

フルスキャン GC/MS および MassHunter Quant のターゲット デコンボリューションを使用した 食品中の農薬と有機化学汚染物質の スクリーニング

アプリケーションノート

食品安全

著者

Chris Sandy
Agilent Technologies UK Ltd
610 Wharfedale Road
Winnersh Triangle
Wokingham, Berkshire
RG41 5TP
UK

概要

このアプリケーションノートでは、食品抽出物中の農薬およびその他の有機汚染物質をターゲットとする同定に Agilent MassHunter 定量ソフトウェアのターゲットデコンボリューション (TD) 機能を使用する方法を説明します。TD では、デコンボリューションしたマススペクトル全体とリファレンスライブラリのマススペクトルを一致させることで、リテンションタイムとイオン比の測定を使用した場合よりも高い信頼性で対象化合物の同定を行います。



Agilent Technologies

はじめに

ベンチトップガスクロマトグラフ/シングル四重極質量分析計 (GC/MS) は、これまで 25 年にわたり、対象化合物の同定および定量のためのルーチン分析ツールとして使用されてきました。この間に GC/MS システムの感度が上がり、食品、環境、法医学/臨床、フレーバ/香料など幅広い対象化合物で検出下限がさらに向上しています。

ただし、シングル四重極 GC/MS システムでは、リテンションタイムや、クオリファイイオンと 1 つのターゲットイオンとの比に基づいて対象化合物を確認し定量するといった一般的な方法は変わっていません。この方法は比較的クリーンなクロマトグラムでの対象化合物の定量には有用ですが、食品または環境サンプルから得られる複雑な抽出サンプルでは、多くの場合、サンプルマトリックスからの干渉成分が存在します。その結果、偽陽性または偽陰性の結果が生じることがあるため、データの確認に非常に大きな労力が必要になり、信頼性が低下します。

ユニットマスのシングル四重極 GC/MS システムで良好な選択性を得るための 1 つの方法として、スペクトルデコンボリューションと、デコンボリューションされた成分のマススペクトル全体とデータベースにあるリファレンスマスペクトルとの比較を追加で行う方法があります。スペクトルは、ターゲットリテンションタイムウィンドウとライブラリマッチスコアを使用して定性することができます。リテンションタイムロック取り込みメソッドを使用すると、GC カラムのメンテナンスまたは交換を実施し

ても対象化合物のリテンションタイムが維持されるため、対象化合物同定の信頼性が向上します。この結果、すべてのサンプルで検出される偽陽性の数が減少します。デコンボリューションされた成分のスペクトルを使用することで、リテンションタイムとイオン比測定を使用した場合よりも高い信頼性で対象化合物を同定できます。

2004 年に、アジレントは初のデコンボリューションレポート作成ソフトウェア (DRS) を発表しました。DRS は MSD ChemStation のアドオンソリューションパッケージで、ChemStation、AMDIS、および NIST MS 検索プログラムを統合したものです。このパッケージはマススペクトル全体のデコンボリューションとライブラリ検索を使用して、複雑なマトリックス中の対象化合物をこれまでよりも高い信頼性で同定します。DRS を使用した食品中の農薬および有機汚染物質のスクリーニングの関連するアプリケーションは、これまでに報告されています [1、2]。

ターゲットデコンボリューション (TD) は、MassHunter (MH) Quant バージョン B.06.00 の発表とともに 2013 年 3 月に初めて搭載された MH 定量ソフトウェアの新しい、完全に統合された機能です。MH TD の目標は DRS と同じです。つまり、デコンボリューションされた成分スペクトルと対象のデータベースのリファレンスマスペクトルとを一致させることで、対象化合物の同定の信頼性を向上することです。TD は MH Quant 内部で実行され、その他のソフトウェアを操作する必要はありません。MH Quant の TD のワークフローを図 1 に示します。

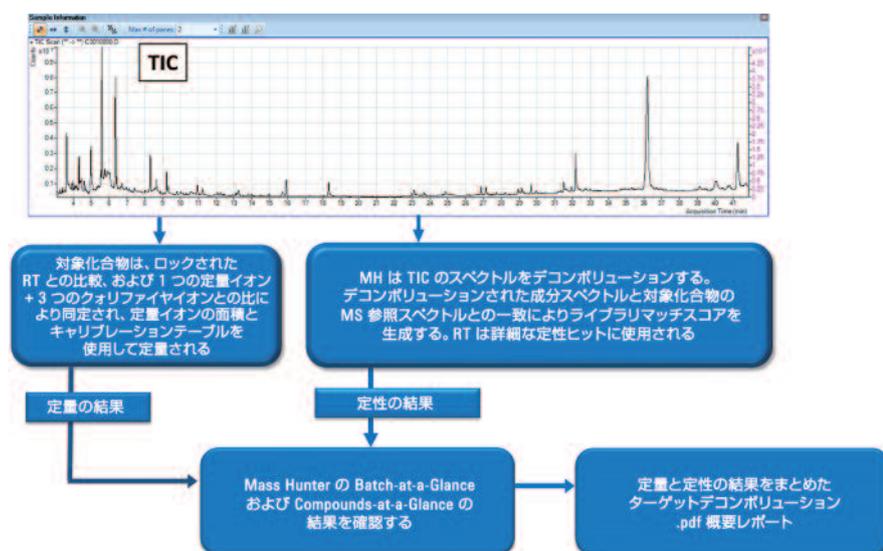


図 1. MassHunter Quant を使用したターゲットデコンボリューションのワークフロー

実験手法

1 mL のブドウ抽出物の高温スプリットレス注入を行い、オリジナルの Agilent リテンションタイムロッキング農薬メソッドを使用してフルスキャンモード (40~550 amu) で取り込みました。詳しい GC/MS 分析条件は、以前に発行されたアプリケーションノートに記載されています [3]。

2013 年 3 月に、アジレントは最新バージョンの GC/MSD 取り込みおよびデータ処理ソフトウェア (G1701FA) を発表しました。このバージョンのソフトウェアでは、MassHunter プラットフォームのデータ取り込みによって MSD ChemStation 形式と MassHunter 形式の両方のデータファイルを生成します。

このアプリケーションノートのデータファイルは、以前のバージョンの MSD ChemStation ソフトウェアを使用して取り込まれたものであるため、MH GC/MSD データ変換ツールを使用して MSD ChemStation 形式から MassHunter 形式に変換しました。さらに、927 種類の対象化合物が含まれる、MSD ChemStation のリテンションタイムロッキング (RTL) 農薬定量メソッドを、GC/MSD ChemStation 定量メソッド変換ツールを使用して MH Quant メソッドに変換しました。いずれの変換ツールプログラムも、MH Quant ソフトウェアのインストール時に自動的にインストールされます。これらのトランスレータプログラムのスクリーンショットを、それぞれ図 2 および 3 に示します。

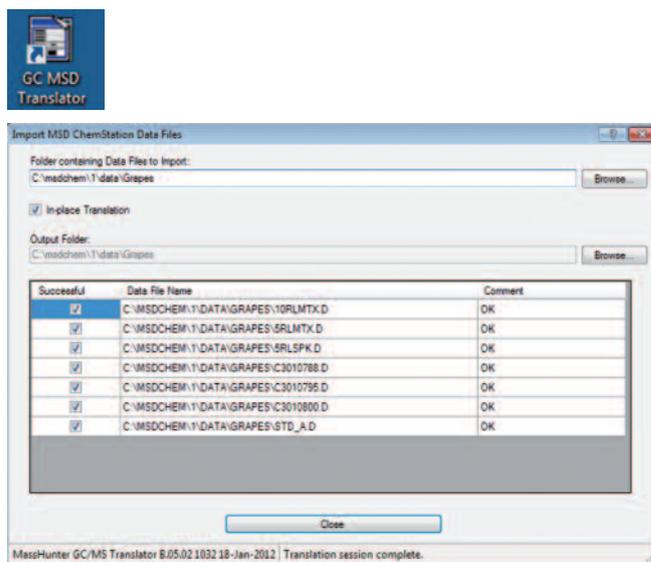


図 2. ChemStation データファイルから MassHunter 形式への変換

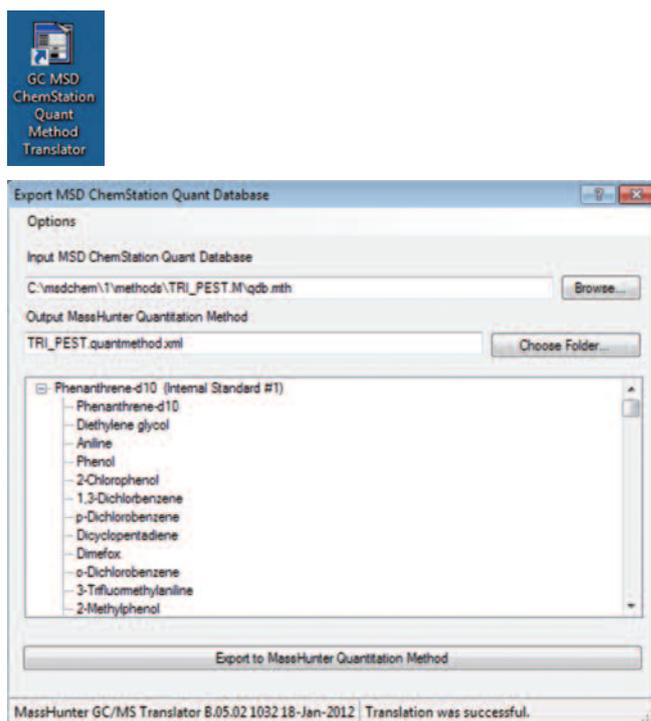


図 3. ChemStation 定量メソッドから MassHunter 形式への変換

最新バージョンの Agilent RTL 農薬および内分泌かく乱物質 MS ライブラリ (RTLPEST3.L) には、927 種類の EI マススペクトルとそのロックされたリテンションタイムが含まれます。このライブラリを MH Quant メソッドで使用できるように、MH Quant のメソッドエディタ機能に組み込まれた **Setup Reference Library (リファレンスライブラリの設定)** 機能で変換しました。リファレンスライブラリ作成のスクリーンショットを図 4 に示します。

データファイル、定量メソッド、および MS リファレンスライブラリを作成した後、ターゲットデコンボリューションで使用する MH Quant メソッドの主要なパラメータを設定しました。ブドウ抽出物の分析で使ったパラメータを表 1 に示します。

スペクトル抽出オーバーライドパラメータは、リファレンス MS ライブラリと一致させるためにデコンボリューションされた成分スペクトルを使用する設定を行います。最小ライブラリマッチスコア (LMS) の値は、デコンボリューションされた成分スペクトルとリファレンス MS ライブラリの対応するスペクトルとの比較から評価される一致率の許容値 (100%) です。この値未満の LMS の成分は最終的な TD サマリーレポートでは報告されません。ライブラリ検索の重み付け係数はデフォルトで 0.7 に設定され、TD に最も適した設定です。

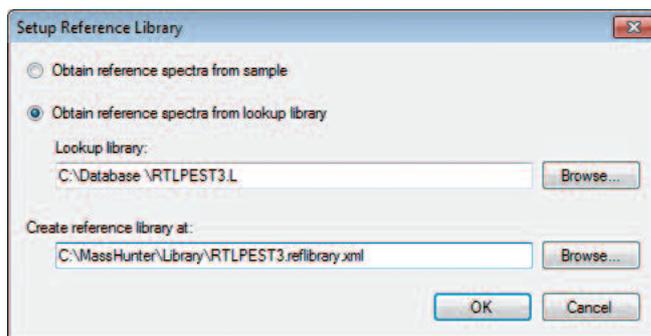


図 4. MH リファレンススペクトルライブラリの作成

表 1. ターゲットデコンボリューションのための MH Quant メソッドの主要なパラメータ

MH Quant メソッドのパラメータ	設定
MH Quant ソフトウェアのバージョン	B.06.00
EIC 左右抽出ウィンドウ	0.25/0.25 分
ノンリファレンスウィンドウ	0.33 分
インテグレータ	Agile
スムージング	なし
スペクトル抽出オーバーライド	デコンボリューションスキャン
最小ライブラリマッチスコア	45
最小純度	50 %
ライブラリ検索の重み付け係数	0.7

ターゲットデコンボリューションを使用した MassHunter Quant データの確認

フルスキャンモードで取り込まれたブドウ抽出物のトータル (カレント) イオンクロマトグラム (TIC) の例を図 5 に示します。

MH Quant SW 内の 2 つの主要な機能は、同時に複数のサンプル (データ) 結果を表示することができる Batch at a Glance (BAG) と、同時に複数の化合物のクロマトグラム一覧を表示する Compounds at a Glance (CAG) です。いずれのプログラムも、完全にカスタマイズ可能なユーザーインターフェースでデータ確認の効率を大幅に向上させます。BAG は、指定のバッチ内で処理されたすべてのデータファイルの概要を示し、結果はサンプルまたは

化合物ごとに、完全にリンクされた環境で表示することができます。BAG および CAG 内部ではデータの外れ値も適用でき、適合しない結果をオペレータに警告します。設定値に達しない外れ値は青で、設定値を超える外れ値は赤で表示されます。BAG および CAG で外れ値が分かりやすい形で可視化されることで、サンプル内で明確に同定されない対象化合物の確認にオペレータが時間を費やす必要があまりないため、データ確認が迅速になります。TD が MH Quant メソッドに含まれる場合は、2 つの追加のデータ列、Library Match Score (ライブラリマッチスコア) および Purity (純度) をバッチテーブルに表示します。

MH Quant SW の一般的な BAG ビューのスクリーンショットを図 6 に示します。

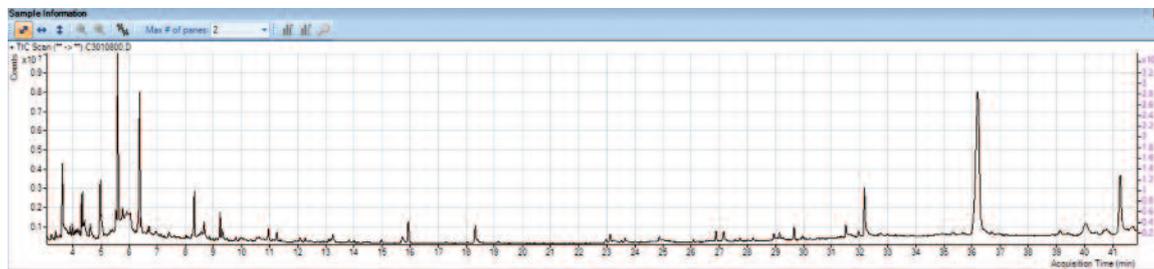


図 5. ブドウ抽出物の TIC

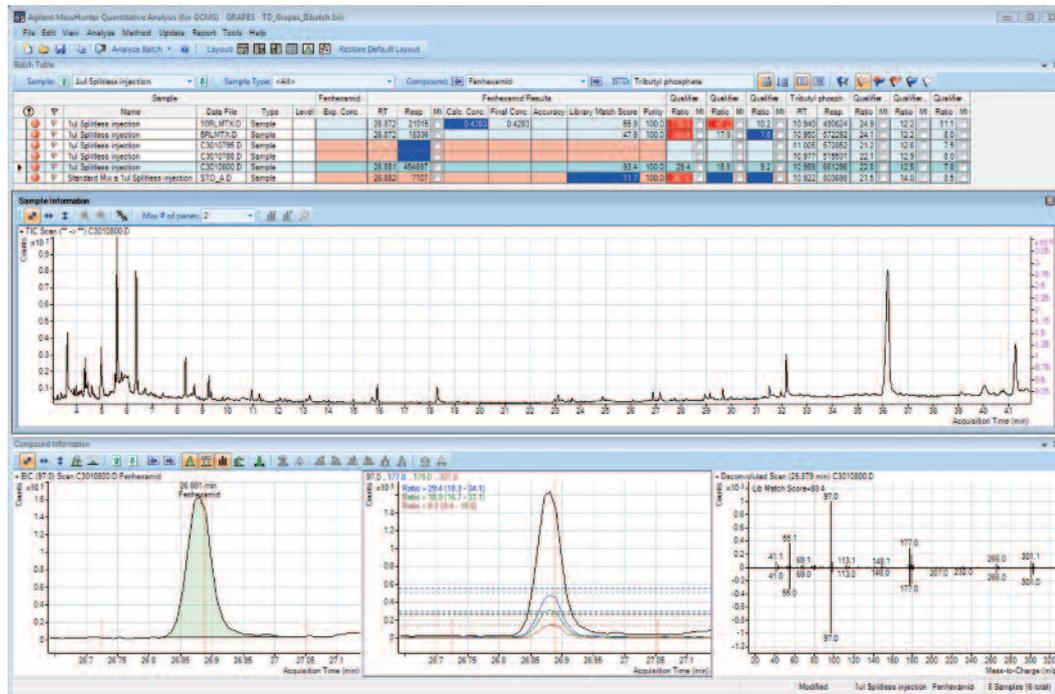


図 6. MH Quant の表示画面

BAG の Compound Information (化合物情報) パネルの例を図 7 に示します。この 3 つのウィンドウでは個々の対象成分の同定/定量に関する情報が詳細に表示されます。図 7 の左側のパネルには、ターゲットイオンと、同定されたピークのリテンションタイムに対するキャリブレーションテーブルの予測されるリテンションタイムや予測される同定範囲の関係がまとめて示されています(赤い垂直線で表示)。中央のパネルにはターゲットイオンおよび

クオリファイアイオンの抽出イオンクロマトグラムが重ねて表示され、イオン比の許容範囲が水平線を色分けして示されています。右側のパネルには、デコンボリューションされたマススペクトル(上)が示されています。その反対側(下)に MS リファレンスライブラリのスペクトルが示されています。このパネルでは左上隅に LMS も示しています。

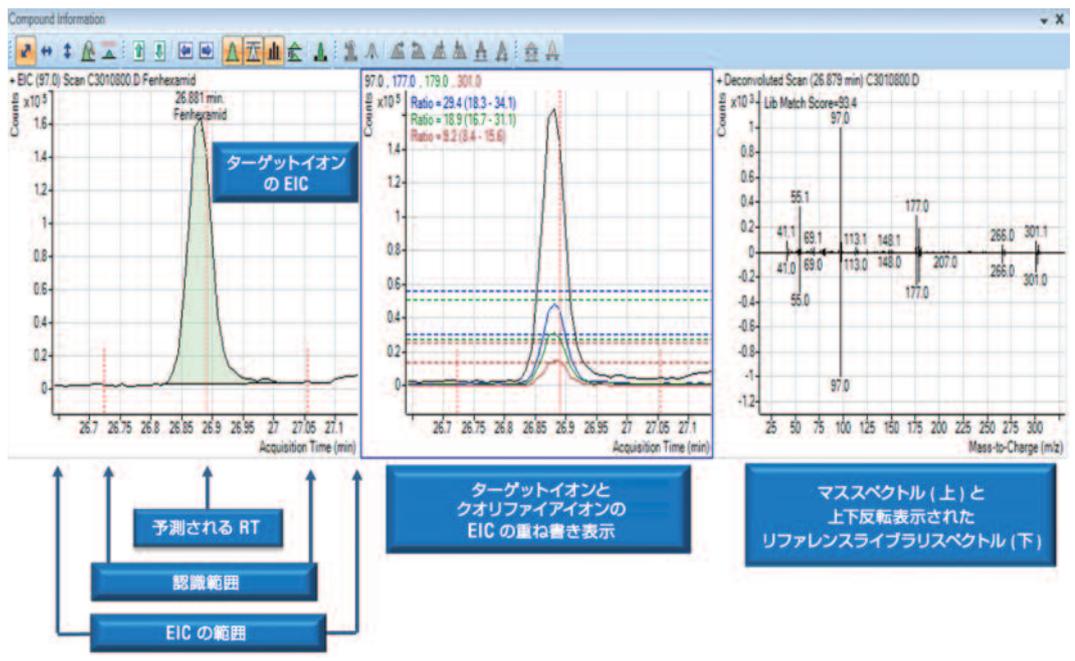


図 7. ターゲットデコンボリューションの結果が含まれる BAG 化合物情報

MH Quant SW の CAG 画面は、個々のオペレータの好みに合わせて完全にカスタマイズできるため、対話形式でデータを確認できる特徴があります。CAG は、任意のバッチからどのようなデータファイルも列または行形式で表示でき、対象化合物のイオンクロマトグラムを個別に表示できます。CAG のデータ確認で外れ値を表示する設定を行うと、1つ以上の外れ値を持つターゲット化合物がハイライト表示されます。TD で典型的に用いられる MH の外れ値の設定を図 8 に示します。

ブドウ抽出物サンプル中の 927 種の対象化合物のうち 25 種類の結果を示す CAG のスクリーンショットの例を図 9 に示します。適用された 1つ以上の外れ値を持つターゲット化合物は赤色にハイライトされます。個々のターゲットイオンクロマトグラムは、任意のパネルでマウスの左ボタンをダブルクリックすることで表示が拡大されてマニュアル積分を行うことができます。CAG 内でマニュアル積分した結果は、BAG で表示された結果に反映されます。

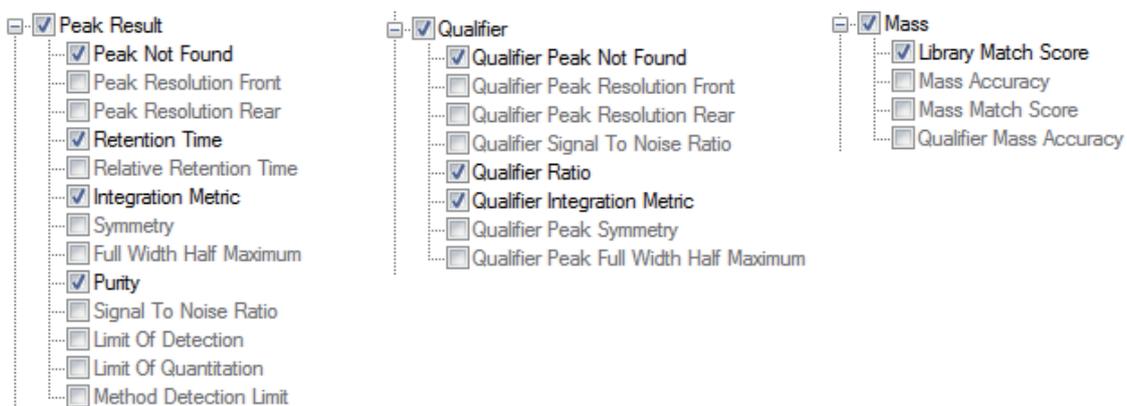


図 8. CAG に適用する MH の外れ値の設定



図 9. 化合物クロマトグラムの一覧。1つ以上の外れ値を持つターゲット化合物は赤色にハイライトされます。

MH Quant でのターゲットデコンボリューションのレポート結果

MH Quant リビジョン B.06.00 には、ターゲットデコンボリューションサマリーレポートを生成するためのカスタマイズ済み PDF 形式レポートテンプレートが付属しています。この PDF 形式テンプレートは、TargetedDeconvolution.report.xml という名前で \MassHunter\Report Templates\Quant\PDF-Reporting フォルダにあります。TD を採用したバッチデータにこのレポートを適用するとサマリーレポートが生成されます。各 TD レポートの生成に

必要な時間は、通常はわずか数秒です。TD サマリーレポートの例を図 10 に示します。レポートには、MH Quant Method outliers (MH Quant メソッドの外れ値) セクションで設定した最小値を超えるライブラリマッチスコアと純度の値を持つ対象化合物のリストが表示されます。純度はクオリファイアイオンが同一のものを持つ成分が、ターゲット化合物にどれだけ干渉しているかをデコンボリューションによって評価し、結果を修正します。したがって、純度が 100 の場合は干渉が全く検出されていないことを示します。

Targeted Deconvolution Report							Agilent Technologies
Sample Name:	1ul Splitless injection						
Data File:	C3010800.D						
Quant Batch Name:	C:\Users\sandy\Desktop\LGC Grapes RTL 1x ESTD\GRAPES\QuantResults\TD_Grapes_II.batch.bin						
Last Calib Update:	7/18/2013 7:17:48 AM						
R.T.	Cas #	Compound Name	Amount/Conc	LMS	R.T. Diff(sec)	Purity	
3.5532	108-95-2	Phenol	0.7064	79	0.3	100.0	
4.3425	95-48-7	2-Methylphenol	0.0449	60	5.8	100.0	
4.3792	106-44-5	4-Methylphenol	0.2901	73	-2.2	90.4	
4.3792	108-39-4	m-Cresol	0.2939	70	-2.6	91.6	
6.3705	003228-03-3	Promecarb artifact [5-isopropyl-3-methylphenol]	2.1476	53	1.6	100.0	
7.6094	30560-19-1	Acephate	1.9987	48	-4.8	100.0	
7.8756	131-11-3	Dimethylphthalate	0.0915	53	-1.8	100.0	
7.9582	85-41-6	Phthalimide	0.0609	66	-1.3	100.0	
8.5730	33704-61-9	Cashmeran	0.8917	63	-2.8	96.1	
8.7565	90-43-7	o-Phenylphenol	0.1026	62	-1.5	100.0	
9.9587	84-66-2	Diethyl phthalate	0.4671	88	0.0	100.0	
13.4184	115-96-8	Tris(2-chloroethyl) phosphate	0.0524	54	0.2	100.0	
13.7947	85-01-8	Phenanthrene	0.0914	58	-1.6	100.0	
14.1709	53112-28-0	Pyrimethanil	0.0960	50	2.6	100.0	
15.9329	84-69-5	Diisobutyl phthalate	27.8507	96	2.3	98.8	
17.4195	111246-15-2	Fipronil, Desulfinyli-	0.1065	60	1.8	100.0	
18.4107	84-74-2	Di-n-butylphthalate	3.3477	94	-0.3	100.0	
21.8153	120068-37-3	Fipronil	0.1320	67	0.3	100.0	
24.7978	120068-36-2	Fipronil-sulfone	0.0298	46	2.7	100.0	
26.5322	58810-48-3	Ofurace	0.1045	56	-2.0	100.0	
26.8809	126833-17-8	Fenhexamid	6.8789	93	-0.5	100.0	
29.6615	117-81-7	Bis(2-ethylhexyl)phthalate	6.8620	95	0.8	100.0	
31.6805	117-84-0	Di-n-octyl phthalate	0.1157	48	0.4	100.0	
36.6911	131860-33-8	Azoxystrobin	1.6227	82	3.7	100.0	

図 10. ブドウ抽出物サンプルのターゲットデコンボリューションレポートの例

結果と考察

ベンチトップガスクロマトグラフ/シングル四重極質量分析計 (GC/MS) は、これまで 25 年にわたり、対象化合物の同定および定量のためのルーチン分析ツールとして使用されてきました。

リテンションタイムや、クオリファイアイオンと定量イオンの比に基づく対象化合物の同定は、クリーンなサンプルでは有用です。ただし、多くの場合、食品または環境サンプルの抽出物には、対象化合物と重なり合ったり共溶出したりするマトリクス成分が大量に含まれます。このような場合にはイオン比によって多くの偽陽性および偽陰性の結果が発生することがあり、詳細な、そして多くの場合は時間がかかるデータ確認プロセスをオペレーターが実行する必要があります。

2013 年 3 月にリビジョン B.06.00 と同時に導入された MassHunter Quant ソフトウェアのターゲットデコンボリューション (TD) 機能により、リテンションタイムとイオン比を使用した場合よりも高い信頼性で対象化合物を同定することができます。TD は MH Quant に完全に統合されています。また、BAG および CAG のデータ処理法とそれらに適用できる外れ値の機能は、データ確認を行う上で大きな利点となります。

MH Quant B.06.00 には、単一のサンプル、選択した複数のサンプル、またはバッチ全体の TD レポートの作成が容易になる PDF 形式のレポートテンプレートが含まれます。

MH Quant ソフトウェアに対する TD のシームレスな統合により、データ/情報をその他のソフトウェアにエクスポートすることなく、より高い信頼性で対象化合物を同定できるようになります。結果として、TD の設定、カスタマイズ、および使用が容易になり、ターゲット化合物を定量する GC/MS システムの生産性を大幅に改善できます。

参考文献

1. P.L.Wylie, M.J.Szelewski, C.K.Meng, C.P.Sandy “Comprehensive Pesticide Screening by GC/MSD using Deconvolution Reporting Software” Agilent Technologies publication 5989-1157EN, www.agilent.com/chem
2. C.P.Sandy “A Blind Study of Pesticide Residues in Spiked and Un-spiked Fruit Extracts Using Deconvolution Reporting Software” Agilent Technologies publication 5989-1157EN, www.agilent.com/chem
3. P.L.Wylie “Screening for 926 Pesticides and Endocrine Disruptors by GC/MS with Deconvolution Reporting software and a New Pesticide Library” Agilent Technologies publication 5989-5076EN, www.agilent.com/chem

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 Web 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. 2013

Printed in Japan

October 9, 2013

5991-3329JAJP



Agilent Technologies