

ヘリウムおよび代替キャリアガスによる GC/MS で得られた農薬マススペクトルの 一致度の検証

著者

小笠原 亮

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

ヘリウムの 価格高騰と入手困難に伴い、GC/MS で代替キャリアガスの導入を検討するケースが増えています。GC/MS による定性分析では得られた EI マススペクトルを NIST などのライブラリで検索し、その一致度 (スコア) を化合物同定に用います。現行のライブラリに登録されているマススペクトルは基本的にヘリウムキャリアで得られたものです。代替キャリアガスを使用した場合、化合物によってはマススペクトルに変化が見られ、また感度も劣ることが知られていますが、スコアへの影響を検証した事例はほとんどありません。そこで、本アプリケーションノートではノンターゲット定性スクリーニング分析を念頭におき、代替キャリアガス (水素、窒素およびアルゴン) で得られた農薬のマススペクトルについて検証を行いました。

代替キャリアガスと評価方法

入手のしやすさおよび価格面から現実的にヘリウムの代替となりうるガスとして、水素、窒素およびアルゴンを評価対象としました。評価は次の方法で行いました。まず対象化合物をヘリウムキャリアガスで測定して得られたマススペクトルをライブラリに登録しました。続いて各代替キャリアガスで測定を行い、得られたマススペクトルについて先に得られたヘリウムキャリアガスのデータから作成したライブラリを用いてサーチを行い、スコアを算出しました。スコアが高いほどヘリウムキャリアガスで得られたマススペクトルとの一致度が高いと考えることができます。

実験

対象化合物

GC/MS でよく測定される 138 農薬を対象としました。化合物名は表 3 に記しました。

測定条件

条件を表 1 に示します。ヘリウムガスについては高純度ガスが入手できなかったため、一般ヘリウムガスボンベに別途大型ユニバーサルトラップ (P/N : RMSH-2) を接続して使用しました。

表 1. 測定条件

装置	
GC	Agilent 8890
オートサンブラ	Agilent 7693A
MS	Agilent 5977B
GC 条件	
注入口ライナ	ウルトライナーツスプリット、低圧力損失、ガラスウール (P/N : 5190-2295)
注入量	1 μ L
スプリット比	Split 10:1
注入口温度	280 $^{\circ}$ C
カラム	DB-5ms UI, 20 m x 0.18 mm ID x 0.18 μ m (P/N : 121-5522UI)
オープン昇温	60 $^{\circ}$ C (1 min) - 10 $^{\circ}$ C/min - 325 $^{\circ}$ C (7.5 min)
キャリアガス	ヘリウム (>99.99 %), 1.0 mL/min constant flow 水素 (>99.99999 %), 0.6 mL/min constant flow 窒素 (>99.9995 %), 0.25 mL/min constant flow アルゴン (>99.999 %), 0.25 mL/min constant flow
インターフェース温度	280 $^{\circ}$ C
MS 条件	
イオン化法	EI
イオン源	エクストラタイオン源 (一般イオン源) (ヘリウム、水素、窒素、アルゴン) HydroInert イオン源 (水素)
イオン源温度	280 $^{\circ}$ C
スキャン範囲	m/z 33-600 (ヘリウム、水素、窒素) m/z 41-600 (アルゴン)

各キャリアガスについて、流量以外はほぼ同じ条件で測定を行いました。カラムは長さ 20 m、内径 0.18 mm の細いカラムを使用しました。内径の細いカラムのメリットとして、代替キャリアガス使用時の流量をより低く抑えられる点があります。特に窒素とアルゴンの場合、このカラムを用いると 0.2 mL/min 程度まで流量を落とすことが可能ですが、よく使用される 30 m、内径 0.25 mm のカラムでは 0.5 mL/min 程度が限界です。流量を抑えるのはそれによって感度と分離の両面で有利になるからです。水素はポンプ排気効率が悪いため、流量が多いとイオン透過率が低下して感度が悪化します。また、窒素やアルゴンはヘリウムに比べてイオン化断面積が大きく、それ自身がフィラメントからの熱電子を消費してしまうため、流量が多いほどサンプルのイオン化効率が低下します。窒素とアルゴンについては分離に関しても線速度が大きくなると急激に悪化することはよく知られています。こうした理由から代替キャリアガスを使用した GC/MS 分析において、この 20 m、内径 0.18 mm のカラムは最近広く用いられており、ラインナップも豊富でさまざまな液相を選択することができます。

各化合物のカラム注入量は 1 ng としました。この量は重要で実験の結果を左右するものですが、感度の劣る窒素およびアルゴンキャリアガスでも TICC でしっかりとピークが得られ、かつ水素キャリアガスでも飽和しない量です。

イオン源はエクストラタイオン源 (一般イオン源) の他、水素キャリアについては 2022 年に発表された水素キャリアガス専用の HydroInert イオン源も使用しました。HydroInert イオン源は形状や使用するフィラメントは一般イオン源と同じですが、金属表面に特殊な不活性化処理が施されていて独特な色合いをしています (図 1)。



図 1. 水素キャリアガス専用 HydroInert イオン源

検証は 1 つのイオン源ではなく、一般イオン源と HydroInert イオン源をそれぞれ 3 つずつ用意して行いました。結果で紹介する値は 3 つのイオン源での平均値です。

マススペクトル抽出

作業効率を向上し、かつ作為的な処理を避けるため、マススペクトルの抽出およびライブラリサーチは MassHunter Unknowns Analysis を用いて自動処理しました。マススペクトル抽出はデコンボリューションにて行い、ライブラリサーチに関するパラメータはデフォルトの値を用いました。農薬は各々数十成分を含む 5 つの混合標準の形で測定しました。デコンボリューション処理するとはいえ、重なり合ったピーク同士は互いにのマススペクトルとスコアに影響を与えると考えられます。そこで、混合標準に含まれていても一定の分離度に満たないピークは今回の検討対象からは除外しました。

結果と考察

スコア

138 農薬のスコアを図 2 に示します。平均スコアが最も高かったのは、HydroInert イオン源を用いて水素キャリアガスで分析した場合で 94.6 ± 2.4 、次いで一般イオン源と水素の組み合わせの 92.8 ± 2.8 でした。一般イオン源と窒素ガスでは 82.9 ± 6.1 、アルゴンガスでは 81.3 ± 7.8 でした。最低スコアを比較すると、HydroInert イオン源で水素キャリアガスを用いた際には 87.0、一般イオン源と水素の場合は 84.7、窒素は 61.8、アルゴンはさらに低く 53.7 でした。水素キャリアガスの場合は窒素やアルゴンと比較して平均で約 10 ポイント、最低スコアで約 20 ポイント高い結果となりました。また、水素キャリアガスと HydroInert イオン源の組み合わせの場合は、一般イオン源との組み合わせの場合に比べて平均で 1.8 ポイントの差がありました。

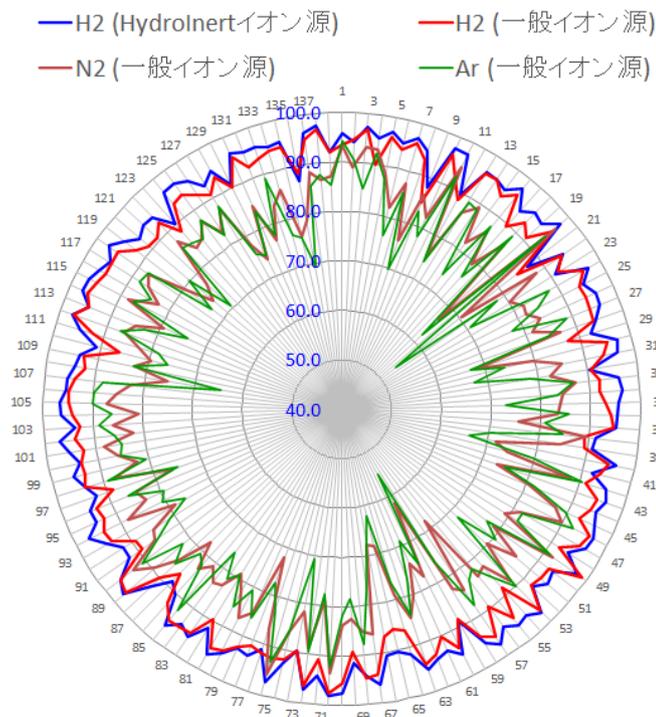


図 2. 各代替キャリアによる 138 農薬のスコア分布

スコア差の要因 1：マススペクトルの変化

水素キャリアガスにおける HydroInert イオン源と一般イオン源のスコアの差は、主にマススペクトルの変化に起因すると考えられます。マススペクトルが変化する化合物はそれほど多くはなく、全体の 1 割程度でした。ここで言うマススペクトルの変化とは一見してわかるようなスペクトルバランスの変化です。なお、一般的には不活性なガスとされる窒素やアルゴンにおいてもマススペクトルが変化する化合物が見られました。

マススペクトルに変化が見られた化合物の例を 2 つ紹介します。図 3 は Lindane の例です。Lindane では主に一般イオン源で水素キャリアを用いた際に変化が見られました。 m/z 78 に脱塩素で生じたベンゼン由来と考えられるイオンが顕著に増加しています。脂肪族ポリハロゲン化合物でハロゲンの脱離に起因すると思われるスペクトル変化はこの他にも Heptachlor や *cis*-Chlordane など複数の化合物で見られました。一方、水素キャリアガスでも HydroInert イオン源を使用した場合や、窒素およびアルゴンキャリアガスではこうした反応はある程度抑えられました。

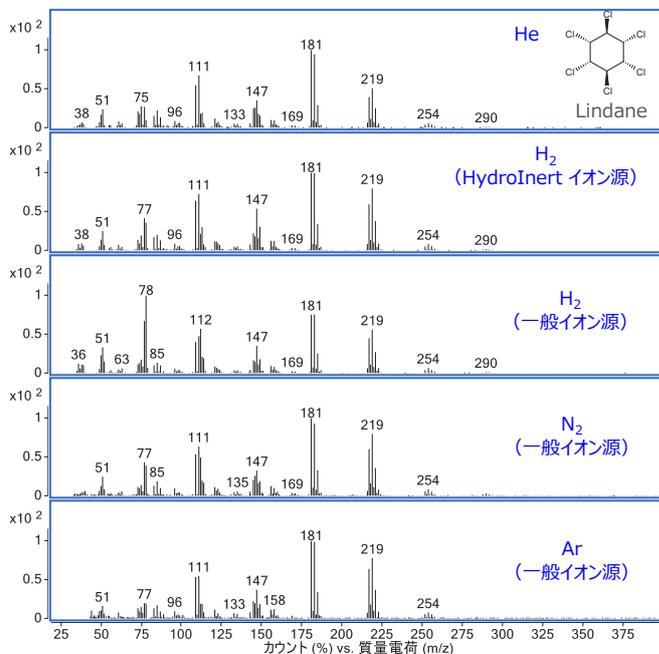


図 3. Lindane の各マススペクトル

図4はChlorbufamの例です。こちらは代替キャリアの種類によらず通常イオン源では主に m/z 53, 127, 153 のイオン比に明らかな変化が見られました。

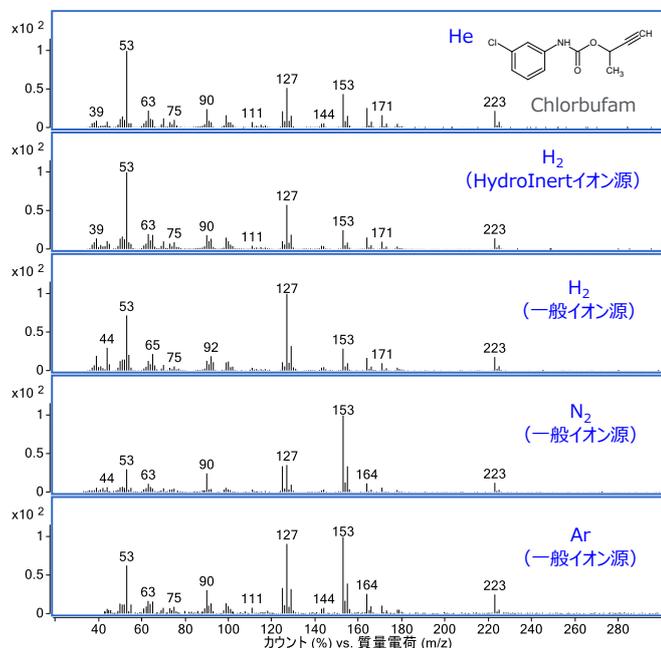


図4. Chlorbufam の各マススペクトル

スコア差の要因2：感度

水素とその他のキャリアガスにおいて見られた大きなスコア差は感度に起因します。総合的に見て感度はスコアに対してマススペクトルの変化よりも明らかに大きな影響を与えていました。感度が低いと抽出したマススペクトルに重なるノイズの影響が大きくなるためにスコアは低下します。正確な感度差は個々の化合物によって異なりますが、大まかな TICC のレスポンス比較ではヘリウムキャリアガスに対して水素キャリアガスは 1/2、窒素キャリアガスは 1/20、アルゴンキャリアガスは 1/40 程度でした。キャリアガス流量が大きくなるとこの差はさらに大きくなります。

代替キャリアガス特有のバックグラウンドイオン

窒素およびアルゴンではキャリアガス由来のバックグラウンドイオンが生じます。窒素では m/z 28 に、アルゴンでは m/z 40 にそれぞれ分子イオン M^+ が非常に強く出現します。したがってスキャン範囲はそれぞれ m/z 29 ~、 m/z 41 ~ に設定する必要があります。キャリアガスの分子イオンを含む範囲でスキャンした場合は多くのピークが TICC 上でベースラインに埋もれてしまいます。また、それ以外にも窒素では m/z 42 に N_3^+ が、アルゴンでは m/z 80 に二量体イオンがやや大きく出現します。図5に示すようにこれらのイオンがバックグラウンドイオンの多くを占めます。これらのイオンはマススペクトル抽出時にはベースライン減算により除かれるためスコアに与える影響は僅かですが、TICC のベースラインをかなり押し上げます。

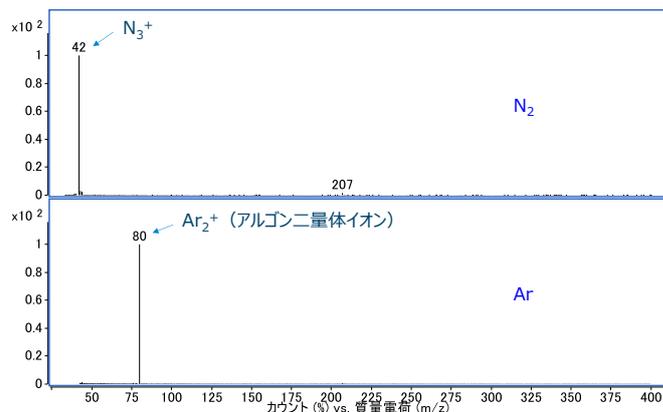


図5. 窒素およびアルゴンキャリアガスのバックグラウンドスペクトル

水素キャリアガスではキャリアガス由来の干渉イオンは特に生じません。ただし、初めて水素キャリアガスを使用する場合には水素によって配管表面などから溶出される炭化水素等によってバックグラウンドが高くなる場合があります。こうしたバックグラウンドの上昇は通常 1 ~ 2 日ほど水素を流し続けることによって徐々に収まります。

相対保持指標 (RI) の乖離

マススペクトルによる化合物定性を補助する目的でデータベースに登録された RI の一致度を併用することはしばしば行われます。代替キャリア使用時の RI は同じ平均線速度の下ではヘリウムキャリアガスで得られた RI と概ね同程度の値になります。ただし特に窒素やアルゴンキャリアガスの場合は低線速度で測定されることが多いため、ヘリウムキャリアガスで得られた RI との乖離はやや大きくなる可能性があります。今回の測定条件では平均で窒素では -13.6、アルゴンでは -16.9 の乖離が認められました (表2)。それほど大きな乖離ではありませんが、RI を厳密に適用する場合にはこの点を考慮する必要があります。

表2. 各代替キャリアガスの RI の乖離 (138 化合物の平均値)

	カラム流量	平均線速度	RI の乖離
He	1.0 mL/min	44.9 cm/sec	--
H ₂	0.6 mL/min	51.6 cm/sec	4.5±2.1
N ₂	0.25 mL/min	23.4 cm/sec	-13.6±7.8
Ar	0.25 mL/min	20.8 cm/sec	-16.9±9.6

結論

代替キャリアガスを用いた場合、HydroInert イオン源と水素キャリアガスの組み合わせが最もスコアの高いマススペクトルを得られること、即ちヘリウムキャリアガスに近い結果が得られることがわかりました。窒素およびアルゴンキャリアガスの平均スコアは水素キャリアガスの時より約10ポイント低く、その主な原因は感度でした。

実験結果から、ノンターゲット定性スクリーニング分析における代替キャリアガスとして、水素キャリアガスを HydroInert イオン源と組み合わせて使用するのが最も推奨されます。窒素およびアルゴンキャリアガスは不活性で扱いやすいというメリットがあり、感度をそれほど求めない分析においてはこれらも有力な代替キャリアガス候補となります。要求される感度レベルや可燃性ガスである水素の使用可否を踏まえた判断が最終的に求められます。

水素ガスの取り扱いについて

水素ガスは酸素との混合により引火爆発を起こしやすいガスです。水素ガスは水素ガス供給源、ガスを導入する分析機器および途中配管を含めた使用環境、機器操作等に使用者の責任において細心の注意の上で取り扱い必要があります。各 GC に関するより詳細な情報は、下記の技術概要をご確認ください。

- 1) 技術概要：Agilent 8860 GC システムにおける水素の安全性
(資料番号：5994-5419JAJP)
[Agilent 8860 GC システムにおける水素の安全性](https://chem-agilent.com)
(chem-agilent.com)
- 2) 技術概要：Agilent 8890 GC システムにおける水素の安全性
(資料番号：5994-5413JAJP)
[Agilent 8890 GC システムにおける水素の安全性](https://chem-agilent.com)
(chem-agilent.com)

表 3. 138 農薬一覧

1	4,4'-Dichlorobenzophenone	31	Diethofencarb	61	Fluridone	91	p,p'-DDT	121	TCMTB
2	Acetamidiprid	32	Diflufenican	62	Flusilazole	92	Penconazole	122	Tecnazene
3	Aldrin	33	Dimepiperate	63	Flutolanil	93	Pendimethalin	123	Tefluthrin, cis-
4	alpha.-Hexachlorocyclohexane	34	Dimethametryn	64	Flutriafol	94	Phorate	124	Terbufos
5	Atrazine	35	Dimethoate	65	Fluvalinate-tau-I	95	Phosalone	125	Terbutryn
6	Azinphos-methyl	36	Disulfoton	66	Fluvalinate-tau-II	96	Phosmet	126	Tetrachlorvinphos
7	Bendiocarb	37	Dithiopyr	67	Heptachlor	97	Phosphamidon II	127	Tetradifon
8	Benfluralin	38	Edifenphos	68	Hexazinone	98	Phthalide	128	Thenylchlor
9	Benoxacor	39	Endosulfan sulfate	69	Iprobenfos	99	Pirimiphos-methyl	129	Thifluzamide
10	beta.-Endosulfan	40	Endrin	70	Isazophos	100	Pretilachlor	130	Tolclofos-methyl
11	beta.-Hexachlorocyclohexane	41	EPN	71	Isoborneol	101	Procymidone	131	Triadimenol I
12	Bitertanol I	42	Esprocarb	72	Isofenphos-oxon	102	Prometryn	132	Tri-allate
13	Buprofezin	43	Ethalfuralin	73	Isoprocarb	103	Propachlor	133	Triazophos
14	Butachlor	44	Ethiofencarb	74	Isoxathion	104	Propanil	134	Trifluralin
15	Butamifos	45	Ethofenprox	75	Kresoxim-methyl	105	Propazine	135	Uniconazole-P
16	Butylate	46	Ethofumesate	76	Lindane	106	Propoxur	136	Vinclozolin
17	Cafenstrole	47	Ethoprophos	77	Malathion	107	Propyzamide	137	XMC
18	Chlorbufam	48	Etoxazole	78	Mefenpyr-diethyl	108	Pyrazophos	138	Zoxamide
19	Chlorfenapyr	49	Eucalyptol	79	Mepronil	109	Pyributicarb		
20	Chloroneb	50	Fenarimol	80	Methidathion	110	Pyridaben		
21	cis-Captafol	51	Fenbuconazole	81	Methiocarb	111	Pyridaphenthion		
22	cis-Chlordane	52	Fenitrothion	82	Methoxychlor	112	Pyrimethanil		
23	Cyanazine	53	Fenobucarb	83	Mevinphos	113	Pyrimidifen		
24	Cyanophos	54	Fenothiocarb	84	Monocrotophos	114	Pyriminobac-methyl (Z)		
25	Cyhalofop-butyl	55	Fenoxanil	85	Napropamide	115	Pyroquilon		
26	Demeton-S-Methyl	56	Fensulfthion	86	Nitrothal-isopropyl	116	Quinalphos		
27	Dichlorvos	57	Fenthion	87	Norflurazon	117	Quinoclamine		
28	Dicloran	58	Fluacrypyrim	88	o,p'-DDT	118	Simetryn		
29	Dicofol	59	Flumioxazin	89	Oxychlordane	119	Spirodiclofen		
30	Dieldrin	60	Fluquinconazole	90	p,p'-DDE	120	Spiroxamine II		

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いません。
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。

DE54690709

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2023
Printed in Japan, August 15, 2023
5994-6658JAJP

