

質量分析計のインテリジェンス機能の向上





概要

世界的に、分析を簡単にするインテリジェントな自己診断ツールが求められています。液体クロマトグラフィー / 質量分析法の分野も同様に、困難な作業を自動化して質量分析をより使いやすくしようとする動きがあります。これにより、機器の稼働時間を増大させ、ワークフローを効率化し、短時間で迅速に検証結果を得て、最終的に所有コストの削減をもたらします。

このポスターコレクションでは、アジレントの LC/MS 機器ポートフォリオの次の進化の詳細をご紹介します。新製品の Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS システム には、ルーチン分析向けの使いやすさに加えて、非常に高度なインテリジェンス機能が搭載されています。ここでは、この新しいインテリジェンス機能がどのようにして分析性能とラボの生産性を向上させ、毎日の作業に安心感を与えるのかについて実証します。

目次

自動化が進んだ Optimizer を用いた 迅速なメソッド開発 **3**

LC/MS/MS のメソッド開発、最適化、および QA/QC をカバーするソフトウェアアルゴリズム

サンプルを驚異的なスピードで処理し、 信頼性の高い結果を提供 **7**

トリプル四重極 LC/MS 分析で、より多くの検体数を、より短い時間で、かつ一貫性をもって処理するために有効な全自動再注入ロジック

ダウンタイムが予測される状況での 稼働時間の最大化 **11**

Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS システムの予防保全機能（アーリーメンテナンスフィードバック：EMF）診断モニタリングによるリアルタイムの装置状況確認

より自動化が進んだ Optimizer を 用いた迅速なメソッド開発



LC/MS/MS メソッド開発、最適化、および QA/QC をカバーするソフトウェアアルゴリズム

著者：Anding Fan, Vicky He, James Pyke, Erik Lopez, Stephanie Aurand,
Linfeng Wu, Patrick M. Batoon

はじめに

ターゲットトリプル四重極 LC/MS (LC/TQ) のメソッド全体を開発は、複雑で時間のかかる多段階のワークフローです。特に新規化合物のような従来の質量分析パラメータが規定されていない場合、メソッド開発はより困難になります。このような場合、最も効果的な MRM パラメータを得るためには、「手動による」最適化と特性解析が必要になります。

新製品 Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS システムと MassHunter 12 を使用してインテリジェントなワークフローを追加することにより、特にルーチン分析の QA/QC ラボ環境において、運用効率を確実に最大化することができます。LC/MS/MS 分析の効率向上の1 つに、メソッドの最適化の支援と自動化があります。MassHunter 12 には、21CFR

に適合したメソッド指向のインテリジェントな Optimizer が内蔵されています。これにより、全自動または半自動で MRM およびイオン源パラメータを最適化できます。

モジュール方式の積み上げ型のワークフローアプローチを使用して化学式の情報を入力することにより、(1) 化合物ごとに MRM トランジションが最適化され、(2) メソッド全体で最適なイオン源パラメータが得られます。このアルゴリズム独自の機能として、LC/TQ のスピードを活用してメソッドごとに複数の化合物を同時に最適化できる機能があり、これにより化合物ごとのアプローチと比較して、ルーチン分析を行うまでのメソッド開発時間が大幅に削減されます。

実験方法

LC/MS 7 成分システム適合性標準（塩酸アミトリプチリン、フタル酸ジエチル、フタル酸ジアミル、フタル酸ジヘキシル、フタル酸ジオクチル、8-ブロモグアノシン水和物、および 4-クロロケイ皮酸）中に存在する中性物質の化学式を、メソッド開発インタフェースに入力して、可能性のある $[M+H]^+$ または $[M-H]^-$ プリカーサイオンを自動的に計算しました。

最適化ワークフローを 2 つの主要な段階によって自動で実行しました。まず、MRM の最適化では、プリカーサイオンを最大化するためのフラグメンタ電圧、保持時間の設定（オプション）、プロダクトイオン選択、および MRM コリジョンエネルギー電圧の設定を行いました。次に、イオン源パラメータの最適化として、乾燥ガスヒーター温度、ソースガスヒーター温度、キャピラリ電圧、ネブライザ圧力、乾燥ガス流量、ソースガス流量、およびノズル電圧の設定を行いました。

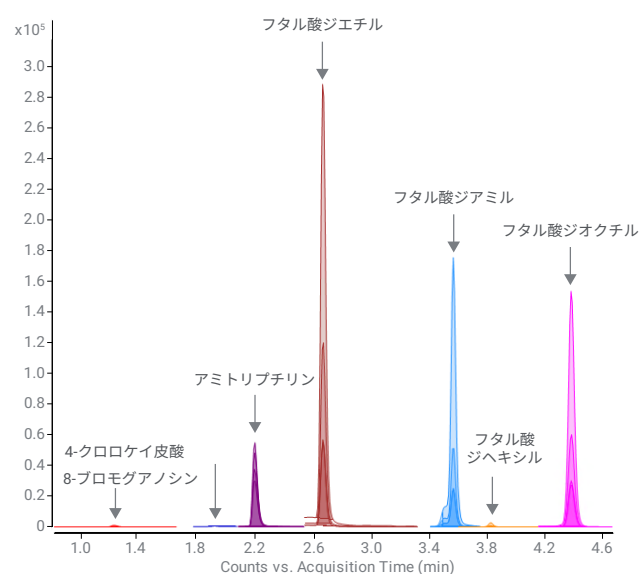
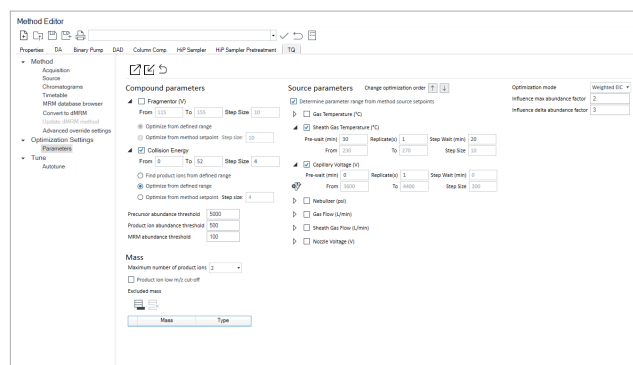


図 1：完全に最適化された 7 成分標準混合物のクロマトグラム

MassHunter 12 のインテリジェントな Optimizer を使用することにより、包括的なメソッド開発およびパラメータのバリデーションが実施できます。

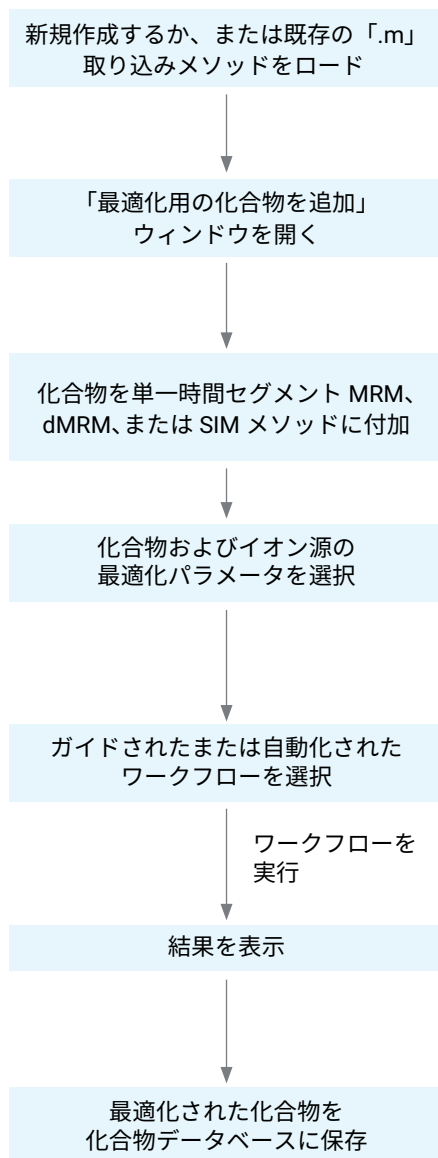


結果と考察

積み上げ型の最適化ワークフロー

新しいインテリジェントな最適化ソフトウェアアルゴリズムにより、メソッド開発における手間のかかる作業に対して包括的で使いやすいワークフローアプローチを提供します。このアプローチにより中性物質の化学式を入力して、CSV から既存の MRM リストをインポートし、既存のメソッドに同定されていない成分を追加するか、または既存の MRM またはイオン源パラメータを微調整することにより、新しいメソッドを作成できます。

メソッドエディタの「最適化パラメータ」ページで、カスタマイズ可能なユーザー入力範囲とステップサイズにより、最適化する化合物とイオン源パラメータを選択します。最適化ワークフローの例を下の図に示します。



MassHunter 12 で新規または既存のメソッドを開き、「最適化用の化合物を追加」を選択して、対象となる追加の化合物およびそのターゲット添加物を追加します

特定の化合物のパラメータを選択して、定義した範囲とステップサイズにより最適化できます

Compound parameters

- ☒ Fragmentor (V)
 - From: 50 To: 200 Step Size: 10
 - ☐ Optimize from defined range
 - ☐ Optimize from method setpoint Step size: 10
- ☒ Collision Energy
 - From: 0 To: 80 Step Size: 4
 - ☐ Find product ions from defined range
 - ☐ Optimize from defined range
 - ☐ Optimize from method setpoint Step size: 4

Source parameters

- ☒ Determine parameter range from method source setpoints
 - ☒ Gas Temperature (°C)
 - ☒ Gas Flow (L/min)
 - ☒ Sheath Gas Temperature (°C)
 - ☒ Sheath Gas Flow (L/min)
 - ☒ Capillary Voltage (V)
 - ☐ Nebulizer (psi)
 - ☒ Nozzle Voltage (V)

What type of optimization do you wish to perform?

Select one of the optimization modes

Guided Method Optimization:

The user is guided through a series of steps to optimize a method. A systematic pause for user input and data review is required between each major phase of the optimization.

- Creates the most suitable MRM transitions from a list of chemical formulas or precursor ions
- Optimizes and fine-tunes MRM specific parameters
- Optimizes and fine-tunes ion source and front-end ion optics parameters
- Optionally updates compound and method database

Fully Automated Method Optimization:

Optimization is carried out in a fully automated manner. All user input for each phase is defined prior to the start of the optimization. Data review is only available once the optimization has completed.

- Creates the most suitable MRM transitions from a list of chemical formulas or precursor ions
- Optimizes and fine-tunes MRM specific parameters
- Optimizes and fine-tunes ion source and front-end ion optics parameters
- Optionally updates compound and method database

最適化を実行するための詳細な説明が記載された 2 つの選択肢が提示されます

結果はパラメータ調整の影響を示すために探索的な UI および PDF レポートに表示します。イオン源パラメータでは、より重要な成分を強調するために適用される「重み付け」を使用できます

Capillary (V)

Compound Name: (S)-Methadone_4.28

Fragmentor (V) Profile

CE (V) Profile

Prod Ion Spectrum

図 2：設定から結果を得るまでのメソッド Optimizer のユーザーインターフェースのスクリーンショット。

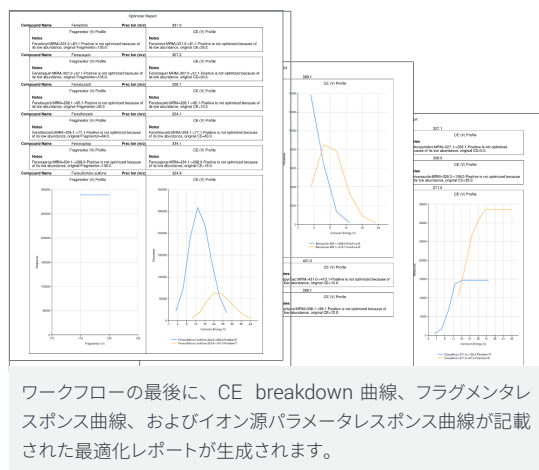
結果と考察

ガイドされた最適化ワークフロー

このワークフローにより、最適化を 2 つの主要なステップで実行しています。

1. MRM 固有のパラメータを最適化して、成分ごとに最適なプロダクトイオン、フラグメント電圧、コリジョンエネルギー電圧、およびリテンションタイムの割り当て（カラムによる注入に適用）を見つけます。次にワークフローは、一時停止して各化合物に関連するデータの品質を確認します。
2. 準備が完了したら、イオン源パラメータを「全体的に」最適化し、トータルイオンカレントクロマトグラムを最大化する（重み付けなし - TIC ベースの最適化）か、または優先する成分に重み付けを適用（重み付けあり - EIC ベースの最適化）して、トータルイオンカレントクロマトグラムを最大化します。

最適化プロセス全体で段階的にメソッドを更新して、最終メソッドを作成します。化合物データベースにトランジションを保存して、後で他のメソッドに適用できます。



最適化された化合物は即座に化合物の MRM リポジトリに追加されるため、将来のメソッドを短時間で効率的に構築できます。

Compound Name	CAS	Formula	Nominal Mass	Ion Species	Precursor	Product	Primary	Trigger	Polarity	Fragmentor	CE	Cell accelerator voltage (V)	RT (min)	RT Window (min)	Abundance	%
Ediphenphos, 9,12	17109-49-8	C14H15O2P2	310	(M+H)+	311	209	☑	☑	Positive	90	24	5	9,529	0.95	17695.21	
Ediphenphos, 9,12	17109-49-8	C14H15O2P2	310	(M+H)+	311	2369	☑	☑	Positive	90	16	5	9,529	0.95	16488.83	
Ediphenphos, 9,12	17109-49-8	C14H15O2P2	310	(M+H)+	311	571	☑	☑	Positive	90	44	5	9,529	0.95	7276.68	
Ediphenphos, 9,12	17109-49-8	C14H15O2P2	310	(M+H)+	311	111	☑	☑	Positive	90	36	5	9,529	0.95	2842.04	
Ediphenphos, 10,70	17109-49-8	C14H15O2P2	310	(M+H)+	311	109	☑	☑	Positive	90	40	5	10,702	1.07	26578.45	
Ediphenphos, 10,70	17109-49-8	C14H15O2P2	310	(M+H)+	311	1109	☑	☑	Positive	90	24	5	10,702	1.07	21216.43	
Ediphenphos, 10,70	17109-49-8	C14H15O2P2	310	(M+H)+	311	77	☑	☑	Positive	90	56	5	10,702	1.07	16395.75	
Ediphenphos, 10,70	17109-49-8	C14H15O2P2	310	(M+H)+	311	65.1	☑	☑	Positive	90	80	5	10,702	1.07	15736.15	
Bromoxynil (Brominal)	1689-84-5	C7H8BrNO2	274.9	(M+H)+	275.9	234	☑	☑	Positive	100	16	5	9,006	0.9	5178.98	
Bromoxynil (Brominal)	1689-84-5	C7H8BrNO2	274.9	(M+H)+	275.9	57.2	☑	☑	Positive	100	36	5	9,006	0.9	2222.52	
Bromoxynil (Brominal)	1689-84-5	C7H8BrNO2	274.9	(M+H)+	275.9	233.2	☑	☑	Positive	100	20	5	9,006	0.9	940.1	
Bromoxynil (Brominal)	1689-84-5	C7H8BrNO2	274.9	(M+H)+	275.9	76.8	☑	☑	Positive	100	30	5	9,006	0.9	171	
Etoazole	153233-91-1	C21H23F2N2O2	359.2	(M+H)+	360.2	140.9	☑	☑	Positive	90	36	5	12,793	1.28	86572.08	
Etoazole	153233-91-1	C21H23F2N2O2	359.2	(M+H)+	360.2	112.9	☑	☑	Positive	90	72	5	12,793	1.28	18957.01	
Etoazole	153233-91-1	C21H23F2N2O2	359.2	(M+H)+	360.2	63.1	☑	☑	Positive	90	80	5	12,793	1.28	23170.94	
Etoazole	153233-91-1	C21H23F2N2O2	359.2	(M+H)+	360.2	354.1	☑	☑	Positive	90	20	5	12,793	1.28	19670.16	

図 3：最終的な結果は最適化レポートに出力され、メソッドリビジョンとして格納されて、化合物のリポジトリに保存されます。

結論

新製品の Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS システムと MassHunter 12 によるシステムには、メソッドエディタに組み込まれているインテリジェントな MRM およびイオン源 Optimizer が搭載されています。最終的な結果は、完全に最適化されたパラメータ、MRM トランジション、およびリテンションタイムの割り当てを含む dMRM メソッドになります。

インテリジェントな Optimizer を使用することにより、(1) 新規メソッドの作成、(2) 既存のメソッドへの新しい化合物の追加、(3) 既存のメソッドのパラメータの微調整または検証を実行できます。

最適化した結果は、ワークフローの完了後に確認できます。メソッドに加えられた変更はすべて、21 CFR Part 11 コンプライアンスに従って、監査可能な形式で保存されます。

サンプルを驚異的なスピードで処理し、
信頼性の高い結果を提供



トリプル四重極 LC/MS 分析で、より多くの検体数を、
より短い時間で、かつ一貫性をもって処理するために
有効な全自動再注入ロジック

著者：Disha Shah, Emma E. Rennie, Lauren Seymour, Madhusudan Sharma,
James S. Pyke, and Patrick Batoon

はじめに

多くのトリプル四重極 LC/MS は、大量のバッチサンプルを連続してターゲット化合物を定量分析するワークフローで使用されます。例えば、医薬品中の汚染物の QA/QC サンプルの連続測定、食品中の農薬および動物用医薬品の検出、または大きな集団の生体物質の測定などがあります。アプリケーションに関係なく、一貫性のある結果、高いサンプルスループット、およびサンプル再測定の削減が強く求められています。

高い品質のデータ測定およびハイスループットの測定のために、Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS システムと MassHunter 12 を組み合わせたシステムでは、Intelligent Reflex と呼ばれるインテリジェントなワークリスト再注入ロジック機能が搭載されています。

ここでは、有効で迅速なデータ処理アルゴリズムを利用する手法について説明します。このアルゴリズムでは、Intelligent Reflex シナリオによって、データ依存型の方法でサンプルを評価して、必要であれば再注入します。

1. 直前のサンプルのキャリーオーバーの検出
2. キャリブレーション範囲外でのサンプルの検出
3. 高速な成分スクリーニング

実験方法

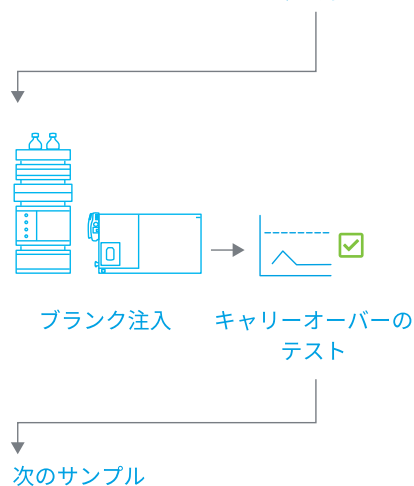
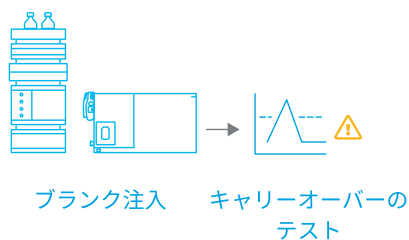
Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS システム (G6475A) および MassHunter 12 ソフトウェアシステムを Infinity II 1290 HPLC システムと組み合わせて、測定しました。

MassHunter 12 には新しい Intelligent Reflex ワークフローが搭載されており、データ依存型の方法でサンプルまたはブランクを自動的に追加することができます。イオンを MRM モードで取り込んで、測定しました。ストレステストと3つの Intelligent Reflex ワークフローのデータ依存型ロジックの確認のために、ブランク、サンプル、および標準溶液が含まれるワークリストを作成しました。

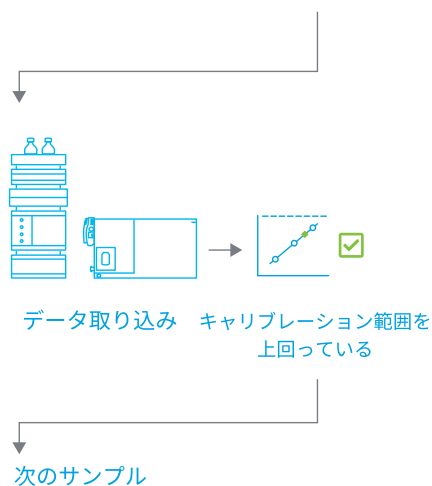
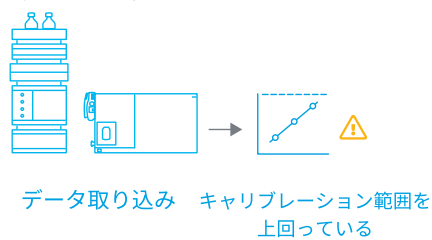
ワークフローごとの定量分析メソッドを作成し、2次注入が引き起こされるような濃度閾値を設定しています。データ解析メソッドの外れ値セクションではサンプルまたはブランクの現在のアバンダンスまたは濃度測定に基づいて Intelligent Reflex 再注入コマンドをロジック条件として定義しています。

ワークフローロジックを実証するためのワークリストを作成するために、データ測定およびデータ解析 (Intelligent Reflex パラメータを含む) を統合したメソッドを作成しました。ロジックコマンドが作動すると、ワークリストへ新規の注入がワークリストに付加または挿入され、次のサンプル測定の条件に適合するまで繰り返されます。

直前のサンプルのキャリーオーバーですか？



キャリブレーション範囲を上回っているサンプルですか？



高速スクリーニング

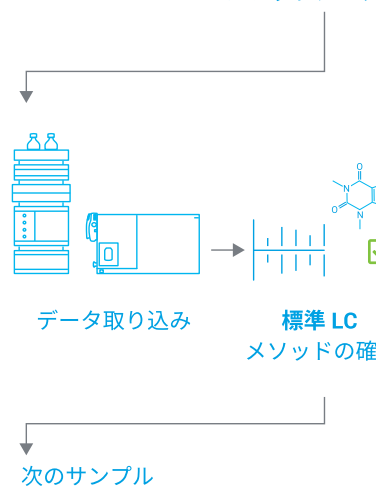
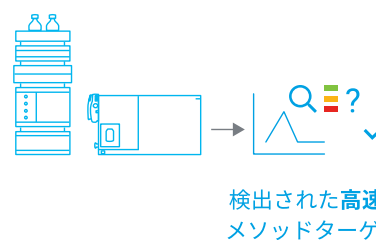


図 1 : Intelligent Reflex ワークフローロジック

結果と考察

Intelligent Reflex ワークフロー

MassHunter 12 の Intelligent Reflex ワークフローでは、実行中のワークリスト内のブランクおよびサンプルをデータ依存型の方法で評価して再注入します。Intelligent Reflex ワークフローには、次の機能が備えられています。

- 自動化による大量のバッチサンプル分析のスループット向上
- 手動操作やサンプル再処理の削減によるラボの生産性向上
- キャリアオーバーによるバッチ分析の汚染を自動的に検出し、再分析を減らすことによる貴重なサンプル量の節約
- 統合されたレポートの自動生成

キャリアオーバーに対応する Intelligent Reflex ワークフロー

サンプルのキャリアオーバーまたは汚染はよく発生する問題であり、不十分な洗浄、洗浄したバイアルの汚染、またはカラム上へのサンプルのオーバーロードによって引き起こされる場合があります。ブランク中で外れ値の閾値を上回るキャリアオーバーが検出されると、ワーク

フローが起動して最大 n 個のブランクが挿入されます。サンプルの汚染を防止する追加のオプションとして、ユーザーが定義する最大 n の上限に達した場合にワークリストを一時停止させることも可能です。

キャリブレーション範囲を上回る場合の Intelligent Reflex ワークフロー

分析対象成分を定量する際には、ターゲット化合物の濃度を検量線の範囲内に収めることが重要になります。分析対象物が定量上限 (ULOQ) を上回った場合、サンプルを希釈するかまたは注入量を削減して、濃度を定量限度内に収める必要があります。

キャリブレーション範囲を上回る濃度域でサンプル中の成分が検出されると、注入量を削減して再注入を行う測定をワークリストに挿入/追加するロジックが作動して、推定濃度で再測定が行えます。図 3 に、分析対象物がデータ解析メソッドで設定されたキャリブレーション範囲を上回っているとして検出された際のワークリストを示します。サンプル再注入の前に追加のブランクが自動的に付加され、キャリアオーバーがない状態を確保します。再注入されたサンプルごとに、削減された注入量がワークリストに表示されます。

	Status	Method	Data File	Sample Type	iReflex Type
1	Completed	ESDemo_MRM method.m	Blank_1.d	Blank	Carryover
2	Completed iReflex	ESDemo_MRM method.m	Blank_1-CarryoverBlank-001.d	Blank	Carryover
3	Completed	ESDemo_MRM method.m	Sample_1.d	Sample	No iReflex Workflow
4	Completed	ESDemo_MRM method.m	Sample_2.d	Sample	No iReflex Workflow
5	Completed	ESDemo_MRM method.m	Blank_2.d	Blank	Carryover
6	Completed iReflex	ESDemo_MRM method.m	Blank_2-CarryoverBlank-001.d	Blank	Carryover
7	Completed iReflex	ESDemo_MRM method.m	Blank_2-CarryoverBlank-002.d	Blank	Carryover
8	Completed	ESDemo_MRM method.m	Sample_3.d	Sample	No iReflex Workflow

図 2：測定中の分析でキャリアオーバーが検出された際のブランクの挿入

	Status	Method	Data File	Sample Type	Inj Vol (μl)	iReflex Type	iReflex Acq. Method	Red. Inj. Vol.
1	Completed	Above cal range.m	Blank_before run.d	Blank	As Method	No iReflex Workflow	Above cal range.m	
2	Completed	Above cal range.m	QC_before run.d	QC	As Method			
3	Completed	Above cal range.m	sample outside cal range_5.d	Sample	3	Above Cal. Range Append	Above cal range.m	0.5
4	Completed	Above cal range.m	sample inside cal range_5.d	Sample	1	Above Cal. Range Append	Above cal range.m	0.5
5	Completed iReflex	Above cal range.m	sample outside cal range_5-Fi-Blank.d	Blank	As Method	No iReflex Workflow		
6	Completed iReflex	Above cal range.m	sample outside cal range_5-iReflex.d	Sample	0.5	No iReflex Workflow		削減されたサンプル量による再注入

図 3：元の測定で ULOQ を上回っているために追加される、低い注入量での再注入

結果と考察

高速スクリーニングに対する Intelligent Reflex ワークフロー

高速スクリーニングメソッドは、サンプルスループットを向上させるために広く使用されています。これらのメソッドは、数秒～数分というオーダーの短時間で推定陽性のサンプルを測定します。スクリーニングメソッドで検出されたサンプルは手動で再注入がスケジューリングされ、確認メソッド（長時間）で分析されます。このような推定陽性サンプルの確認と再注入を自動化することは、多くのターゲット化合物、多くのサンプルをハイスループットで分析できるようにする際に重要になります。

このワークフローでは、高速スクリーニングメソッドで推定陽性の化合物を検出すると、ターゲット確認のための確認分析メソッド測定のための再注入がワークリストへ挿入または付加されます。同じ LC メソッドを用いた確認メソッドでは挿入の処理が使用されますが、確認で異なる LC メソッドやカラムが使用される際にはワークリストへ付加処理が使用されます。挿入処理を選択した場合は、サンプルの前後にブランクが自動的に挿入されます。

高速スクリーニングに対する Intelligent Reflex ワークフローでは、2 つの異なるデータバッチが生成されます。1 番目の層は、高速スクリーニングメソッドを含む元のワークリストで構成されています。2 番目の層バッチは、長時間の包括的な別の確認メソッドにより測定された再注入のサンプルで構成されています。追加のオプションでは、これらのワークフローをそれぞれの独自の分析およびラボの SOP に合わせて調整することができます。

- 1 番目および 2 番目の層バッチ分析から作成された複合レポートの自動作成
- 追加された 2 番目のすべての層サンプルの前、または 2 番目の最初の層サンプルの前のみへブランクの追加
- n 個の再注入がワークリストに付加された後に QC を追加
- 1 番目の層の分析が完了して手動による検証が実施された後にワークリストを一時停止

	Status	Method	Data File	Sample Type	iReflex Type	iReflex Acq. Method	Red. Inj. Vol.	First Tier Quant Method	Second Tier Quant Method
1	Completed	FS1.m	BlankData_B1.d	Blank	No iReflex Workflow	FS3.m		Quant FS method 1.m	Quant FS method tier2.m
2	Completed	FS1.m	QCData_Q1.d	QC					
3	Completed	FS1.m	Sampledata_S1.d	Sample	Fast Screening Insert	FS3.m		Quant FS method 1.m	Quant FS method tier2.m
4	Completed	FS1.m	Sampledata_S2.d	Sample	Fast Screening Insert	FS3.m		Quant FS method 1.m	Quant FS method tier2.m
5	Completed iReflex	FS3.m	Sampledata_S2-iReflex-Blank.d	Blank	No iReflex Workflow				D:\Projects\Secondary injection\Methods\Quant FS method tier2.m
6	Completed iReflex	FS3.m	Sampledata_S2-iReflex.d	Sample	No iReflex Workflow				D:\Projects\Secondary injection\Methods\Quant FS method tier2.m
7	Completed iReflex	FS1.m	Sampledata_S2-Fi-Blank.d	Blank	No iReflex Workflow				D:\Projects\Secondary injection\Methods\Quant FS method tier2.m
8	Completed	FS1.m	Sampledata_S3.d	Sample	Fast Screening Insert	FS3.m		Quant FS method 1.m	Quant FS method tier2.m
9	Completed	FS1.m	BlankData_B2.d	Blank	No iReflex Workflow	FS3.m		Quant FS method 1.m	Quant FS method tier2.m

図 4：ワークリストは推定陽性の検出後、自動的に確認メソッドを挿入します。

新製品 Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS システム



結論

Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS と MassHunter 12 によるシステムには、Intelligent Reflex と呼ばれるインテリジェントなワークフローが搭載されています。

Intelligent Reflex はインテリジェントな自動化ワークリスト再注入ロジックツールであり、分析のスループットを最大化したり、サンプルが確実に許容範囲内に収まるようなワークフローを提供します。

3 つの Intelligent Reflex ワークフローは、サンプルを SOP のガイドライン内で測定するために、同一のワークリストで同時に動作します。

explore.agilent.com/asms

ダウンタイムが予測される状況での稼働時間の最大化



Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS システムの予防保全機能（アーリーメンテナンスフィードバック：EMF）診断モニタリングによるリアルタイムの装置状況確認

著者：Michael B. Pastor, Ryan Rademacher, Patrick M. Batoon

はじめに

トリプル四重極 LC/MS システムは、日々の大量のバッチサンプルのターゲット分析で広く採用されています。ルーチン/ターゲット分析の第一の課題は機器の安定性です。安定性は主要なイオン光学系部品の汚染により、時間の経過とともに変動することがあります。内部標準測定を組み込んでアバundance比を測定することで、データ解析でシグナル変動の補正をすることが有効な場合もありますが、機器の状態を示すわけではありません。

新製品Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS システムには、インテリジェンス機能を搭載するように設計されました。アーリーメンテナンスフィードバック（EMF）によって、機器の状態やステータスを積極的にモニターし、機器の状態や寿命に関する問題を軽減することができます。

EMF は、機器のメンテナンスに関連するさまざまな項目を報告します。例えば、「最後に行ったチューニング」、注入されたサンプルの数、ダイバートバルブの切り替え数、最後のロータリーポンプオイルの交換時期、最後のガスフィルタの交換、検出器の状態に関するリアルタイムのレポート、ネプライザの詰まり、イオンインジェクタの詰まり、スプレアの安定状態などです。

ここでは、アーリーメンテナンスフィードバック（EMF）イベントをトリガーさせて、ウシの尿をスパイクした高マトリクスサンプルを 10,000 回注入するという、機器にとって過酷な状態をシミュレートして EMF がどのように動作するかを説明します。今回のサンプルマトリクスは、測定で問題を引き起こす可能性のある分析困難な内因性成分（塩、代謝物、脂肪、タンパク質など）という観点から厳選して選択しました。

これは本来の分析メソッドではなく、このポスターの目的として EMF のメカニズムにストレスをかけ流すことを意図しています。すなわち、高濃度のマトリクスの累積に対する機器のレスポンス、チューニングパラメータの安定性、およびチューニングの範囲外になった場合に、機器のチューニングの回復を確認することです。

実験方法

ウシの尿をアセトニトリル/水中で 1:1 に希釈し、90:10 のアセトニトリル/水のイソクラティック流量 + 0.1 % のギ酸によるオーバーラップ注入モードでデュアルインジェクタ設定を使用した Infinity II 1290 HPLC によりシステムに移送しました。

安定した HPLC の操作に十分な背圧と、HPLC 分析カラムの使用状態をシミュレートするために、図 1 に示すように、ZORBAX Extend-C18、80 Å、2.1 mm、1.8 µm、120 MPa の圧力上限、UHPLC ガードカラムを使用しました (821725-107)。



図 1 : ZORBAX Extend-C18、80 Å、2.1 mm、1.8 µm、120 MPa の圧力上限、UHPLC ガードカラムをネブライザに直接付加して、サンプルがクロマトグラフィーカラムを通過する状態をシミュレートしました。

さまざまな成分の MRM シグナルを記録して、イオンが検出されることを確認しました。この電流は、エレクトロンマルチプライアホーンを通常の動作時と同じように「エージングする」機能がありました。

アーリーメンテナンスフィードバック (EMF) により、機器の状態をリアルタイムでモニタリングしました。システムのファームウェアには EMF インテリジェンス機能が組み込まれており、イオンインジェクタの詰まり、ネブライザへの沈殿物、検出器の推定寿命など、イオンが通る経路の重要なポイントをモニタリングしています。さらに、機器は、ネブライザまたはイオンインジェクタで発生するスプレー安定性の低下やイオンビームの詰まりなど、一般的に測定上で問題を引き起こす可能性のあるメンテナンスイベントを自動的にモニタリングしています。

一連の注入にわたって、ネブライザ、イオンインジェクタ、イオン源チャンバ、スプレーシールドのクリーニングおよび取り外しのメンテナンスは実施しませんでした。

実験後の調査

一連の注入が完了したのち、イオン源の燃焼、塩の蓄積、広範なマトリックスの堆積、または故障の可能性のあるモードが発生している領域などを特定するためにイオン源および脱溶媒アセンブリを確認しました。

チェックチューン手順時に記録されたチューニングイオンのアバンダンスをプロットして、時間の経過によるマトリックスの影響について評価しました。

1290 Infinity II LC と組み合わせた Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS システム



結果と考察

実験前後の物理的特性

- 希釈したマトリックス（ウシの尿 1:1 のアセトニトリル/水）が充填されているサンプルバイアル
- 1,000 回の注入ごとのサンプル MRM TIC の重ね表示
- 10,000 回注入後の MS 注入口イオンインジェクタ性能の維持とともに激しく汚染されたスプレーシールドとキャピラリキャップ
- 脱溶媒アセンブリが取り外されたスキマー IPA を含む綿棒により、イオンインジェクタ上（スキマーの前面、スキマーの背面、オクタポール）の真空部分のマトリックスによる汚染を強調

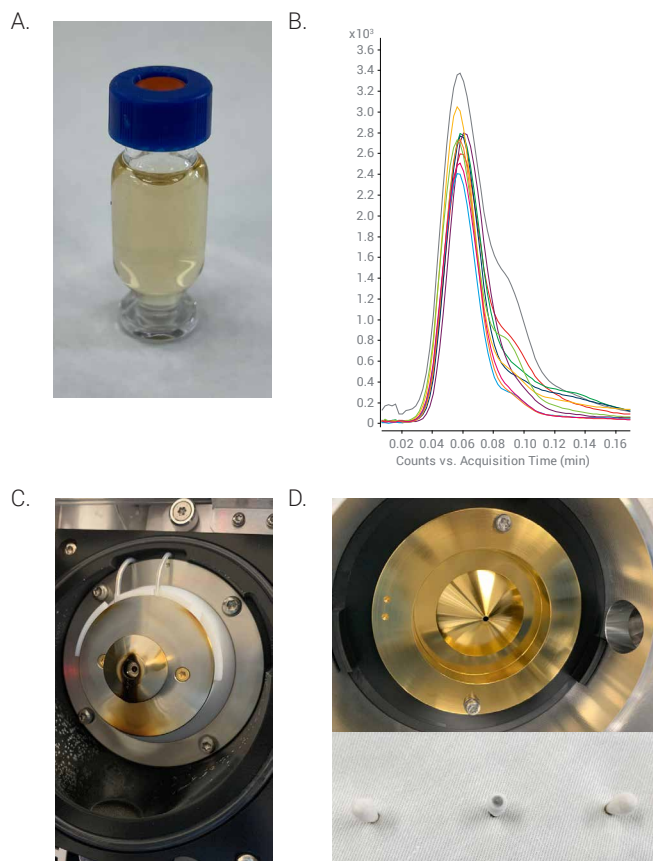


図 2：実験の物理的特性

マトリックス成分がスプレーチャンバ上に蓄積した際の、チューニングイオンの許容範囲

ネブライザおよびイオンインジェクタをクリーニングせずに、1,000 回の注入ごとにチェックチューンを実行しました（図 3）。フロントエンドが激しく汚染されたにもかかわらず、質量補正（ m/z ドリフト）および質量スペクトルのピーク幅（FWHM）は許容範囲内に収まり、10,000 回の注入を通して安定していました。 $m/z < 1000$ の質量範囲における質量キャリブレーションの許容幅は ± 0.1 Da 以内に収まる必要があります。同時に、ピーク幅は ± 0.14 Da 以内に収まる必要があります。一連の注入にわたって、機器は 6,000 回の注入時に「許容範囲外」イベントを報告しました。これは、次の一連の注入に進む前に、オートチューンを実行することにより修正されました。

この調査を通してトリガーされた重要なアーリーメンテナンスフィードバックイベントはなし

アーリーメンテナンスフィードバックにより、ルーチン分析の過酷な測定で発生する最も一般的な問題の原因を継続的にモニタリングしています。この調査を通して、10,000 回の注入の閾値に設定した「注入数」を除いて、これらのイベントはまったくトリガーされませんでした。

常にイオンを照射しているにもかかわらず、検出器の状態は安定しており、良好な状態を維持していました。ネブライザとイオンインジェクタは詰まりのない状態のままで、スプレーは一貫して安定していました。

検出器 EMV	ポジティブモード	ネガティブモード
開始	1212 V	1232 V
End	1198 V	1232 V

1,000 回の注入ごとのチェックチューンの結果

図 4 に示すように、10,000 回注入後のチェックチューンは合格の結果となっています。ポジティブおよびネガティブの MS1 と MS2 の結果、およびさまざまなスキャン速度とピーク幅が、1 ページのレポートに示されています（詳細も参照可能）。

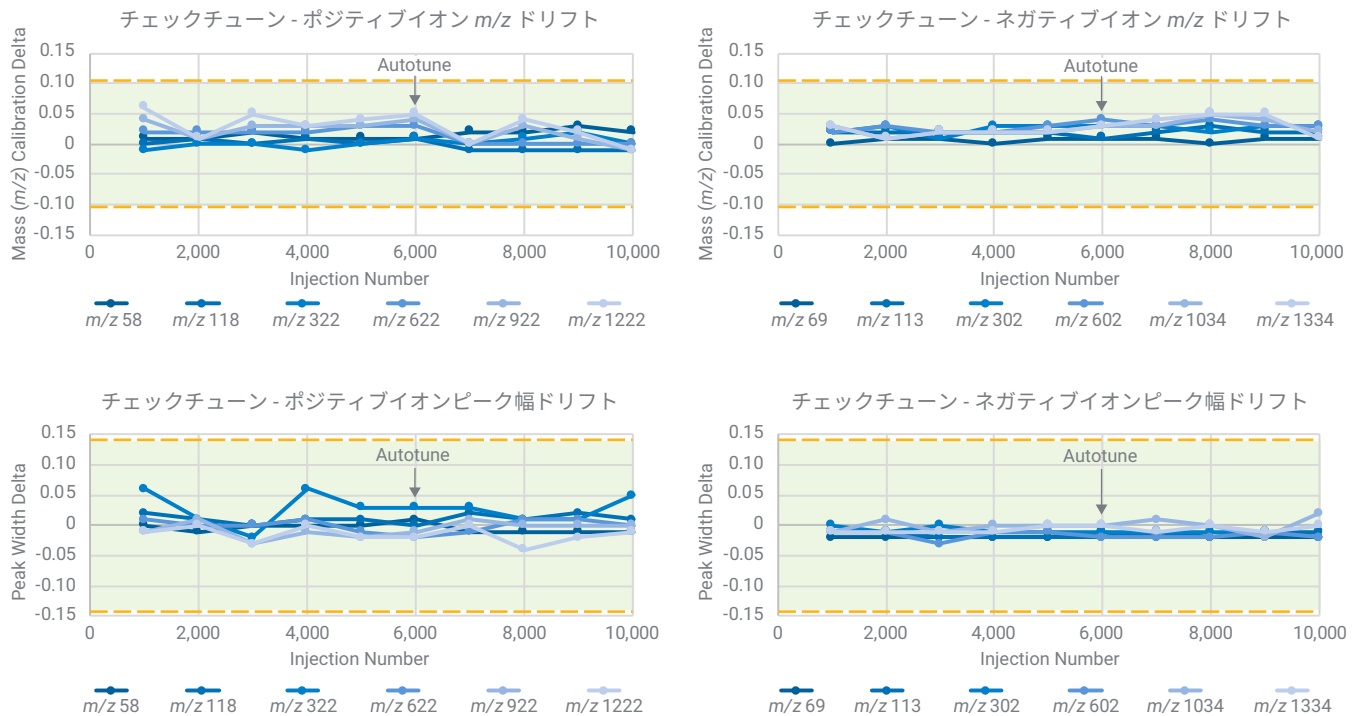


図 3：1,000 回の注入ごとに実行したチェックチューンによる許容範囲の結果

MS Checktune Report - G6475A			
Instrument Information			
Model	G6475A	Checktune Date	2022-08-25T16:08:07-07:00
Serial Number	SQ22229001	SWFW Version	3.0.14248.134
Ion Source	AJS ESI	Ionization Mode	ESI
Last Autotune Date	2022-08-29T11:36:41-07:00	Last Tuned By	SYSTEM (SYSTEM)
Vacuum Pressure	2.25E+0 [R] (Torr); 2.90E-5 [H] (Torr)	Overall Result	Passed
Positive Ion Mode			
MS1 Peak Width Unit, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Unit, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS1 Peak Width Narrow, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Narrow, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS1 Peak Width Wide, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Wide, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS1 Peak Width Widest, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Widest, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Scan Speed Fast	Result	Passed	
MS2 Scan Speed Ultra	Result	Passed	
MS1 Lag Factor	Result	Passed	
MS2 Lag Factor	Result	Passed	
Gain	Result	Passed	
Negative Ion Mode			
MS1 Peak Width Unit, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Unit, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS1 Peak Width Narrow, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Narrow, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS1 Peak Width Wide, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Wide, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS1 Peak Width Widest, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Widest, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Scan Speed Fast	Result	Passed	
MS2 Scan Speed Ultra	Result	Passed	
MS1 Lag Factor	Result	Passed	
MS2 Lag Factor	Result	Passed	
Gain	Result	Passed	

Maintenance		
Early Maintenance Feedback Counters		
Autotune	Alert threshold (Days)	Expires on
☒ Enable	31	04-Jun-2022
	Set to factory value	Set to custom value
Checktune	Alert threshold (Days)	Expires on
☒ Enable	7	13-May-2022
	Set to factory value	Set to custom value
Injection count	Alert threshold (Counts)	Remaining (Counts)
☒ Enable	10000	972
Reset counter	Set to factory value	Set to custom value
Diverter valve switches	Alert threshold (Counts)	Remaining (Counts)
☒ Enable	10000	9894
Reset counter	Set to factory value	Set to custom value
Rough pump	Alert threshold (Days)	Expires on
☒ Enable	365	13-Apr-2023
Reset timer	Set to factory value	Set to custom value
Gas filter	Alert threshold (Days)	Expires on
☒ Enable	365	13-Apr-2023
Reset timer	Set to factory value	Set to custom value
Detector health	Detector lifetime remaining (%) 94.8%	
Nebulizer status		
Capillary status		
Spray stability status		

図 4：すべてのパラメータが合格であることを示すチェックチューンのレポート結果（左）、および機器での注入が 10,000 回を超えていることを通知するアーリーメンテナンスフィードバック（右）

結論

- 10,000 回の注入にわたる機器の堅牢性を、マトリックス濃度の高い（ウシの尿）サンプルを使用して実証しました。
- チェックチューンの結果を記録して、機器の安定性を検証しました。チューニングイオンの質量補正とピーク幅を 1,000 回の注入ごとに記録しましたが、許容範囲の基準内に収まっており優れた性能を示しました。
- ネブライザスプレー、イオンインジェクタキャピラリ、およびスプレーは安定しており、有害事象は起こりませんでした。
- 今回のMRM 取り込みによるイオンの一定の衝撃では、検出器を大幅に劣化させることはありませんでした。

参考文献

1. Robustness of the Agilent Ultivo Triple Quadrupole LC/MS with the ESI Source, Agilent Technologies, Inc. 2019, 5994-0671EN.
2. Metzger, Benedikt; Willmann, Lucas; Simplify your Method Development using the Agilent 1260 Infinity Prime LC System and InfinityLab LC/MSD iQ, Agilent Technologies, Inc. 2020, 5994-2124EN.
3. Sartain, Mark; Sosienski, Theresa; Yang, Dan-Hui Dorothy; Robustness of the Agilent Ultivo Triple Quadrupole LC/MS for Routine Analysis in Food Safety, Agilent Technologies, Inc. 2017, 5991-8741EN.

トリプル四重極 LC/MS の幅広い製品ポートフォリオ

アジレントのトリプル四重極 LC/MS ファミリーは、広範囲にわたるアプリケーションでパワフルな分析機能を提供します。これらのソリューションにより、非常に多様な分析の課題を解決する能力と性能を得られます。



Agilent Ultivo LC/TQ

コンパクトで積み重ね可能な LC/TQ は、強力な性能はそのままに、ラボのスペースを節約できます

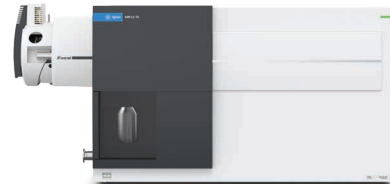
[詳しくはこちら](#)



Agilent 6475 LC/TQ

優れたインテリジェンス機能を搭載し、信頼できる堅牢性を実現しています

[詳しくはこちら](#)



Agilent 6495 LC/TQ

きわめて困難な課題を解決できる、信頼性の高い超高感度 LC/MS です

[詳しくはこちら](#)

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。

DE81574943

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2022

Printed in Japan, October 24, 2022

5994-5410JAJP