

Agilent MassHunter Optimizer を用いた 大麻中農薬の GC/TQ MRM メソッドの開発

著者

Anastasia Andrianova, He Liu,
and Alex Graettinger
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、GC/TQ 用 Agilent MassHunter Optimizer を用いて、マルチプルリアクションモニタリング (MRM) データ取り込みメソッドをほぼ自動で全面的に開発できることを実証します。GC/TQ Optimizer は、スペクトルデータのデコンボリューションによって、クロマトグラフィーによる干渉がある場合でも、プリカーサイオンを確実に同定します。このツールにより、MRM データ取り込みメソッドの開発時間を大幅に短縮できると同時に、手作業による確認を減らせます。このプロセスの検証には、カリフォルニア州およびカナダで規制されている大麻に関連する 25 種類の農薬の混合物を使用しました。

Optimizer ツールの主なメリットは以下のとおりです。

- MRM 最適化メソッド開発の時間を短縮
- 自動化による手作業の軽減
- 再現性
- GC/MSD メソッドから GC/TQ へのトランジションのスムーズな実施が可能
- 確認ツール内蔵

はじめに

GC/MS/MS の MRM トランジション開発には課題が多く、いくつもの手順を踏む時間のかかるプロセスです。このプロセスは、分析対象物の共溶出やマトリックス干渉によってさらに複雑になる可能性があります。これまで、このプロセスは熟練した科学者の手作業による確認が必要でした。GC/TQ 用 MassHunter Optimizer を活用することで、MRM モードのデータ取り込みパラメータの自動最適化が可能になります。

MRM メソッド開発全体を、ユーザーによる介入なしに、高度に自動化できます。また、最適化ステップをそれぞれ個別に実行することも可能です。最適化ステップは以下で構成されています。

- 分析対象物を、デコンボリュートしたスペクトルのライブラリ検索によって同定
- プリカーサイオンの同定
- さまざまなコリジョンエネルギーでプロダクトイオンを同定
- プロダクトイオンの選別
- コリジョンエネルギーの最適化

GC/TQ 用 Optimizer では、[スキャンデータから開始] や [SIM イオンから開始] といったいくつかのワークフローを活用できるため、GC/TQ を初めて使うユーザーでも、既存のシングル四重極スキャンメソッドや SIM メソッドをトリプル四重極 MRM メソッドに変換できます。これまで TQ を利用していたユーザーは、[MRM で開始] のワークフローによって、コリジョンエネルギーを MRM 用に再最適化でき、新たなクロマトグラフィー条件でのリテンションタイムの更新も行えます。

この研究では、カリフォルニア州で Bureau of Cannabis Control (BCC) ¹ によって、また、カナダで保健省 ² によって大麻に対して規制されている、GC で検査できる農薬を検出するための MRM 取り込みメソッドを開発しました。これらの化合物は、エレクトロスプレー LC/MS による分析が極めて難しいとされているものです。

[スキャンデータから開始] のワークフローに従って、溶媒中の農薬標準混合物を用いて各化合物に対し、最大 18 の MRM トランジションを開発しました。その後、開発した MRM トランジションのコリジョンエネルギーを大麻マトリックスで再最適化しました。マトリックス最適化済みの最終的な MRM 取り込みメソッドには各化合物に対する最大 5 つのトランジションが含まれており、難しいとされる大麻マトリックス中のターゲット農薬に対する高い選択性を実現しました

実験方法

GC/TQ 用 MassHunter Optimizer には、Agilent MassHunter GC/MS Data Acquisition バージョン 10.0 以上が自動でインストールされ、Agilent 7000 シリーズおよび 7010 シリーズ GC/TQ との使用がサポートされています。Agilent GC/MS 設定ツールによって GC/MS 機器が構成されると、デスクトップアイコンが作成されます。MRM 開発の開始には、既存のデータ取り込みメソッドが必要です。MRM トランジションの開発および最適化の際は、取り込みメソッドの GC パラメータがすべて保持されます。

このソフトウェアでは、MRM トランジションの開発および最適化において、以下のワークフローを活用できます。どの取り込みメソッドで開始するかによって、ワークフローを選択します。ワークフローは次のとおりです。

- [スキャンデータから開始]
- [SIM イオンから開始]
- [MRM で開始]

このアプリケーションノートでは、MRM 開発プロセス全体を対象とする、[スキャンデータから開始] のワークフローについて説明します。この研究に使用したのは、Agilent 8890/7010B GC/TQ システムと、MassHunter acquisition 10 SR1 を含む、Agilent MassHunter ワークステーションのリビジョン 10 です。開始する取り込みメソッドは、大麻中の農薬の GC 分析で成果を上げられるよう、すでに最適化したものを用いました。³ [スキャンデータから開始] のワークフローによって、質量分析計がフルスキャンモード (MS2) で動作して、化合物の同定とプリカーサイオンの選択に使用するスキャンデータファイルを取得し、140 ms のスキャン時間で m/z 35 ~ 450 の範囲でスキャンを実行しました。

[スキャンデータから開始] のワークフローは、連続して実行される、以下のステップで構成されています。

- ターゲット化合物を同定するためのフルスキャンデータの取り込みまたはインポート
- プリカーサイオンの同定
- プロダクトイオンの同定
- コリジョンエネルギーの最適化

スキャンから開始する場合、MRM 開発の第 1 ステップは、デコンボリューションされたスペクトルのライブラリ検索による、分析対象物の同定です。これによって、カラムのブリード、共溶出する成分やマトリックスに起因する干渉など、クロマトグラフィーによる干渉がある場合であっても、対象分析物の正確な同定が可能になり、プリカーサイオンを高い信頼性で選択できるようになります。スペクトルデータのデコンボリューションおよびライブラリ検索には、Agilent MassHunter Unknowns Analysis ソフトウェアで用いるアルゴリズムと同様のアルゴリズムが使われます。GC/TQ 用 Optimizer は、*.L.xml または *.mslibrary.xml を含むライブラリフォーマットをサポートします。このため、NIST などの大規模なスペクトルライブラリの利用にも、Agilent MassHunter ライブラリエディタソフトウェアによってユーザーが構築した小規模なライブラリの利用にも対応可能です。このアプリケーションノートでは、ターゲット化合物のみを含む、ユーザーが構築した農業ライブラリを使用しました。

MRM 開発の残りの 3 つのステップは高度に自動化でき、ユーザーによる操作も不要です。また、次のステップに進む前に各ステップの結果を確認することも可能です。次に進む前に、ユーザーは自動化された選択を変更したり、必要に応じてイオン選択を追加したりすることができます。このアプリケーションノートでは、次の最適化ステップに進む前に、ターゲット農業に対して選択したプリカーサの確認を行いました。ここに示す残りの MRM 最適化のステップはすべて自動化しました。

MRM 開発とコリジョンエネルギーの最適化が完了すると、開発した取り込みメソッドを、タイムセグメント MRM メソッドまたはダイナミック MRM (dMRM) メソッドとして保存できます。後方で保存した場合、最少ドウェルタイムと 1 秒あたりのサイクル数をユーザーが定義できます。

最初の MRM 開発にあたっては、GC/TQ システムで容易に検出可能な濃度の対象化合物を含む原液を使用して行うことを推奨します。開発したトランジションのコリジョンエネルギーは、このアプリケーションで示すように、マトリックスで再最適化できます。

結果と考察

ライブラリの検索とプリカーサイオンの同定

25 種類の農業は、標準混合物から得たフルスキャンクロマトグラムを用いて、デコンボリュートした質量スペクトルをオーダーメードの農業ライブラリで検索することで同定しました。図 1A に、化合物の同定が完了した後の Optimizer ウィンドウを示しています。このウィンドウの構成要素は次のとおりです。

- 化合物表 (Compound Table)
- 標識ピークを示したクロマトグラム
- デコンボリュートした質量スペクトル
- 各化合物に対して利用可能なプリカーサイオン
- 同定されたすべての化合物に対して選択されたすべてのプリカーサイオンの概要
図 1B に、化合物の表を示しています。

ライブラリの一致スコアは、図 1 の表の Hit Score (ヒットスコア) 列に示されます。化合物名、CAS 番号、分子式や分子量といった、ライブラリで利用可能な情報は、Optimizer の化合物表にインポートされます。各化合物同定用のデコンボリュートしたスペクトルは、化合物表で化合物を選択すると表示されます。図 2 には、推奨されるプリカーサイオンを緑で強調表示した、ペンタクロロニトロベンゼン (キントゼンとも呼ばれる) 同定用のデコンボリュートしたスペクトルを示しています。スペクトルデータのデコンボリューションによって、カラムブリードや共溶出ピークといった、クロ

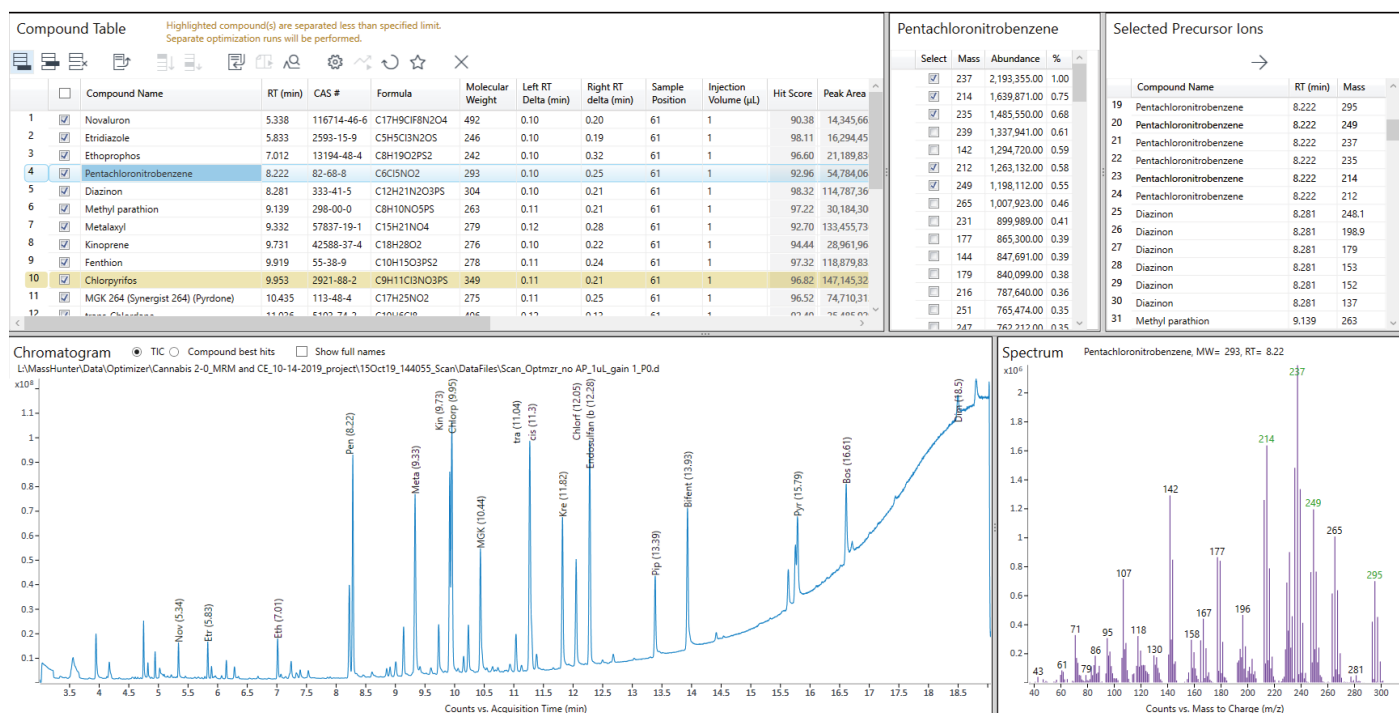
マトグラフィーによる干渉がある場合であっても、化合物の正確な同定と信頼性のあるプリカーサイオンの選択が可能です。

プリカーサイオンの一覧は、化合物表で対応する化合物を選択すると表示されます。図 3A には、ペンタクロロニトロベンゼンに対して利用可能なプリカーサイオンの一部を示しています。Optimizer メソッドでは、プリカーサとして選択できるイオンは各化合物に対して 6 つまでと設定していたため、ソフトウェアによってこの表で選択されたイオンが自動的にプリカーサイオンとして選択されました。

ソフトウェアが推奨するプリカーサの選択は、アバンダンスと m/z 値に基づいている点にご留意ください。また、1 つのクラスタからは 1 つのイオンしか選択されません。例えば、 m/z 値が 295 である、ペンタクロロニトロベンゼンの分子イオンは、プリカーサイオンとして自動的に選択されます。スペクトラムにおいて最もアバンダンスなイオンではないものの、 m/z 値が高く、特異性があるためです。ソフトウェアが推奨するプリカーサは、選択されたイオンのチェックを外すか、利用可能な別のイオンにチェックを入れることで上書きできます。

続く MRM 開発ステップ (プロダクトイオンの同定およびコリジョンエネルギーの最適化など) は自動化が可能で、最適化された最終的なトランジションのみユーザーによる確認が必要です。また、順番に段階的に行うこともでき、これによって、コリジョンエネルギーの最適化ステップを行う前に、プロダクトイオンの選択を確認できます。

A



B

Compound Table Highlighted compound(s) are separated less than specified limit. Separate optimization runs will be performed.

	☐	Compound Name	RT (min)	CAS #	Formula	Molecular Weight	Left RT Delta (min)	Right RT Delta (min)	Sample Position	Injection Volume (μL)	Hit Score	Peak Area	Data f
1	☒	Novaluron	5.338	116714-46-6	C17H9ClF8N2O4	492	0.10	0.20	61	1	90.38	14,345,663.00	L\Mas
2	☒	Ethidiazole	5.833	2593-15-9	C5H5Cl3N2O5	246	0.10	0.19	61	1	98.11	16,294,451.00	L\Mas
3	☒	Ethoprophos	7.012	13194-48-4	C8H19O2PS2	242	0.10	0.32	61	1	96.60	21,189,836.00	L\Mas
4	☒	Pentachloronitrobenzene	8.222	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1	92.96	54,784,068.00	L\Mas
5	☒	Diazinon	8.281	333-41-5	C12H21N2O3PS	304	0.10	0.21	61	1	98.32	114,787,360.00	L\Mas
6	☒	Methyl parathion	9.139	298-00-0	C8H10NO5PS	263	0.11	0.21	61	1	97.22	30,184,300.00	L\Mas
7	☒	Metaxyl	9.332	57837-19-1	C15H21NO4	279	0.12	0.28	61	1	92.70	133,455,736.00	L\Mas
8	☒	Kinoprene	9.731	42588-37-4	C18H28O2	276	0.10	0.22	61	1	94.44	28,961,968.00	L\Mas
9	☒	Fenthion	9.919	55-38-9	C10H15O3PS2	278	0.11	0.24	61	1	97.32	118,879,832.00	L\Mas
10	☒	Chlorpyrifos	9.953	2921-88-2	C9H11Cl3NO3PS	349	0.11	0.21	61	1	96.82	147,145,328.00	L\Mas
11	☒	MGK 264 (Synergist 264) (Pyrdone)	10.435	113-48-4	C17H25NO2	275	0.11	0.25	61	1	96.52	74,710,312.00	L\Mas
12	☒	trans-Chlordane	11.036	5103-74-2	C10H6Cl8	406	0.12	0.13	61	1	92.40	25,485,920.00	L\Mas
13	☒	Endosulfan (alpha isomer)	11.269	959-98-8	C9H6Cl6O3S	404	0.13	0.25	61	1	98.52	172,941,552.00	L\Mas
14	☒	cis-Chlordane	11.299	5103-71-9	C10H6Cl8	406	0.18	0.16	61	1	79.24	11,491,115.00	L\Mas
15	☒	Kresoxim-methyl	11.821	143390-89-0	C18H19NO4	313	0.11	0.25	61	1	96.33	91,899,800.00	L\Mas
16	☒	Chlorfenapyr	12.051	122453-73-0	C15H11BrClF3N2O	406	0.11	0.14	61	1	97.62	65,994,096.00	L\Mas
17	☒	Endosulfan (beta isomer)	12.280	33213-65-9	C9H6Cl6O3S	404	0.12	0.27	61	1	98.34	155,355,504.00	L\Mas
18	☒	Piperonyl butoxide	13.386	51-03-6	C19H30O5	338	0.12	0.24	61	1	96.50	49,822,004.00	L\Mas
19	☒	Bifenthrin	13.931	82657-04-3	C23H22ClF3O2	422	0.12	0.25	61	1	94.68	91,573,560.00	L\Mas
20	☒	Bifenazate	13.964	149877-41-8	C17H20N2O3	300	0.21	0.26	61	1	58.53	4,678,718.00	L\Mas
21	☒	(1R)-cis-Permethrin	15.632	54774-46-8	C21H20Cl2O3	390	0.12	0.19	61	1	90.74	25,467,686.00	L\Mas
22	☒	(1R)-trans-Permethrin	15.751	61949-77-7	C21H20Cl2O3	390	0.11	0.24	61	1	94.19	35,526,228.00	L\Mas
23	☒	Pyridaben	15.787	96489-71-3	C19H25ClN2O5	364	0.11	0.21	61	1	93.84	51,883,384.00	L\Mas
24	☒	Boscalid (Nicobifen)	16.610	188425-85-6	C18H12Cl2N2O	342	0.13	0.23	61	1	80.58	51,811,116.00	L\Mas
25	☒	Dimethomorph-(Z) [CAS # 110488-70-5]	18.495	999012-03-2	C21H22ClNO4	387	0.15	0.22	61	1	80.00	17,733,326.00	L\Mas

図 1. 化合物同定結果 (A) を示した GC/TQ 用 Agilent MassHunter Optimizer のウィンドウと、ライブラリ検索と質量スペクトルのデコンボリューションによるフルスキャンク ロマトグラムで同定された 25 種類の農薬の化合物表の拡大図。共溶出する化合物は黄色で強調表示しています。これらの化合物は、何回かに分けた注入によって最適化されました (B)。

A

Pentachloronitrobenzene				
Select	Mass	Abundance	%	
☒	237	2,193,355.00	1.00	
☒	214	1,639,871.00	0.75	
☒	235	1,485,550.00	0.68	
☐	239	1,337,941.00	0.61	
☐	142	1,294,720.00	0.59	
☒	212	1,263,132.00	0.58	
☒	249	1,198,112.00	0.55	
☐	265	1,007,923.00	0.46	
☐	231	899,989.00	0.41	
☐	177	865,300.00	0.39	
☐	144	847,691.00	0.39	
☐	179	840,099.00	0.38	
☐	216	787,640.00	0.36	
☐	251	765,474.00	0.35	
☐	247	762,212.00	0.35	
☐	107	715,275.00	0.33	
☒	295	700,222.00	0.32	
☐	229	690,256.00	0.31	
☐	267	637,114.00	0.29	
☐	263	614,898.00	0.28	
☐	196	466,621.00	0.21	
☐	233	457,829.00	0.21	
☐	297	452,516.00	0.21	
☐	167	441,127.00	0.20	
☐	293	419,980.00	0.19	
☐	241	411,835.00	0.19	
☐	230	358,725.00	0.16	
☐	71	327,703.00	0.15	
☐	118	320,587.00	0.15	
☐	95	306,603.00	0.14	
☐	143	297,288.00	0.14	
☐	158	295,652.00	0.13	
☐	165	291,360.00	0.13	
☐	181	281,125.00	0.13	
☐	109	272,908.00	0.12	
☐	198	250,281.00	0.11	
☐	253	241,333.00	0.11	
☐	232	241,168.00	0.11	

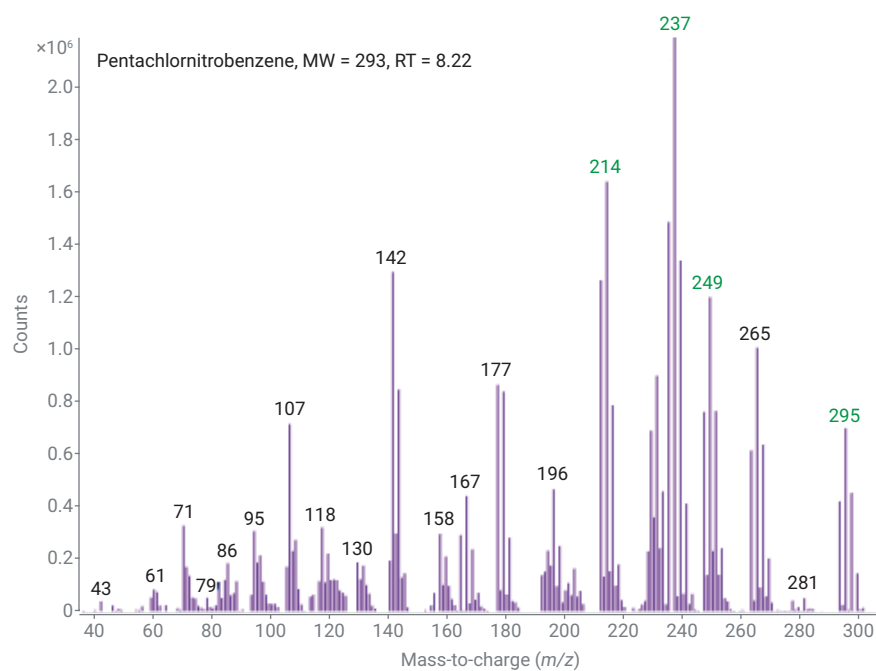


図 2. 推奨されるプリカーサイオンを緑で強調表示したペンタクロロニトロベンゼンのデコンボリュートした質量スペクトル

B

Identify Precursor Ions
Identify Product Ions
Optimize CEs
RT Delta
Miscellaneous

Maximum number of precursor ions to select

☒ Select highest m/z values with normalized % intensity greater than

☐ Select highest m/z values with abundance count greater than

Full scan mass range

☒ Do not exclude masses

☐ Exclude masses

 m/z values (separate by commas)

☒ Identify compounds

Library

Min score (%)

Min peak area

RT tolerance (sec) (0.417 Minutes)

Maximum hits for each peak

図 3. ペンタクロロニトロベンゼンに推奨されるプリカーサイオン (A) とプリカーサ同定パラメータ (B)

プロダクトイオンの同定

各プリカーサイオンに対するプロダクトイオンの同定は、ユーザーが定義する複数のコリジョンエネルギーでプロダクトイオンをスキャンすることで行います。プロダクトイオンのスキャンには最大 4 つのコリジョンエネルギーを利用できます。この研究では、プロダクトイオンスキャンの実験を 5、15、25 および 35 eV のデフォルト値で行いました。プロダクトイオンの最適化には、分析対象物 1 つにつきプリカーサイオンがいくつあるか、または分析対象物をクロマトグラフィーによってどれだけ分離できたかによって、複数の注入が必要になる場合があります。最も効果的な MRM 開発を確実に行えるよう、クロマトグラフィーによってベースライン分離された分析対象物を使用することを推奨します。ただし、質量スペクトルが異なり、化合物のレスポンスアバンダンスが同等の場合は、共溶出する化合物の MRM 開発を行えます。共溶出するターゲット物質の MRM 開発を行う際には、追加注入が必要な場合もあります。この研究では、図 1B の化合物表に黄色強調表示で示すように、標準物質中の農薬のいくつかが共溶出していました。すべてのターゲット農薬のプロダクトイオンスキャンの完了までに 12 回の注入を行いました。1 化合物あたり 6 つのプリカーサイオンのスキャンのため 6 回、強調表示した共溶出する化合物のスキャンのためさらに 6 回でした。

プロダクトイオンの同定結果は図 4A に示し、プロダクトイオンスキャン表では、ペンタクロロニトロベンゼンを強調表示しています。このウィンドウの構成要素は次のとおりです。

- プロダクトイオンスキャン表。各行は、1 つのプリカーサイオンに対応しています
- 4 つの異なるコリジョンエネルギーで得られたプリカーサそれぞれのトータルイオンクロマトグラム (TIC) または抽出イオンクロマトグラム (EIC)
- 4 つの異なるコリジョンエネルギーで得られた、強調表示したプリカーサのプロダクトイオンスキャン質量スペクトル
- 強調表示したプリカーサに利用できるプロダクトイオンを示した表
- 選択したすべてのプロダクトイオンの概要

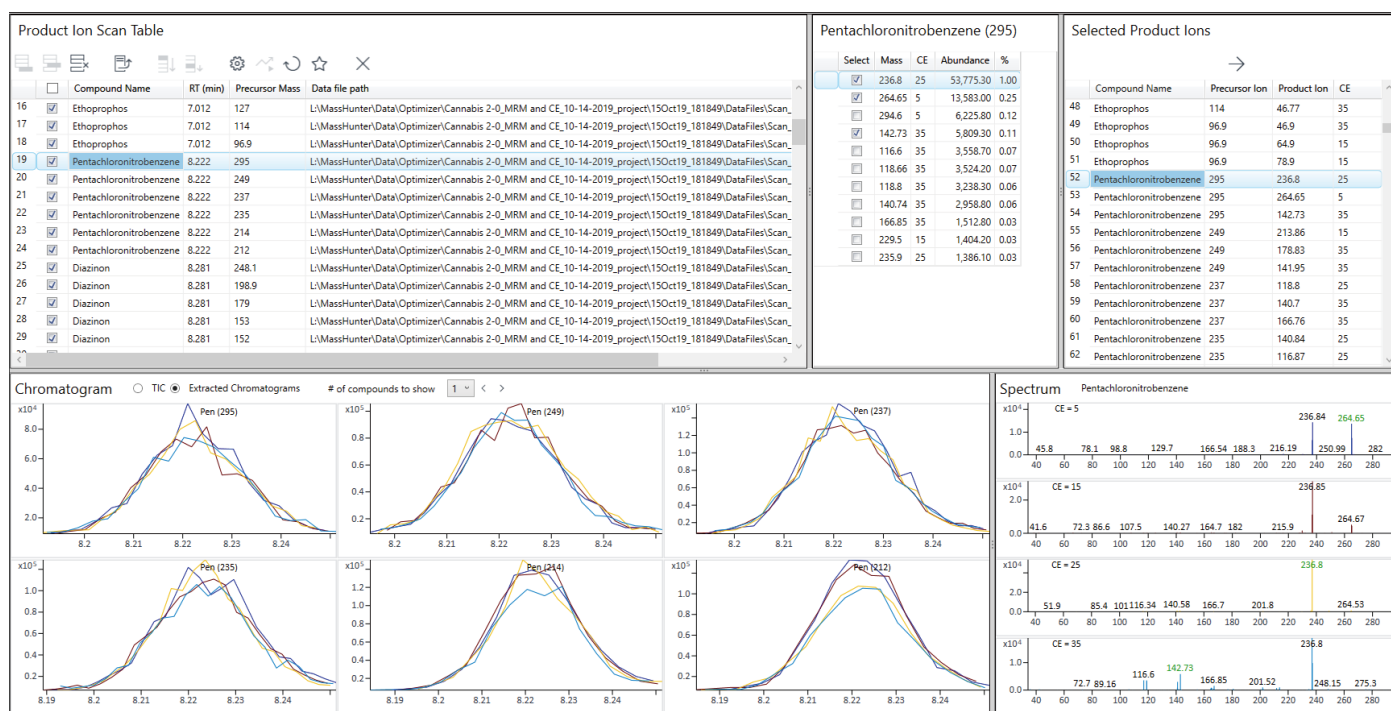
プロダクトイオン同定パラメータは、図 4B に示しています。プロダクトイオンの選択は、図 4A のペンタクロロニトロベンゼンのプリカーサ (m/z 295) の場合で示すように、アバンダンスに基づいています。プロダクトイオン同定ステップで手作業による確認を行う場合、ソフトウェアが推奨するプロダクトイオンは、選択したイオンのチェックを外すか、別の利用可能なイオンにチェックを入れることで上書きできます。

コリジョンエネルギーの最適化

コリジョンエネルギーは、前段階で選択した値に近い最適化または定義した範囲での最適化が可能です。この研究では、6 回の注入による 5 eV のステップサイズで、0 ~ 60 eV の範囲の 375 MRM トランジションに対して、コリジョンエネルギーを最適化しました。このステップでは、共溶出がない場合または共溶出する化合物を無視する場合には、注入を 6 回行う必要はなく、3 回で済みます。コリジョンエネルギーの最適化の結果は図 5A に示し、MRM トランジション表には、強調表示したペンタクロロニトロベンゼンの 295 & 236.8 トランジションを示しています。このウィンドウの構成要素は次のとおりです。

- MRM トランジション表。各行は、1 つの MRM トランジションに対応しています
- すべての試験済みコリジョンエネルギー値で得られた各トランジションの TIC または EIC
- MRM トランジションのアバンダンスとコリジョンエネルギーとを対比グラフで示した、イオンブレイクダウンプロファイル
- 強調表示した MRM トランジションのアバンダンスに対応するコリジョンエネルギー

A



B

Identify Precursor Ions **Identify Product Ions** **Optimize CEs** **RT Delta** **Miscellaneous**

Maximum number of product ions to be found

☒ Select ions with % abundance greater than

☐ Select ions with abundance greater than

Collision energy values (separate by commas)

☐ Profile data

Product ion scan low mass cutoff

☒ m/z values

☐ % mass (mz)

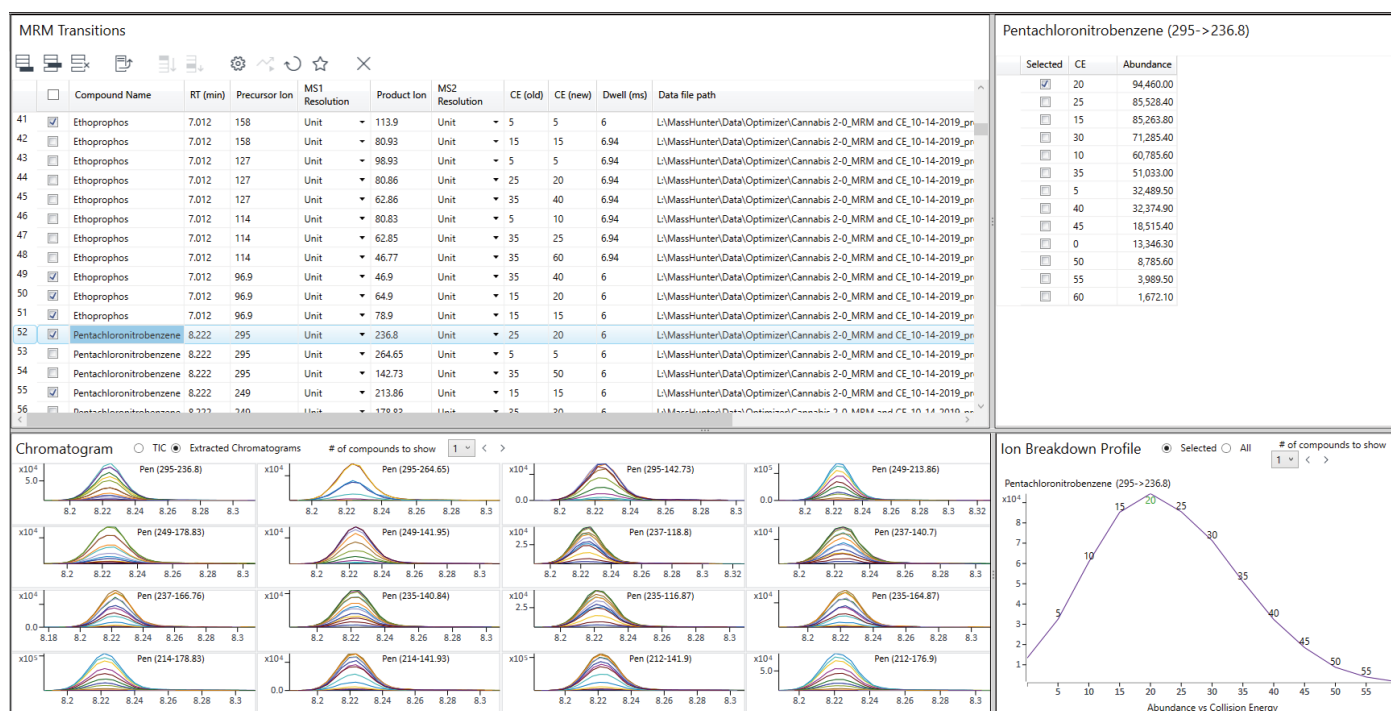
☒ Do not exclude masses

☐ Exclude masses

m/z values (separate by commas)

図 4. プロダクトイオンスキャン表 (A) で強調表示した、プリカーサ m/z 295 のペンタクロロニトロベンゼンのプロダクトイオン同定結果とプロダクトイオン同定パラメータ (B)

A



B

Identify Precursor Ions Identify Product Ions **Optimize CEs** RT Delta Miscellaneous

☐ Use MRM
☒ Use dMRM

Cycles per second

Min dwell (ms)

Collision energy values

☒ Range Step size (eV)

☐ +/- steps around current CE Step size (eV)

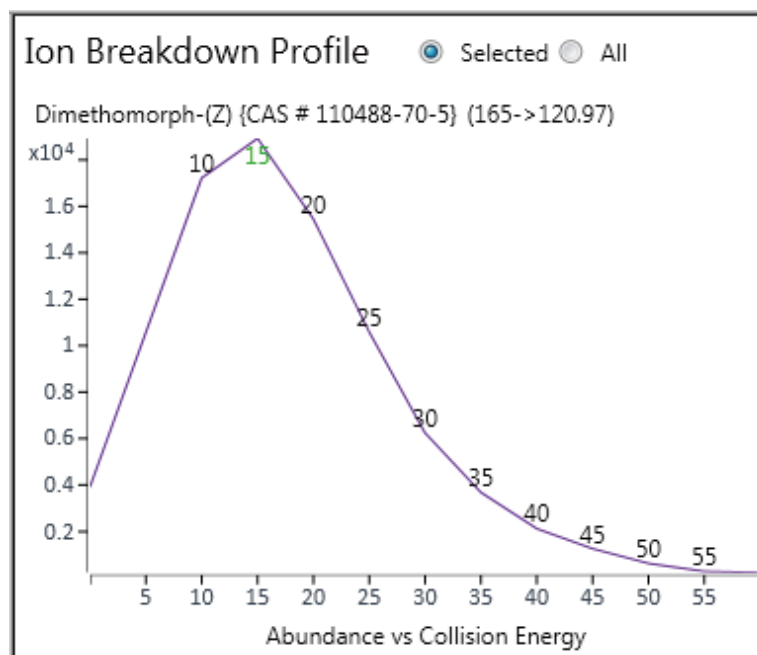
図 5. MRM トランジション表 (A) で強調表示されたペンタクロロニトロベンゼンの 295 & 236.8 トランジションでのコリジョンエネルギー最適化結果とコリジョンエネルギー最適化パラメータ (B)

乾燥大麻花抽出マトリックスでの コリジョンエネルギーの再最適化

マトリックスでのコリジョンエネルギーの再最適化はオプションです。このステップを行うことで、メソッドの選択性の向上につながります。この研究では、溶媒で開発した MRM トランジションのコリジョンエネルギーを、乾燥大麻花抽出マトリックスで再最適化しました。ターゲット化合物のほとんどで、マトリックスでの最適化コリジョンエネルギーは、溶媒で最適化したコリジョンエネルギーと同様の結果となりました。ジメトモルフの 165 & 121 トランジションの場合は、溶媒で最適化した値に比べてコリジョンエネルギーが高くなり（20 eV 対 15 eV）、大麻マトリックスでレスポンスの向上がもたらされることがわかりました（図 6）。さらに大麻マトリックスでは、より高い 25 eV というコリジョンエネルギーを、レスポンス損失がほとんどないままジメトモルフに利用できます。マトリックスによっては、より高いコリジョンエネルギーによって、S/N 比が改善する場合もありました。

大麻マトリックスによる干渉がなかった MRM トランジションは、最適化した MRM メソッドの最善の選択性確保のため、最終的に開発した取り込みメソッドに含めました。

A



B

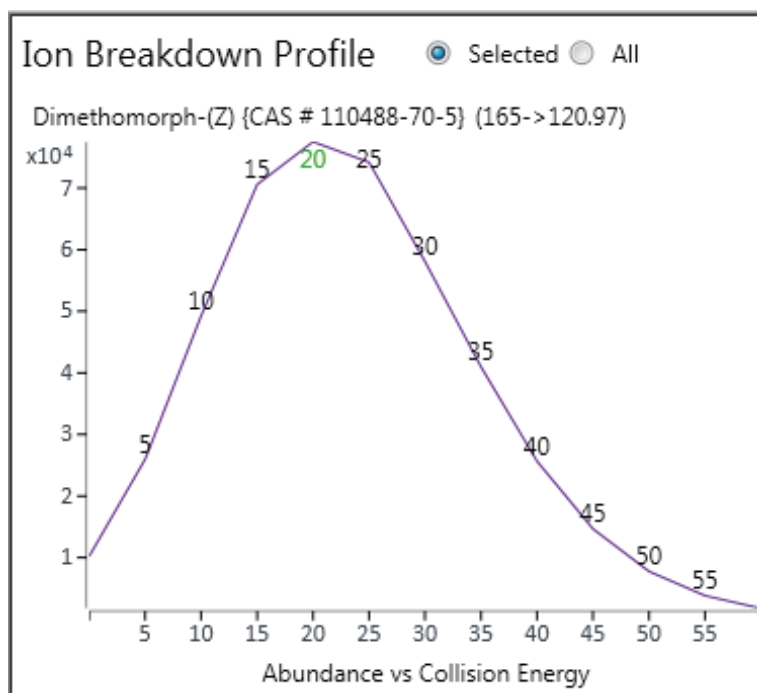


図 6. 溶媒 (B) および乾燥大麻花抽出 (B) でのジメトモルフの 165 & 121 MRM トランジションのイオンブレイクダウンプロファイル

結果の確認とメソッドの保存

コリジョンエネルギーの最適化完了後、結果を確認し、取り込みメソッドを保存しました。開発したすべてのトランジションに関する情報は、結果表の拡大図で確認できます（図 7A）。上位何位までの MRM トランジションを保存

するかは、[上位トランジション数の選択] で定義します。取り込みメソッドに含まれるのは、チェックを入れた MRM トランジションのみです。この研究では、大麻マトリックスで干渉のなかった、最もアバンドンスの高い 5 つのトランジションを選択しました。

メソッドのレビューの簡素化のため、結果表のネストしたビュー（図 7B）を利用できます。図 7C では、ペンタクロロロニトロベンゼンのネストした結果表の拡大図を示しています。

A

Optimized MRM Transitions

Select number of top ranked transitions5Left RT Delta (min)0.20Right RT delta (min)0.20Overwrite RT Delta

☐ Nested View

		Compound Name	RT (min)	Precursor Ion	MS1 Resolution	Product Ion	MS2 Resolution	CE	Abundance	%	CAS #	Formula	Molecular Weight	Left RT Delta (min)	Right RT delta (min)	Sample Position	Injection Volume (μL)
52	☒	Pentachloronitrobenzene	8.222	249	Unit	213.86	Unit	15	136,955.33	1.00	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1
53	☒	Pentachloronitrobenzene	8.222	212	Unit	141.9	Unit	40	112,122.61	0.82	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1
54	☒	Pentachloronitrobenzene	8.222	214	Unit	178.83	Unit	15	107,271.52	0.78	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1
55	☒	Pentachloronitrobenzene	8.222	212	Unit	176.9	Unit	15	94,933.50	0.69	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1
56	☒	Pentachloronitrobenzene	8.222	295	Unit	236.8	Unit	20	94,459.98	0.69	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1
57	☒	Pentachloronitrobenzene	8.222	249	Unit	141.95	Unit	60	71,838.80	0.52	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1
58	☐	Pentachloronitrobenzene	8.222	249	Unit	178.83	Unit	30	71,494.45	0.52	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1
59	☐	Pentachloronitrobenzene	8.222	214	Unit	141.93	Unit	40	65,750.40	0.48	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1
60	☐	Pentachloronitrobenzene	8.222	235	Unit	140.84	Unit	30	55,327.99	0.40	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1
61	☐	Pentachloronitrobenzene	8.222	237	Unit	118.8	Unit	30	48,606.93	0.35	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1
62	☐	Pentachloronitrobenzene	8.222	235	Unit	116.87	Unit	35	47,530.55	0.35	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1
63	☐	Pentachloronitrobenzene	8.222	237	Unit	166.76	Unit	40	32,421.70	0.24	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1
64	☐	Pentachloronitrobenzene	8.222	237	Unit	140.7	Unit	30	30,650.62	0.22	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1
65	☐	Pentachloronitrobenzene	8.222	235	Unit	164.87	Unit	40	30,475.77	0.22	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1
66	☐	Pentachloronitrobenzene	8.222	295	Unit	264.65	Unit	5	29,999.50	0.22	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1
67	☐	Pentachloronitrobenzene	8.222	295	Unit	142.73	Unit	50	14,185.30	0.10	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1

図 7A. MRM トランジション最適化結果の拡大図（A）

B

Optimized MRM Transitions

Select number of top ranked transitions5Left RT Delta (min)0.20Right RT delta (min)0.20Overwrite RT Delta

☒ Nested View

	Compound Name	RT (min)	Left RT Delta (min)	Right RT delta (min)	CAS #	Formula	Molecular Weight	Sample Position	Injection Volume (μL)
1	Novaluron	5.338	0.10	0.20	116714-46-6	C17H9ClF8N2O4	492	61	1
2	Etridiazole	5.833	0.10	0.19	2593-15-9	C5H5Cl3N2O5	246	61	1
3	Ethoprophos	7.012	0.10	0.32	13194-48-4	C8H19O2PS2	242	61	1
4	Pentachloronitrobenzene	8.222	0.10	0.25	82-68-8	C6Cl5NO2	293	61	1
5	Diazinon	8.281	0.10	0.21	333-41-5	C12H21N2O3PS	304	61	1
6	Methyl parathion	9.139	0.11	0.21	298-00-0	C8H10NO5PS	263	61	1
7	Metalaxyl	9.332	0.12	0.28	57837-19-1	C15H21NO4	279	61	1
8	Kinoprene	9.731	0.10	0.22	42588-37-4	C18H28O2	276	61	1
9	Fenthion	9.919	0.11	0.24	55-38-9	C10H15O3PS2	278	61	1
10	Chlorpyrifos	9.953	0.11	0.21	2921-88-2	C9H11Cl3NO3PS	349	61	1
11	MGK 264 (Synergist 264) (Pyrdone)	10.435	0.11	0.25	113-48-4	C17H25NO2	275	61	1
12	trans-Chlordane	11.036	0.12	0.13	5103-74-2	C10H6Cl8	406	61	1
13	Endosulfan (alpha isomer)	11.269	0.13	0.25	959-98-8	C9H6Cl6O3S	404	61	1
14	cis-Chlordane	11.299	0.18	0.16	5103-71-9	C10H6Cl8	406	61	1
15	Kresoxim-methyl	11.821	0.11	0.25	143390-89-0	C18H19NO4	313	61	1
16	Chlorfenapyr	12.051	0.11	0.14	122453-73-0	C15H11BrClF3N2O	406	61	1
17	Endosulfan (beta isomer)	12.280	0.12	0.27	33213-65-9	C9H6Cl6O3S	404	61	1
18	Piperonyl butoxide	13.386	0.12	0.24	51-03-6	C19H30O5	338	61	1
19	Bifenthrin	13.931	0.12	0.25	82657-04-3	C23H22ClF3O2	422	61	1
20	Bifenazate	13.964	0.21	0.26	149877-41-8	C17H20N2O3	300	61	1
21	(1R)-cis-Permethrin	15.632	0.12	0.19	54774-46-8	C21H20Cl2O3	390	61	1
22	(1R)-trans-Permethrin	15.751	0.11	0.24	61949-77-7	C21H20Cl2O3	390	61	1
23	Pyridaben	15.787	0.11	0.21	96489-71-3	C19H25ClN2OS	364	61	1
24	Boscalid (Nicobifen)	16.610	0.13	0.23	188425-85-6	C18H12Cl2N2O	342	61	1
25	Dimethomorph-(Z) (CAS # 110488-70-5)	18.495	0.15	0.22	999012-03-2	C21H22ClNO4	387	61	1

図 7B. MRM トランジション最適化結果のネストしたビュー

開発した MRM 取り込みメソッドは、タイムセグメント MRM メソッドまたは dMRM メソッドとして保存できます (図 8)。後者で保存した場合、最少ドウェルタイムと 1 秒あたりのサイクル数をユーザーが定義できます。開発したトランジションは、適切にフォーマットした .CSV ファイルとしてエクスポートすることも可能です。

開発と最適化を行った MRM 取り込みメソッドは、難しいとされる大麻マトリックス中の微量濃度の農薬の定量分析に効果的に利用でき、その結果については、別の研究で紹介されています。³

結論

高度に自動化されたMRM 取り込みの最適化ツールである GC/TQ 用 MassHunter Optimizer を使用して、大麻で規制されている 25 種類の対象農薬それぞれに対して、最大 18 のトランジションを効率的に開発しました。[スキャンデータから開始] のワークフローを、プリカーサ同定ステップの手作業による確認と共に使用しました。残りの最適化ステップは自動化しました。コリジョンエネルギーは、メソッドの選択性向上のため、乾燥大麻花マトリックスで再最適化しました。最適化された結果は、タイムセグメント MRM メソッドまたは dMRM メソッドとして保存しました。

C

4	Pentachloronitrobenzene	8.222	0.10	0.25	82-68-8	C6Cl5NO2	293
	Precursor Ion	Abundance					
	295.00	700,222.00					
	Product Ion	Abundance	%	CE			
	236.80	94,459.98	1.00	20.00			
	264.65	29,999.50	0.32	5.00			
	142.73	14,185.30	0.15	50.00			
	249.00	1,198,112.00					
	237.00	2,193,355.00					
	235.00	1,485,550.00					
	214.00	1,639,871.00					
	212.00	1,263,132.00					

図 7C. ペンタクロロニトロベンゼンの結果を拡大した、MRM トランジション最適化結果のネストしたビュー

Create Method

Cycles per second5

Min dwell (ms)10

Method folderC:\Users\andriano\Documents\MassHunter\GCMS\1\metBrowse...

Method nameMRM_Twenty-five Pesticides_Cannabis

Create MRM methodCreate dMRM methodClose

図 8. GC/TQ 用 Agilent MassHunter Optimizer によるメソッドの作成

参考文献

1. Bureau of Cannabis Control Text of Regulations. California Code of Regulations Title 16 Division 42. Bureau of Cannabis Control. Retrieved October 14, 2019. https://www.bcc.ca.gov/law_regs/cannabis_order_of_adoption.pdf. Accessed in February **2020**.
2. Mandatory Cannabis Testing for Pesticides Active Ingredients - List and Limits. Health Canada, Government of Canada. Publication Date: August 29, **2019**. Effective Date December 2, 2019. ISBN: 978-0-660-32253-7.
3. Andrianova A., et al. Analysis of Twenty-Seven GC-Amenable Pesticides Regulated in the Cannabis Industry in North America with the Agilent 8890/7010B Triple Quadrupole GC/MS System. Agilent Technologies application note, publication number 5994-1786EN, **2020**.

アジレントの製品および溶液は、大麻の品質管理および安全性試験を目的とした、州および国の法律で許可されているラボでの使用を想定しています。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタ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. 2020
Printed in Japan, June 22, 2020
5994-2087JAJP
DE.543634259