されつづけている。したがって、新規化学物質については、化審法に基づいて安全性の評価がなされるが、既存化学物質については原則として、国がその安全性の確認を順次実施している。

環境庁においては、化学物質の環境中における挙動、及び汚染の評価に関する調査研究を進めてきた。これには、昭和51年度以降、地方自治体の研究機関及びこれらに所属する研究者による強力な体制に支えられたことは特記すべき事実である。

環境調査のための分析法の検討は、13の地方自治体公害研究機関で精力的に行われたが、ここで数多くの化学物質について、GC/MS法が有効であることが確認されたことが契機となって、GC/MSシステムの導入が、各地の公害研究機関で行われた。以来、システムのハード面、特に、電算機との結合システムへの移行、及び解析のためのソフトウェアが日進月歩の勢いで進展してきた。

本GC/MS技術検討委員会は、そのような情勢に対応して水質汚濁研究協会に設置され、環境分析という極めて複雑なマトリックスを持つ試料の分析への本法

の適用について、存在する問題点の解消に向けて研究者の情報交換、相互研鑽の場として機能してきた。

今回、今までに水質汚濁研究協会研究発表会のシンポジウムにおいて発表されてきた成果が「水質汚濁研究」誌に総括されたことは、本法のより高い完成度の確立と、普及の拡大のために極めて有意義な企画であろう。

われわれが、環境分析に取り組んできた足跡を顧ると、1960年代の初期に、BiemannやRyhageらによって初めてGC/MS装置が開発されて以来、20有余年の歳月を経て、これを用いた環境試料の分析は信頼性の高い、しかも、少量の試料量で可能な分析手法としてほぼ確立されている。しかし、一方において、まだまだ解決すべき問題点も少なくないことも事実であり、われわれの一層の研究努力が要望されよう。また、GC/MS分析の進歩と共に、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、高周波プラズマ発光分光分析(ICP)など機器分析の発展もめざましく、本委員会はこれらへの対応もあわせて考慮する必要が考えられよう。

質量スペクトル検索システムの開発と利用*

山 本 武

1. はじめに

ガスクロマトグラフ質量分析計(以下GC/MSと略称する)を分離分析手段として、環境中の有機化合物を同定する場合、質量スペクトルの解析は不可欠の要

素である。しかし、質量スペクトルから直接有機化合物を推定することは、特に経験を積んだ専門家を除いて一般的でない。GC/MSを環境化学物質の検出手段として利用する研究者の場合は、普通質量スペクトル・データ集の標準スペクトルを参照して未知スペクトルの同定を行うことになる。そのためのデータ集が種々発表され、印刷物や磁気テープの形で利用者に供給されている。また、質量スペクトル・データ・ベースを用いた化合物検索のソフトウェアも数多く開発され、GC/MSデータ処理システムの一部として市販されるに至っている。このように、質量スペクトル検索は今や質量分析法の一部となりつつあるといって過言ではない。

一方、現実の問題として、環境試料のような複合した混合物の分析においてこれらの検索システムが十分機能しているかという点、安原ら¹⁾も指摘しているよう

Takeshi Yamamoto

昭和37年 大阪市立大学大学院理学研究科修了

同年 大阪市立衛生研究所(現大阪市立環境科学研究所)理学博士

〔趣味〕 テニス

* New Mass Spectral Retrieval System in Environmental Monitoring, 昭和59年8月30日受理

にデータ・ベースに収録された質量スペクトルの信頼性の低いこともあって、必ずしも満足すべき状態にあるとはいえない。このような困難を解決するため、環境分析という限られた適用範囲にしばって、より柔軟性の高いGC/MSによる有機化合物検索システムの開発が望まれる。

我々は、このような意図を持ったいわゆる目的別検索システムの開発を行っているので、以下にこの分野での内外の実情も合わせてその開発思想を紹介する。

2. 環境分析におけるGC/MS検索システムの考え方

環境試料のような多成分混合物の分離、同定には、単一成分の質量スペクトル分析とは違った様相がある。それらは、測定スペクトルが混合スペクトルである可能性を除去するために、化合物あるいはスペクトルの分離手段の工夫と化合物同定におけるこれら分離情報の利用であり、また対象とする化合物群、すなわち標準スペクトルの種類を目的に合わせて限定することなどである。また、より多くの人々に精度よく利用されるために、精度管理の行きとどいた手法でなければならない。これらの要素を盛り込んだ広い意味でのGC/MSによる環境中の有機化合物検索システムを指向することが必要である。

2.1 分離情報の利用

このような分析システムでは、混合成分の中から単一の未知化合物スペクトルを分離し、質量スペクトル検索にかけることが究極の目的であるから、それに応じた分離方法、すなわち液々分配、カラムクロマト分画、ガスクロマト分離などが常に用いられる。このような分離方法の多くは個々の化合物の化学的、物理的性状に依存しており、特に位置異性体のような質量スペクトルによる区別がほとんど不可能な物質の場合、きわめて有力な同定手段となる。このような意味から、ガスクロマト保持指標を標準化合物の質量スペクトル・データ・ベースに追加収集することとする。保持指標としては、昇温条件下でのガスクロマト保持指標(Programmed Temperature Retention Index)を用いる²⁾。ここで問題となるのは、ガスクロカラム液相の多様性にどう対処するかであるが、それはこの検索システムが前述のように分離手段もとり込んだ広義の検索システムであるために、カラム液相をあらかじめ数種に限定しておき、最適液相についての保持指標のみを収録しておく利点がある。

2.2 質量スペクトル・データ・ベースの構成

次に収集すべき標準スペクトルについては、このシステムを環境分析用とするために、次のようなカテゴリーに属する化合物群を対象とする。

- (1) 生物体由来の天然物、環境中に散布あるいは廃棄排出される人工化学物質とその分解産物。
- (2) 石炭、石油等の成分およびその燃焼、転換産物。
- (3) 建築材、生活資材等に含まれ、環境中に移行する人工化学物質。
- (4) 極微量で生体毒性、変異原性、生態毒性が顕著であると予測される化学物質、天然物。

標準スペクトル・データは上述のような目的から、既存の質量スペクトル・データを転用するのではなく、あらかじめ定められた測定基準にしたがって新たに品質保証のされたスペクトルを収録することとする。ここでいう測定基準については後に詳述するが、このような測定基準は実際の環境分析におけるGC/MS測定においても適用され、分析精度の保証に利用される。

2.3 質量スペクトル検索アルゴリズム

大規模汎用データ・ベースを用いる質量スペクトル検索システムについては本誌³⁾に安原らによって解説されているが、ここにのべる目的別データ・ベースではより対象に即したアルゴリズムが採用される。検索の手法はスペクトル・パターンの一致度を示す Similarity Index³⁾と化合物固有の質量ピークの一一致のチェックから成っている。これは従来の検索システムが汎用の大規模データ・ベースから、いかに効率よく未知スペクトルに対応する標準スペクトルを抽出するかに重点が置かれていたのに対して、目的別小規模データ・ベースでは、いかに一致を確かめるかに重点があるからである。すなわち、未知スペクトルが、標準スペクトルと同一であるといえる要件をどれだけ満足しているかに主眼を置いて検索がなされる。このような意図でなされた検索結果は、同定の確からしさの指標として利用できることになる。

3. 質量スペクトル検索システムの開発

以上のような立場から我々が行っている検索システム開発の概要を以下に紹介する。

3.1 マススペクトル・データの収集

より高品位の質量スペクトル・データの収集は検索システムの構築に不可欠である。データ・ベースに収録する質量スペクトルの品質を表示する基準として、F. W. McLafferty のグループは“Quality Index of Reference Mass Spectra”を発表している⁴⁾。ここでは7つの質量スペクトルの品質を代表する因子(Quality Factor)を定義し、それぞれを0.0~1.0の評点で表し、QF 1からQF 7の評点の積で質量スペクトルを評価する。それぞれの因子とは、以下の7つである。

- QF 1 質量スペクトルの出典
- QF 2 イオン化条件

- QF 3 分子イオン以上の質量数の不純ピーク
 QF 4 非論理的な中性欠損ピークの混入
 QF 5 天然同位体強度比
 QF 6 質量スペクトル中のピーク数
 QF 7 低質量範囲でのピーク数

この評価基準は、主に文献からの質量スペクトルの収集に際して、測定条件、機種などによって質量スペクトルの内容がまちまちであったことから、さしあたり、その品質を表示する必要があるためと思われるが、検索アルゴリズムにこの値はほとんど利用されなかった。そのため標準スペクトルの質のばらつきが、検索効率や検索結果の評価に大きな混乱をもたらした。

米国 EPA では質量スペクトル・データ・ベースが環境汚染物質の同定の主要な手段として利用されている現状にかんがみて、より高品位の質量スペクトルを再収集するため、a procedure for the aquisition of new mass spectra を作り、データ・ベースの再構築に乗り出した⁵⁾。そこでは収集する質量スペクトルは全て一定の基準の下で新たに測定されるように計画されている。この基準は、McLafferty らの Quality Index を踏襲しつつ、さらに新しく2つの因子を追加した。その1つは、測定する化合物サンプルの純度で、純度が90%以下のものについてはQFを0にセットする、すなわちこのようなサンプルでの測定スペクトルには価値を認めないとするきびしい条件を設けている。もう1つは測定操作に関する基準化を行っていることである。質量スペクトルの測定に際しての装置の校正には、mass/charge とイオン強度の校正とがあるが、前者は現在ではペルフルオロトリブチルアミンやペルフルオロケロシンといった標準物質を質量分析システムに導入すれば、コンピュータによって自動的に校正が行われる。これに対して、イオン強度（マスパターン）の再現性については、測定者の経験、技術にまかされる。イオン強度は、装置によってもまた測定条件によっても大幅に変化する場合がある。このような変動を含んだ質量スペクトルを収集する場合には、一様な検索結果を得ることが困難となる。図1にNBS/NIH/EPAのデータ・ベースに収録されている脂肪酸エステル

図1 大規模データ・ベース (NBS/NIH/EPA MSDB) に収録された脂肪酸メチルエステルの質量スペクトルの不均質性
 横軸は脂肪酸メチルエステルの炭素数
 黒丸はMSOBの質量スペクトルでの相対強度
 白丸はDFTPPで基準化された質量スペクトルの相対強度

図2 bis (pentafluorophenyl) phenyl phosphine の質量スペクトル

理を行うことがなされている。図3には種々の測定条件での異なる化学種のマスパターンの変動とビス（ペンタフルオロフェニル）フェニルホスフィン（DFTPP）のそれとの相関を示している。この結果から、DFTPPがイオン強度の校正用標準物質として有効であることがわかる。

このように、まず標準スペクトルの測定条件を基準化した上で得られた質量スペクトル、すなわち品質保証つきのスペクトルのみを収集してデータ・ベースを

図3 異なる化合物種と標準物質(DFTPP)におけるマスパターン一致度の相関
オクタデカノール、ヘキサクロロベンゼン、DFTPPを同時にGC/MSに導入、同一の測定条件で質量スペクトルを測定した。測定条件を種々に変更(黒丸は不適当な測定条件)した時、それぞれの質量スペクトルを各物質の参照スペクトルと比較し、パターンの一致度をSimilarity Indexで表現した

構築することが既存の大規模データ・ベースで生じた困難を解決するのに不可欠であり、今後のスペクトル収集はこのような方向に集約されよう。

3.2 ガスクロマト保持指標の利用

GC/MSによる環境化学物質の検索にガスクロマト保持指標を用いることは、次の点で有利である。

(1) 質量スペクトルが類似するために同定を困難にする、あるいは確認がむずかしい場合、ガスクロマト保持指標値の一致しない物質を除外することができる。

(2) ガスクロマト保持指標で検索対象物質をしぼって化合物スペクトルの検索を行えば、検索時間の大幅な短縮が行える。

このような例を図4に示す。ここでは、検索する化合物の保持指標値に種々の許容幅を設定した場合の検索効率を正解化合物と類似化合物との区別の明確さで示している。この図でわかるように、保持指標を検索システムに導入しない場合、正答値と類似値との区別はかなり不明確になる。

3.3 化合物特有質量ピーク情報の利用

未知質量スペクトルのReversed Searchシステムでは前もって参照スペクトルの化合物特有質量ピーク(分子イオン、基準ピーク、中性欠損イオン、その他の固有フラグメント・イオン)が知られているために、それらの未知スペクトル中での有無をチェックすることができる。このチェックは、Similarity Indexが質量スペクトルの全体パターンの類似に判定基準を置くために、化合物に必ず含まれなければならない質量ピークでも、その相対強度が低い場合は、未知スペクトルにそれが存在しない場合でも高い評価を与える場

図4 種々の保持指標ウィンドウ幅の下での類似化合物の検索パラメータ(Similarity Index)の変化
横軸は候補化合物の検索順位、図中の数字はウィンドウ幅の値、白丸は正解化合物を示す。
ウィンドウ幅が狭いと正解化合物と類似化合物のS.I.値の差が顕著であるが、ウィンドウをかけないと誤った化合物が第1順位に来て、S.I.値の差も小さい

合もあり、false identificationの原因になりうる。また、このチェックは混合スペクトルの判定にも利用できる。図5に出力例を示す。

4. おわりに

環境中の有機化合物のGC/MSによる検索同定に用いられる質量スペクトル検索システムのあり方について、我々の開発内容を例示しながら説明した。これらは、環境試料というより複合した物質系から効率よく注目化合物を分離同定する柔軟性に富んだシステムを指向すると共に、より精度の高い分析結果を得るための精度管理項目も包含する形で構成されている。また、より純粋な質量スペクトルの分離手段については、クロマトグラフ等の操作的なもののほかに混合スペクトルを電算機を用いて数値的に分離するアルゴリズムも発表され実用化に近づきつつある。このようにSoftとHardの手法を駆使したより純度の高い質量スペクトルの測定が、環境中の化合物検索の効率向上に不可欠であり、この分野の総合的な発展が望まれる。

引用文献

- 1) 安原昭夫, 溝口次夫 (1984) 環境中の化学物質に関するデータベースシステムおよび検索システムの開発, 水質汚濁研究

* PTRI WINDOW +- ?										50.00										
* S.I. MINI ?										0.10										
* * * SAMPLE DATA <<4,4'-DDT>>										PTRI=2624 27 PEAKS * * *										
50	88	51	69	63	58	74	84	75	176	82	83	87	67	88	99	99	66	105	63	}
123	60	136	85	163	77	164	74	165	538	166	80	176	133	199	119	200	73	201	54	
212	110	235	1000	236	125	237	566	238	89	239	98	246	53							
+++ SELECTED 10 DATA																				
NO.	S.I.	PTRI	BASE	OVER	MOL	IONS			CHARAC- TERISTIC LOW			IONS	CHARAC- TERISTIC HIGH							
1	0.73	2624	235	3	(1) >	1	165	(0)	(0)	2	235	237	(0)							
2	0.31	2624	(279)	4	(1) >	3	(73)	176	(206)	1	(279)	(0)	(0)							
3	0.27	2641	239	6	(1) >	1	(73)	(0)	(0)	3	239	(256)	(359)							
4	0.19	2593	(55)	1	(0) >	3	(55)	(67)	(69)	2	(83)	87	(0)							
5	0.19	2600	(117)	3	(1) >	3	(73)	75	(117)	1	(393)	(0)	(0)							
6	0.19	2630	(213)	0	(1) <	1	(119)	(0)	(0)	1	(213)	(0)	(0)							
7	0.16	2648	74	4	(1) >	2	74	87	(0)	2	(311)	(323)	(0)							
8	0.15	2600	(149)	0	(0) >	1	(149)	(0)	(0)	0	—									
9	0.14	2600	(43)	3	(0) >	3	(41)	(43)	55	3	(57)	(83)	(308)							
10	0.13	2594	(73)	0	(0) >	3	(73)	(91)	105	1	(117)	(0)	(0)							
NO.	MW																			
1	352	C14H9CL5	4,4'-DDT																	
2	294	C18 H18 O2 SI	ANTHRACENE-9-CARBOXYLIC ACID TRIMETHYLSILYL ESTER																	
3	374	C23 H38 O2 SI	ABIETIC ACID TRIMETHYLSILYL ESTER																	
4	352	C23H44O2	13-DOCOSENOIC ACID, METHYL ESTER																	
5	398	C24 H50 O2 SI	HENEICOSANOIC ACID TRIMETHYLSILYL ESTER																	
6	228	C15H16O2	PHENOL, 4,4'-(1-METHYLETHYLIDENE)BIS-(9CI)																	
7	354	C23H46O2	BEHENIC ACID, METHYL ESTER																	
8	306	C18H26O4	1,2-BENZENEDICARBOXYLIC ACID, DIPENTYL ENTER (9CI)																	
9	326	C22H46O	1-DOCOSANOL (8CI9CI)																	
10	376	C23 H40 O2 SI	(ALL-CIS)-5 8 11 14-EICOSATETRAENOIC ACID TRIMETHYLSILYL ESTER																	

図5 化合物固有質量ピークのチェックを含む質量スペクトル検索結果の出力例

- 7, 319—326.
- 2) G. Guichon (1964) Retention indices in programmed temperature gas chromatography. *Anal. Chem.*, **36**, 661—663.
- 3) H.S. Hertz, R.A. Hites and K. Biemann (1971) Identification of mass spectra by computer-searching a file of known spectra. *Anal. Chem.*, **43**, 681—691.
- 4) D.D. Speck, R. Venkataraghavan and F.W. McLafferty (1978) A quality index for reference mass spectra. *Org. Mass Spectrom.*, **13**, 209—212.
- 5) G.W.A. Milne, W.L. Budde, S.R. Heller, D.P. Martinsen and R.G. Oldham (1982) Quality control and evaluation of mass spectra. *Org. Mass Spectrom.*, **17**, 547—552.
- 6) J.W. Eichelberger, L.E. Harris and W.L. Budde (1975) Reference compound to calibrate ion abundance measurements in gas chromatography-mass spectrometry systems. *Anal. Chem.*, **47**, 995—1000.
- 7) S.J. Stout, S.J. Cardaciotto and W.G. Millen (1983) An investigation of standard compounds for evaluating instrument performance in positive ion and negative ion chemical ionization mass spectrometry. *Biomed. Mass Spectrom.*, **10**, 103—106.