

AGILENT INTUVO 9000 GC の 農薬リテンションタイム ライブラリの更新



Intuvo でのリテンションタイムの更新方法



はじめに

新しいガスクロマトグラフ (GC) システムにメソッドを適用する場合、一般的なワークフローを開始する前に、重要な分析対象物のリテンションタイムを確認することが推奨されます。システム構成の違いやカラムのばらつきが原因で、2 つの同様な GC システムのリテンションタイムが異なる場合が少なくありません。リテンションタイムロッキング (RTL) を使用することで、複数のシステム間でリテンションタイムの再現性を確保できます。

リテンションタイムデータベースを使用する場合 (今回のケースでは P&EP MRM データベースのリテンションタイムによる農薬分析)、追加的な手段を講じてリテンションタイムが既存のデータベースと一致するようにします。つまり、分析メソッドを更新して、新しいシステムのリテンションタイムを反映させる必要があります。

本技術概要では、Agilent Intuvo 9000 GC で農薬分析のマルチプルリアクションモニタリング (MRM) メソッドにリテンションタイムロックを適用し、その後にリテンションタイムを更新して P&EP MRM データベースを活用する方法について説明します。

エクストラクタイオン源や不活性イオン源の一般的なワークフローは、次の手順で構成されます。

1. リテンションタイムロッキングによってクロマトグラムを取得します。
2. dMRM メソッドを使用し、拡大された左側/右側の RT デルタウィンドウでデータを取り込みます。
3. Quantitative Analysis を用いてリテンションタイムを更新します。
4. 新しいリテンションタイムを dMRM メソッドにインポートします。
5. メソッドを確認します。



Agilent Technologies

リテンションタイムロッキング

新しいシステムをセットアップして農業分析メソッドを移管する際に、RTLを使用して2つのシステム間でリテンションタイムを一致させます。RTL キャリブレーションの採取時、システムは異なる流量もしくは圧力の5つのデータファイルを収集します(図1)。

RTL キャリブレーションデータを取得する前に、RTL化合物の質量数(m/z)とロック用化合物を含む標準液のバイアル番号を入力しました。クロルピリフォスメチルは、農業分析のためのロック用化合物としてよく使用されます。クロルピリフォスメチルをロックするためにスキャンする質量数(m/z)はマススペクトルから選択され、20分メソッドでは通常9.143分にロックされます。一般的な20分の農業分析の場合、この手順に約3時間かかります。この手順では、最初にクリーンアップ分析が行われます。これにより、RTL化合物の質量数(m/z)に影響を与える可能性のある、前の分析からの残留分析物のキャリーオーバーを除去します。

RTL キャリブレーションデータが収集されると、ロック用化合物のリテンションタイムが入力され、流量が(キャリブレーションデータによって)調整されて、目的のリテンションタイムを得ることができます(図2)。

dMRM データの取り込み

新しいシステムでのリテンションタイムロッキングの後、得られたクロマトグラムで実測したターゲット化合物のリテンションタイムからMRM ウィンドウが正確であることを確認します。MRM メソッドはdMRM メソッドに変換されました(図3)。

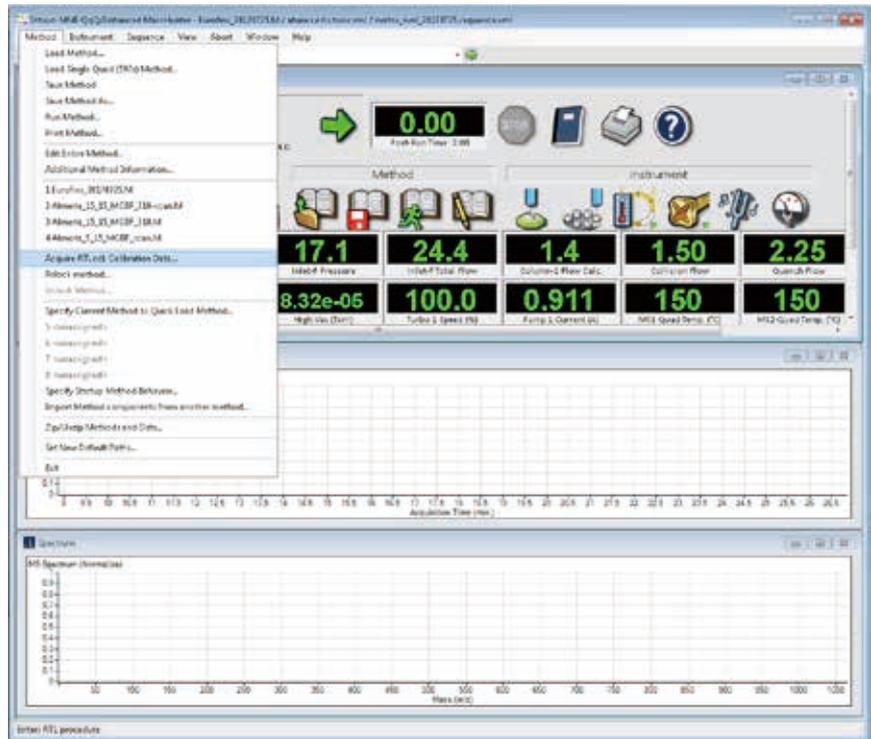


図1. Acquire RTL Calibration Data コマンドは、メソッドリストから容易にアクセスできます。これにより、新しい RTL キャリブレーションデータを収集できます。最初のキャリブレーションが完了した後、Relock Method を使用できます。

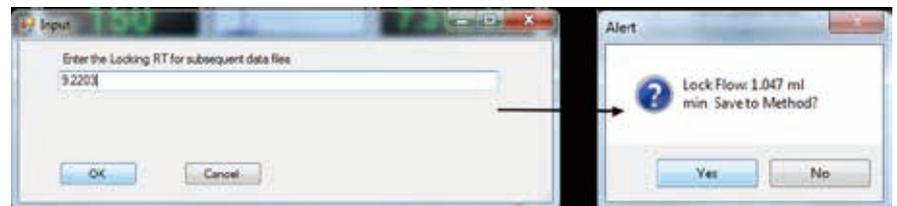


図2. ロック用化合物の目的のリテンションタイムを入力すると、選択したリテンションタイムとなるように流量が調整されます。

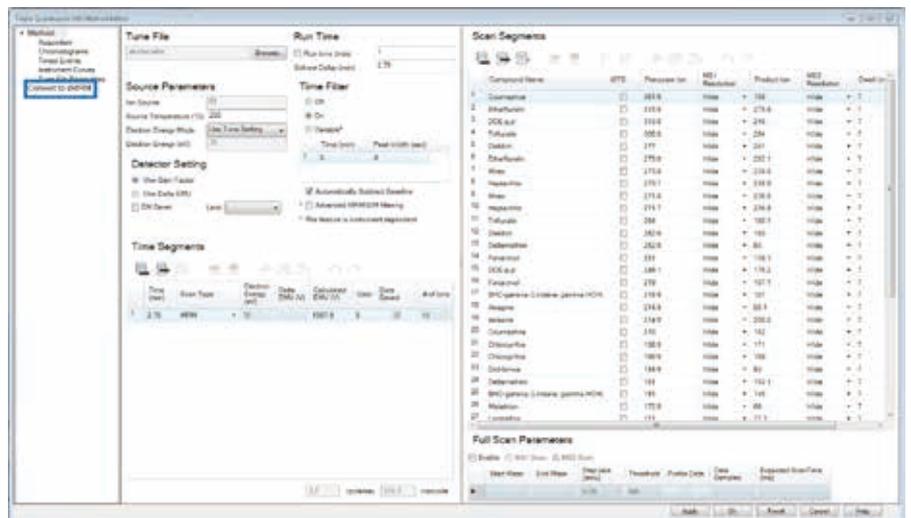


図3. Agilent MassHunter Acquisition ソフトウェアからのガイダンスに従って、タイムセグメントベースのMRM メソッドをdMRM メソッドに容易に変換することができました。

既存の MRM を使用することによって、新しい dMRM メソッドは既存のトランジションを維持しました。ソフトウェアにより、各セグメントのあらかじめ設定した開始時間と終了時間の間で平均することによって、成分のリテンションタイムが算出されました (図 4)。

dMRM メソッドでは、**Overwrite RT Delta** 機能を使用することによって左側と右側のデルタウィンドウが一括して 2 分に拡大されました (図 5)。

dMRM メソッドでは化合物数およびトランジション数によっては、最大の同時 MRM 数 (200) を超える場合があります (図 6)。

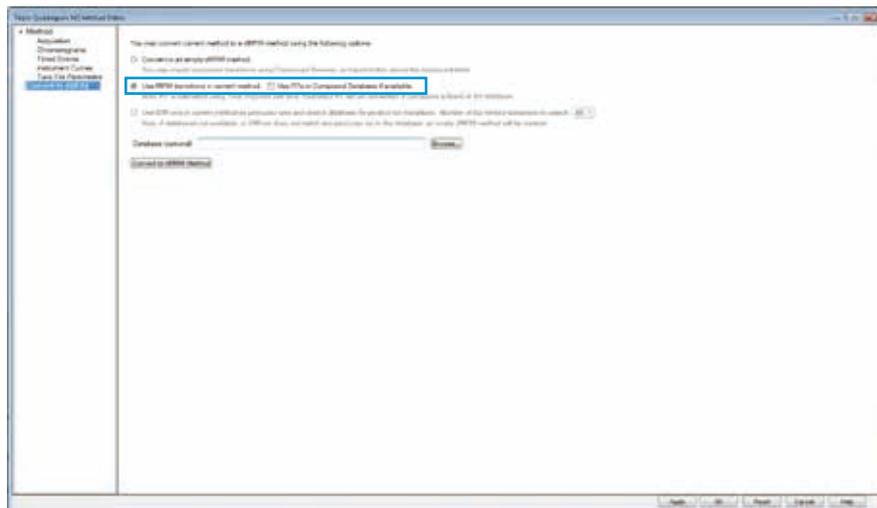


図 4. メソッドを dMRM メソッドに変換するために、現行メソッドからの MRM トランジションを使用しました。

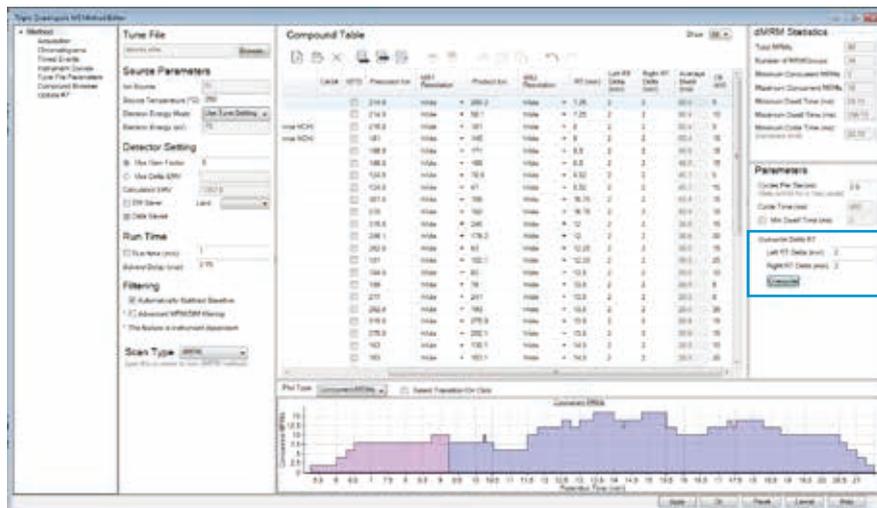


図 5. 左側と右側のリテンションタイムデルタを一括して上書きすることで、MRM トランジションウィンドウを広げて、リテンションタイムがわずかにシフトした場合もすべての分析対象物を検出できるようになります。

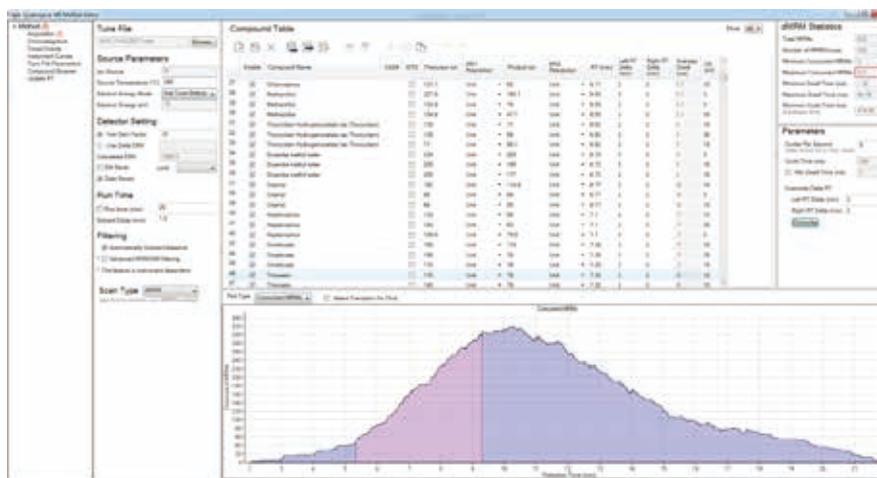


図 6. 左側と右側のリテンションタイムデルタを 2 分に設定すると、大量の分析対象物とトランジションを含む dMRM メソッドでは、最大の同時 MRM 数を超過しました。

ターゲット化合物を同定するために十分に広いウィンドウを維持しながら、左側と右側の RT デルタウィンドウを 1 分または 0.5 分に狭めて同時 MRM の数を低減しました。現行のリテンションタイムは、CSV ファイルとして保存しました (図 7)。

リテンションタイムの更新

Agilent MassHunter Quantitative Analysis を使用して広いウィンドウで標準液データを解析し、リテンションタイムを既存の定量分析メソッド内で更新します。新しく取得した標準液データを含むバッチを開いて、それを選択した状態で、以前に保存した定量メソッドをロードしました。Method Editor 画面で、Update メニューから **Update Retention Times** を選択しました (図 8)。**Select All** を使用して既存メソッド内のすべてのリテンションタイムを更新しました。ここで、メソッドを保存、検証してバッチに適用しました (図 9)。

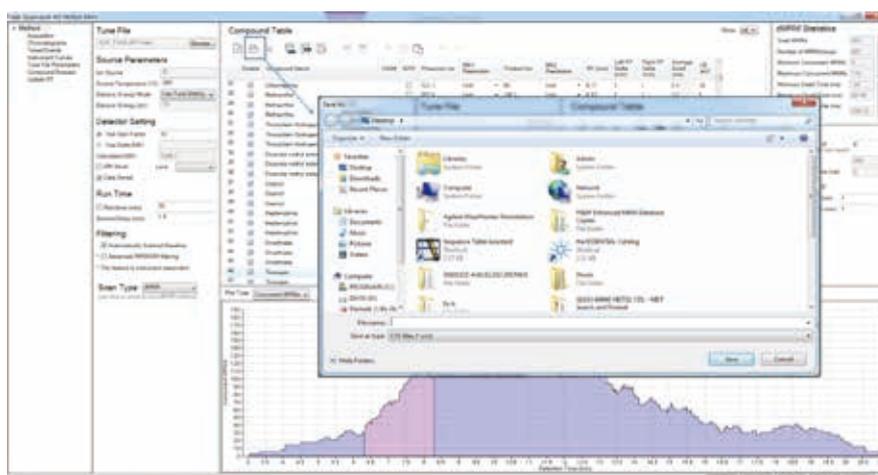


図 7. Save アイコンをクリックして dMRM 化合物表をエクスポートし、表を CSV ファイルとしてローカルに保存しました。

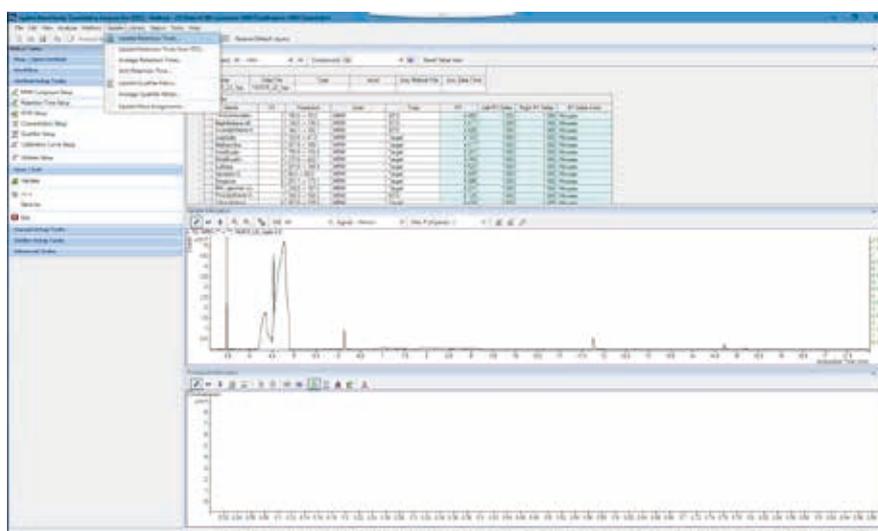


図 8. Agilent Mass Hunter Quantitative Analysis の **Update** メニューから、Method Editor 画面の **Update Retention Times** にアクセスしました。

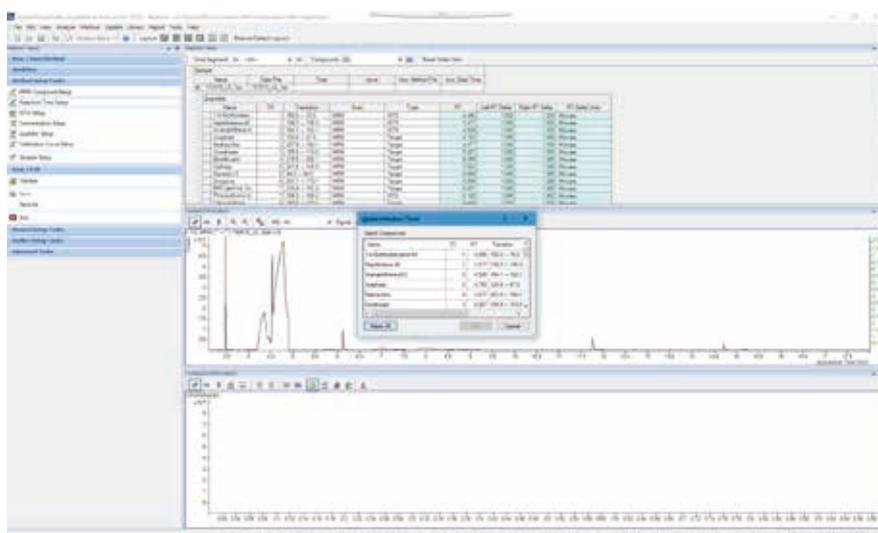


図 9. メソッドでのすべての分析対象物が、1 回の標準液の分析と 1 回の解析動作で更新されました。

新しいリテンションタイムの dMRM メソッドへのインポート

定量メソッドで更新したリテンションタイムとともに、化合物表はバッチから CSV ファイルにエクスポートされました (図 10)。

標準液の分析と新しい定量メソッドによって更新されたリテンションタイムは、dMRM メソッドからあらかじめエクスポートされた CSV ファイル内で更新され、新しい名前でも保存されました (図 11)。CSV ファイル内の情報で重要なものは、化合物の列と RT の列です。

dMRM メソッドのリテンションタイムは、MassHunter Acquisition Method Editor で、新しい CSV ファイルから更新されました (図 12)。

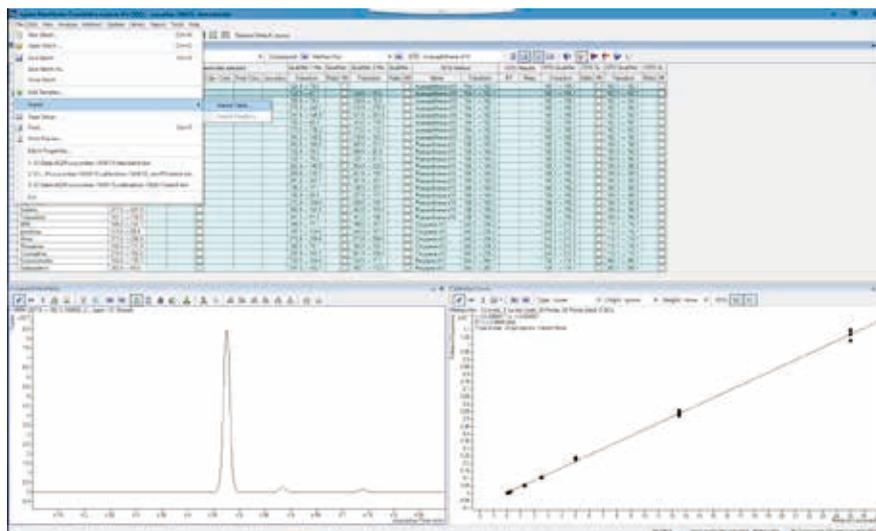


図 10. 化合物表をエクスポートすることで、CSV ファイルがローカルに保存されました。

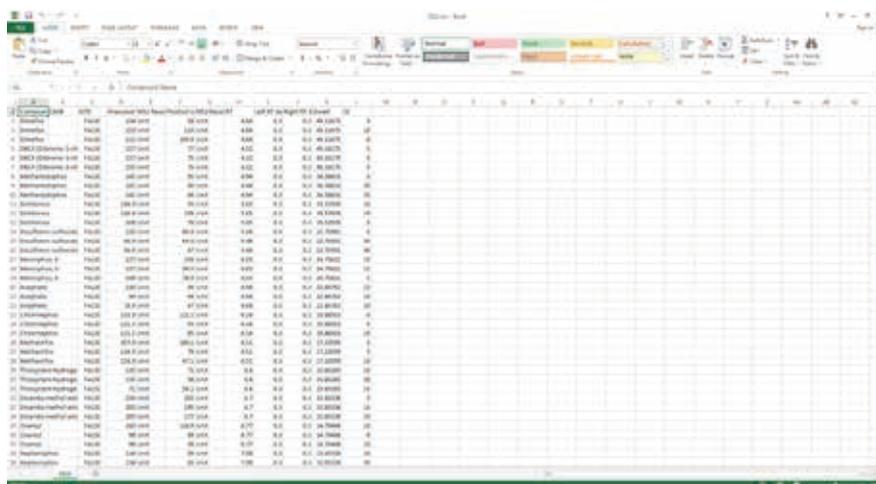


図 11. dMRM メソッドからエクスポートした CSV ファイルには、化合物名の列とリテンションタイムの列が含まれていました。この例では、各 MRM トランジションがそれぞれの化合物のリテンションタイムと一致しています。

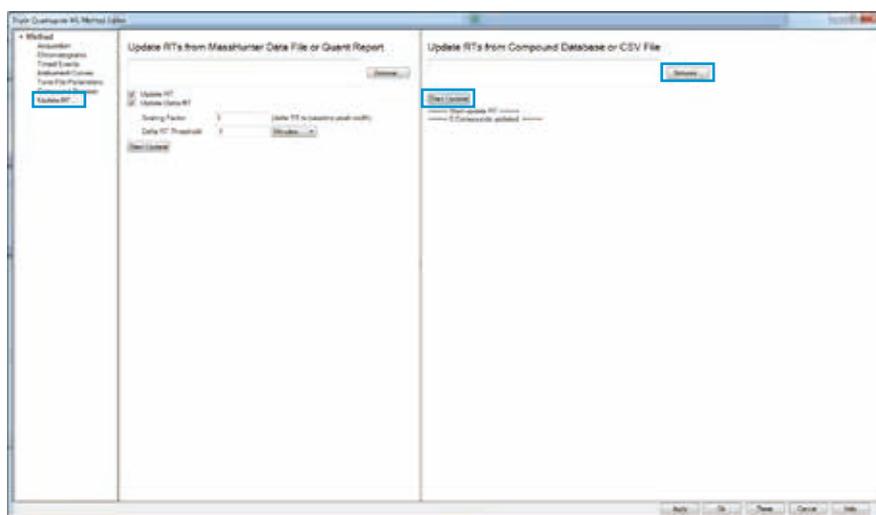


図 12. 更新されたリテンションタイムを含む保存済みの CSV ファイルを、Update RT に使用するファイルとして選択しました。

Update RT 機能を使用して、更新を開始する前に保存済みの CSV ファイルを選択しました。リテンションタイムの更新後に、化合物リストを変更済みリテンションタイムとともに表示しました (図 13)。括弧内に、メソッドの更新前のリテンションタイムが示されています。

これとは別に、同様の手順を使用して、リテンションタイムを定量レポートから更新することができます。レポートは Quantitative Analysis で生成され (図 14)、データ取り込みメソッドエディタでリテンションタイムを更新するために使用されます。

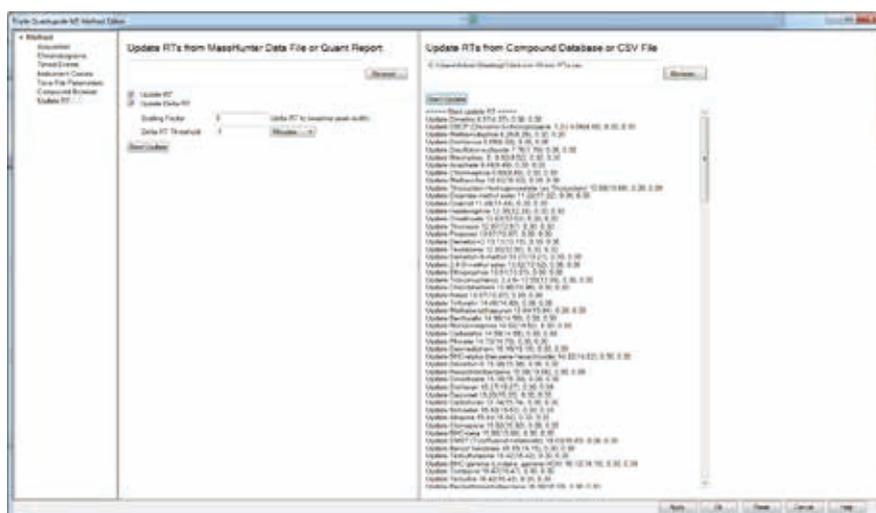


図 13. リテンションタイムを更新した後に化合物リストが表示され、変更が示されました。

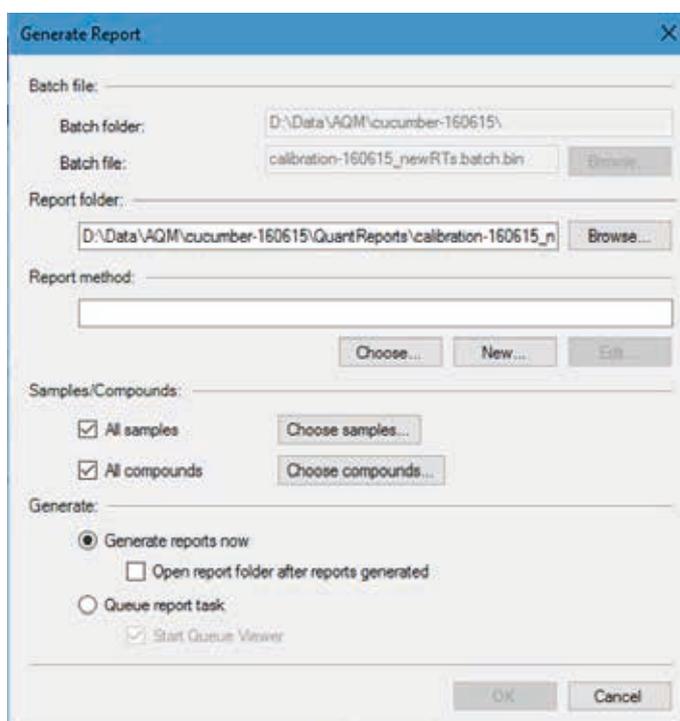


図 14. Quantitative Analysis でレポートを作成することで、データ取り込みメソッドのリテンションタイムを更新する別の方法もあります。

最終の更新済みメソッドとしてタイムセグメントベースの MRM メソッドを選択する場合は、更新済み定量メソッドからトランジションファイルを作成できます (図 15)。タイムセグメントスキームを指定することによって (図 16)、生成されたファイルを化合物表にインポートすることができます (図 17)。

メソッドの確認

変更をメソッドに適用した後、キャリブレーションおよびサンプル分析を続けて実行する前に、標準液の分析を検証しました。

結論

リテンションタイムロッキングの手順を詳細に示し、ライブラリまたはデータベースメソッド内のリテンションタイムを更新しました。プロセスは比較的シンプルでわかりやすいものです。リテンションタイムロッキングのキャリブレーション分析以外に追加の分析の実行が必要でした。このプロセスを最適化するには、標準液または既知のターゲット化合物を含むサンプルが必要です。

最適化の結果は、質量分析システムに搭載されたイオン源によって変化する場合があります。感度を最適化するという観点では、高いカラム流量になった場合、この手順では最適な性能が得られない可能性があります。

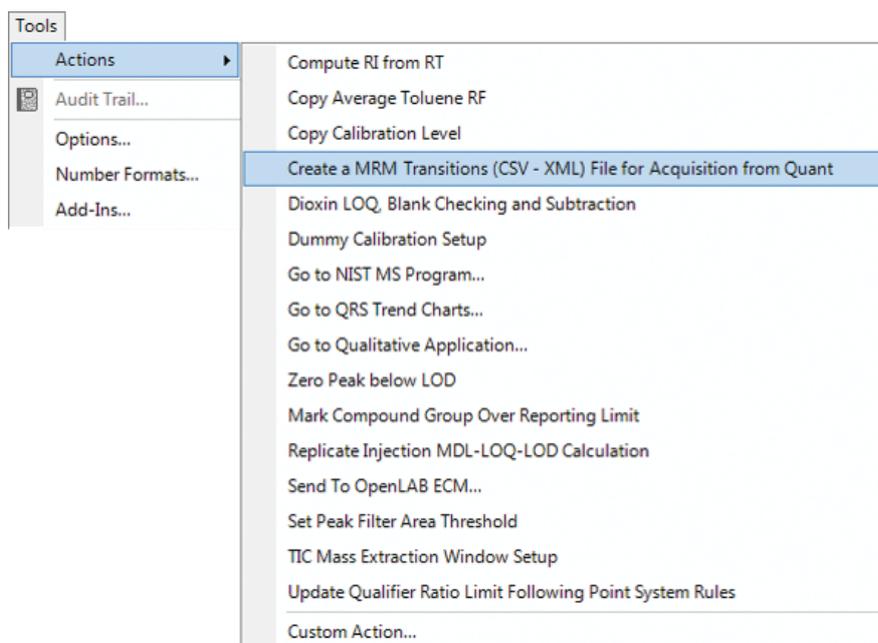


図 15. 更新されたリテンションタイムと既存の MRM トランジションを含む CSV または XML ファイルによる新しい定量メソッドの作成アクション

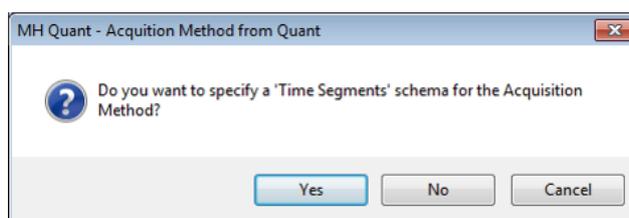


図 16. Yes を選択して「Time Segments」スキームを指定すると、CSV ファイルをタイムセグメントベースの MRM メソッドの化合物表にインポートできます。

	CASE	ISTD	Precursor Ion	MS1 Resolution	Product Ion	MS2 Resolution	RT (min)
1	<input checked="" type="checkbox"/>		154	Unit	58	Unit	4.06
2	<input checked="" type="checkbox"/>		153	Unit	110	Unit	4.06
3	<input checked="" type="checkbox"/>		111	Unit	109.9	Unit	4.06
4	<input checked="" type="checkbox"/>		157	Unit	77	Unit	4.33
5	<input checked="" type="checkbox"/>		157	Unit	75	Unit	4.33
6	<input checked="" type="checkbox"/>		155	Unit	75	Unit	4.33
7	<input checked="" type="checkbox"/>		141	Unit	95	Unit	4.95
8	<input checked="" type="checkbox"/>		141	Unit	80	Unit	4.95
9	<input checked="" type="checkbox"/>		141	Unit	84	Unit	4.95
10	<input checked="" type="checkbox"/>		184.9	Unit	93	Unit	5.06
11	<input checked="" type="checkbox"/>		144.9	Unit	109	Unit	5.06
12	<input checked="" type="checkbox"/>		109	Unit	79	Unit	5.06
13	<input checked="" type="checkbox"/>		125	Unit	96.9	Unit	5.5
14	<input checked="" type="checkbox"/>		96.9	Unit	64.9	Unit	5.5
15	<input checked="" type="checkbox"/>		96.9	Unit	47	Unit	5.5
16	<input checked="" type="checkbox"/>		127	Unit	109	Unit	6.05
17	<input checked="" type="checkbox"/>		127	Unit	94.9	Unit	6.05
18	<input checked="" type="checkbox"/>		109	Unit	78.9	Unit	6.05
19	<input checked="" type="checkbox"/>		136	Unit	94	Unit	6.08
20	<input checked="" type="checkbox"/>		94	Unit	64	Unit	6.08
21	<input checked="" type="checkbox"/>		78.9	Unit	47	Unit	6.08
22	<input checked="" type="checkbox"/>		153.9	Unit	121.1	Unit	6.18

図 17. Quantitative Analysis からの更新済みリテンションタイムを含む CSV ファイルを、タイムセグメントベースの MRM によるデータ取り込みメソッドにインポートすることができます。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

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. 2017

Printed in Japan, September 29, 2017

5991-8446JAJP



Agilent Technologies