

Agilent 7250 GC/Q-TOF による網羅的な構造推定における選択型検出器の効果について



Author

笠松 隆志

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

GC/Q-TOF と選択型 GC 検出器である窒素リン検出器 (NPD) を組み合わせて組成推定を行うと、TOF MS のみで推定するよりも効率的に組成推定ができることが分かりました。対象にした 68 化合物において、TOF MS のみでは 825 の組成候補が上がったのに対し、NPD を組み合わせると候補数を 401 まで減少させることができました。さらに組成推定の精度も向上することが分かり、より効率よく組成推定できる可能性が示されました。

Key word : GC/Q-TOF、選択型検出器、NPD (窒素リン検出器)、組成推定、構造推定、MS/MS

はじめに

飛行時間型 (TOF) のような精密質量が測定できる質量分析計を使用すると、その精密な質量と同位体比などから分子の組成を推定することが可能です。しかし、対象となる物質の含有元素に関する情報が全くない場合や、ある程度質量の大きなものになると、絶対値として正確な質量からのずれが生じてくるため、組成の判断が行いにくい場合があります。このような場合には、特定の元素を含む物質だけを検出する選択型検出器と併用して分析をすると、その情報が組成推定の役に立つ可能性があります。本アプリケーションノートでは同じ試料を2つの注入口に別々に接続した同じ性質のキャピラリーカラムに同時注入し、質量分析計 (TOF) と窒素リン検出器 (NPD) で検出した際の組成推定の精度について検討を行いました。

実験

検討用化合物の混合液として、関東化学社製農薬標準混合溶液70の500 ng/mLのアセトン/ヘキサン (1:1) 溶液を調製しました。その試料を窒素リン検出器 (NPD) を装備したGC/Q-TOFで分析を行い、その結果を検討しました。一つのGCシステムに検出器と質量分析計を接続した場合、同時検出測定をする方法は2種類あります。一つは1つの注入口につないだカラムの出口を分離して検出器と質量分析計につなぐ方法、もう一つは2つの注入口を用意し、2つのカラムをそれぞれの注入口と質量分析計、検出器につないで同時に注入する方法です。それぞれの特徴を表1に示します。本アプリケーションノートでは後者の2つの注入口への同時注入でデータの取得を行いました (図1)。TOF MSによる組成推定にはAgilent MassHunter Qualitative Analysis (バージョン B08.00 SP1) ソフトウェアを使用し、C, H, O, N, S, F, P, Cl, Brの元素を含む設定で組成推定を行いました。

測定条件

装置 : Agilent 7250 GC/Q-TOF

GC条件

カラム : VF-5ms 0.25mm×30m, 0.25 μ m (CP8944)

注入口温度 : 250 $^{\circ}$ C

注入モード : パルスドスプリットレス (25psi, 1min)

カラムヘッド圧 : クロルピリホスメチルが同時に溶出

するように調整 (MS : 6.0756 psi, NPD : 19.836 psi)

オープン : 70 $^{\circ}$ C (2min) - 25 $^{\circ}$ C/min - 150 $^{\circ}$ C -

3 $^{\circ}$ C/min - 200 $^{\circ}$ C - 8 $^{\circ}$ C/min - 310 $^{\circ}$ C (5min)

NPD温度 : 300 $^{\circ}$ C

水素流量 : 3 mL/min

空気流量 : 60 mL/min

メイクアップガス : He

(キャリアとの合計が10mL/minになるように調整)

取り込み速度 : 5 Hz

注入量 : 1 μ L

MS条件

イオン化法 : 電子イオン化 (70, 15, 12, 10 eV)

イオン源温度 : 200 $^{\circ}$ C

四重極温度 : 150 $^{\circ}$ C

測定範囲 : m/z 29-1000 (TOFモード)

取り込み速度 : 1スペクトル当たり約400 msec

表1 GC/MSと検出器の同時分析の方法

同時分析の方法	メリット
1つのカラムを分岐	<ul style="list-style-type: none">RTのずれがないカラム、注入口、オートサンブラなどが1つで済む
2つの注入口に2つのカラム	<ul style="list-style-type: none">分岐デバイスによる吸着の可能性がなくなる分岐をしないので、感度の低下がない質量分析計またはGC検出器のみの単独分析への移行が簡単

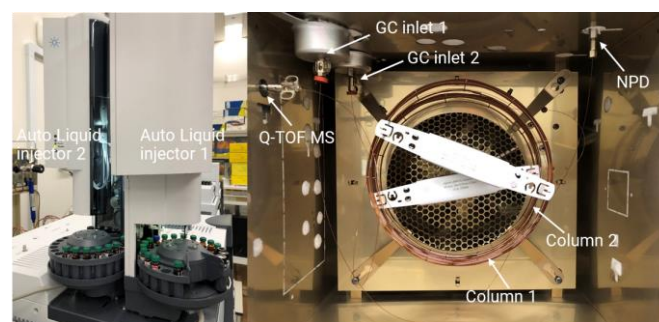


図1 今回の測定で使用した装置構成

結果

70 eVのイオン化電圧とNPDを同時測定した結果のクロマトグラムを図2に示します。MSのデータでは含有されているほぼすべての成分が検出されていますが、NPDでは窒素やリンを含む成分のみが検出されています。また、NPDでは一般的に窒素のみが含まれている化合物より、リンのみ、またはリンと窒素を含む化合物のほうが強度が高く¹⁾、これらの情報からも含有元素の情報が得られる可能性があります。MSのチューニングなどの状況によっても異なりますが、今回の検討ではMSのトータルイオンカレントクロマトグラム (TICC) に対してNPDの強度 (ピーク形状が正常な場合は高さ、悪い場合は面積) がおよそ0.04程度を上回るとリンが含まれていることが分かりました。実際の試料においては含有量が不明な場合もありNPDの強度から含有する元素がNのみなのかPも含むのかを推定するのは困難だと考えられる可能性もありますが、MSのTICCのレスポンスなどとの比較を行えば、どちらの元素が含まれているかを推定することは可能だと考えられます。

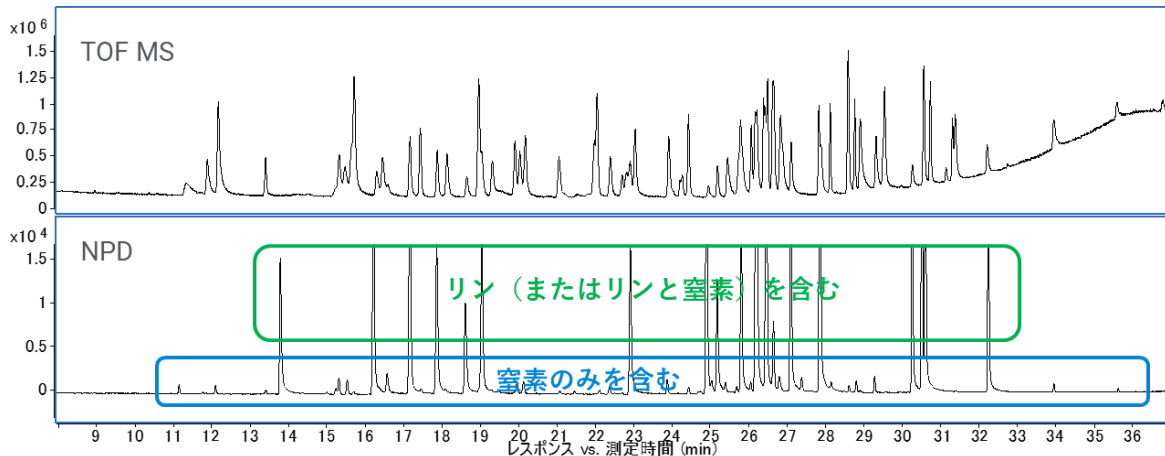
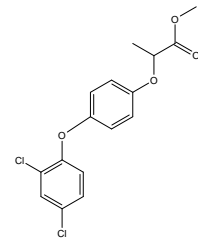
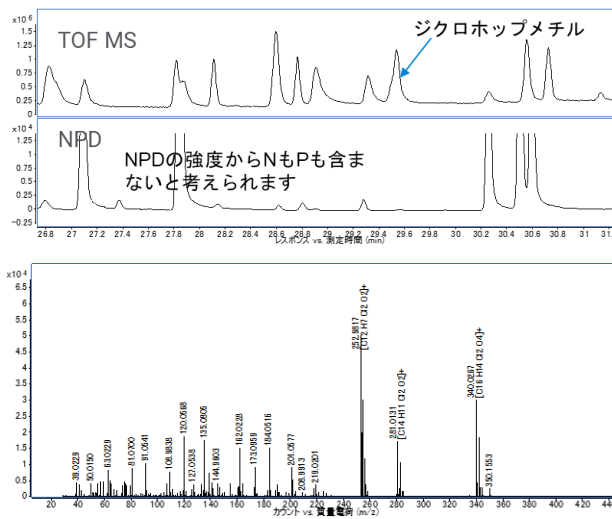


図2 70 eV電子イオン化のTICC (上) とNPDのクロマトグラム (下)

TOF MSの精密質量データによる組成推定では、分子イオンの精密質量、同位体比、同位体イオンの質量差を考慮し、スコア化して組成を推定します。質量が小さいものについては、絶対的な誤差が少なく正確に推定できますが、質量が大きくなってきたり、含有元素数が増えてきたりすると、組成の候補が多くなってくる可能性があります。図3にジクロホップメチルのRT付近のMSとNPDのクロマトグラム、ジクロホップメチル相当のマスペクトル、ソフトウェアによる組成推定結果を示します。

スコア90以上の組成候補は12ありましたが、NPDの結果を考慮するとNやPを含まないことが分かり、組成の候補は3つに絞られました。さらにMS/MSやフラグメントイオンの組成を考えると、組成は $C_{16}H_{14}Cl_2O_4$ となり、ジクロホップメチルの組成と同じであることが確認できました。さらに図4に窒素のみを含む化合物の組成推定例としてジメピペレート、図5にリンを含む化合物としてイサゾホスの例を示します。

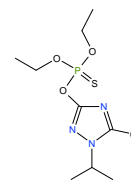
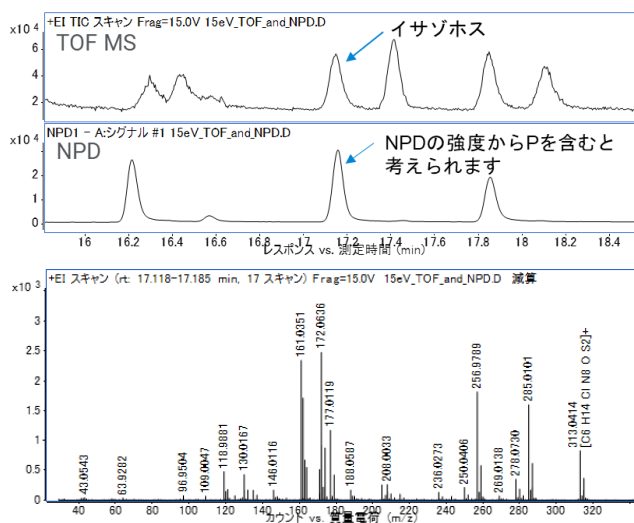


式	イオン種	組成	質量	スコア	RT	差	Diff (ppm)
C16 H14 Cl2 O4	M+	340.0267	96.42	-0.38			
C12 H17 Cl2 N O4 P	M+	340.0267	97.96	0.34			
C11 H13 Cl2 F N3 O4	M+	340.0267	97.14	-1.32			
C14 H16 Cl2 F2 O S	M+	340.0267	96.18	-1.45			
C10 H19 Cl2 F2 N O P S	M+	340.0267	93.7	-0.74			
C9 H14 Cl2 N6 O2 S	M+	340.0267	93.52	0.69			
C11 H17 Cl2 F3 O2 S	M+	340.0267	93.36	1.85			
C7 H8 Cl2 F2 N10	M+	340.0267	92.59	1.18			
C8 H20 Cl2 N2 O4 P2	M+	340.0267	92.49	1.05			
C8 H14 Cl2 F2 N3 O5	M+	340.0267	91.94	1.94			
C7 H16 Cl2 F N4 O4 P	M+	340.0267	91.65	-0.67			
C9 H20 Cl F N O3 S3	M+	340.0267	90.82	1.12			

窒素もリンも含まない組成

スコア的には近いがNPDの結果を見れば下の組成は考える必要がなくなります

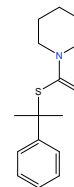
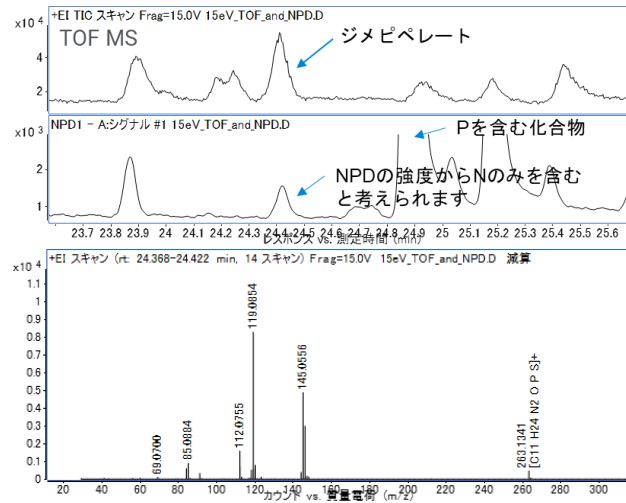
図3 ジクロホップメチルのTICC、NPDクロマトグラムとマスペクトルおよびTOFデータによる組成推定結果



式	イオン種	m/z	スコア	スコア (RT)	RT 差	Diff (ppm)
C6 H14 Cl N8 O S2	M+	313.0414	97.69		0.05	
C8 H17 Cl F3 N2 O S2	M+	313.0414	97.26		1.19	
C5 H14 Cl F2 N5 O4 S	M+	313.0414	96.59		1.28	
C6 H15 Cl F3 N5 S2	M+	313.0414	95.19		-3.4	
C9 H17 Cl N3 O3 P S	M+	313.0414	93.3		-0.45	
C8 H13 Cl F N5 O3 S	M+	313.0414	92.77		-2.22	
C12 H20 Cl F P S2	M+	313.0414	91.56		-0.6	
C11 H16 Cl F2 N2 S2	M+	313.0414	91.21		-2.35	
C10 H15 Cl F N2 O4 S	M+	313.0414	90.38		2.36	
C7 H13 Cl F3 N2 O6	M+	313.0414	90.26		-0.59	

NPDの結果よりPを含むことが分かるので、正しい組成が第一候補となります

図4 イソゾホスのTICC、NPDクロマトグラムとマスペクトルおよびTOFデータによる組成推定結果



式	イオン種	m/z	スコア	スコア (RT)	RT 差	Diff (ppm)
C11 H24 N2 O P S	M+	263.1341	97.56		0.43	
C15 H21 N O S	M+	263.1341	96.74		-0.47	
C10 H20 F N4 O S	M+	263.1341	95.89		-1.72	
C12 H22 F N O2 S	M+	263.1341	94.19		3.77	
C13 H19 N4 S	M+	263.1341	89.08		-5.9	
C9 H22 N5 P S	M+	263.1341	88.94		-5.08	
C10 H23 N4 S2	M+	263.1341	82.36		6.51	
C12 H19 F2 N O3	M+	263.1341	82.31		-3.23	

スコア的には近いが上の組成はPを含んでいるので違うと考えられ、ジメピペレートの組成が1番目の候補となります

図5 ジメピペレートのTICC、NPDクロマトグラムとマスペクトルおよびTOFデータによる組成推定結果

表2に今回の測定におけるTOFモードMSのTICCの高さに対するNPDの高さの比を示します。組成推定したい化合物のTICCの高さに対するNPDの高さの比がおよそ0.04を上回ってくるとリンを含んでいることが分かりました。濃度が違ってもこの比はあまり変わらないと思われしますので、MS強度とNPD強度の比を見れば、含有元素が推定できると考えられます。

表2 主な化合物のMSとNPDの高さの比

化合物名	組成	TICC強度	NPD強度	NPD/TICC	高さor面積
メチダチオン	C6H11N2O4PS3	107786	41203	0.38227	高さ
ピリダフェンチオン	C14H17N2O4PS	200236	36176	0.18067	高さ
エチオン	C9H22O4P2S4	834697	107295	0.12854	高さ
シアノホス	C9H10NO3PS	187749	23615	0.12578	高さ
ピラソホス	C14H20N3O5PS	265398	33312	0.12552	高さ
イソキサチオン	C13H16NO4PS	460476	45335	0.09845	高さ
ホスファミドンII	C10H19CINO5P	189049	10231	0.05412	高さ
プロモホス	C8H8BrCl2O3PS	320210	16813	0.05251	高さ
イサソホス	C9H17CIN3O3PS	572002	28290	0.04946	高さ
テトラクロルピホス	C10H9Cl4O4P	294207	12980	0.04412	高さ
クロルピホスメチル	C7H7Cl3NO3PS	421915	17481	0.04143	高さ
プロフェノホス	C11H15BrClO3PS	756793	31152	0.04116	高さ
イブロピホス	C13H21O3PS	437609	16917	0.03866	高さ
シマジン	C7H12CIN5	156805	1722	0.01098	高さ
ブピリメート	C13H24N4O3S	1029860	7995	0.00776	高さ
カルボフラン	C12H15NO3	293470	1933	0.00659	高さ
ヘキサジノン	C12H20N4O2	483322	1978	0.00409	高さ
フェンブコナゾール	C19H17CIN4	270225	929	0.00344	高さ
アメトリン	C9H17N5S	403548	1371	0.00340	高さ
フルミオキサジン	C19H15FN2O4	145845	473	0.00324	高さ
ジメタメトリン	C11H21N5S	577359	1635	0.00283	高さ
プロメトリン	C10H19N5S	567391	1298	0.00229	高さ
アザコナゾール	C12H11Cl2N3O2	701629	1592	0.00227	高さ
トリアジメホン	C14H16CIN3O2	374567	843	0.00225	高さ
XMC	C10H13NO2	1262233	2781	0.00220	面積
トリフロキシストロピン	C20H19F3N2O4	831053	1349	0.00162	高さ
トルフェンピラド	C21H22CIN3O2	148467	223	0.00150	高さ
ベンフルラン	C13H16F3N3O4	354029	478	0.00135	高さ
プロバクロー	C11H14CINO	869997	964	0.00111	高さ
ジメピベレート	C15H21NOS	776616	789	0.00102	高さ
ピンクロソリン	C12H9Cl2NO3	323570	274	0.00085	高さ
トリアレート	C10H16Cl3NOS	637774	516	0.00081	高さ
テクナゼン	C6HCl4NO2	327210	259	0.00079	高さ
ニトロタールイソプロピル	C14H17NO6	194469	150	0.00077	高さ
ベノキサコール	C11H11Cl2NO2	391342	251	0.00064	高さ
ベナラキシル	C20H23NO3	1337307	835	0.00062	高さ
フェンブピロモルフ	C20H33NO	967235	477	0.00049	高さ
キノキシフェン	C15H8Cl2FNO	622434	284	0.00046	高さ

表中色の濃い部分はリンを含む化合物、薄い部分は窒素のみを含む化合物

今回の測定で分子イオンが確認できたすべての成分（68成分）のスコア90、あるいは質量誤差2ppm以内となった組成候補の総数は825でした。これにNPDの元素情報を加味すると考慮すべき組成候補数は401まで減らすことができました。考慮すべき組成候補数が少なくなれば、その分組成推定の効率を上げることができます。

また、今回の測定で正しい組成が組成推定で何番目の順位に来たかを調べてみたところ、TOF MSのみの場合は2位以内になった割合は78%でしたが、TOF MSとNPDを組み合わせた場合は2位以内になった割合は94%と大幅に改善しました（図6）。TOF MSだけでは最大825の組成候補を検討しなくてはならない可能性があるものをNPDと組み合わせると150程度の検討で済むことになります。

このことからTOF MSにNPDを組み合わせて組成推定を行うと、考慮すべき組成候補の数を減らすことができた上に正確な候補が上位に来る確率が高くなるため、より効率よく組成推定ができると考えられます。

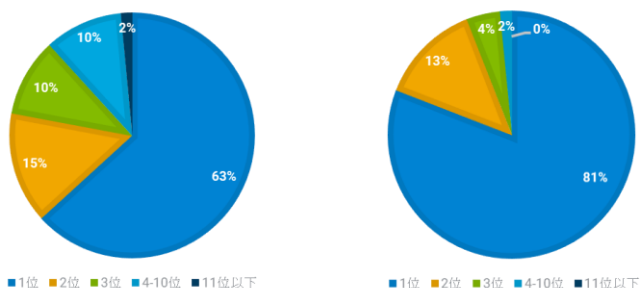


図6 TOFのみ（左）、およびTOFとNPDを組み合わせた測定（右）において正解の組成が何番目の候補に挙げられたかの分布

7250 GC/Q-TOFではMS/MSを行うことができるので、組成が推定できたら構造を推定することも可能です。分子イオンをプリカーサイオンにしてMS/MSを行い、プロダクトイオン情報から構造を推定します。構造推定にはMSC（Molecular Structure Correlator）ソフトウェアを使います。図7にジクロホップメチルのMS/MSスペクトルからMSCにより構造推定した結果を示します。

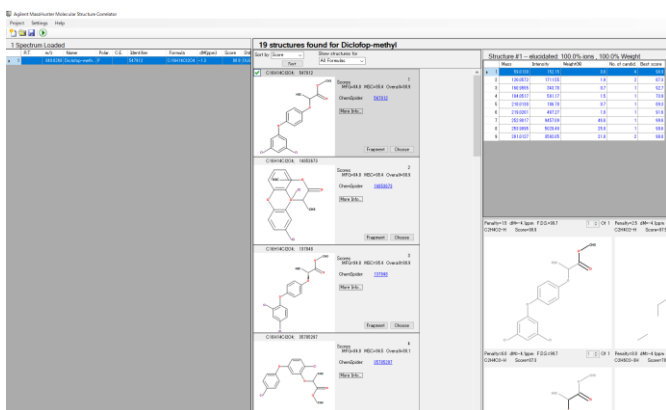


図7 MSCソフトウェアによるMS/MSデータからの構造推定結果（ジクロホップメチル）

結論

Agilent 7250 GC/Q-TOFのような質量分析計では精密質量データより組成推定が可能です。選択的な検出器と組み合わせると、より効率的に組成推定を行うことができる可能性が示されました。また、組成が決まった後、MS/MSを行えば、構造の推定も容易になる可能性があります。

参考文献

1) Agilent Technologies 7890B Gas Chromatograph Data Sheet 5991-1436JAJP (2013), www.chem-agilent.com

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. 2019

Printed in Japan, October 9, 2019

GC-MS-201910KS-001

