# 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。



## 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薬 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、農薬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 分の農薬 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。





Martinet	Turie File	Scar Segnera							
Overland granter	(Antonio Brown) El Austric page -		RAR						
Andronactic Conces	H 10	Balant Salar-Ineti E.19			-	NO.	1	402	25
Consect to provide	Source Parameters	Time Filter	1.000		Concernant one	Batchine	and the second second	Bardune	1.1
the second s	Inclusion Mil	0.00	Contentie	- 12-	201.0	1000	+ 100	-	10.5
	Read Transmission (1) 200	* 0-	2 Instance	- 10	111.9	-	+ 2764		
	Party Room March 1976 Tax Barlins	The Designation of the Owner of	2 206 a.F	. D	1114	1000	+ 394	10.000	7 F .
	Contraction of the second second	and the second se	* Tuffanke	. 12	00018	104	- 2H	104	1.5
	bear bad and	The part is the cost and	* Chatter	- 12	144	1044	· 241	100	
	Detector Setting	to be a set of the set of the	Shellenin.	- 8	175.0	1944	* 280 F	-744	• . T.
	a second second		100	. 12	7184	1000	+ 2044	-	+ 3
		When the house have been been been been been been been be	Pages Free	- 13	1101	1000		-	
	() the Date (M)	A 177 Advertised internet literation	1 mm	.9	179.4	100	+ 194.0	100	+ 3
	Course in a	- Diversified on which participation	- management	- 19	-274.7		4 394.8	100	
	and the second s	" The last of a local and spanned	11 Tidude	. 11	294	1000	· 182.8	10.00	1.5
	stration and the		W. Deater	- 19	3424	1000	T. 188	10.00	* A
	Time Segments		11 Delevative	. 12	2028	1000	*.#L		
	10 10 m		14 Apparent	- 12		_	- 1981	100	
	4.9.		11 155 a.r		188-1	10.00	<ul> <li>1983.</li> </ul>		•
	Dest. (Andrew Conditions of	to Delater a Res	Televel .		479	1144	<ul> <li></li></ul>	100	330
	(ter) from type former and	ALM ENVIL THE LAND AND	Proprietorie personation	- 9-	1184	100	·	10.00	
	3 2 W HER - W	And a second	- Andre	. 62	194.0	1000	- 86.9		
		the state of the s	T man	18	379.00	_	- 396.0		5.5
			E Contente		346	10.00	+, 142	-	
			P Dissiante	, <del>1</del> 1	196.9	white .	4, 171	white .	15.5
			all Changing	12	1001	-	P. 188	-	100
			11 Dates	- 12	188.9	1000		100	2.2
			P Jaberates	- B	100	100	+ 1921	100	+ F 1
			an and prove these percenties		199	1000	+ .148		3. Sec. 1
			Martin.	12	172.0	1000	- 10	104	2.2
			P Company	17	m		*		
			Eul Scan Patamatan						
			F and and a f a second second						
			Ches Carlos Attitut						
			Dector Inthes Inc.		highlight Profile 2		Preprint II	and and	
		TRACTOR AND ADDRESS OF ADDRESS	210	-					

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。

Train Dustriance HL Merical I	44 ·	1	1010-00.00
Held     Repair on      Repair	Updates NTs from Massificanter Dates File or Outert Report	Update RTs from Compound Database or CBV File	
		to Mini Indiana	internal internal internal

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。

yo Danigot M Halad Die	6-	- 1	100 M
- Index Recently Constrained Partners Recently R	Updes HTs from MassHufter Data File or Quart Happet	Update AT a hom Compound Calabase or CAV Field	
		1.00	Coll Scheeler Lineseller Lineseller

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。

enerate Report		
Batch file:		
Batch folder:	D:\Data\AQM\cucumber-160615\	
Batch file:	calibration-160615_newRTs.batch.bin	
Report folder:		
D:\Data\AQM\cucum	ber-160615\QuantReports\calibration-160615_n	Browse
Report method:		
	Choose	Bm
Samples/Compounds:		
All samples	Choose samples	
Al compounds	Choose compounds	
Generate:		
<ul> <li>Generate reports r</li> </ul>	10W	
Generate reports r     Open report	now t folder after reports generated	
Generate reports r     Open report     Queue report task	raw t folder after reports generated	
Generate reports r     Open report     Queue report task     Start Queue	row t folder after reports generated n Winner	

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。

Tool	s		
	Actions	•	Compute RI from RT
	Audit Trail		Copy Average Toluene RF
	Options		Copy Calibration Level
	Number Formats		Create a MRM Transitions (CSV - XML) File for Acquisition from Quant
	Add-Ins		Dioxin LOQ, Blank Checking and Subtraction
			Dummy Calibration Setup
			Go to NIST MS Program
			Go to QRS Trend Charts
			Go to Qualitative Application
			Zero Peak below LOD
			Mark Compound Group Over Reporting Limit
			Replicate Injection MDL-LOQ-LOD Calculation
			Send To OpenLAB ECM
			Set Peak Filter Area Threshold
			TIC Mass Extraction Window Setup
			Update Qualifier Ratio Limit Following Point System Rules
			Custom Action

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



<b>凶 16. Yes</b> を選択し	して <sup>I</sup> Time Segment	s」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	ニスの MRM メソッ	ドの化合物表にイ	ンポートでき	ます。

Co	mpou	ind Table							Sho	w	AL 🔹
2	B	× 888 H 1	ð -		500	212					
	Import	Compound List	CASE	ISTD	Precursor Ion	M\$1 Resolution		Product Ion	MS2 Resolution		RT (mi
1	80	Dimetox		13	154	Unit	*	58	Unit	•	4.06
2	12	Dimefax		13	153	Unit	•	110	Unit	•	4.06
3.	8	Dimefax		0	111	Unit	-	109.9	Unit	•	4.06
1	87	DBCP (Dibromo-3-chloropropane, 1,2-)		13	157	Unit	٠	77	Unit	•	4.33
5	12	DBCP (Dibromo-3-chloropropane, 1,2-)		13	157	Unit		75	Unit	•	4.33
5	13	DBCP (Dibromo-3-chloropropane, 1,2-)		17	155	Unit	•	75	Unit	-	4.33
7	12	Methamidophos		11	141	Unit		95	Unit	•	4.95
3	10	Methamidophos.		E3	141	Unit		80	Unit	•	4.95
9	10	Methamidophos		17	141	Unit	٠	64	Unit	•	4.95
10	10	Dichlorvos		13	184.9	Unit		93	Unit	-	5.06
11	8	Dichlorvos		13	144.9	Unit		109	Unit	•	5.06
12	36	Dichlorivos		13	109	Unit		79	Unit	•	5.06
13	2	Disulfaton-sulfaxide		13	125	Unit		95.9	Unit	•	5.5
14	10	Disulfaton sulfaxide		13	96.9	Unit		64.9	Unit	•	5.5
15	8	Disulfoton-sulfoxide		£3.	95.9	Unit		47	Unit	•	5.5
16	52	Mevinphos, E-		13	127	Unit		109	Unit	•	6.05
17	12	Mevinphos, E-		17	127	Unit		94.9	Unit	•	6.05
18	2	Mevinphos, E-		13	109	Unit		78.9	Unit	-	6.05
19	12	Acephate		E3	136	Unit		94	Unit	•	6.08
20	12	Acephate		13	94	Unit		64	Unit	•	6.08
21	12	Acephate		E1	78.9	Unit		47	Unit	•	6.08
22	100	Chlomechos		11	151.0	Line .	-	1211	( lea		# 10

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

カスト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. 2017 Printed in Japan, September 29, 2017 5991-8446JAJP



**Agilent Technologies**