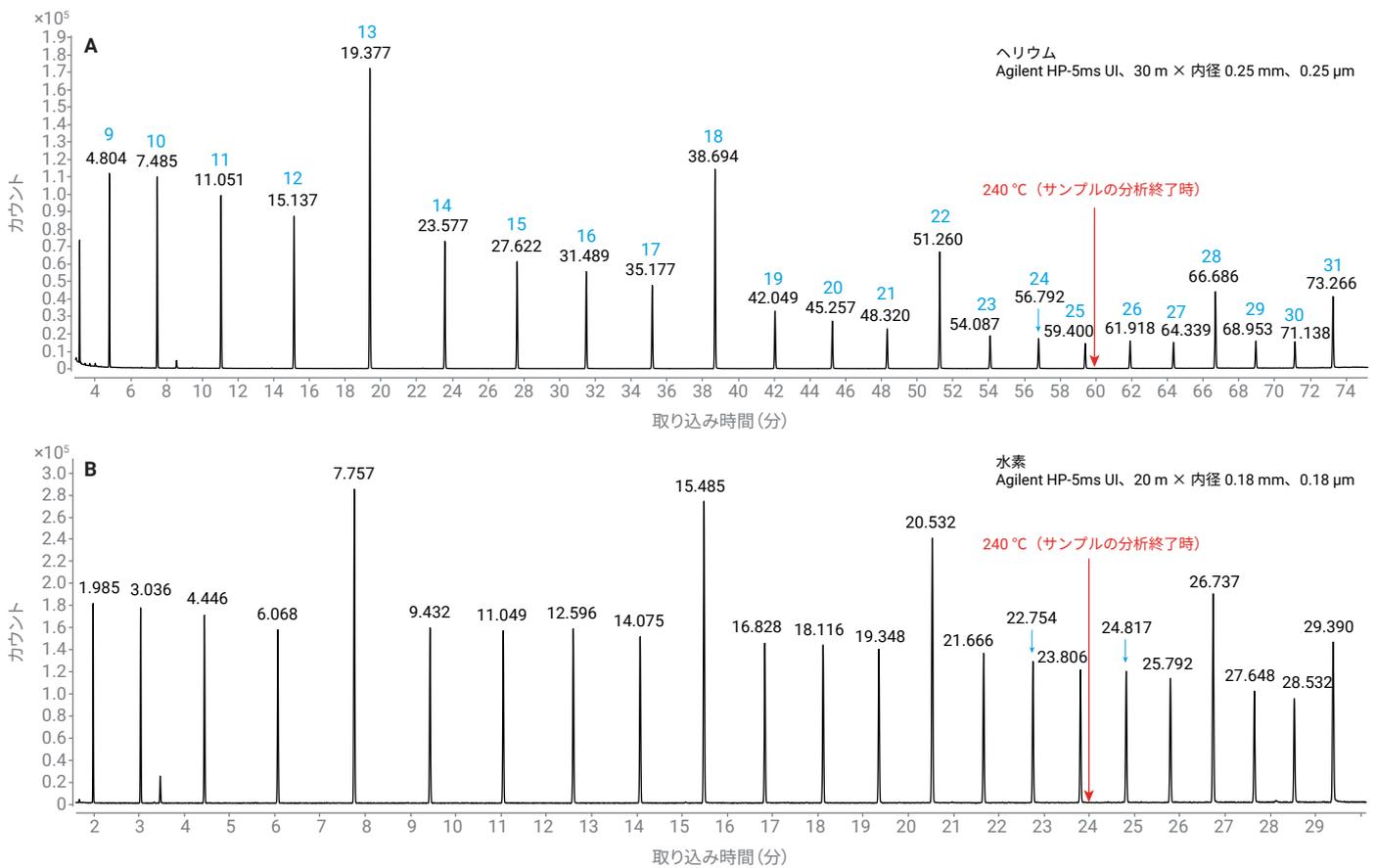


図 3. RI 標準溶液の m/z 57 での EIC。(A) ヘリウムメソッド、(B) 水素メソッド

Helium method

Name, CAS,	RI,	RT
h-C5,109-66-0	,500,	1.602
n-C6,110-54-3	,600,	1.801
n-C7,142-82-5	,700,	2.236
n-C8,111-65-9	,800,	3.139
n-C9,111-84-2	,900,	4.804
n-C10,124-18-5	,1000,	7.485
n-C11,1120-21-4	,1100,	11.050
n-C12,112-40-3	,1200,	15.137
n-C13,629-50-5	,1300,	19.377
n-C14,629-59-4	,1400,	23.577
n-C15,629-62-9	,1500,	27.622
n-C16,544-76-3	,1600,	31.489
n-C17,629-78-7	,1700,	35.117
n-C18,593-45-3	,1800,	38.694
n-C19,629-92-5	,1900,	42.049
n-C20,112-95-8	,2000,	45.257
n-C21,629-94-7	,2100,	48.320
n-C22,629-97-0	,2200,	51.260
n-C23,638-67-5	,2300,	54.087
n-C24,646-31-1	,2400,	56.792
n-C25,629-99-2	,2500,	59.400
n-C26,630-01-3	,2600,	61.918
n-C27,593-49-7	,2700,	64.339
n-C28,630-02-4	,2800,	66.686
n-C29,630-03-5	,2900,	68.953
n-C30,638-68-6	,3000,	71.138

Hydrogen method

Name, CAS,	RI,	RT
h-C5,109-66-0	,500,	0.694
n-C6,110-54-3	,600,	0.774
n-C7,142-82-5	,700,	0.946
n-C8,111-65-9	,800,	1.299
n-C9,111-84-2	,900,	1.985
n-C10,124-18-5	,1000,	3.036
n-C11,1120-21-4	,1100,	4.446
n-C12,112-40-3	,1200,	6.068
n-C13,629-50-5	,1300,	7.757
n-C14,629-59-4	,1400,	9.432
n-C15,629-62-9	,1500,	11.049
n-C16,544-76-3	,1600,	12.596
n-C17,629-78-7	,1700,	14.075
n-C18,593-45-3	,1800,	15.485
n-C19,629-92-5	,1900,	16.828
n-C20,112-95-8	,2000,	18.116
n-C21,629-94-7	,2100,	19.348
n-C22,629-97-0	,2200,	20.532
n-C23,638-67-5	,2300,	21.666
n-C24,646-31-1	,2400,	22.754
n-C25,629-99-2	,2500,	23.806
n-C26,630-01-3	,2600,	24.817
n-C27,593-49-7	,2700,	25.792
n-C28,630-02-4	,2800,	26.737
n-C29,630-03-5	,2900,	27.648
n-C30,638-68-6	,3000,	28.532

図 4. Agilent MassHunter Unknowns Analysis で使用する RI キャリブレーションテキストファイル (.rtc)

ブラジル産オレンジ油

図 5 は、ブラジル産オレンジ油のサンプルについて、ヘリウムメソッドと水素メソッドで得られた TIC を比較したものです。図 5A は溶出の全時間範囲を示しており、5B はピーク形状とクロマトグラフィー分離能をより詳細に比較するための拡大図です。見てわかるように、メソッドトランスレータ手法を使用することにより、ピークの相対的な溶出順序および分離能が維持されています。水素クロマトグラムの大きなピークの多くでは、

若干のフロンティングが観察されました。このことは、メソッドトランスレータツールによって予測されており、水素設定でのカラム容量は、オリジナルのヘリウムメソッドの 36 % であることが示されました。ただし、クロマトグラフィー分離能は、ヘリウムメソッドの場合とほとんど同じのままです。

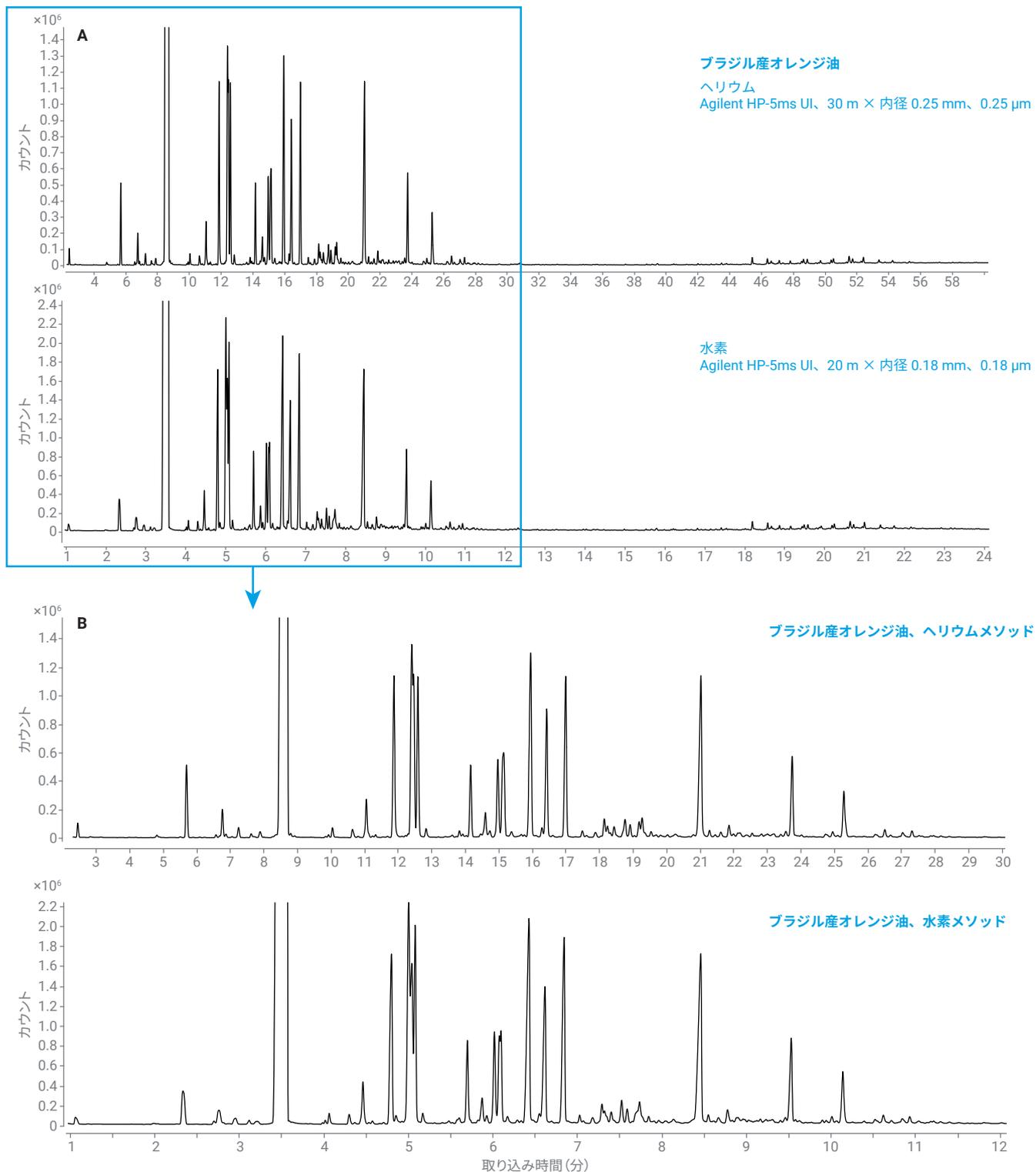


図 5. (A) 化合物溶出の全範囲にわたる、ヘリウムメソッドと水素メソッドによるブラジル産オレンジ油の分析結果。(B) 早期溶出時間領域の拡大図

橙花油

図 6 に、ヘリウムメソッドと水素メソッドで分析した橙花油の TIC を示します。オレンジ油と同様に、ピークの相対的な溶出順序および分離能が維持されています。水素メソッドのカラム容量が低下しているのは、水素クロマトグラムの 4.6 分にある大きなピークのフロンティングが増加していることから明らかです。

MassHunter Unknowns Analysis によるピーク同定

MHUA で使用されているパラメータを表 2 に示します。ライブラリのスペクトルエントリに適切な RI 値がある場合、RI はライブラリヒットのフィルタとして使用できます。RT キャリブレーションファイルボックスに、RI キャリブレーションファイル名が入力されている場合、プログラムはその RI を使用します。設定および分析の実施に関するより詳細な説明は、付録に記載します。また、MHUA に関する優れた情報源として、アジレントの YouTube チャンネルのビデオが利用できます⁷。

プログラムは、表 2 に示された設定と分析後のデータファイルにより、スキャンファイル全体をデコンボリュートし、検出可能な各ピーク（成分）の場所を決定します。次に、各成分に対してデコンボリュート（クリーニング）したスペクトルを取得し、ライブラリ（NIST23）と照合して検索します。成分のスペクトルと最もよく一致するライブラリエントリが、最小マッチファクターパラメータの 70 を超えているかどうかチェックされます。超えている場合は、次にその成分に対して測定された RI 値が、± のペナルティフリー範囲（この場合は、± 10 秒）内に収まっているかどうかチェックされます。RT ミスマッチペナルティを [Additive（付加）] に設定し、最大 RT ペナルティを 100 に設定した場合、測定された RT とライブラリ RI（RT に変換）の差が 10 秒より大きければ、エントリは完全に破棄されます。差が 10 秒未満で、LMS が 70 より大きく、候補となり得る他のヒットよりも高い場合、そのヒットは結果の表に含まれます。

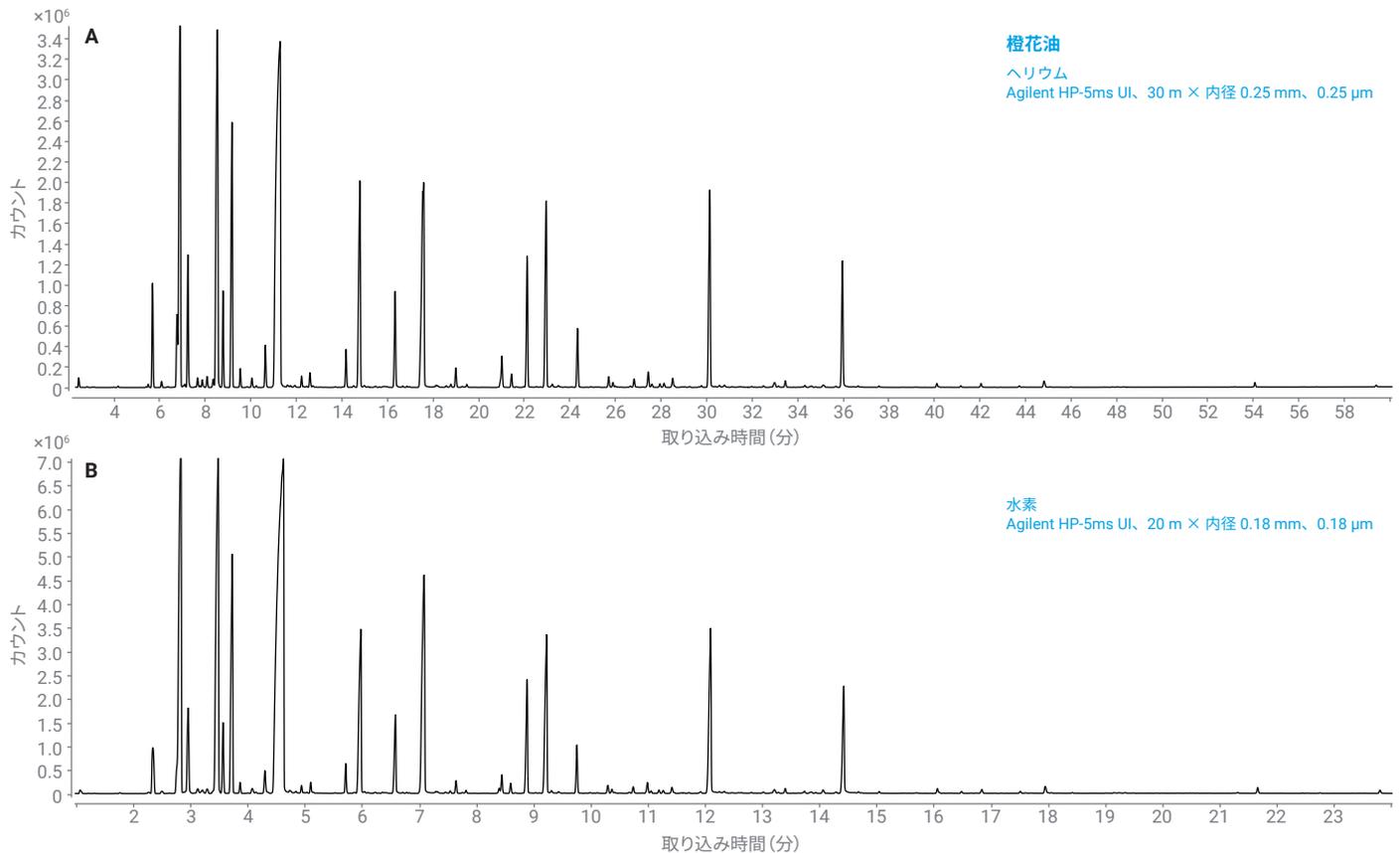


図 6. (A) ヘリウムメソッド、(B) 水素メソッドで分析した橙花油の結果

表 2. Agilent MassHunter Unknowns Analysis のメソッドパラメータ

パラメータ	設定値
RT ウィンドウサイズ係数	10、25、50、100、200、400、600、800
ライブラリ	NIST23.L
RT ペナルティ機能	台形
RT 範囲	10 秒
ペナルティフリー範囲	10 秒
RT ミスマッチペナルティ	付加
最大 RT ペナルティ	100
最小マッチファクター	70

データファイル全体が処理されると、結果を確認することができます。図 7 に、ヘリウムメソッドによるブラジル産オレンジ油の分析結果を示します。リストされた結果のいずれかの化合物名を左クリックすると、デコンボリュートした成分のスペクトルのヘッドトゥーテールが、ライブラリスペクトルとともに表示されます。

16.989 分にある選択した成分ピークは、TIC クロマトグラムで赤く強調表示されており、拡大して詳細に調べることができます。最もアバンドンスが高い 5 つのイオンが抽出され、スペクトル表示の左側のボックスに重ね表示されます。これは、ピーク形状と頂点のリテンションタイムを検査するために使用できます。抽出されたイオンのいずれかの頂点 RT や形状が他と大幅に異なる場合は、干渉が存在する可能性を示唆しており、同定結果を解釈する際に考慮する必要があります。

実際に結果を確認するには、ヒットのリストを下に移動して、[Match Factor (Library Match Score) (マッチファクター (ライブラリー致スコア))], [Delta RI (デルタ RI)], [Base Peak Area (ベースピーク面積)] に注目します。16.989 分のピークを例にとると、スペクトルは D-カルボンの一致スコアが 98.2 と高く、ヘッドテール成分とライブラリスペクトルは目視でもよく一致しています。主イオンの EIC を重ね合わせたものはすべて、形状と頂点 RT が同じです。ピークに対して測定された RI とライブラリの RI の差であるデルタ RI 値は、2 という小さい値になっています。最後に、TIC クロマトグラムのベースピーク面積と観察されたピークサイズは、レスポンスが十分に大きく、高品質のスペクトルが得られていることを示しています。これらの観察結果から、D-カルボンの同定が高い信頼性で確認されました。

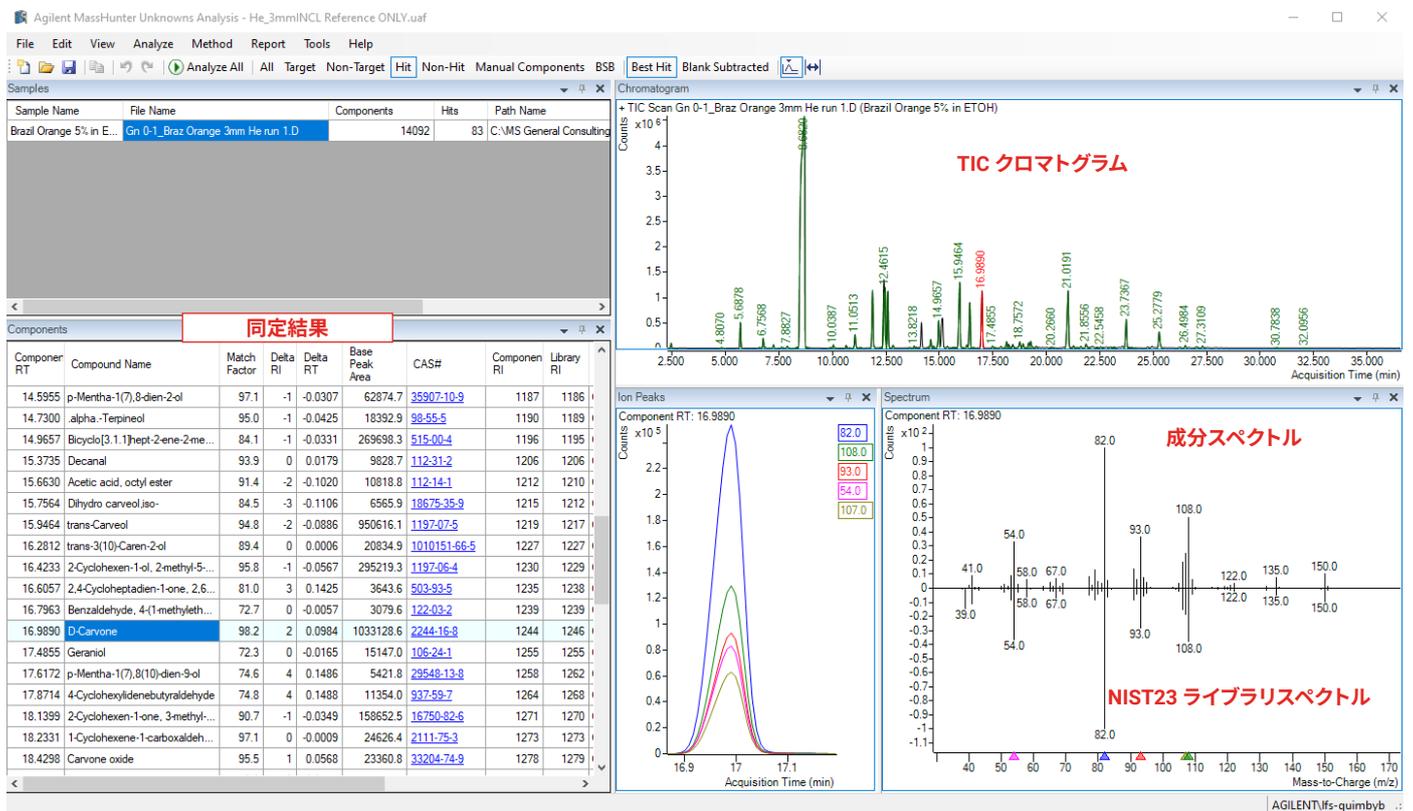


図 7. ヘリウムメソッドによる、ブラジル産オレンジ油の Agilent MassHunter Unknowns での分析結果

対照的に、p-メンタ-1(7),8(10)-ジエン-9-オールと同定された 17.6172 分のピークは、LMS が 74.6 と低く、デルタ RI が 4 と大きく、EIC の 1 つは頂点 RT が顕著に異なっており、ベースピーク面積が D-カルボンピークの約 190 分の 1 になっています。したがって、この同定の信頼性は低いと考えられます。レビュー担当者が報告する必要はないと判断した場合は、名前を右クリックして、**Delete Components/Hits (コンポーネント/ヒットを削除)** を選択することにより、結果からヒットを削除できます。

他の情報から判断して同定に疑問がある場合、レビュー担当者は、結果の表で名前を右クリックして、**Show Alternate Hits (代替ヒットを表示)** を選択できます。これにより、LMS および RI 基準も満たしてはいるが、LMS がリストされた最適なヒットよりも低い、ライブラリ内の他のスペクトルのリストが表示されます。これは、ヒットがより少ない LMS が、わずかに数分の 1 ポイントだけ小さい場合があるため便利です。必要に応じて、レビュー担当者は代替ヒットの 1 つを選択して、そのヒットを同定として設定できます。

このレビュープロセスは、すべてのヒットを評価するのに使用されます。レビューが完了したら、レビュー後の分析結果を保存し、必要に応じてレポートを生成できます。

水素とのイオン源内反応の評価

3 mm レンズを備えた不活性エクストラクタイオン源は、ヘリウムでは標準的に使用されますが、水素キャリアでの使用には適していません。イオン源内側の金属表面は、水素とイオン源内の一部の分析対象物の分子との反応に触媒作用を及ぼす傾向があり、その結果として、化合物によってはピークテーリングが発生し、スペクトルが変化します。以前は、3 mm レンズの代わりに 9 mm エクストラクタレンズを使用することにより、テーリングやスペクトルの変化をある程度まで低減させることができましたが、除去することはできませんでした。このため、HydroInert イオン源が開発されました。

このセクションでは、水素と HydroInert イオン源、水素と 3 mm および 9 mm レンズを備えた不活性エクストラクタイオン源、およびヘリウムと不活性エクストラクタイオン源を使用して得られた、カルボンオキシド (CAS 番号 33204-74-9) のスペクトルを比較して、イオン源の反応性の影響を示します。他のいくつかの例を付録に示します。

図 8 に、最適化された条件下でのヘリウムメソッドと水素メソッドによる、カルボンオキシドピークのクロマトグラムとスペクトルを示します。比較のため、NIST23 のライブラリリファレンススペクトルを上下逆に示しています。どちらのメソッドでも、デコンボリュートしたスペクトルの LMS 値は > 95 と高くなっており、水素キャリアガスを使用した際に、HydroInert イオン源が優れたスペクトル忠実度を実現できることが実証されています。

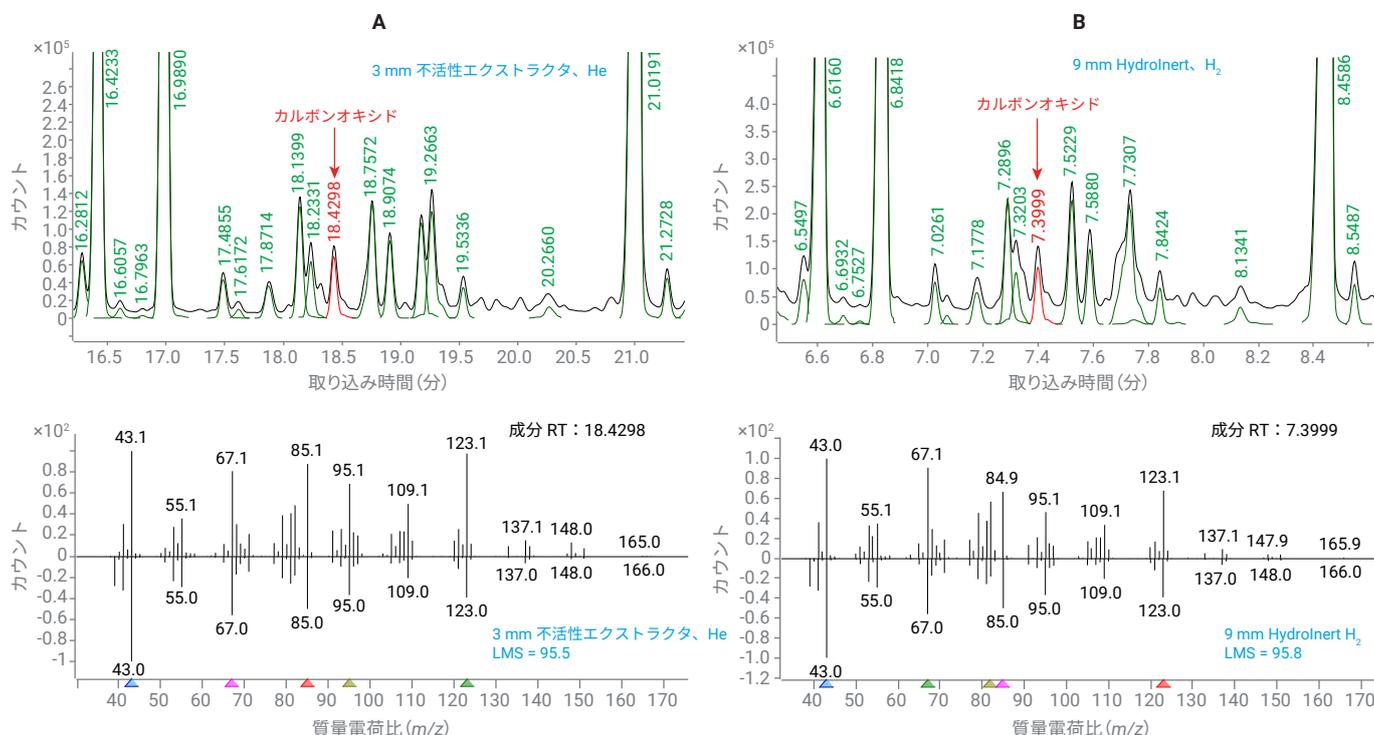


図 8. (A) ヘリウムメソッドによる、カルボンオキシドピークのクロマトグラムとスペクトル。(B) 水素メソッドと Agilent HydroInert イオン源による、カルボンオキシドピークのクロマトグラムとスペクトル

比較のために、図9に、HydroInert イオン源、および9 mmと3 mm両方のエクストラクタレンズを備えた不活性エクストラクタイオン源を使用した際の、水素キャリアによるカルボンオキシドピークのスペクトルを示します。

図9Bのスペクトルに示されている9 mm 不活性エクストラクタレンズでは、LMS値は依然として優れた値の91.2です。ただし、いくつかのスペクトルが変化していることの明らかな証拠があります。最も注目すべきなのは、 m/z 82と108のイオンのアブundanceが、スペクトル中の他のイオンと比較して増加していることです。スペクトル忠実度の程度は依然として有用であり、限定的とはいえ、イオン源内反応が発生していることを示しています。

対照的に、3 mm 不活性エクストラクタレンズと水素キャリアを使用した際のスペクトルは、大幅に変化しています。スペクトルが、カルボンオキシドに一致するLMSがカットオフの70を下回る程度まで変化しているため、代替ヒットリストにさえ記載されていません。検索により、ピークは(2,6,6-トリメチルピシクロ[3.1.1]ヘプタン-3-イル)メタンアミン (CAS 61299-72-7) (ピナン-3-(メチルアミン)とも呼ばれます)と同一されました。LMS値が84.8であり、デルタRIがわずかに-1とRIがほぼ一致することから、この同定は信頼できるように見えますが、正しくはありません。

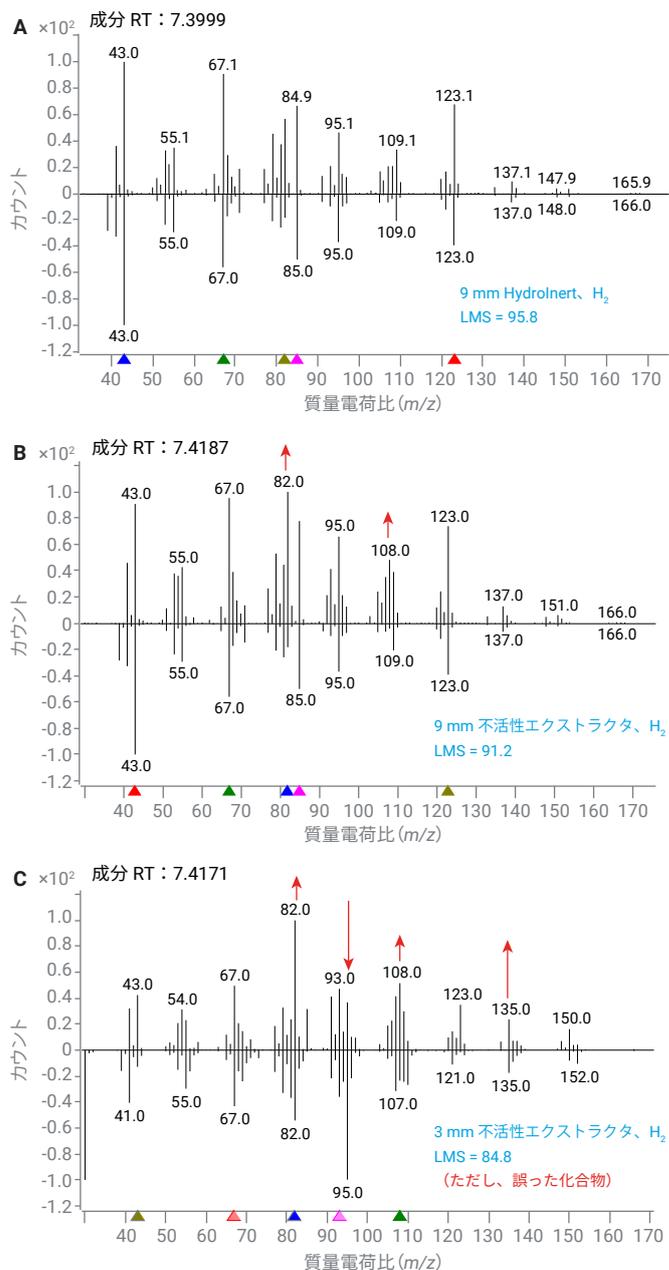


図9. (A) 水素キャリアと Agilent HydroInert イオン源による、カルボンオキシドのスペクトル。リファレンススペクトルは、NIST23のカルボンオキシドです。(B) Agilent 不活性エクストラクタイオン源と9 mm レンズによるスペクトル。リファレンススペクトルは、NIST23のカルボンオキシドです。(C) Agilent 不活性エクストラクタイオン源と3 mm レンズによるスペクトル。リファレンススペクトルは、NIST23の(2,6,6-トリメチルピシクロ[3.1.1]ヘプタン-3-イル)メタンアミンです。

3 mm 不活性エクストラクタイオン源のイオン源内反応の性質を詳細に調べるために、RI 一致基準を使用しないこと以外は同じパラメータを使用して、データファイルを MHUA で再分析しました。これにより、最適なヒットは LMS にのみリストされるようになります。カルボンオキシドがイオン源内の水素と反応して、反応生成物を生成している場合、スペクトル検索により、その正体が明らかになる可能性があります。図 10 は、(A) カルボンオキシドの RT において 3 mm レンズで得られたスペクトルを、(B) 最もよく一致するスペクトル、および (C) カルボンオキシドのライブラリスペクトルと比較したものです。

3 mm 不活性エクストラクタイオン源で得られたスペクトルは、カルボンオキシドと 3-ヒドロキシ-2-メチル-5-(プロパ-1-エン-2-イル)シクロヘキサノンのスペクトルを組み合わせただけのものに非常によく似ています。図 10 の構造を調べてみると、カルボンオキシドのエポキシド構造が、水素と反応して OH 基を形成していると考えられます。

この例は、水素と分析対象物の反応が発生する場合がある GC/MS イオン源を使用することの危険性、および水素キャリアガスを使用するには HydroInert イオン源が最適である理由を明確に示しています。他のいくつかの例を付録に示します。

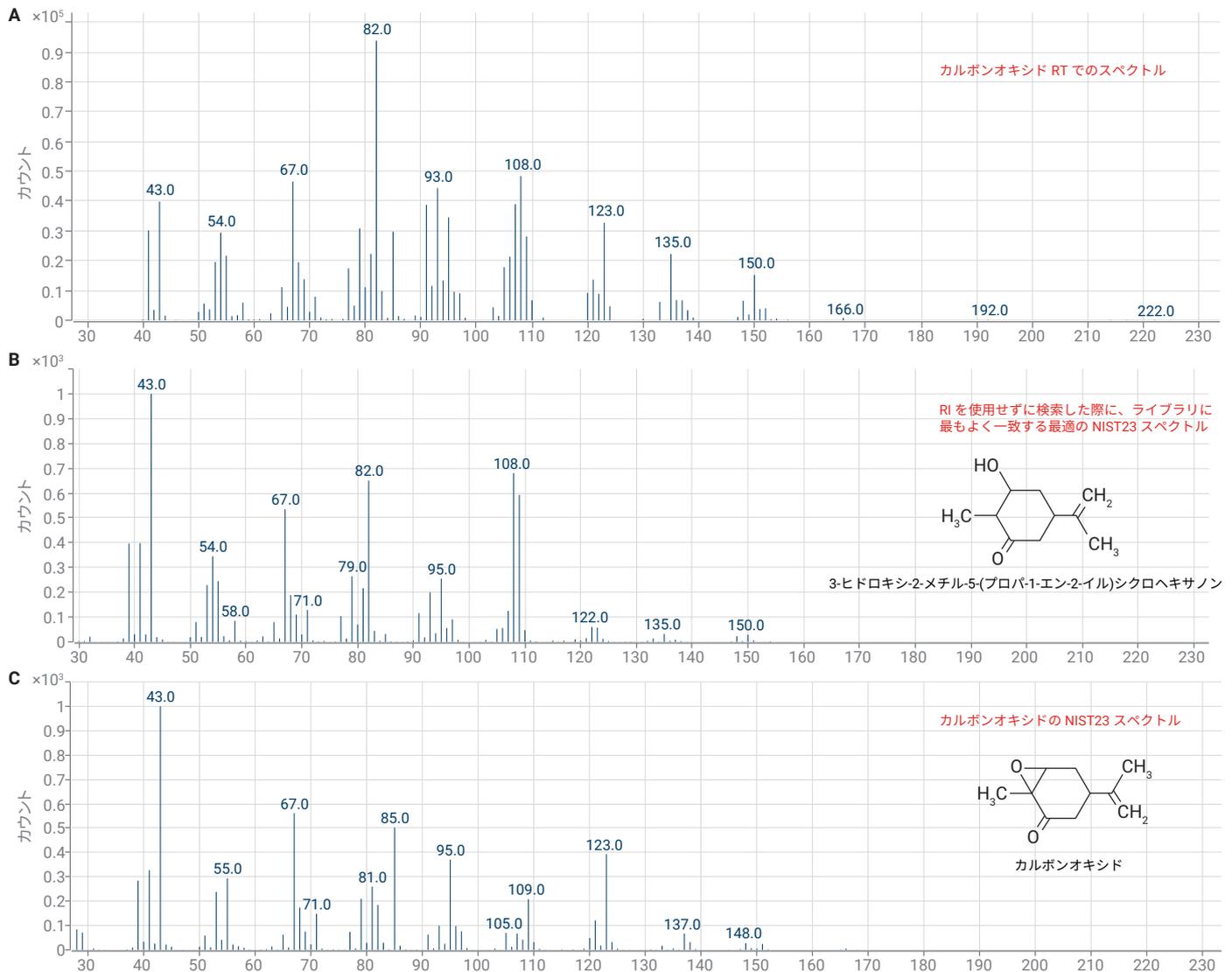


図 10. (A) カルボンオキシド RT で 3 mm レンズにより得られたスペクトル。(B) RI フィルタリングなしで検索した場合に最もよく一致した、3-ヒドロキシ-2-メチル-5-(プロパ-1-エン-2-イル)シクロヘキサノンの NIST23 ライブラリリファレンススペクトル。(C) カルボンオキシドの NIST23 ライブラリリファレンススペクトル

ブラジル産オレンジ油と橙花油の分析結果

表 3 に、3 mm 不活性エクストラクタイオン源を使用したヘリウムメソッドと、9 mm HydroInert イオン源を使用した水素メソッドの両方による、ブラジル産オレンジ油の分析結果を示します。表 4 に、同じメソッドによる橙花油の分析結果を示します。

ヘリウムから水素へのキャリアガスの切り替えに関連する疑問に対応するために、これらの結果について、次のようなレビューを実施しました。

- **NIST23 と比較した RI**：両方のメソッドで測定された RI は、ほとんどの化合物について NIST23 ライブラリの RI とほぼ一致しました。ただし、MassHunter Unknowns Analysis で使用されている RI 認識ウィンドウでは、ヒットをリストする際の最大デルタ RI に制限があることを認識しておく必要があります。2 番目の考慮事項は、NIST23 の RI 値が、実際の実験値ではなく AI が予測した値である場合、誤差つまりデルタ RI が大きくなる可能性があることです。
- **ヘリウムメソッドと水素メソッドの RI の比較**：ヘリウムで測定された RI と水素で測定された RI の差 (RI He-RI H₂ と表示) をリストしている列からわかるように、両メソッドで測定された RI は良好に一致しています。唯一の例外は、最も早期のピーク、およびリナロールや D-リモネンなど、クロマトグラフィー的に負荷が過剰になったために、RT がシフトしているピークです。これは、メソッドトランスレータツールを使用して水素メソッドのクロマトグラフィーパラメータを選択する利点の 1 つですが、その理由は、2 つのメソッド間で分析対象物と RI キャリブレーションの相対的な溶出順序が同じに維持されるためです。

- **NIST23 と比較した LMS**：一般的に、デコンボリューションプロセスはよりクリーンなスペクトルを生成し、その結果として、以前のアプローチと比較して LMS スコアが向上します。ヘリウムの分析結果の LMS スコアの列に注目してみると、そのほとんどが > 85 です。値が小さいのは、応答性化合物が少ないか、ピークが重なり合っただけでスペクトルが干渉しているか、または分析対象物がライブラリ内になく、検索結果に誤ったヒットがリストされていることが原因の可能性があります。
- **ヘリウムメソッドと水素メソッドの LMS の比較**：ヘリウムで測定された LMS と水素で測定された LMS の差 (LMS He-LMS H₂ と表示) をリストしている列は、一般的に 2 つのメソッドが良好に一致していることを示しています。水素メソッドの値が著しく低い例外は、シグナルレスポンスが低いのか、またはピークが重なり合っただけでスペクトルが干渉していることが原因です。一般的に、水素で得られる S/N 比は、ヘリウムで得られる S/N 比の 2 分の 1 から 5 分の 1 で、これは、最小ピークの LMS スコアの低さに反映されています。

表 3. ヘリウムメソッドと水素メソッドによる、ブラジル産オレンジ油の分析結果 (LR = 低レスポンス、Int = 干渉)

化合物名	CAS	ライブラリ RI	ヘリウム				水素と HydroInert				RI He-RI H ₂	LMS He-LMS H ₂	
			RT	RI	デルタ RI	ライブラリ 一致率	RT	RI	デルタ RI	ライブラリ 一致率			
エタン, 1,1-ジエトキシ-	105-57-7	726	2.445	723	3	98	1.061	732	-6	96	-9	2	
ノナン	111-84-2	900	4.807	900	0	95	1.983	900	0	91	0	4	
(1R)-2,6,6-トリメチルピシクロ[3.1.1]ヘプタ-2-エン	7785-70-8	932	5.688	933	-1	99	2.332	933	-1	97	0	2	
1-ヘプタノール	111-70-6	970	6.566	966	4	98	2.699	968	2	95	-2	2	
ピシクロ[3.1.0]ヘキサン, 4-メチレン-1-(1-メチルエチル)-	3387-41-5	974	6.757	973	1	98	2.759	974	0	98	-1	0	
β-ミルセン	123-35-3	991	7.240	991	0	97	2.953	992	-1	95	-1	2	
オクタノール	124-13-0	1,003	7.616	1,004	-1	98	3.116	1,006	-3	97	-2	1	
3-カレン	13466-78-9	1,011	7.883	1,011	0	98	3.211	1,012	-1	89	-1	9	
D-リモネン	5989-27-5	1,031	8.682	1,034	-3	99	3.562	1,037	-6	99	-3	0	
1-メチルピシクロ[2.2.1]ヘプタン-エキソ-2-オール	766-25-6	1,039	8.796	1,037	2	76	3.593	1,039	0	74	-2	2	
trans-サビネン水合物	17699-16-0	1,070	9.837	1,066	4	74	3.985	1,067	3	77	-1	-3	
1-オクタノール	111-87-5	1,070	9.919	1,068	2	98	4.016	1,070	0	97	-2	1	
cis-リナロールオキシド	5989-33-3	1,074	10.039	1,072	2	94	4.063	1,073	1	94	-1	0	
trans-リナロールオキシド (フラノイド)	34995-77-2	1,086	10.630	1,088	-2	95	4.297	1,089	-3	94	-1	0	
ベンゼン, 1-メチル-4-(1-メチルエチル)-	1195-32-0	1,090	10.665	1,089	1	91	4.306	1,090	0	92	-1	-1	
エボキシミルセン,6,7-	29414-55-9	1,090	10.804	1,093	-3	73	4.365	1,094	-4	79	-1	-6	
リナロール	78-70-6	1,099	11.051	1,100	-1	97	4.462	1,101	-2	95	-1	1	
ノナノール	124-19-6	1,104	11.232	1,104	0	96	4.533	1,105	-1	86	-1	10	LR
cis-ピネン-3-オール	1010292-85-2	1,108	11.324	1,107	1	81	4.574	1,108	0	73	-1	8	
2-シクロヘキセン-1-オール, 1-メチル-4-(1-メチルエチル)-, trans-	7212-40-0	1,123	11.872	1,120	3	95	4.799	1,122	1	96	-2	-1	
5-ウンデセン, 4-メチル-	143185-91-5	1,132	12.217	1,129	3	74	4.925	1,130	2	71	-1	4	
7-オキサピシクロ[4.1.0]ヘプタン, 1-メチル-4-(1-メチルエチル)-	1195-92-2	1,133	12.401	1,133	0	86	5.003	1,134	-1	90	-1	-4	
cis-p-メンタ-2,8-ジエン-1-オール	3886-78-0	1,133	12.462	1,135	-2	79	5.042	1,137	-4	89	-2	-10	
(+)-(E)-リモネンオキシド	6909-30-4	1,139	12.586	1,138	1	97	5.082	1,139	0	98	-1	-1	
シクロヘキサノール, 1-メチル-4-(1-メチルエチル)-, cis-	7299-41-4	1,144	12.826	1,143	1	95	5.171	1,145	-1	93	-2	1	
シクロヘキサノール, 1-メチル-4-(1-メチルエチル)-, trans-	7299-40-3	1,161	13.610	1,163	-2	88	5.480	1,164	-3	83	-1	4	
ピシクロ[3.3.0]オクタン-2-オン, 7-メチレン-	1000151-92-1	1,166	13.822	1,168	-2	84	5.578	1,170	-4	64	-2	19	Int
1-ノナノール	143-08-8	1,173	13.921	1,170	3	98	5.603	1,171	2	96	-1	2	
エタノン, 1-(4-メチルフェニル)-	122-00-9	1,183	14.452	1,183	0	93	5.822	1,185	-2	95	-2	-2	
p-メンタ-1(7),8-ジエン-2-オール	35907-10-9	1,186	14.596	1,187	-1	97	5.873	1,188	-2	96	-1	1	
α-テルピネオール	98-55-5	1,189	14.730	1,190	-1	95	5.928	1,191	-2	94	-1	1	
ピシクロ[3.1.1]ヘプタ-2-エン-2-メタノール, 6,6-ジメチル-	515-00-4	1,195	14.966	1,196	-1	84	6.018	1,197	-2	86	-1	-2	
デカノール	112-31-2	1,206	15.374	1,206	0	94	6.173	1,206	0	93	0	1	
酢酸, オクチルエステル	112-14-1	1,210	15.663	1,212	-2	91	6.287	1,213	-3	79	-1	12	LR, Int
ジヒドロカルベオール, iso-	18675-35-9	1,212	15.756	1,215	-3	85	6.334	1,216	-4	78	-1	7	
trans-カルベオール	1197-07-5	1,217	15.946	1,219	-2	95	6.427	1,221	-4	96	-2	-1	
trans-3(10)-カレン-2-オール	1010151-66-5	1,227	16.281	1,227	0	89	6.550	1,229	-2	85	-2	4	
2-シクロヘキセン-1-オール, 2-メチル-5-(1-メチルエチル)-, cis-	1197-06-4	1,229	16.423	1,230	-1	96	6.616	1,232	-3	97	-2	-1	
2,4-シクロヘプタジエン-1-オン, 2,6,6-トリメチル-	503-93-5	1,238	16.606	1,235	3	81	6.693	1,237	1	73	-2	8	
ベンズアルデヒド, 4-(1-メチルエチル)-	122-03-2	1,239	16.796	1,239	0	73	6.753	1,241	-2	58	-2	14	LR
D-カルボン	2244-16-8	1,246	16.989	1,244	2	98	6.842	1,246	0	98	-2	0	
ゲラニオール	106-24-1	1,255	17.486	1,255	0	72	7.026	1,257	-2	77	-2	-5	
p-メンタ-1(7),8(10)-ジエン-9-オール	29548-13-8	1,262	17.617	1,258	4	75	7.070	1,259	3	73	-1	2	

化合物名	CAS	ライブラリ RI	ヘリウム				水素と HydroInert				RI He- RI H ₂	LMS He- LMS H ₂	
			RT	RI	デルタ RI	ライブラリ 一致率	RT	RI	デルタ RI	ライブラリ 一致率			
4-シクロヘキシリデンブチルアルデヒド	937-59-7	1,268	17.871	1,264	4	75	7.178	1,266	2	76	-2	-2	
2-シクロヘキセン-1-オン、3-メチル-6-(1-メチルエチニル)-、(S)-	16750-82-6	1,270	18.140	1,271	-1	91	7.290	1,272	-2	83	-1	7	
1-シクロヘキセン-1-カルボアルデヒド、4-(1-メチルエチニル)-	2111-75-3	1,273	18.233	1,273	0	97	7.320	1,274	-1	84	-1	14	LR
カーボンオキシド	33204-74-9	1,279	18.430	1,278	1	96	7.400	1,279	0	96	-1	0	
ピノカルビルアセテート、cis-	73366-18-4	1,285	18.757	1,285	0	80	7.523	1,286	-1	82	-1	-2	
ベルベニルアセテート、trans-	1203-21-0	1,291	18.907	1,289	2	79	7.588	1,290	1	80	-1	0	
p-メンタ-1,8-ジエン-7-オール	536-59-4	1,297	19.266	1,297	0	95	7.731	1,298	-1	93	-1	2	
2-プロパノール、1-[(1-エチニルシクロヘキシル)オキシ]-	54644-17-6	1,303	19.534	1,304	-1	77	7.842	1,305	-2	79	-1	-1	
1,2-シクロヘキサジオール、1-メチル-4-(1-メチルエチニル)-	1946-00-5	1,321	20.266	1,321	0	80	8.134	1,323	-2	84	-2	-4	
(1S,4R,5R)-1,3,3-トリメチル-2-オキサビシクロ[2.2.2]オクタン-5-イルアセテート	81781-24-0	1,343	21.019	1,339	4	83	8.459	1,342	1	82	-3	1	
エキソ-2-ヒドロキシシネロールアセテート	57709-95-2	1,344	21.273	1,345	-1	86	8.549	1,347	-3	89	-2	-2	
1-シクロヘキセン-1-メタノール、4-(1-メチルエチニル)-、ギ酸	29621-55-4	1,356	21.612	1,353	3	87	8.664	1,354	2	90	-1	-4	
2-シクロヘキセン-1-オール、2-メチル-5-(1-メチルエチニル)-、酢酸、(1R-cis)-	7111-29-7	1,358	21.856	1,359	-1	80	8.775	1,361	-3	79	-2	1	
コパエン	3856-25-5	1,376	22.546	1,375	1	91	9.024	1,376	0	84	-1	6	
2-メチル-4-(2,6,6-トリメチルシクロヘキサ-2-エニル)プタ-3-エン-2-オール	56763-65-6	1,406	23.737	1,404	2	83	9.528	1,406	0	85	-2	-2	
cis-β-コパエン	18252-44-3	1,432	24.728	1,428	4	93	9.897	1,429	3	89	-1	3	
セスキシネオール、7-エビ-1,2-デヒドロ-	149067-90-3	1,471	26.498	1,472	-1	78	10.618	1,473	-2	79	-1	-1	
3-テトラデセン-5-イン、(E)-	74744-44-8	1,488	27.032	1,485	3	72	10.842	1,487	1	73	-2	-1	
パレンセン	4630-07-3	1,492	27.311	1,492	0	97	10.930	1,493	-1	96	-1	0	
カリオフィレンオキシド	1139-30-6	1,581	30.784	1,582	-1	73	12.320	1,582	-1	81	0	-7	
1,5,9-シクロドデカンチオール	2938-55-8	2,007	45.413	2,005	2	72	18.190	2,006	1	76	-1	-4	
3-エイコシン	61886-66-6	2,032	46.366	2,036	-4	75	18.573	2,037	-5	76	-1	-2	
ウビジン C、ジアセテート	1000501-90-0	2,107	48.516	2,107	0	75	19.432	2,107	0	73	0	2	
(9E,11E)-オクタデカジエン酸	544-71-8	2,237	52.406	2,241	-4	74	20.997	2,241	-4	73	0	2	
インセンスオールオキシド、酢酸	1000513-23-1	2,270	53.383	2,275	-5	72	21.395	2,276	-6	69	-1	3	

表 4. ヘリウムメソッドと水素メソッドによる、橙花油の分析結果 (LR = 低レスポンス、Int = 干渉)

化合物名	CAS	ライブラリ RI	ヘリウム				水素と HydroInert				RI He- RI H ₂	LMS He- LMS H ₂	
			RT	RI	デルタ RI	ライブラリ 一致率	RT	RI	デルタ RI	ライブラリ 一致率			
エタン、1,1-ジエトキシ-	105-57-7	726	2.445	723	3	98	1.060	732	-6	97	-9	1	
3-ヘキセン-1-オール	544-12-7	856	3.982	851	5	93	1.685	856	0	80	-5	13	LR
1-ヘキサノール	111-27-3	868	4.184	863	5	95	1.762	867	1	92	-4	3	
ピシクロ[3.1.0]ヘキサ-2-エン、2-メチル-5-(1-メチルエチル)-	2867-05-2	929	5.501	926	3	98	2.258	926	3	92	0	6	
(1R)-2,6,6-トリメチルピシクロ[3.1.1]ヘプタ-2-エン	7785-70-8	932	5.688	933	-1	98	2.334	933	-1	98	0	1	
カンフェン	79-92-5	952	6.087	948	4	98	2.496	949	3	97	-1	1	
ベンズアルデヒド	100-52-7	962	6.380	959	3	98	2.628	961	1	96	-2	2	
ピシクロ[3.1.1]ヘプタン、6,6-ジメチル-2-メチレン、(1S)-	18172-67-3	978	6.899	978	0	97	2.824	980	-2	98	-2	0	
m-メンタ-4,8-ジエン、(1S,3S)-(+)-	5208-51-5	983	7.047	984	-1	82	2.875	985	-2	77	-1	5	
β-ミルセン	123-35-3	991	7.240	991	0	97	2.952	992	-1	97	-1	0	
シクロヘキサ、1-メチレン-4-(1-メチルエチニル)-	499-97-8	1,004	7.667	1,005	-1	98	3.121	1,006	-2	97	-1	1	
cis-アンヒドロリナロールオキシド	54750-69-5	1,007	7.775	1,008	-1	93	3.166	1,009	-2	79	-1	14	LR、Int
3-カレン	13466-78-9	1,011	7.874	1,011	0	97	3.203	1,012	-1	97	-1	1	
1,3-シクロヘキサジエン、1-メチル-4-(1-メチルエチル)-	99-86-5	1,017	8.082	1,017	0	97	3.285	1,018	-1	97	-1	0	
D-リモネン	5989-27-5	1,031	8.536	1,029	2	99	3.476	1,031	0	99	-2	0	
1,3,6-オクタトリエン、3,7-ジメチル、(Z)-	3338-55-4	1,038	8.782	1,036	2	97	3.562	1,037	1	97	-1	0	
trans-β-オシメン	3779-61-1	1,049	9.174	1,047	2	97	3.724	1,049	0	97	-2	0	
γ-テルピネン	99-85-4	1,060	9.540	1,058	2	99	3.860	1,058	2	99	0	0	
trans-サビネン水和物	17699-16-0	1,070	9.843	1,066	4	90	3.994	1,068	2	81	-2	9	
cis-リナロールオキシド	5989-33-3	1,074	10.047	1,072	2	98	4.071	1,073	1	96	-1	2	
1,4-ウンデカジエン、(Z)-	55976-14-2	1,080	10.241	1,077	3	81	4.138	1,078	2	80	-1	1	
シクロヘキセン、1-メチル-4-(1-メチルエチリデン)-	586-62-9	1,088	10.638	1,088	0	98	4.294	1,089	-1	98	-1	0	
リナロール	78-70-6	1,099	11.285	1,106	-7	98	4.618	1,111	-12	98	-5	0	
フェニルエチルアルコール	60-12-8	1,116	11.611	1,114	2	98	4.725	1,117	-1	96	-3	1	
2-シクロヘキセン-1-オール、1-メチル-4-(1-メチルエチル)-、cis-	29803-82-5	1,122	11.938	1,122	0	93	4.837	1,124	-2	93	-2	0	
2,4,6-オクタトリエン、2,6-ジメチル、(E,Z)-	7216-56-0	1,131	12.231	1,129	2	99	4.935	1,130	1	99	-1	0	
2-イソプロピルイミダゾール	36947-68-9	1,132	12.318	1,131	1	71	4.973	1,132	0	70	-1	1	
cis-p-メンタ-2,8-ジエン-1-オール	3886-78-0	1,133	12.460	1,134	-1	83	5.029	1,136	-3	82	-2	1	
ベンジルニトリル	140-29-4	1,144	12.594	1,138	6	98	5.095	1,140	4	94	-2	5	
ミロキシド	28977-57-3	1,140	12.747	1,142	-2	92	5.144	1,143	-3	71	-1	20	LR、Int
テルピネン-4-オール	562-74-3	1,177	14.182	1,177	0	96	5.709	1,178	-1	96	-1	1	
ベンジルアルコール、α,α,4-トリメチル-	1197-01-9	1,183	14.515	1,185	-2	91	5.864	1,187	-4	90	-2	1	
α-テルピネオール	98-55-5	1,189	14.790	1,192	-3	99	5.972	1,194	-5	99	-2	0	
1,3-シクロヘキサジエン-1-カルボアルデヒド、2,6,6-トリメチル-	116-26-7	1,201	15.153	1,200	1	78	6.099	1,202	-1	79	-2	-2	
(3E,5E)-2,6-ジメチルオクタ-3,5,7-トリエン-2-オール	206115-88-0	1,202	15.481	1,208	-6	88	6.229	1,210	-8	89	-2	-1	
酢酸、オクチルエステル	112-14-1	1,210	15.648	1,212	-2	92	6.285	1,213	-3	89	-1	3	
ベンゾフラン、2-エチニル-	7522-79-4	1,220	15.994	1,220	0	89	6.428	1,221	-1	86	-1	4	
2,6-オクタジエン-1-オール、3,7-ジメチル、(Z)-	106-25-2	1,228	16.337	1,228	0	97	6.577	1,230	-2	98	-2	0	
ネラール	106-26-3	1,240	16.860	1,241	-1	90	6.776	1,242	-2	88	-1	2	
カルボン	99-49-0	1,242	16.966	1,243	-1	87	6.821	1,245	-3	86	-2	2	
酢酸リナリル	115-95-7	1,257	17.587	1,258	-1	95	7.079	1,260	-3	92	-2	3	
シトラール	5392-40-5	1,273	18.124	1,270	3	93	7.283	1,272	1	89	-2	4	

化合物名	CAS	ライブラリ RI	ヘリウム				水素と HydroInert				RI He- RI H ₂	LMS He- LMS H ₂	
			RT	RI	デルタ RI	ライブラリ 一致率	RT	RI	デルタ RI	ライブラリ 一致率			
2,6-オクタジエン-1-オール、3,7-ジメチル、ギ酸、(Z)-	2142-94-1	1,282	18.575	1,281	1	89	7.452	1,282	0	89	-1	0	
レボ-酢酸ボルニル	5655-61-8	1,285	18.780	1,286	-1	99	7.534	1,287	-2	95	-1	4	
インドール	120-72-9	1,294	18.998	1,291	3	99	7.637	1,293	1	99	-2	0	
ベンゼン、(2-ニトロエチル)-	6125-24-2	1,302	19.280	1,298	4	89	7.746	1,299	3	86	-1	3	
ギ酸ゲラニル	105-86-2	1,300	19.483	1,303	-3	91	7.811	1,303	-3	91	0	1	
δ-エレメン	20307-84-0	1,338	20.958	1,338	0	86	8.392	1,338	0	96	0	-10	
アントラニル酸メチル	134-20-3	1,343	21.020	1,339	4	94	8.439	1,341	2	98	-2	-4	
α-酢酸テルピニル	80-26-2	1,350	21.445	1,349	1	97	8.593	1,350	0	96	-1	2	
6-オクテン-1-オール、3,7-ジメチル、酢酸	150-84-5	1,354	21.647	1,354	0	84	8.669	1,354	0	81	0	2	
2,6-オクタジエン-1-オール、3,7-ジメチル、酢酸、(Z)-	141-12-8	1,364	22.133	1,366	-2	99	8.881	1,367	-3	99	-1	0	
コバエン	3856-25-5	1,376	22.543	1,375	1	82	9.026	1,376	0	80	-1	2	
酢酸ゲラニル	105-87-3	1,382	22.966	1,385	-3	98	9.222	1,387	-5	98	-2	0	
レボ-β-エレメン	515-13-9	1,391	23.236	1,392	-1	96	9.307	1,393	-2	95	-1	1	
安息香酸、2-アミノ、エチルエステル	87-25-2	1,414	24.091	1,413	1	86	9.662	1,414	0	93	-1	-7	
カリオフィレン	87-44-5	1,419	24.340	1,419	0	99	9.751	1,420	-1	99	-1	0	
γ-エレメン	29873-99-2	1,434	24.921	1,433	1	83	9.977	1,434	0	88	-1	-6	
フムレン	6753-98-6	1,454	25.707	1,453	1	92	10.293	1,453	1	91	0	1	
(E)-β-ファルネセン	18794-84-8	1,457	25.894	1,457	0	96	10.363	1,458	-1	96	-1	0	
アロアロマデンドレン	25246-27-9	1,461	26.002	1,460	1	92	10.408	1,460	1	84	0	8	
γ-ムウロレン	30021-74-0	1,477	26.657	1,476	1	93	10.669	1,476	1	91	0	2	
ゲルマクレン D	23986-74-5	1,481	26.824	1,480	1	95	10.736	1,481	0	97	-1	-2	
ピシクロゲルマクレン	24703-35-3	1,496	27.445	1,496	0	98	10.985	1,496	0	97	0	1	
α-ムウロレン	10208-80-7	1,499	27.605	1,500	-1	96	11.048	1,500	-1	93	0	3	
α-ファルネセン	502-61-4	1,508	27.955	1,509	-1	94	11.186	1,509	-1	96	0	-1	
γ-カルディネン	39029-41-9	1,513	28.137	1,513	0	97	11.261	1,514	-1	96	-1	1	
δ-カジネン	483-76-1	1,524	28.519	1,523	1	97	11.413	1,524	0	97	-1	1	
α-カジネン	24406-05-1	1,538	29.047	1,537	1	80	11.626	1,537	1	81	0	-2	
α-カラコレン	21391-99-1	1,542	29.254	1,542	0	94	11.710	1,543	-1	82	-1	13	LR
β-ゲルマクレン	15423-57-1	1,557	29.779	1,556	1	96	11.915	1,556	1	87	0	10	Int
1,6,10-ドデカトリエン-3-オール、3,7,11-トリメチル-	7212-44-4	1,564	30.146	1,565	-1	97	12.091	1,567	-3	97	-2	0	
スパスレノール	6750-60-3	1,576	30.574	1,576	0	93	12.244	1,577	-1	85	-1	9	
カリオフィレンオキシド	1139-30-6	1,581	30.788	1,582	-1	92	12.329	1,583	-2	90	-1	2	
tau-カジノール	5937-11-1	1,640	32.985	1,641	-1	96	13.198	1,641	-1	95	0	2	
δ-カジノール	19435-97-3	1,645	33.163	1,646	-1	92	13.276	1,646	-1	88	0	4	
α-カジノール	481-34-5	1,653	33.462	1,654	-1	96	13.396	1,654	-1	94	0	2	
ナフタレン、1,6-ジメチル-4-(1-メチルエチル)-	483-78-3	1,674	34.205	1,675	-1	92	13.695	1,674	0	78	1	14	LR、Int
8-ヘプタデセン	2579-04-6	1,677	34.320	1,678	-1	95	13.731	1,677	0	94	1	2	
6,10-ドデカジエン-1-オール、3,7,11-トリメチル-	51411-24-6	1,692	34.795	1,691	1	81	13.928	1,690	2	87	1	-6	
2,6,10-ドデカトリエン-1-オール、3,7,11-トリメチル、(Z,E)-	3790-71-4	1,697	35.110	1,700	-3	92	14.058	1,699	-2	89	1	3	
trans-ファルネソール	106-28-5	1,722	35.968	1,724	-2	97	14.418	1,724	-2	98	0	-1	
ファルネソール、2E、6Z-	3879-60-5	1,742	36.652	1,743	-1	79	14.676	1,743	-1	78	0	1	
オール-trans-酢酸ファルネソール	4128-17-0	1,843	40.112	1,842	1	94	16.057	1,843	0	92	-1	3	
キューピテン	66723-19-1	1,878	41.166	1,874	4	82	16.479	1,874	4	78	0	3	
m-カンフォレン	20016-73-3	1,960	43.728	1,952	8	95	17.508	1,953	7	93	-1	3	
p-カンフォレン	20016-72-2	1,995	44.815	1,986	9	92	17.942	1,986	9	91	0	1	
ヘキサデカン酸、エチルエステル	628-97-7	1,993	45.083	1,995	-2	73	18.054	1,995	-2	75	0	-2	

結論

このアプリケーションノートで説明されている手法を使用することにより、エッセンシャルオイルの定性分析のための一般的なメソッドを、水素キャリアガスを使用するメソッドに適切に変換できました。得られた水素メソッドでは、オリジナルのメソッドと同じクロマトグラフィー分離能と相対的な溶出順序が維持されていますが、分析時間は 2.5 倍高速化されています。新しいメソッドではカラム容量が低下しており、計算上はオリジナルのメソッドの 36 % になるため、場合によっては注入量を調整する必要があります。

新しい水素メソッドを 2 種類のエッセンシャルオイルの分析に適用してみたところ、ヘリウムメソッドの場合と同等の結果が得られました。Agilent MassHunter Unknowns Analysis でスペクトルデコンボリューションとリテンションインデックス検索フィルタリングを使用することにより、検索結果が改善され、以前の同定メソッドよりも高速になりました。エッセンシャルオイル成分と RI の内容が拡張された NIST23 ライブラリにより、存在する化合物のかなりの部分を同定することができました。

Agilent HydroInert イオン源は、水素への切り替えを成功させるための重要なコンポーネントです。このコンポーネントがない場合、イオン源内反応において、一部の化合物のスペクトルが誤同定されるほどに分解されることが示されました。

参考文献

1. Agilent EI GC/MS 機器でのヘリウムから水素へのキャリアガス切り替えユーザーガイド. アジレント・テクノロジー、資料番号 5994-2312JAJP, **2020**.
2. Blumberg, L. M. Method Translation in Gas Chromatography. US Patent US6634211B1. **2002**.
3. Blumberg, L. M.; Klee, M. S. Method Translation and Retention Time Locking in Partition GC. Anal. Chem. **1998**, 70(18), 3828-3839.
4. Agilent GC カリキュレータおよびメソッド変換ソフトウェア. ツールは次のページからダウンロードできます。<https://www.chem-agilent.com/contents.php?id=1000081>
5. HydroInert イオン源を組み合わせた Agilent イナートプラス GC/MS システムの概要：GC/MS 分析における水素キャリアガスの実用性. アジレント・テクノロジー技術概要、資料番号 5994-4889JAJP, **2022**.
6. Godina, L. 水素キャリアガスと Agilent HydroInert イオン源を用いた GC/MS による香料と香気成分の分析, アジレント・テクノロジーアプリケーションノート、資料番号 5994-6015JAJP, **2023**.
7. MassHunter Unknowns Analysis ビデオ：https://www.youtube.com/watch?v=y_zJkBfnN3g
8. Adams, R. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, version 4, available through Diablo Analytical (Antioch, CA).
9. Sparkman, O. D. NIST 23: The Largest Increases in Compound Coverage for the Tandem and NIST/EPA/NIH EI Libraries Since NIST Became Curator, Separation Science, July **2023**. NIST 23: The Largest Increases in Compound Coverage for the Tandem and NIST/EPA/NIH EI Libraries Since NIST Became Curator - Separation Science (sepscience.com)
10. David, F.; Scanlan, F.; Sandra, P.; Szelewski, M. Analysis of Essential Oil Compounds Using Retention Time Locked Methods and Retention Time Databases, Agilent Technologies application note, publication number 5988-6530EN, **2002**.

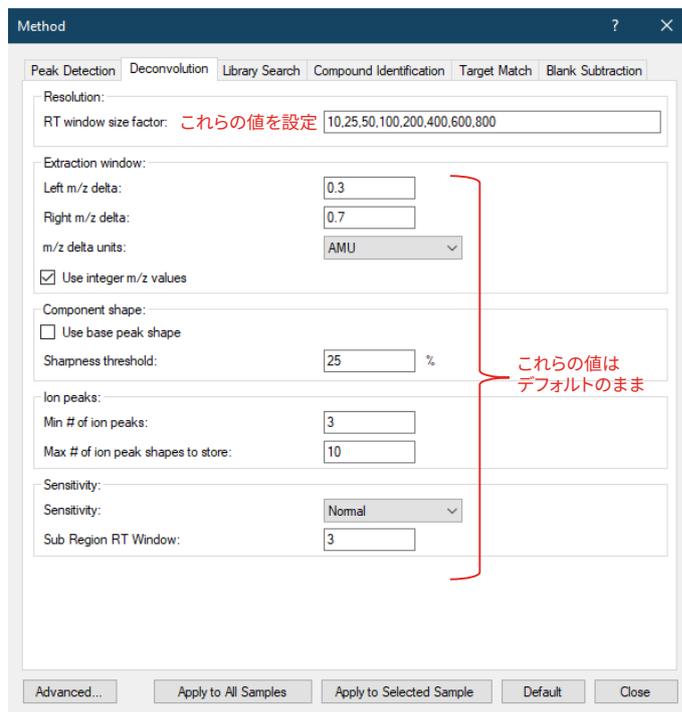
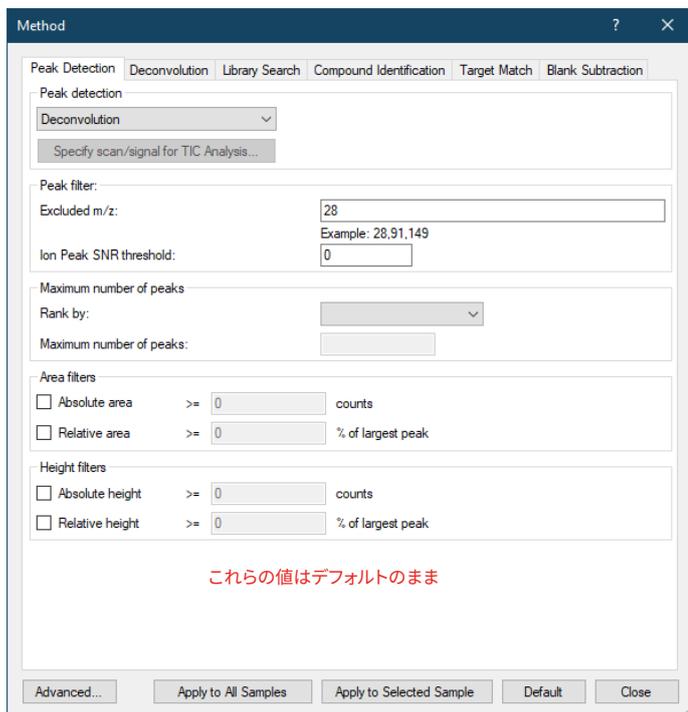
付録

MassHunter Unknowns Analysis の設定

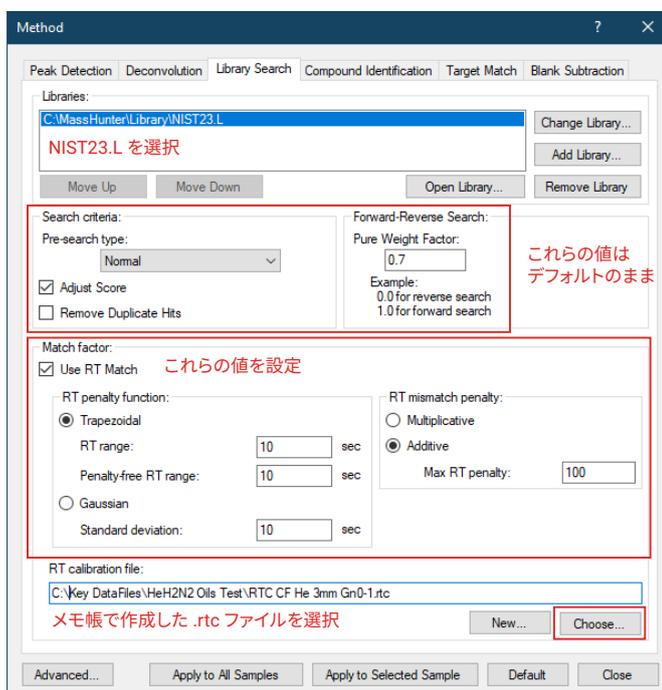
このセクションでは、Agilent MassHunter Unknowns Analysis の設定方法について説明します。ここに示したパラメータは、この特定のアプリケーションで使用したものです。他のアプリケーションの場合は、異なるパラメータを使用してプロセスを最適化することができます。

Microsoft Windows の [スタート] メニューから、Agilent MassHunter Quantitative Analysis ソフトウェアのフォルダーを選択し、MassHunter Unknowns Analysis プログラムを開きます。

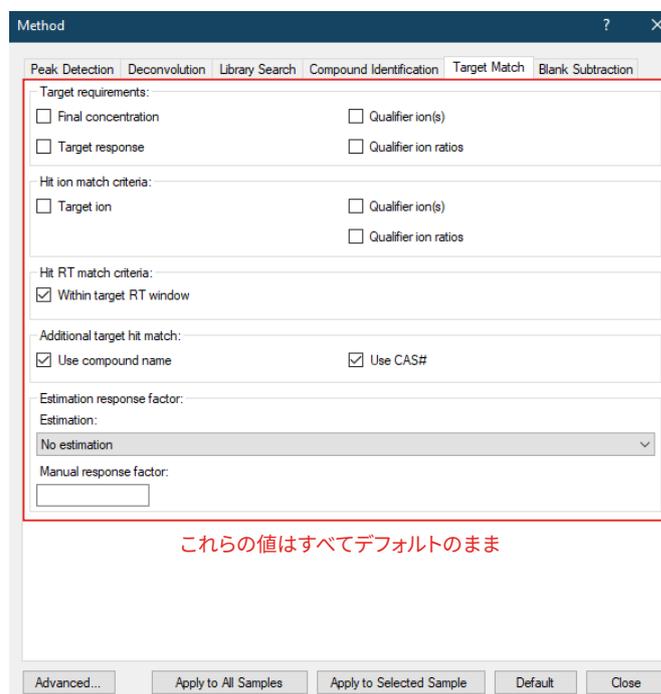
1. **File (ファイル) > New Analysis (新規解析)** をクリックします。データファイルが含まれるディレクトリに移動します。
2. 分析用のファイル名を入力します。
3. **File (ファイル) > Add Samples (サンプルを追加)** をクリックします。処理するデータファイルを選択します。クロマトグラムの TIC が表示されていることを確認してください。
4. **Method (メソッド) > Edit (編集)** をクリックします。付録の図 1 ~ 5 に示されているように、パラメータを設定します。



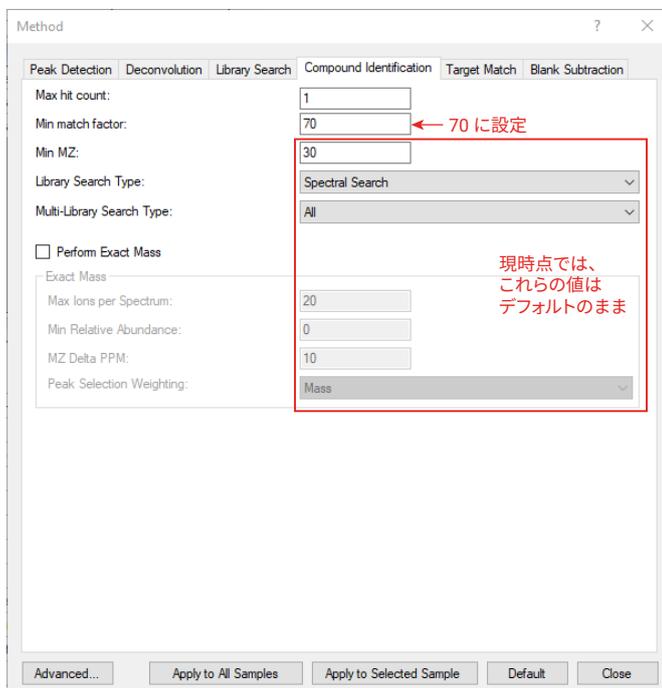
付録の図 1. Agilent MassHunter Unknowns Analysis の [Peak Detection (ピーク検出)] タブと [Deconvolution (デコンボリューション)] タブのパラメータの設定



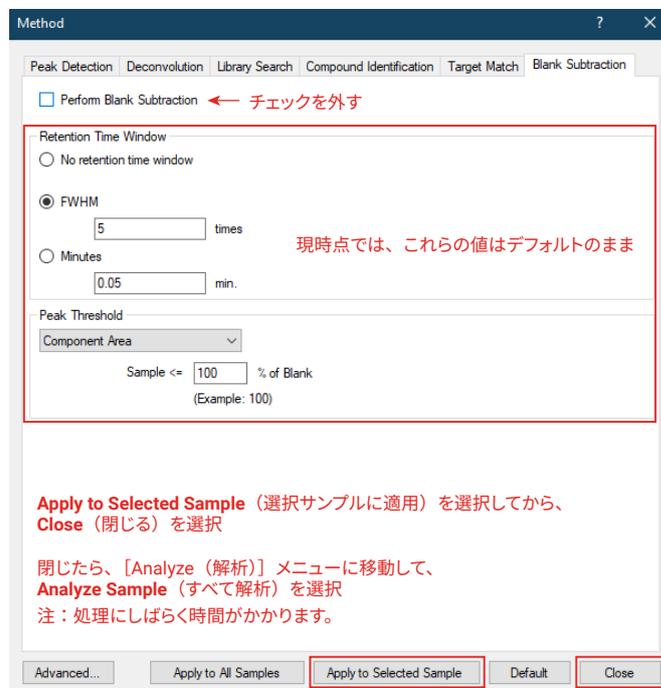
付録の図 2. Agilent MassHunter Unknowns Analysis の [Library Search (ライブラリの検索)] タブのパラメータの設定



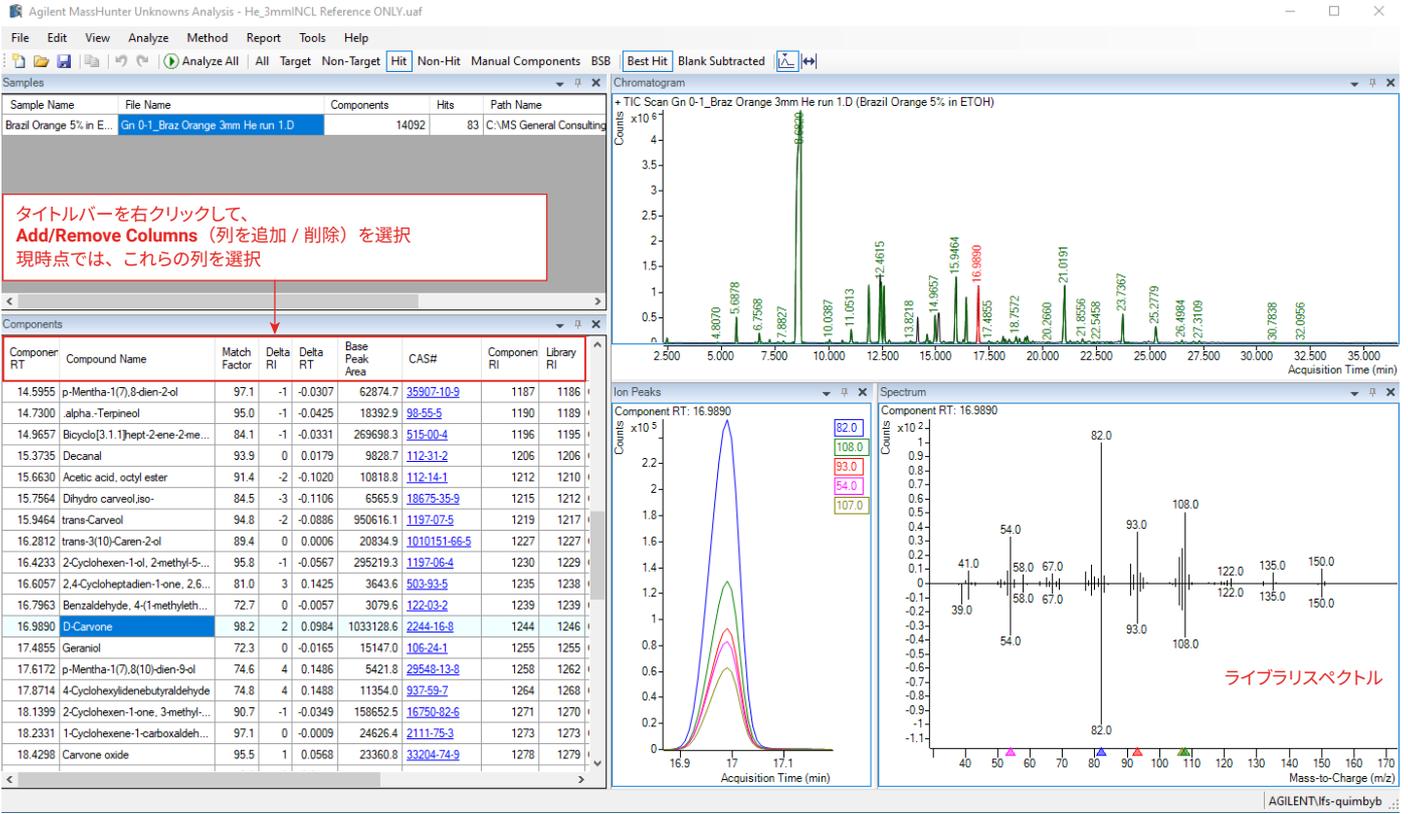
付録の図 4. Agilent MassHunter Unknowns Analysis の [Target Match (ターゲット一致)] タブのパラメータの設定



付録の図 3. Agilent MassHunter Unknowns Analysis の [Compound Identification (化合物の同定)] タブのパラメータの設定



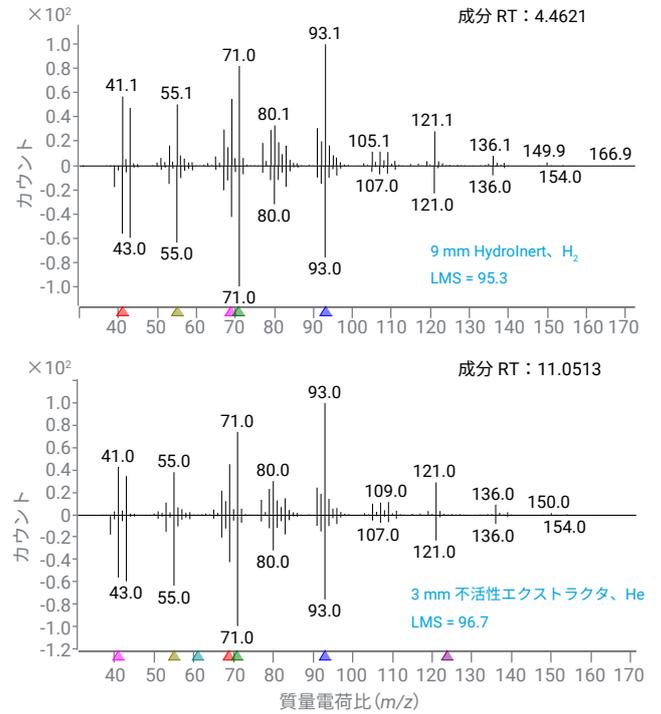
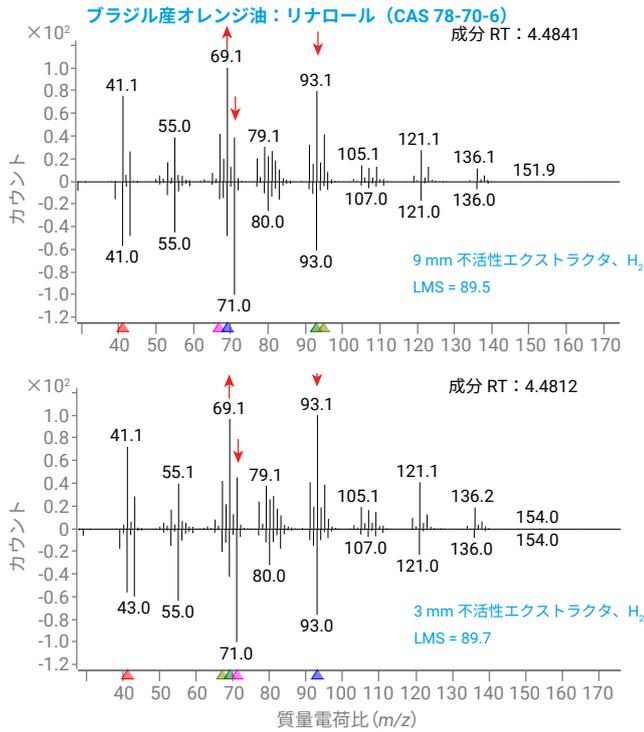
付録の図 5. Agilent MassHunter Unknowns Analysis の [Blank Subtraction (ブランク減算)] タブのパラメータの設定



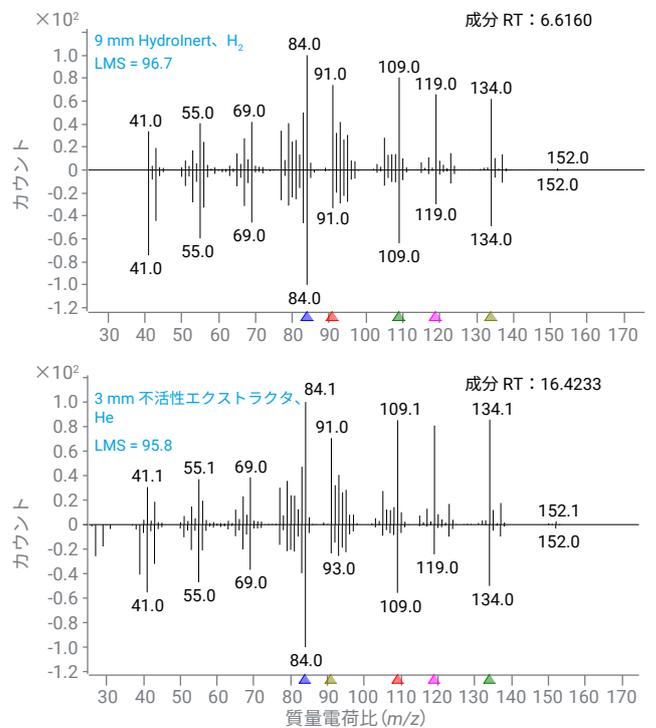
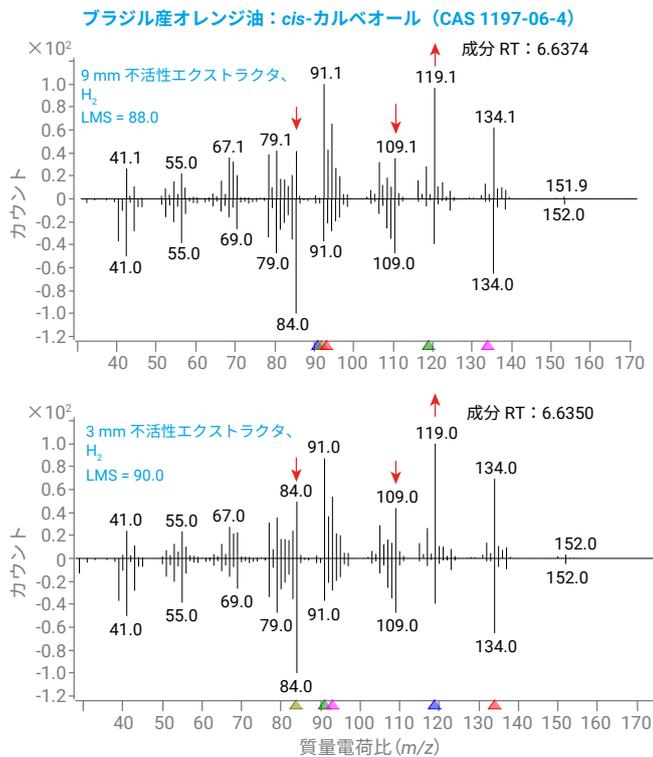
付録の図 6. Agilent MassHunter Unknowns Analysis でデコンポリュート/検索したデータファイルの結果例

HydroInert イオン源で除去されたイオン源内反応の他の例

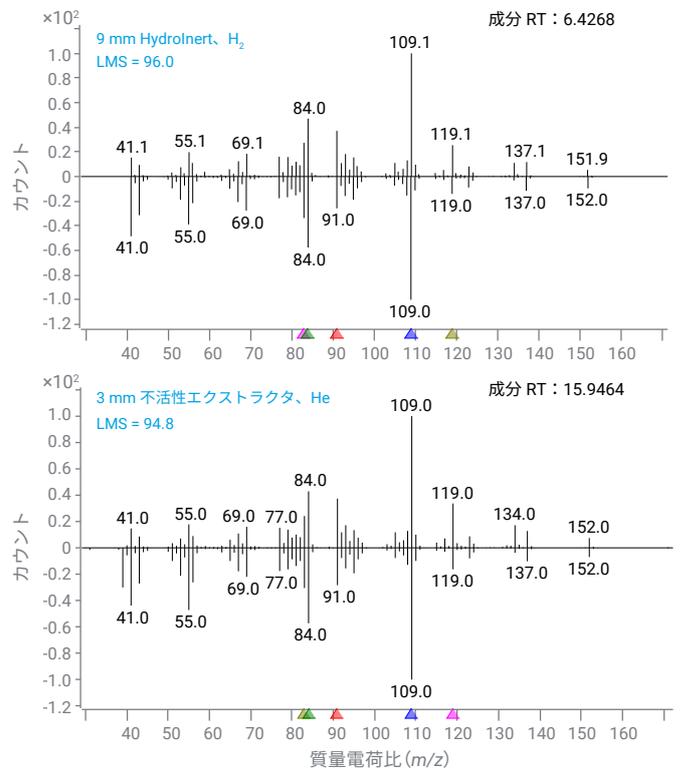
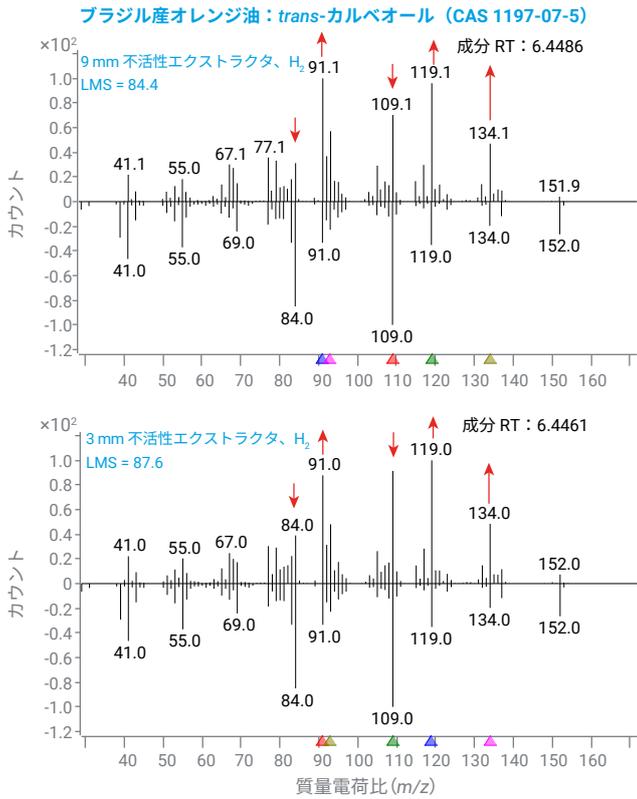
このセクションでは、ブラジル産オレンジ油と橙花油から得られたいくつかの化合物のスペクトルを調べます。各化合物について、ヘリウムと 3 mm 不活性エクストラクタイオン源を使用して得られたスペクトル、水素と 9 mm HydroInert イオン源を使用して得られたスペクトル、および水素と 9 mm および 3 mm のエクストラクタレンズを備えた不活性エクストラクタイオン源を使用して得られたスペクトルを示しています。図 7～11 に示すように、HydroInert イオン源を使用しない場合に水素スペクトルが変化することは明らかであり、LMS 値が低下し、同定の信頼性が低下しました。



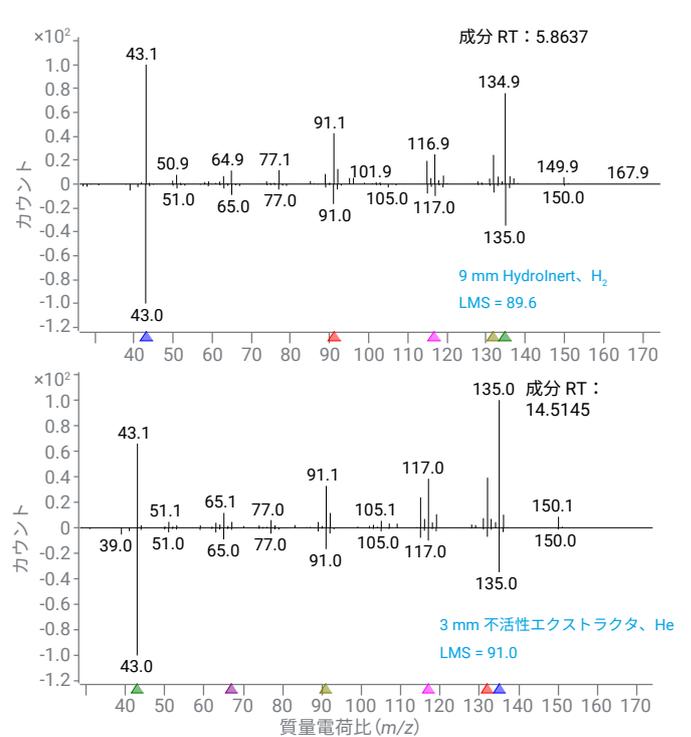
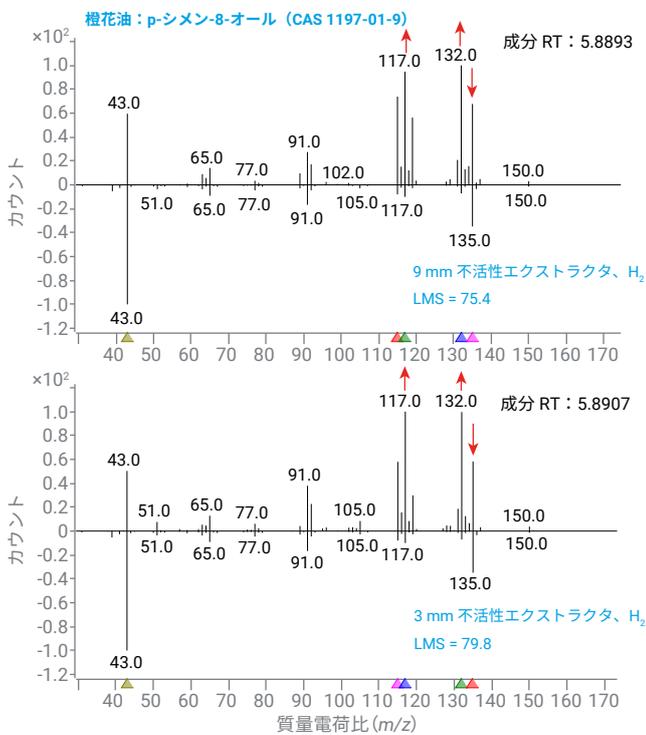
付録の図 7. ブラジル産オレンジ油中のリナロール。赤い矢印は、水素キャリアと非 Hydrolnert イオン源で観察されたスペクトルの変化を示します。



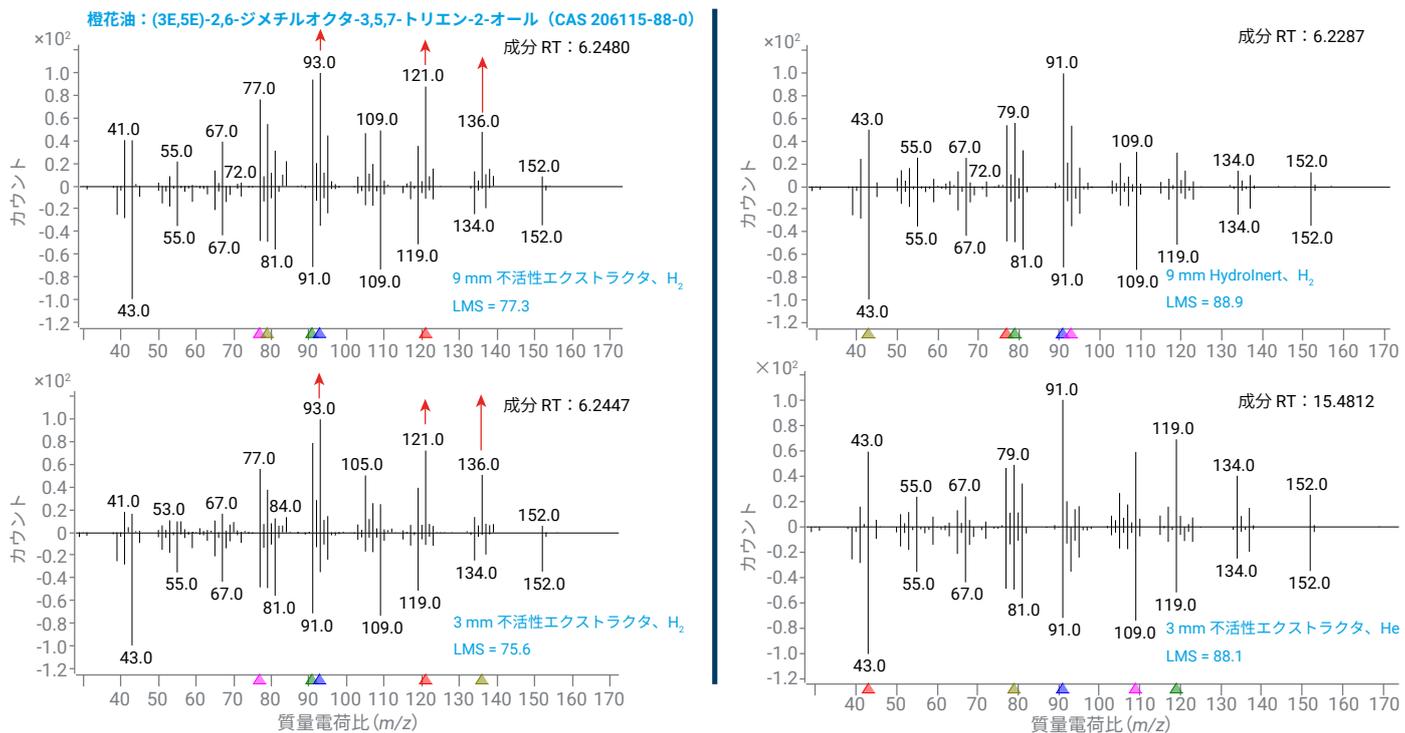
付録の図 8. ブラジル産オレンジ油中の cis-カルベオール。赤い矢印は、水素キャリアと非 Hydrolnert イオン源で観察されたスペクトルの変化を示します。



付録の図 9. ブラジル産オレンジ油中の trans-カルベオール。赤い矢印は、水素キャリアと非 Hydrolnert イオン源で観察されたスペクトルの変化を示します。



付録の図 10. 橙花油中の p-シメン-8-オール。赤い矢印は、水素キャリアと非 Hydrolnert イオン源で観察されたスペクトルの変化を示します。



付録の図 11. 橙花油中の (3E,5E)-2,6-ジメチルオクタ-3,5,7-トリエン-2-オール。赤い矢印は、水素キャリアと非 Hydrolnert イオン源で観察されたスペクトルの変化を示します。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

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。

DE52560836

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2024

Printed in Japan, January 26, 2024

5994-7058JAJP