

# Agilent SureMass アルゴリズムによる TOF データのスペクトル抽出と そのライブラリサーチにおけるメリット

## 著者

小笠原 亮  
アジレント・テクノロジー  
株式会社

## 要旨

GC/Q-TOF の TOF モードでは四重極型 GC/MS と同じパターンのマスペクトルが精密質量で得られます。アジレントは高分解能 TOF データ専用のマスペクトル抽出アルゴリズムとして SureMass を開発しました。これは四重極型 GC/MS データにおけるデコンボリューションに相当します。より処理速度が速く、スペクトルダイナミックレンジの拡張機能を備えているため広い濃度範囲に対応可能で、さらにスペクトル抽出時に質量精度を損なわないといった特長を持ちます。本アプリケーションノートでは SureMass の特徴とそのメリットについて紹介します。

## はじめに

GC/Q-TOF は精密質量測定と MS/MS が可能な GC/MS として未知ピークの組成・構造推定などによく用いられます[1][2]。GC/Q-TOF による定性の最初の段階では一般的な四重極型 GC/MS と同様にライブラリサーチが行われます。EI マススペクトルの取得は TOF モードで行われ、四重極型 GC/MS と同じパターンのマススペクトルが得られます。ただし高分解能 TOF データと四重極型 GC/MS データでは、最適なマススペクトル抽出アルゴリズムが異なります。

## マススペクトル抽出とライブラリサーチ

### デコンボリューション

ユニットマス分解能の四重極型 GC/MS で得られた EI マススペクトルの抽出方法としてデコンボリューションが知られています。デコンボリューション処理をかけることで複雑に重なり合ったピークであっても抽出イオンクロマトグラム (EIC) の保持時間 (RT) とピーク形状の違いから各コンポーネントに分けられ、それぞれのコンポーネントに固有のスペクトルが割り振られます。デコンボリューションの概略について図 1 に示します。

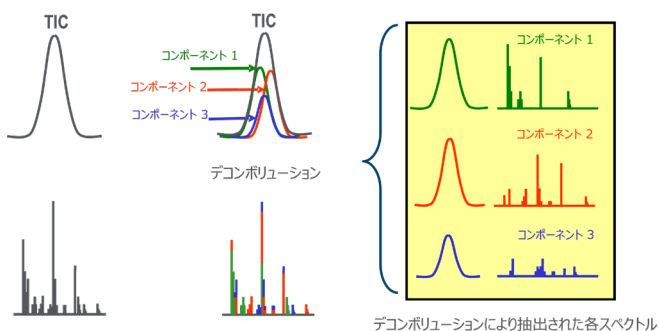


図 1. デコンボリューション

### SureMass

従来の EIC ベースのデコンボリューションでは、GC/Q-TOF の TOF モードで得られる高分解能プロファイルデータに対しては十分な効果が得られませんでした。そこで新たに開発された検出アルゴリズムが SureMass です。SureMass では TOF データを連続的な三次元アレイ (リテンションタイム、 $m/z$  およびアバンダンス) として処理します (図 2)。これにより質量誤差 3 ppm 以下程度の質量精度を保持したまま、マススペクトル抽出が可能になりました。また、スペクトルのリニアダイナミックレンジを拡張する機能も持ち合わせるため、多少飽和したデータであっても理想的なスペクトルが再現でき、ライブラリサーチによる定性の精度を向上させます。SureMass を利用するにはプロファイルモードのスペクトルを取得する必要があります。

SureMass の詳細については 技術概要[3] をご参照ください。

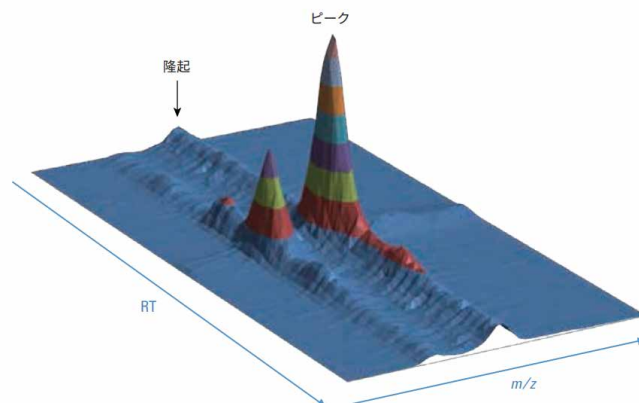


図 2. SureMass による三次元データ処理

### ライブラリサーチ

SureMass により抽出されたマススペクトルは、続いてライブラリサーチにかけられます。一般的に使用される EI マススペクトルライブラリに登録されたマススペクトルの多くは四重極型 GC/MS により得られたものであり、ユニットマスで登録されています。ライブラリサーチでは抽出されたマススペクトルと登録スペクトルのパターンの一致度 (スコア) が設定した基準を満たすか否かで化合物同定が行われます。TOF データのような精密質量で得られたマススペクトルであってもライブラリスペクトルがユニットマスで登録されている以上、サーチはパターン的一致をもとに行われます。サーチのためのアルゴリズムは複数存在しますがここでは省略します。

### MassHunter Unknowns Analysis ソフトウェア

Unknowns Analysis はアジレントの四重極型 GC/MS、TOF の双方のデータに対応し、マススペクトル抽出からライブラリサーチ、レポート作成などを行う定性解析ソフトウェアです。四重極型 GC/MS のデータについては“Deconvolution”を、TOF データの場合は“SureMass”をそれぞれメソッドで選択します。SureMass の処理時間は 1 データにつき数秒程度、ライブラリサーチに要する時間は使用するライブラリの種類と数にもよりますが、概ね数秒～10 秒程度と高速です。

### TOF データのライブラリサーチ例

前述のように TOF データの SureMass 処理で得られるマススペクトルの質量誤差は 3 ppm 以下程度であり、これはイオン組成を計算するのに十分な質量精度です。したがって、マススペクトルを構成する各イオンの精密質量がライブラリにヒットした化合物の分子組成から考えられる値と矛盾が無いかが否かを正確に判定することができます。これは高分解能な TOF データならではの利点であり、スペクトルパターンが類似した全く別の化合物がライブラリにヒットしてしまう誤同定を避けるための有効な手段です。続いて具体例を紹介します。

### 標準品の解析例

Unknowns Analysis で安息香酸エチル標準品の TOF データを SureMass 処理後にライブラリサーチした例を紹介いたします。ライブラリとして Wiley Registry 12th Edition/NIST 2020 Library (登録マススペクトル数約 100 万) を用い、スコア ≥ 80 をヒットと判定するよう設定しました。また、スペクトルを形成する各イオンの許容質量誤差範囲は 5 ppm に設定しました。各イオンの精密質量値が許容誤差範囲内であれば橙色で、外れている場合は黒色で表示されます。サーチの結果、安息香酸エチルがベストヒット (スコア 97.7) し、主要なイオンはすべて橙色を示しました (図 3)。即ち主要なすべてのイオンが安息香酸エチルの分子組成から計算される理論  $m/z$  に対して矛盾が無いことを示しています。

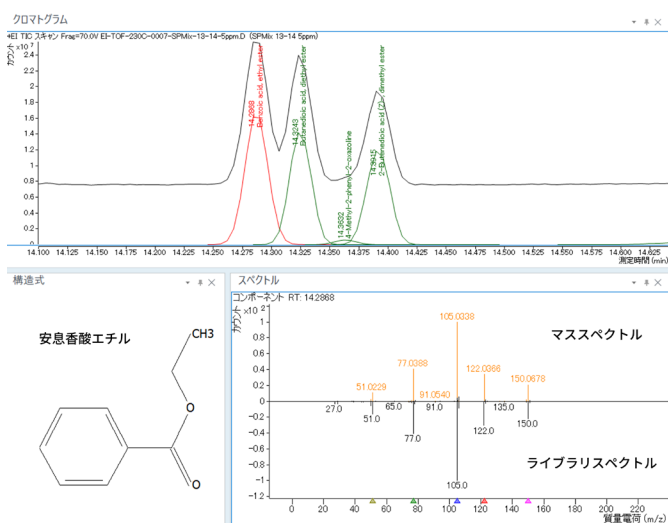


図 3. 安息香酸エチルの Unknowns Analysis による解析例

### 未知ピークの解析例

次に混合標準溶液中のある微小なピーク (RT : 14.36 min) の解析例を紹介いたします。条件設定は先ほどの安息香酸エチルの場合と同様です。このピークはある標準品の不純物または分解物であると考えられますが、ライブラリサーチの結果、4-メチル-2-フェニル-2-オキサゾリン (分子組成 :  $C_{10}H_{11}NO$ , 分子量 : 161.0841) がスコア 82.3 でベストヒットとなりました (図 4)。

得られたマススペクトルと 4-メチル-2-フェニル-2-オキサゾリンのスペクトルを比較すると確かにそのパターンはよく似ているのですが、 $m/z$  161.1198 および 146.0965 の 2 つの主要なイオンが黒色であることから精密質量レベルでは矛盾していることがわかります。4-メチル-2-フェニル-2-オキサゾリンの分子組成から計算される  $M^+$  の  $m/z$  は 161.0835 で、実測値の 161.1198 とは 200 ppm 以上の差がありました。以上からこのピークが 4-メチル-2-フェニル-2-オキサゾリンである可能性は否定されますが、四重極型 GC/MS のデータであれば誤同定されてもおかしくないケースです。

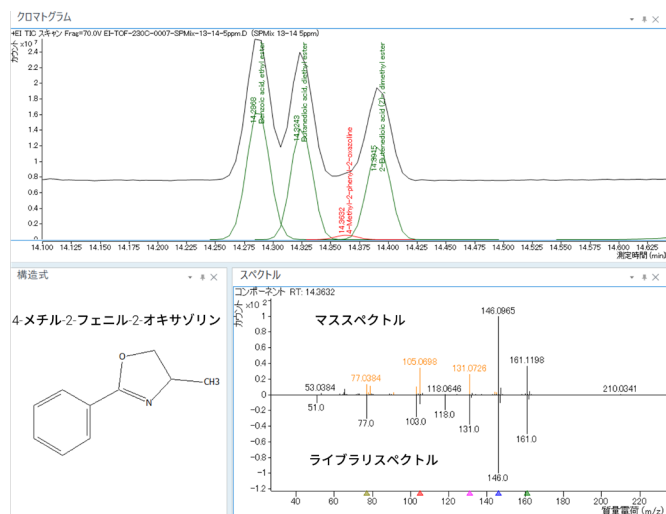


図 4. 未知ピークの Unknowns Analysis による解析例 (4-メチル-2-フェニル-2-オキサゾリンがベストヒット (スコア 1 位))

Unknowns Analysis ではベストヒットした化合物以外にスコア上位 10 の結果についてマススペクトルを確認できます。そしてスコア 2 位以下の化合物であっても蓋然性が高いものをベストヒットとして任意に選択することが可能です。図 5 は 4-メチル-2-フェニル-2-オキサゾリンに次ぐスコアであった (2S,3R)-1,2,3-トリメチル-2,3-ジヒドロインドール (分子組成 :  $C_{11}H_{15}N$ , 分子量 : 161.1204) (スコア 78.5) をベストヒットとして指定した例です。

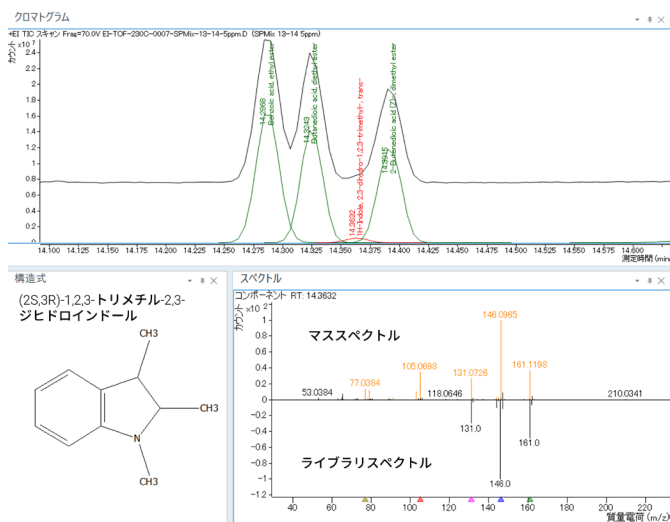


図 5. 未知ピークの Unknowns Analysis による解析例 ((2S,3R)-1,2,3-トリメチル-2,3-ジヒドロインドールをベストヒットに指定 (スコア 2 位))

スコアがやや低いことが示す通りスペクトルパターンには相違があり、このピークが (2S,3R)-1,2,3-トリメチル-2,3-ジヒドロインドールでないことは明らかですが、 $m/z$  161.1198 および 146.0965 を含め主要なイオンが橙色であることから、イオン組成的には矛盾が少ないことがわかります。(2S,3R)-1,2,3-トリメチル-2,3-ジヒドロインドールの  $M^+$  の  $m/z$  は 161.1199 であることから、実測値との質量誤差は 1 ppm 以下であり、分子組成は (2S,3R)-1,2,3-トリメチル-2,3-ジヒドロインドールと同じ  $C_{11}H_{15}N$  であると考えられます。

この段階では未知ピークの正確な正体は明らかではありませんが、少なくとも 4-メチル-2-フェニル-2-オキサゾリンではなく、(2S,3R)-1,2,3-トリメチル-2,3-ジヒドロインドールと同じ分子組成を持つ構造異性体であることは容易に推定できます。

## 議論と考察

以下に TOF データおよび SureMass のメリットをまとめます。

1. 精密質量レベルでのスペクトル抽出によるマスペクトルの質の向上
2. スペクトルダイナミックレンジを拡張し、より広範な濃度領域で理想的なマスペクトルを得られることによるマスペクトルの質の向上
3. 得られるマスペクトルパターンが四重極型 GC/MS データのそれと同じため、既存のユニットマスイブラリを活用できる
4. 得られたイオン組成とライブラリにヒットした化合物の分子組成とを精密質量レベルで検証し、誤同定のリスクを下げられる

誤同定を防ぐための他の手段として、保持指標 (RI) または RT の一致度を併用する方法があります。ライブラリに登録された RI と実測値のずれの程度に応じて減点法などでスコアに反映させるのが一般的で、TOF データおよび四重極型 GC/MS データの双方で利用できます。SureMass 処理した TOF データと併用すれば現状では最も高精度のライブラリサーチが可能になります。ただし、RI は必ずしもライブラリに登録されているわけではなく、また、カラム液相の種類や相比が異なればその値も異なるので、RI を適用する場合は考慮が必要です。

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://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](mailto: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。

DE02773754

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2023

Printed in Japan, January 27, 2023

5994-5715JAJP

## 参考文献

1. アジレント・テクノロジー株式会社 アプリケーションノート「GC/Q-TOF による殺虫剤中の未知不純物の定性」  
[GC-MS-2020020G-001](#)
2. アジレント・テクノロジー株式会社 アプリケーションノート「GC/Q-TOF による多官能アクリレート試薬中の不純物の定性」  
[5994-4563JAJP](#)
3. アジレント・テクノロジー株式会社 技術概要「強力なデータ処理ツール Agilent SureMass」[5991-8048JAJP](#)