

Instrument: Pegasus® GC-HRT<sup>+</sup>

## 新規マルチモードイオン源による強力な探索型分析ツールの性能向上

**Key Words:** 電子イオン化 (EI)、正イオン化学イオン化 (PCI)、電子捕獲負イオン化 (ECNI)、高分解能飛行時間型質量分析法 (HR-TOFMS)

### 1. Introduction

過去10年間、LECO社の高分解能飛行時間型質量分析計 (GC-HRT+) は、法科学<sup>1,2</sup>、環境科学<sup>3-5</sup>、メタボロミクス<sup>6,7</sup>、食品・フレーバー分析<sup>8,9</sup>、エネルギー研究<sup>10</sup>の進展に貢献してきました。頑強かつ再現性の高いクロマトグラフィーと、Folded Flight Path® (FFP®) 質量分析器の高分解能性能を組み合わせることで、複雑サンプルの特性解析が迅速化されました。これにより、マトリックス干渉の低減、自動処理精度の向上、高精度質量測定、豊富で包括的な質量スペクトルデータの解析が可能となりました。

近年、新しいマルチモードイオン源™ (Multi-Mode Source™: MMS™) の導入により、HRT+による解析対象の割り当て能力が大幅に向上しました。正イオンおよび負イオンの化学イオン化モードを搭載することで、より広範な解析対象の分子式決定が容易になっています。1つのイオン源で電子イオン化 (EI)、正イオン化学イオン化 (PCI)、電子捕獲負イオン化 (ECNI) の高分解能質量スペクトルデータを収集できるため、複雑サンプルの特性解析が効率化されます。MMSはChromaTOF®ソフトウェアと連携することで、自動最適化、3つのイオン化モード間の容易な切替、軟イオン化時の感度向上、クロマトグラムピーク形状の改善、優れた保持時間整合性といった利点を提供します (図1参照)。

本アプリケーションノートでは、EPA 8270 MegaMixおよび525.3有機塩素系農薬 (OCP) 標準品の混合試料を解析し、MMSイオン化および高分解能飛行時間型質量分析の利点を示します。

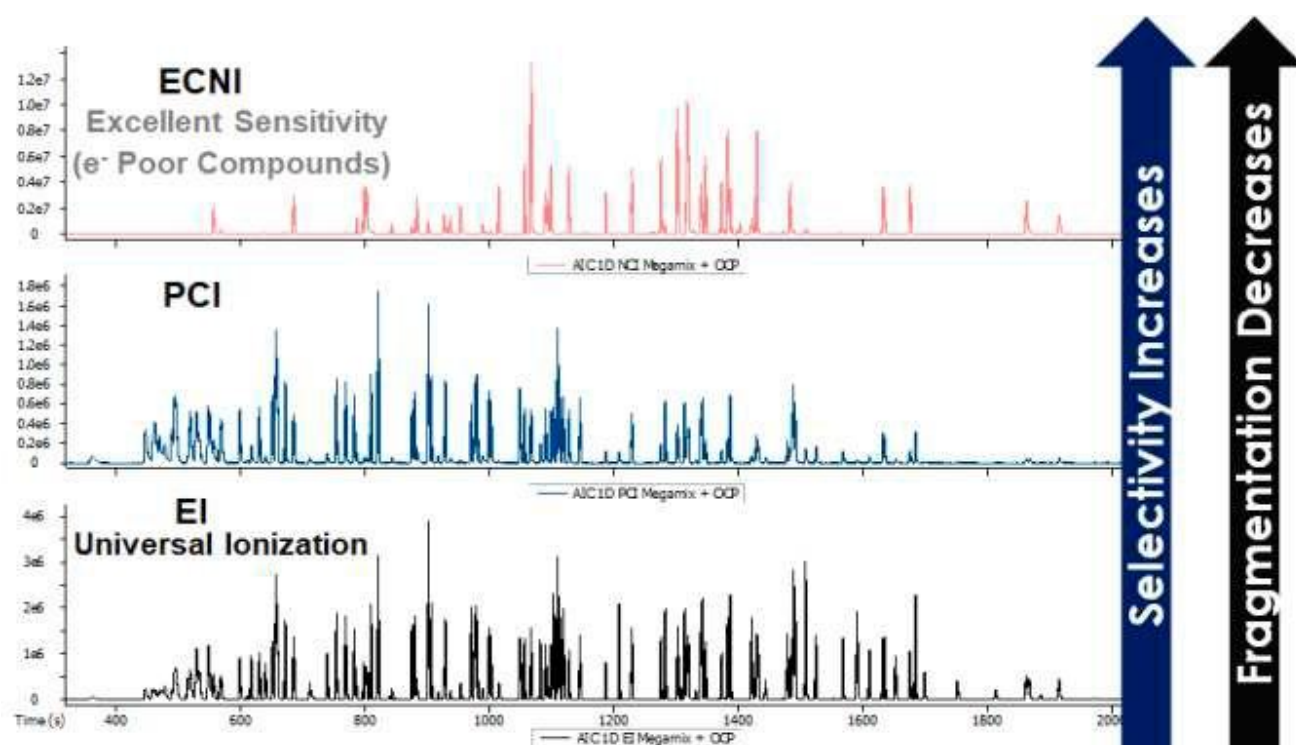


図1. EPA Method 8270 MegaMixおよび525.3有機塩素系農薬 (OCP) 標準品のEI、PCI、ECNI質量スペクトル。

## 2. Experimental

EPA 8270 MegaMix (Restek, Cat. No. 31686) およびEPA Method 525.3 有機塩素系農薬 (OCP) 校正標準品 (Restek, Cat. No. 32542) を混合し、ジクロロメタンで2 ng/μLに希釈しました。本標準混合液のデータは、MMSおよびPegasus GC-HRT+を用い、表1に示す条件で取得されました。

Table 1

Gas Chromatograph		Agilent 7890B		
注入	1 μL スプリットレス, 250 °C			
キャリアガス	He 1.0 mL/min, 補正定流量			
カラム	Rxi-5ms, 30 m x 0.25 mm ID x 0.25 μm			
昇温プログラム	40 °C (1 min) → 300 °C 10 °C/min; 10分保持			
Mass Spectrometer		LECO Pegasus GC-HRT+		
イオン化モード	EI	PCI	ECNI	
イオン源温度	250	165	165	
電子エネルギー (eV)	70	140	130	
放出電流 (mA)	0.5	0.1	0.05	
CH <sub>4</sub> 流量 (mL/min)	N/A	1.2	2.9	
取得速度 (Hz)	12	12	12	
質量範囲 (m/z)	45-1000	60-1000	30-1000	

### MMS イオン化モード

#### 1) 電子イオン化 (Electron Ionization, EI)

EIは汎用性が高く、再現性のあるイオン化モードで、NISTやWileyなどの大規模な既存データベースとよく一致する質量スペクトルを生成します。また、構造解析に役立つフラグメンテーション情報も提供します。ただし、EIは一部の分析対象物に対してはエネルギーが高すぎるため、分子イオンが検出されない、または信号が非常に弱くなる場合があります。EIで分子イオンが観測されない化合物に対しては、よりソフトなMMSイオン化モード (PCIやECNI) が有用な分子情報を提供します。

#### 2) 正イオン化学イオン化 (Positive Chemical Ionization, PCI)

PCIはソフトなイオン化技術で、EI質量スペクトル中に分子イオンが現れない化合物に対して分子式情報を提供します。PCIは主に以下の3段階で進行します 1) 1次イオン生成, 2) 試薬イオン生成, 3) 付加体生成 (図 2)<sup>11</sup> まず、試薬ガスがイオン化され、陽イオンおよびラジカル陽イオンが生成されます (一次イオン生成)。これらはさらに反応して強いルイス酸性をもつ試薬イオンを形成します (試薬イオン生成)。最後に、これらの酸性イオンが分析対象分子と反応して、正に帯電した分子付加体 (アダクトイオン) を生成します (付加体生成)。

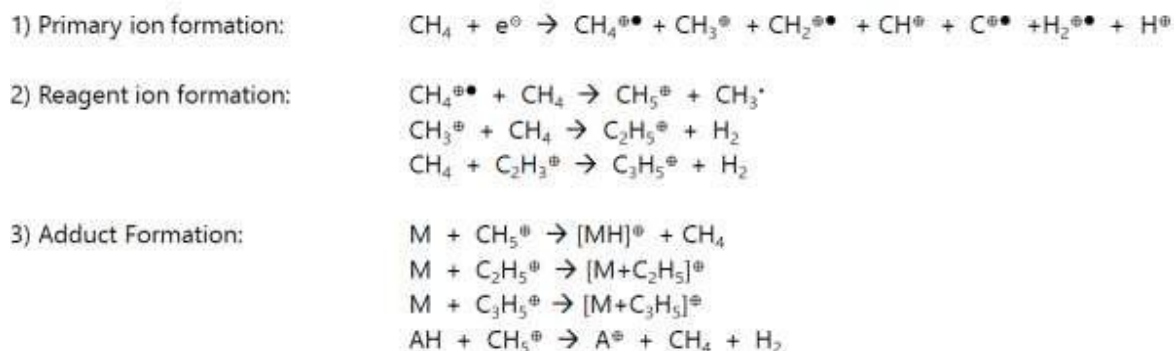


図2. PCIの主要ステップ: 一次イオン生成、試薬イオン生成、付加体生成

### 3) 電子捕獲負イオン化 (ECNI)

ECNIは高い電子親和性を持つ化合物に適したイオン化モードです。ECNIはソフトイオン化法であり、メタンやアルゴンなどのバッファーガスを用いて低エネルギー電子を生成します(図3)。バッファーガスはフィラメントで生成された電子(e<sup>-</sup>)のエネルギーを衝突によって低下させ、より低エネルギーの「熱電子(\*e<sup>-</sup>)」を作り出します。この熱電子は電子不足(高電子親和性)の分子と反応して、以下の3つの異なる機構でアニオンを生成します: 1) 結合共鳴捕獲 (Associative Resonance Capture)、2) 解離共鳴捕獲 (Dissociative Resonance Capture)、3) イオン対生成 (Ion-Pair Formation)。イオン化の正確な機構は、ECNIにさらされる分子の構造および電子特性に依存します。

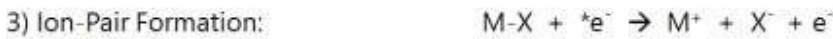
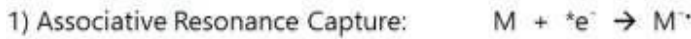
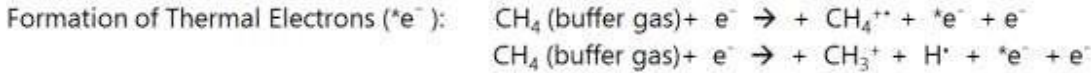


図3. 熱電子の生成とイオン形成およびECNIの3つの機構: 1) 結合共鳴捕獲、2) 解離共鳴捕獲、3) イオン対生成

## 3. Results and Discussion

以下に示す例は、MMSと各種イオン化モードを用いて、MegamixおよびOCP標準混合物中の代表化合物について取得されたデータを示しています。例えば、電子供与基(-OH)と電子吸引基(-NO<sub>2</sub>)を持つ2-ニトロフェノールの質量スペクトルは図4に示す通り比較されます。EIスペクトルはNISTデータベースの参照スペクトルと良好に一致しており(類似度 = 879/1000)、分子イオンの質量精度は0.10 ppmでした。補完的に取得されたPCIスペクトルでは、分子アダクトが m/z 140.03424 ([MH]<sup>+</sup>, 0.08 ppm)、168.06578 ([M+CH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, -1.43 ppm)、180.06546 ([M+C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, -0.33 ppm) に観測され、さらにフラグメントイオンとして m/z = 122.02362 ([M-OH]<sup>+</sup>, -0.29 ppm) が検出されました。プロトン化分子イオンの観測された同位体クラスターと理論計算値の比較による同位体忠実度は、最大値1000に対して958でした。

ECNIスペクトルではフラグメント生成が著しく少なく、2-ニトロフェノールの分子アニオンが m/z 139.02739 (-0.74 ppm) で強く観測されました。ラジカルアニオンの同位体忠実度は990/1000でした。実験セクションでも述べた通り、ECNIの正確なイオン化機構は化合物の構造や電子特性に依存します。例えば、2-ニトロフェノールの分子アニオンは結合共鳴捕獲 (associative resonance capture) によって生成されます。一方、農薬リンデン (lindane) のイオン化は解離共鳴捕獲 (dissociative resonance capture) を通じて [M-Cl]<sup>-</sup> フラグメントイオンを生成します(図5)。リンデンのECNIスペクトルにおけるベースピークは [Cl]<sup>-</sup> であり、共鳴安定化されたカチオン(検出されず)とともにイオンペア生成により形成されます。[M-Cl]<sup>-</sup> イオンの同位体忠実度および質量精度は、それぞれ987/1000および0.03 ppmでした。

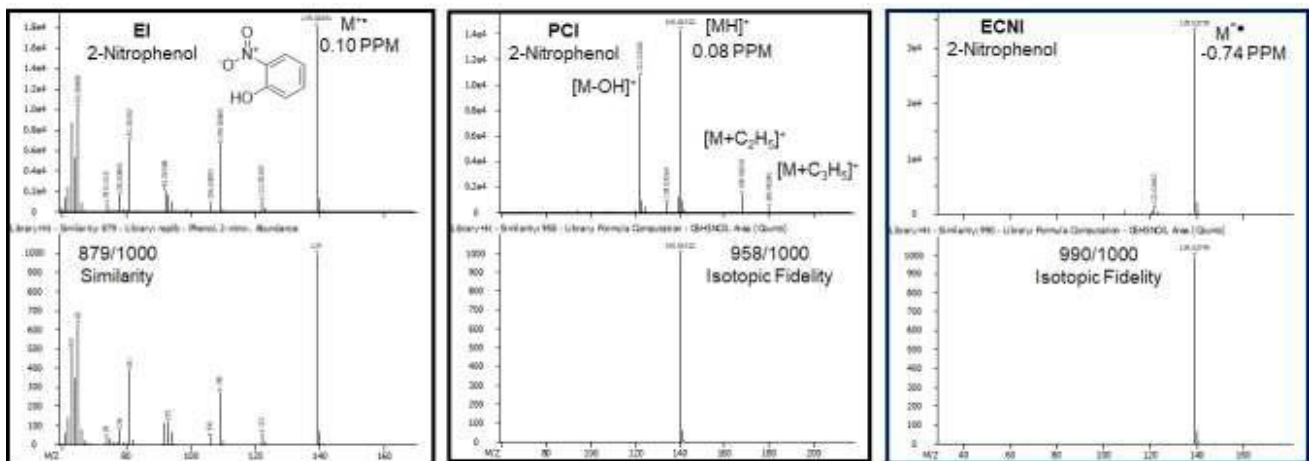


図4. 2-ニトロフェノールのEI、PCI、およびECNI質量スペクトルデータ

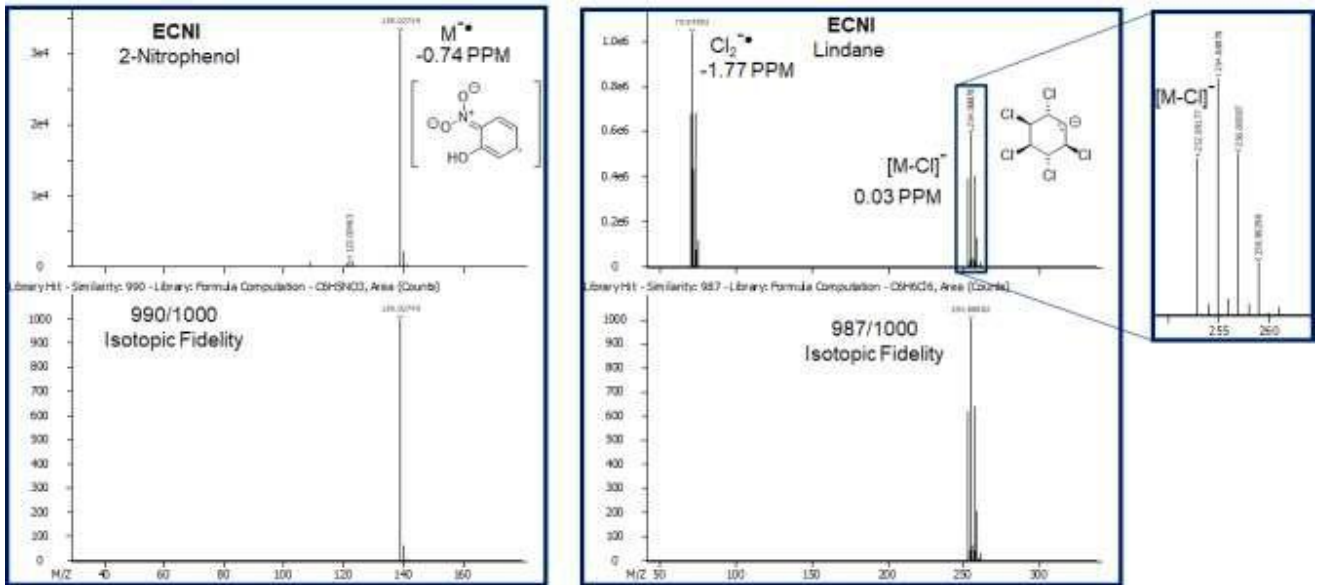


図5. 2-ニトロフェノールとリンデンのECNI質量スペクトルデータの比較

電子供与性化合物である2,4-ジメチルフェノールのEIおよびPCI質量スペクトルを図6に示します。EI質量スペクトルはNISTライブラリとの類似度スコアが941/1000であり、分子イオンの質量精度は0.28 ppmです。PCIスペクトルでは、プロトン化分子イオン ( $m/z$  123.06039) の質量精度が-0.46 ppm、同位体忠実度は982/1000と非常に良好です。また、対応するアダクトイオン  $[M+C H]^+$  および  $[M+C H_2]^+$  の質量精度はそれぞれ-0.14および-0.19 ppmです。電子供与性の2,4-ジメチルフェノールは、ECNI条件下ではイオン化しません。

一方、標準混合物には電子求引性の化合物も含まれ、例えば2-メチル-1,3-ジニトロベンゼンは3つのイオン化モードすべてでイオン化されます(図7)。2-メチル-1,3-ジニトロベンゼンのEIスペクトルでは分子イオンは観測されませんが、高分解能で正確質量のフラグメントイオン解析およびスペクトルライブラリ検索(864/1000)により、信頼性の高い特性評価が可能です。PCIスペクトルでは、プロトン化分子イオン ( $m/z$  183.04002, -0.07 ppm、同位体忠実度984/1000) が明瞭に観測されます。また、 $m/z$  211.07105 ( $[M+C H]^+$ , -1.34 ppm) および  $m/z$  223.07135 ( $[M^{14}C H]^+$ , 0.08 ppm) のアダクトイオンも確認されます。ECNIスペクトルではほとんどフラグメントは観測されず、強い分子アニオン ( $m/z$  182.03315, -0.85 ppm、同位体忠実度982/1000) が得られます。このアニオンはEIおよびPCIスペクトル中のいずれのイオンよりも強度が100倍以上高くなっています。

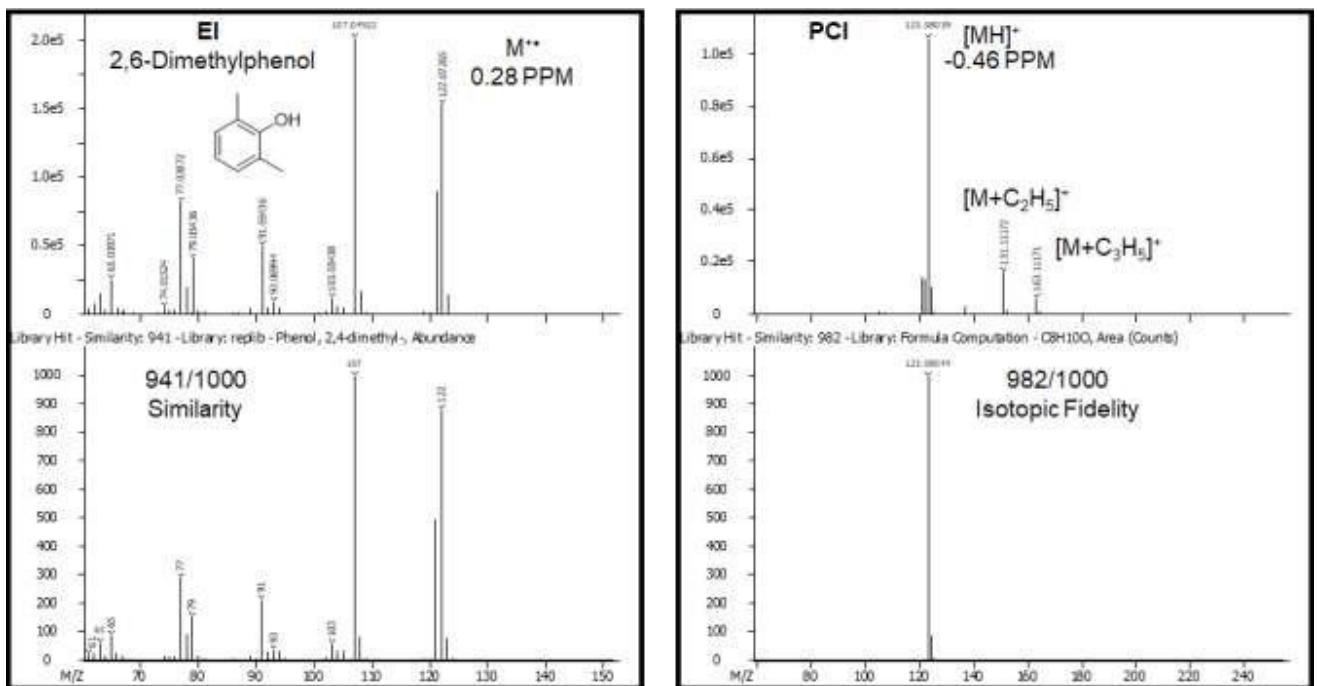


図6. 2,4-ジメチルフェノールのEIおよびPCI質量スペクトル

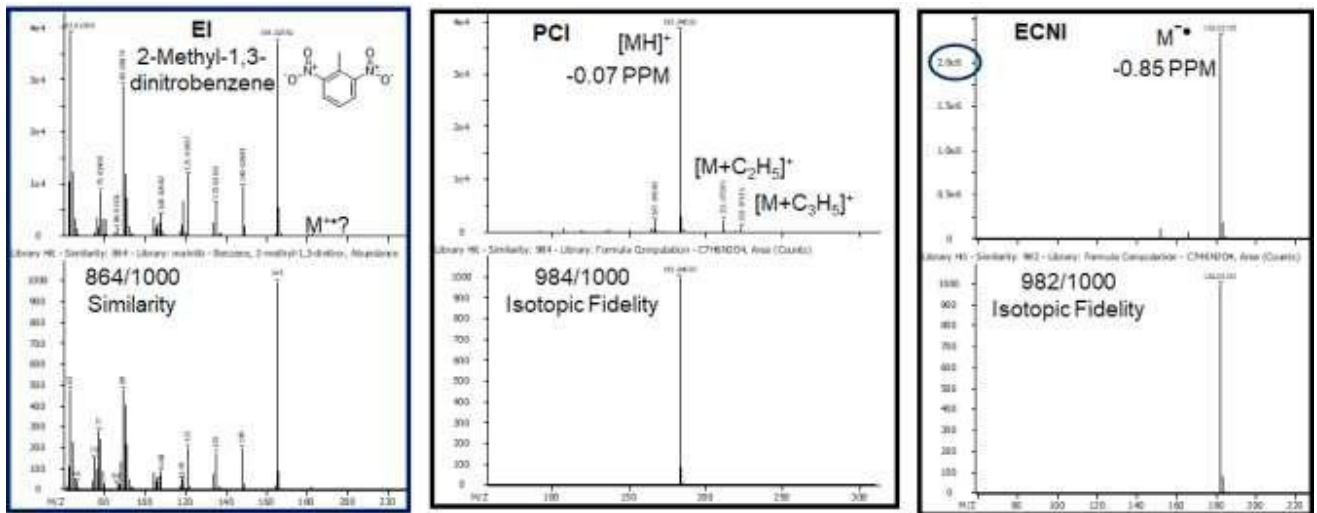


図7. 2-メチル-1,3-ジニトロベンゼンのEI、PCIおよびECNI質量スペクトル

EIとECNIの組み合わせは、多ハロゲン化有機化合物の解析に非常に適しています。例えば、多塩素化有機化合物の解析にはこの手法が理想的です。まず、EIデータを用いて、スペクトル類似検索と高分解能・正確質量イオンを用いた化学式決定の組み合わせにより、これらの化合物を同定します。次に、電子求引性化合物に対して選択性および感度が向上したECNIスペクトルを取得し、強いアニオンを伴う高分解能スペクトルとしてEI解析を補完します。この方法論の実例として、エンドスルファン硫酸塩、クロルダン、および $\alpha$ -エンドスルフアンの解析を図8~10に示します。エンドスルファン硫酸塩、クロルダン、 $\alpha$ -エンドスルフアンのEIスペクトルは、いずれも非常に高いスペクトル類似度（929、945、909/1000）を示しました。分子イオンの質量精度は、エンドスルファン硫酸塩で-0.33 ppm、クロルダンで-0.10 ppmでした。 $\alpha$ -エンドスルフアンのEIスペクトルでは分子イオンは観測されませんでした。スペクトルを詳細に確認すると、EIからECNIスペクトルに移行することで、フラグメンテーションの減少と各農薬の感度向上が確認されます。ECNIスペクトルで得られた分子アニオンの質量精度は、エンドスルファン硫酸塩で0.28 ppm、クロルダンで-0.62 ppm、 $\alpha$ -エンドスルフアンで-0.97 ppm、同位体忠実度はそれぞれ996、992、962/1000でした。

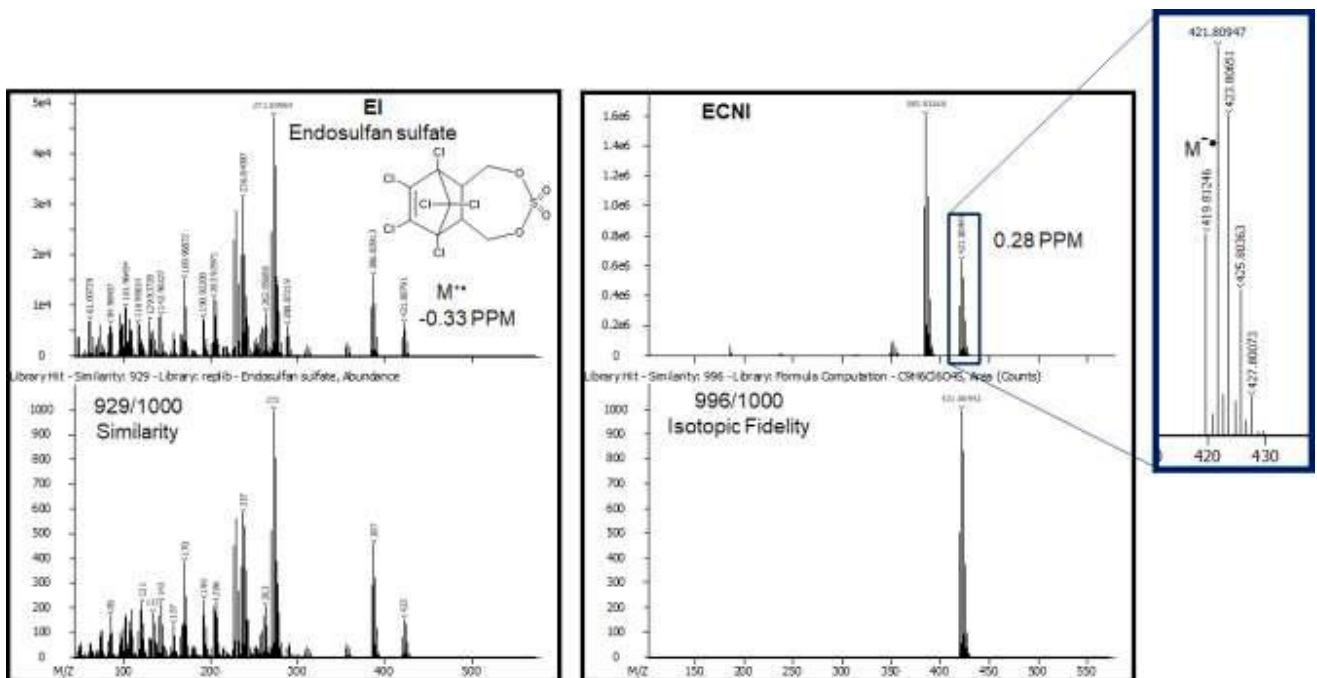


図8. エンドスルファン硫酸塩のEIおよびECNI質量スペクトル



## 4. Conclusion

Pegasus GC-HRT+とMMSは、複雑なサンプル解析における独自かつ強力な問題解決ツールです。MMSイオン源は、分子イオン、付加イオン、フラグメントイオンのクラスターに対して、優れたスペクトル類似度スコア、高精度質量 (<1 ppm)、および高い同位体忠実度を持つ質量スペクトルデータを提供します。EIデータは、高分解能・正確質量イオンを用いたスペクトル類似性および化学式決定による化合物同定に利用されました。

PCIおよびECNIスペクトルは、分子情報を提供するとともに、化合物の構造的および電子的特性に応じた選択性の向上により、化合物の特性解析をサポートしました。

## 5. References

<sup>1)</sup>Anstett A., Fanny C., Alonso D.E., and Waddell Smith R., "Characterization of 2C-phenethylamines using high-resolution mass spectrometry and Kendrick mass defect filters", *Forensic Chemistry*, **2018**, 7, 47-55.

<sup>2)</sup>Dubois L.M., Pierre-Hugues S., Heudt L., Focant J.F., and Perrault K.A., "Characterizing decomposition odor from soil and adipocere samples at death scene using HS-SPME-GCxGC-HRTOFMS", *Forensic Chemistry*, **2018**, 8, 11-20.

<sup>3)</sup>Veenas C., Ripszam M., Glas B., Liljelind I., Claeson A.S., and Haglund P., "Differences in chemical composition of indoor air to rooms associated/not associated with building related symptoms", *Science of the Total Environment*, **2020**; <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137444>.

<sup>4)</sup>Mazur D.M., Detenchuk E.A., Sosnova A.A., Artaev V.B., and Lebedev A.T., "GC-HRMS with complementary ionization techniques for target and non-target screening for chemical exposure: Expanding the insights of the air pollution markers in Moscow snow", *Science of the Total Environment*, **2021**, 761, 144506-144517.

<sup>5)</sup>Lebedev A.T., Mazur D.M., Artaev V.B., and Tikhonov G.Y., "Better screening of non-target pollutants in complex samples using advanced chromatographic and mass spectrometric techniques", *Environmental Chemistry Letters*, **2020**, 18, 1753-1760.

<sup>6)</sup>Daygon V.D., Calingacion M., Forster L.C., De Voss J.J., Schwartz B.D., Ovenden B., Alonso D.E., McCouch S.R., Garson M.J., and Fitzgerald M.A., "Metabolomics and genomics combine to unravel the pathway for the presence of fragrance in rice", *Scientific Reports*, **2017**, 8, 8767; DOI:10.1038/s41598-017-07693-9

<sup>7)</sup>Di Giovanni N., Meuwis M.A., Louis E., and Focant J.F., "Untargeted serum metabolic profiling by comprehensive two-dimensional gas chromatography-high-resolution time-of-flight mass spectrometry", *J. Proteome Res.*, **2020**, 19(3), 1013-1028.

<sup>8)</sup>Ncube S., Dube S., and Nindi M.M., "Determination of volatile compounds during deterioration of African opaque beer using a stir bar sorptive extraction technique and gas chromatography-high resolution mass spectrometry", *Current Research in Food Science*, **2020**, 3, 256-267.

<sup>9)</sup>Vyviurska O., and Spanik I., "Assessment of Tokaj varietal wines with comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry", *Microchemical Journal*, **2020**, 152, 104385; <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104385>.

<sup>10)</sup>Alisi I., Zoccali M., Tranchida P.Q., and Mondello L., "Analysis of organic compounds in coal tar by using comprehensive two-dimensional gas chromatography-high resolution time-of-flight mass spectrometry", *Separations*, **2020**, 7, 26; <https://doi.org/10.3390/separations7020026>.

<sup>11)</sup>Gross J.H., *Mass Spectrometry – A Textbook*, Springer, **2004**, Chp. 7.



**LECO Corporation** | 3000 Lakeview Avenue | St. Joseph, MI 49085 | Phone: 800-292-6141 | 269-985-5496  
info@leco.com • www.leco.com | ISO-9001:2015 Q-994 | LECO is a registered trademark of LECO Corporation.  
Pegasus, ChromaTOF are registered trademarks of LECO Corporation.