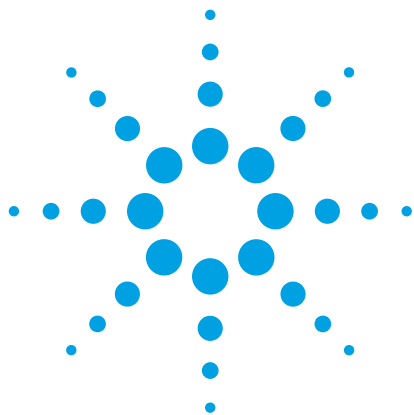




Agilent 7200 シリーズ GC/Q-TOF による エアロゾル粒子の 半揮発性有機化合物 (SVOC) の スクリーニング

アプリケーションノート

環境

著者

Tingting Xu and Xiang Li
Fudan University
Shanghai, China

Shifen Xu
Agilent Technologies (Shanghai) Co., Ltd.
Shanghai, China

Kai Chen
Agilent Technologies Inc.
Santa Clara, CA

概要

エアロゾル粒子に吸着した有機化合物の組成から、エアロゾルによる大気汚染の解明につながる重要な手がかりが得られます。Agilent 7200 シリーズ精密質量 GC/Q-TOF MS の電子イオン化 (EI) モードで採取したフルスペクトルと Agilent MassHunter ソフトウェアツールを組み合わせることで、複雑な粒子抽出物中の多様な有機化合物をノンターゲット分析ワークフローによりスクリーニングすることができました。また、EI-MS/MS 機能を使用して、プロダクトイオンフラグメントの精密質量から未知化合物の構造を推定しました。



Agilent Technologies

はじめに

半揮発性有機化合物 (SVOC) は、多種多様な分子構造を持ち、エアロゾル粒子の形成や健康被害と関連性があります [1、2]。微小エアロゾル粒子による大気汚染への関心が徐々に高まる一方、エアロゾルに吸着する有機化合物はますます多様化しています。このような背景から、SVOC のスクリーニングには、高選択性と高感度、ノンターゲット分析ワークフローおよび高機能なデータ解析が要求されます。

エアロゾル粒子中の有機成分の分析に四重極飛行時間型質量分析 (Q-TOF) を用いる精密質量アプローチは、化合物同定の信頼性が高まるだけでなく、ノンターゲットによる SVOC の同時スクリーニングが可能です。複雑なエアロゾル粒子抽出物中のターゲット化合物と未知化合物の両方をスクリーニングして確認できるため、理想的な分析ツールとなります。

このアプリケーションノートでは、高分離能の Agilent 7200 シリーズ GC/Q-TOF システムによるエアロゾル粒子に吸着した SVOC のノンターゲットスクリーニングワークフローについて説明します。今回の実験のデータ解析では、デコンボリュートした質量スペクトルを NIST MS ライブラリで化合物を検索しました。分子イオンまたはフラグメントイオンの精密質量を使用して、化合物の分子式を確認しました。GC/Q-TOF システムには、MS/MS モードの測定データから未知化合物の構造を推定できるという利点もあります。

実験

装置

今回の実験には、Agilent 7890B GC システムと Agilent 7200A Q-TOF システムを使用しました。装置構成を図 1 に示します。装置の分析条件を表 1 に示します。リテンションタイムロックリング (RTL) 機能と Agilent 農薬および環境汚染物質 (P&E) MRM データベース 3.0 (部品番号 9250AA) の定流量ミッドカラムバックフラッシュフルスクリーニングメソッドを使用しました。

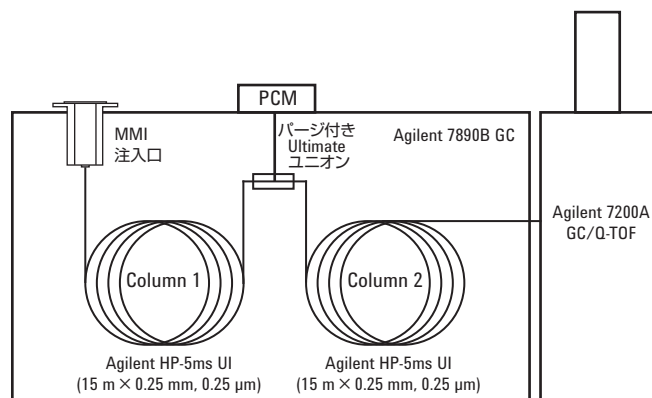


図 1. ミッドカラムバックフラッシュ搭載の Agilent 7890B GC/Agilent 7200 GC/Q-TOF システム

表 1. Agilent 7890B GC および Agilent 7200A GC/Q-TOF 質量分析装置の分析条件

GC 条件	
カラム	Agilent HP-5ms UI、15 m × 0.25 mm、0.25 μm フィルム (2 本)
キャリアガス	ヘリウム
カラム 1 流量	1.0 mL/min
カラム 2 流量	1.2 mL/min
注入口温度	280 °C
注入モード	スプリットレス
注入量	2 μL
オープン温度プログラム	60 °C で 1 分間保持、40 °C/min で 120 °C まで上昇、0 分間保持、5 °C/min で 310 °C まで上昇、10 分間保持
分析時間	50.5 分
バックフラッシュ	5 分 (ポストラン)
トランスファーライン温度	310 °C
Q-TOF MS 条件	
イオン化モード	EI
イオン源温度	300 °C
四重極温度	180 °C
質量範囲	50~500 m/z
スペクトル採取レート	5 Hz、セントロイドおよびプロファイルモードの両方で採取

サンプル前処理

流量 300 L/min でエアロゾル粒子 (PM_{2.5}) を石英繊維フィルタ (QFF、Whatman 社製、5×8 インチ) に捕集しました (中国広州)。QFF は、サンプリングの前後に、温度 20 °C、相対湿度 (RH) 40 % に制御されたクリーンルームチャンバ内で 24 時間平衡化しました。各 QFF で捕集した粒子の質量を、感度 0.001 mg の精密電子天秤 (Sartorius 社製、米国イリノイ州) で秤量しました。次に、ソックスレーを使用して、フィルタ (半分) を 70 °C のジクロロメタン/ヘキサン (1:1、v/v) 溶液 50 mL 中で 48 時間抽出し、抽出液をろ過しました。抽出液をロータリエバポレータで濃縮した後、n-ヘキサンに転溶し純 N₂ ストリーム下で 2 mL までさらに濃縮しました。

データ解析

データ解析では、まず MassHunter Quantitative Analysis ソフトウェア (B.07.01) の Unknowns Analysis ツールを使用して、クロマトグラフィーピークをデコンボリュートしました。その後、NIST 14 MS ライブラリと照合して化合物を同定しました。デコンボリュートしたピークの同定結果は、MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェア (B.07.01) の精密質量情報および精密質量ツールで確認できます。さらに、Molecular Structure Correlator (MSC) ソフトウェアを使用して、同定した化合物の構造を推定しました。

結果と考察

クロマトグラフィーピークのデコンボリューションとライブラリ検索

データ解析のできる限り多くの成分を見つけるために、Unknowns Analysis ソフトウェアで精密質量の抽出枠を 100 ppm、リテンションタイム幅を 50~200 に設定して、クロマトグラフィーピークをデコンボリュートしました (図 2)。次に、NIST ライブラリでマッチファクターが 50 を超えている化合物を照合したところ、約 2,600 種類の化合物が同定されました。アルカン類、ホパン類、ケトン類、多環芳香族炭化水素類 (PAHs)、酸化多環芳香族炭化水素類 (O-PAHs)、エステル類、複素環化合物類が含まれていました。Molecular Formula Generator (MFG) および Formula Calculator ツールを使用して、デコンボリューションデータから同定された各化合物を確認しました。PAHs および O-PAHs のスクリーニング結果の例を示します (図 3 および 4)。ここで紹介するワークフローは、他の化学物質群のスクリーニングにも適用できます。

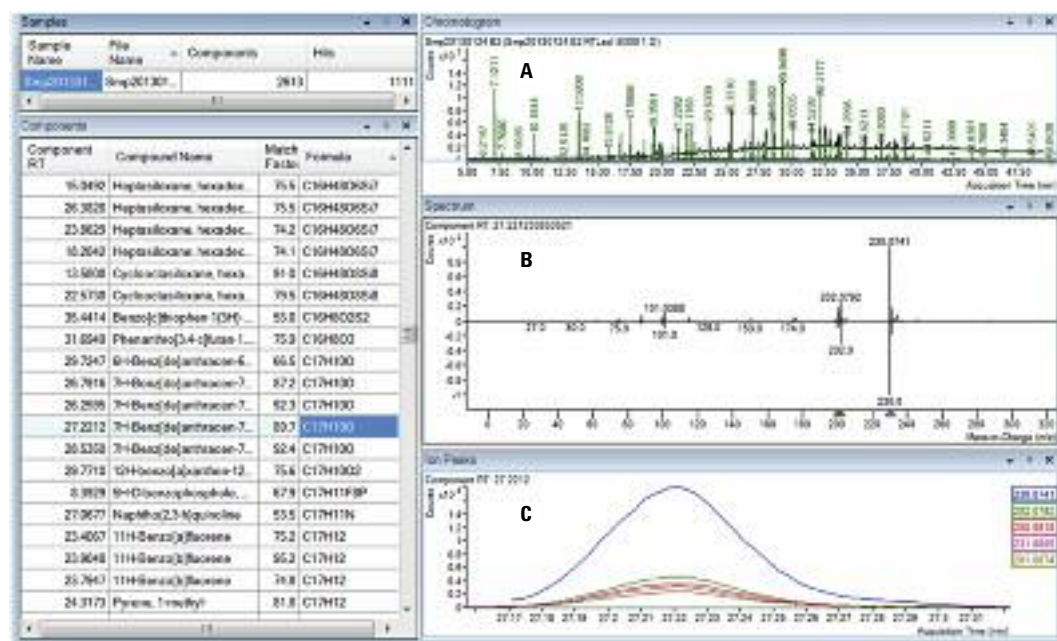


図 2. Unknowns Analysis ソフトウェアを用いてクロマトグラムをデコンボリュートしました。図には、全イオンクロマトグラム (TIC) (A)、成分およびライブラリヒットのスペクトルのミラープロット (B)、成分の抽出イオンクロマトグラムの重ね合わせ表示 (C) が示されています。

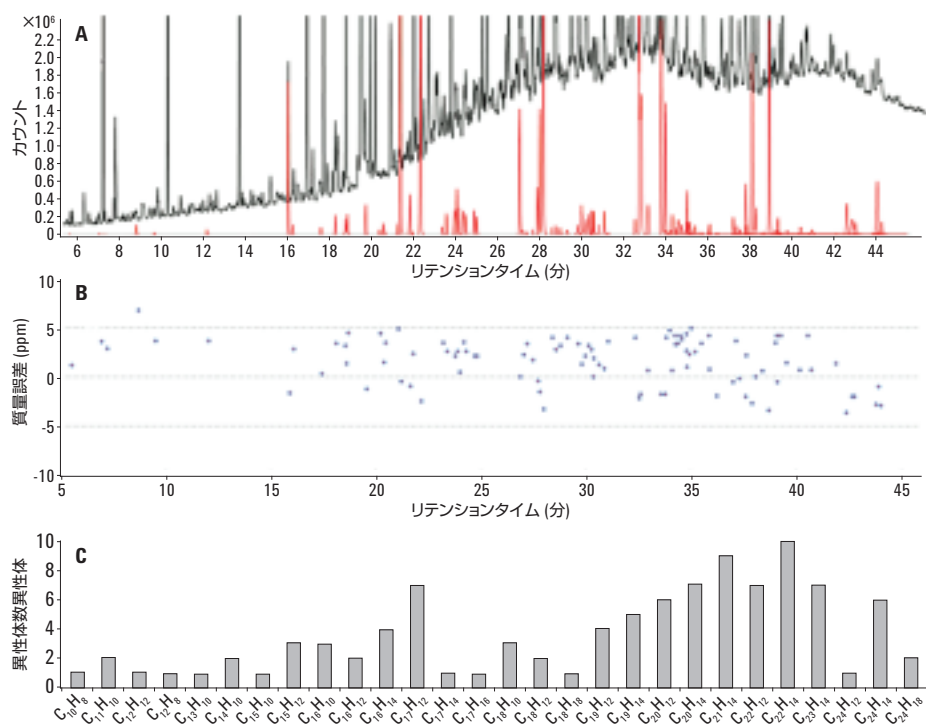


図 3. PAHsのスクリーニング結果。クロマトグラム (A) は、TIC (黒) と同定された PAHs の成分プロファイル (赤) を重ね合わせたものです。B は、同定された PAHs の分子イオンについて Formula Calculator で計算した質量誤差、C は、分子式の分布を示しています。

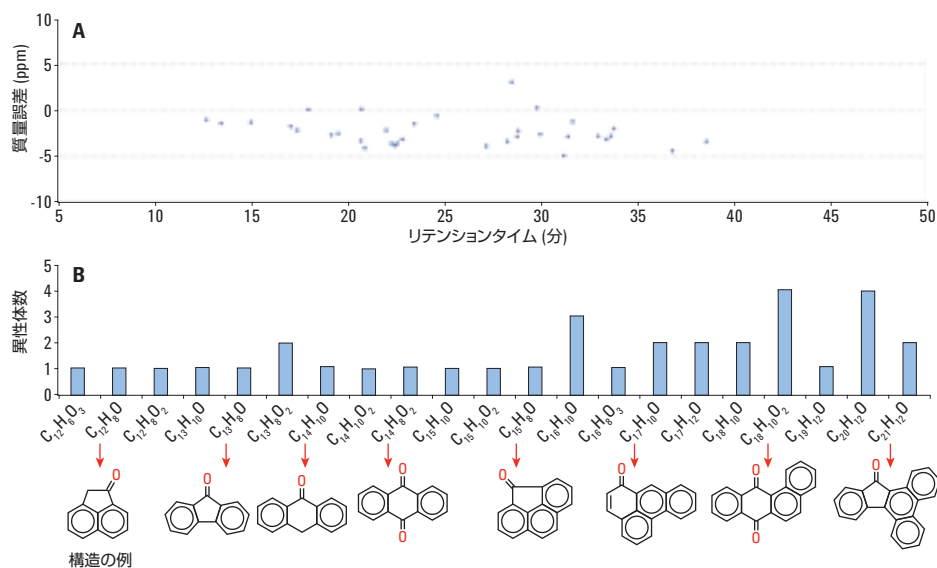


図 4. 精密質量情報を用いた O-PAHs の確認。A は、同定された O-PAHs の分子イオンについて Formula Calculator で計算した質量誤差、B は、分子式の分布と構造の例です。

PAHs と O-PAHs の同定

Unknowns Analysis ツールにより、共溶出して未分離の複雑な混合スペクトルとして現れたデータから、多数の PAHs を同定できました。この結果を図 3 に示します。この同定結果と精密質量情報から、質量誤差 5 ppm 未満の PAHs を約 100 種類確認しました。P&EP MRM データベースには、複数の PAHs のリテンションタイム (RT) が登録されています。この情報を使用して、ヒットした PAHs を確認したところ、データベースとサンプルの RT の差異はすべて 0.03 分以下でした。RT が良好に一致していたことから、精密質量情報が確認ツールとして有効であることが実証されました。分子式の分布から、エアロゾル粒子の抽出物中に、炭素数が 10~28 の多様な PAHs が含まれていることがわかります。

同様に、エアロゾル粒子の抽出物中の O-PAHs も同定し、精密質量情報から 34 種類の成分を確認しました。図 4 は、同定されたすべての O-PAHs の質量誤差と分子式の分布です。この図には、一般的な O-PAHs の構造もいくつか示しました。

MS/MS による未知化合物の構造の推定

クロマトグラフィーピークのデコンボリューションにより、図 5 に示す未知化合物を発見できました。NIST ライブラリでこのスペクトルに最も一致していたのは、分子式が $C_{14}H_8N_2O$ のアントラ[1,9-cd]ピラゾール-6(2H)-オンでした。暫定的に同定された結果のこの化合物は、分子イオンの質量誤差が 48.62 ppm だったことから、この同定結果は質量精度のずれから容易に候補から排除できました。これは、Q-ToF から得られる精密質量データの大きな利点です。

この未知化合物について、精密質量情報により推定された分子式は、質量誤差が 2.83 ppm の $C_{15}H_8O_2$ でした。NIST MS ライブラリには、この分子式を持つ化合物がありませんでした。7200 GC/Q-ToF の大きな利点は、精密質量 MS/MS 分析が可能なことです。この機能は、未知化合物の構造解明にきわめて有効です。

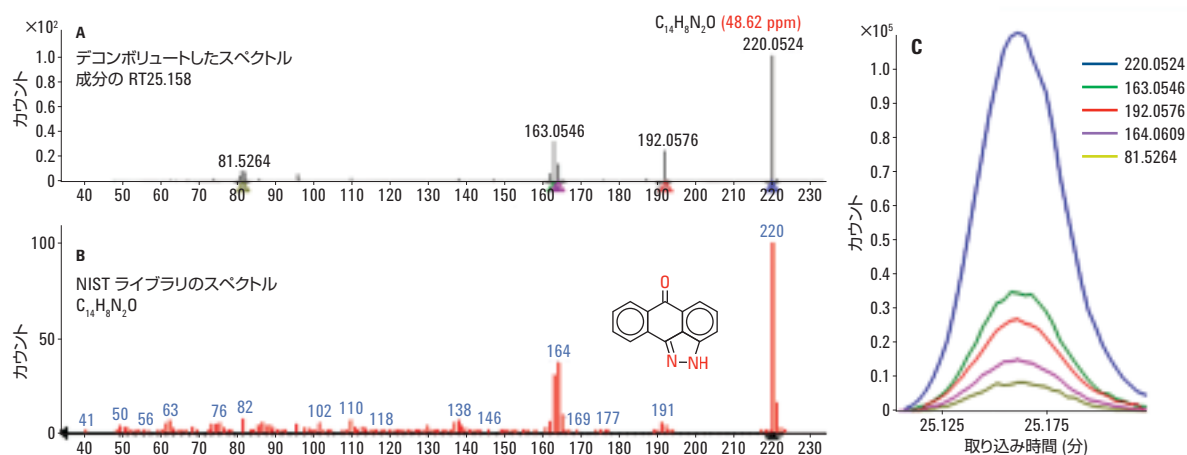


図 5. 未知化合物のスペクトル (A) と、NIST ライブラリの照合により暫定的に同定された化合物のスペクトル (B) の比較。デコンボリュートしたイオンの共溶出プロファイル (C) から、そのすべての化合物が同じ化合物に属していることを確認できます。ただし、分子イオンの誤差が 48.62 ppm であり、質量精度が大きくずれているため、この化合物を候補から容易に排除できます。

図 6 は、MS/MS モードと精密質量フラグメントを使用して未知化合物の構造を推定するワークフローを示しています。Formula Generator ツールにより、分子と主なフラグメントイオンの正確な分子式が割り出されました。この未知化合物の構造を推定するために、スペクトルを Molecular Structure Correlator (MSC) ソフトウェアに CEF ファイルとしてインポートし、可能性のあるすべての構造異性体を ChemSpider

データベースで検索しました。この種の確認は絶対確実なものではありませんが、暫定的に同定された O-PAHs を補足的に確認することは可能です。図 7 は、MSC ソフトウェアに表示されたフラグメントにもとづくフラグメント化の推定経路です。

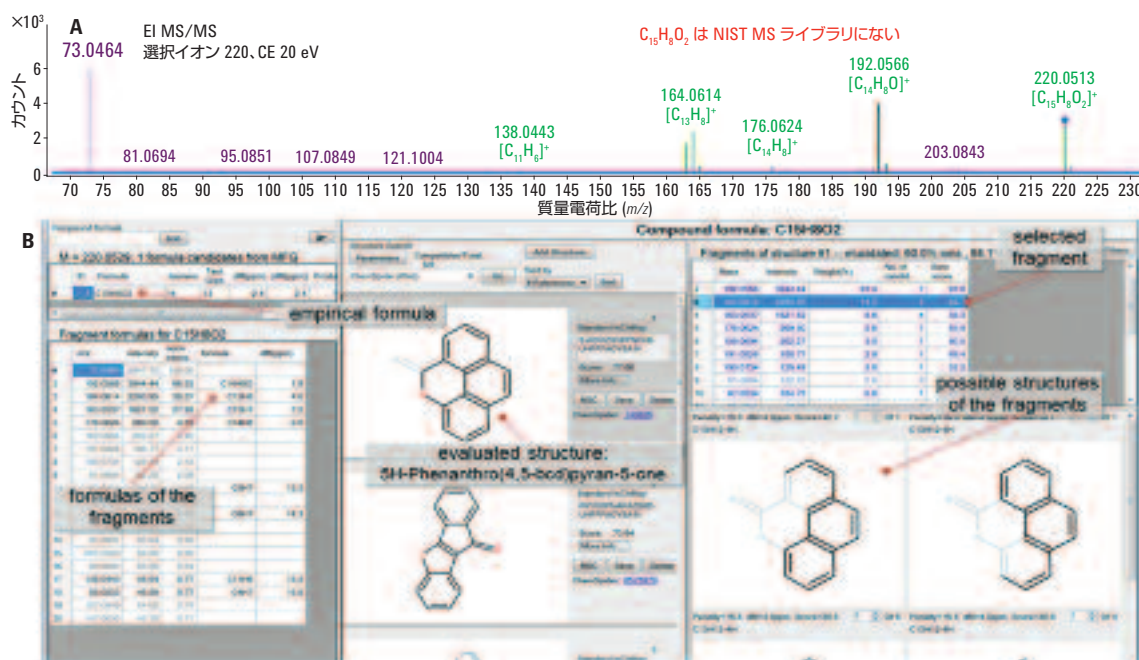


図 6. MS/MS スペクトルをもとに Formula Generator ツールで生成した分子式 (A) と、MSC ソフトウェアによる分子式 $C_{15}H_8O_2$ の化合物の構造説明結果 (B)。推定分子式の質量誤差と、その分子式を生成するために切断が必要な結合数によるペナルティをもとに、各フラグメントイオンがランク付けされています。

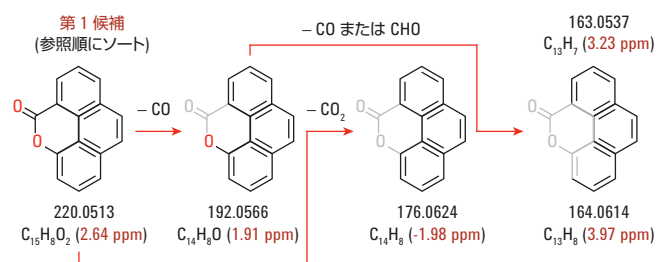


図 7. MSC ソフトウェアに表示されたフラグメントにもとづく候補化合物 $C_{15}H_8O_2$ のフラグメント化経路

結論

Agilent 7200 GC/Q-TOF で測定できる精密質量の情報、高感度のフルスペクトルデータ採取、MS/MS 機能などを活用することで、エアロゾル粒子に吸着された SVOC 化合物の研究は格段に進歩します。Agilent MassHunter ソフトウェアのデコンボリューション、自動フラグメント分子式アノテーション、構造解明などの機能を利用すれば、ノンターゲットアプローチによる SVOC スクリーニングも可能です。未知化合物のライブラリ検索や構造推定は有用な研究支援ツールとなります。

参考文献

1. U. Pöschl. "Atmospheric aerosols: composition, transformation, climate and health effects" *Angew Chem. Int.*, Ed. **44**, 7520-7540 (2005).
2. L.B. Liu, et al. "Development of analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in airborne particulates: A review" *J. Environ. Sci. (China)*, **19**, 1-11 (2007).

詳細情報

これらのデータは一般的な結果を示したものです。アジレントの製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト (www.agilent.com/chem/jp) をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

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損害について一切免責とさせていただきます。

本資料に記載の情報、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., 2015

Printed in Japan

May 19, 2015

5991-5899JAJP



Agilent Technologies