

# GC/TQ용 Agilent MassHunter Optimizer를 이용한 대마초 내 농약 분석을 위한 자동화된 MRM 분석법 개발

## 저자

Anastasia Andrianova,  
He Liu와 Alex Graettinger  
Agilent Technologies, Inc.

## 개요

본 응용 자료에서는 GC/TQ용 Agilent MassHunter Optimizer를 이용한 고도로 자동화된 엔드 투 엔드 다중 반응 모니터링(MRM) 데이터 수집 방법의 개발을 설명합니다. GC/TQ용 Optimizer는 스펙트럼 deconvolution을 이용하여 크로마토그래피 간섭에서도 전구 이온을 높은 신뢰도로 식별합니다. 이 도구는 MRM 데이터 수집 방법을 개발할 때 시간을 크게 절약하고 수동 검토를 줄일 수 있습니다. 캘리포니아와 캐나다에서 규제되는 25종의 대마초 관련 농약 혼합물을 과정 테스트에 사용하였습니다.

Optimizer 도구의 주요 장점은 다음과 같습니다.

- 최적화된 MRM 분석법 개발에 걸리는 시간 단축
- 자동화 지원으로 수작업 감소
- 재현성
- GC/MSD 분석법을 GC/TQ로 원활하게 전환
- 내장된 검토 도구

## 서론

GC/MS/MS MRM 전이를 개발하려면 까다롭고 시간 소모적인 여러 단계를 거쳐야 하는데, 분석물질 동시 용리와 매트릭스 간섭으로 인해 문제가 더욱 복잡해지는 경우가 많습니다. 따라서 일반적으로 숙련된 과학자가 이러한 문제를 직접 해결해야 했습니다. GC/TQ용 MassHunter Optimizer는 MRM 모드에서 데이터 수집 파라미터를 자동으로 최적화합니다.

사용자 개입 없는 엔드 투 엔드 MRM 분석법 개발은 고도로 자동화된 워크플로를 지원합니다. 또는, 최적화하는 각 단계에서 개별적으로 수행할 수도 있습니다. 다음과 같은 단계가 포함되어 있습니다.

- Deconvoluted 스펙트럼의 라이브러리 검색을 사용하여 분석물질 식별
- 전구 이온 식별
- 다양한 충돌 에너지에서 생성 이온 식별
- 생성 이온 선택
- 충돌 에너지 최적화

스캔 데이터에서 시작 및 SIM 이온에서 시작과 같이 GC/TQ용 Optimizer에서 제공하는 여러 워크플로를 통해 새로운 GC/TQ 사용자가 기존의 Single Quadrupole 스캔 또는 SIM 분석법을 Triple Quadrupole MRM 분석법으로 전환할 수 있습니다. 기존 TQ 사용자는 MRM으로 시작 워크플로를 사용하여 현재 MRM에 대한 충돌 에너지를 다시 최적화하고 새로운 크로마토그래피 조건에서 머무름 시간을 업데이트할 수 있습니다.

본 연구에서는 대마초와 관련하여 대마초 관리국(BCC)<sup>1</sup>에 의해 캘리포니아에서 규제되고 Health Canada<sup>2</sup>에 의해 캐나다에서 규제되는 25종의 GC 사용 가능한 농약에 대한 MRM 수집 분석법을 개발했습니다. 이러한 화합물은 일반적으로 전자분무 LC/MS를 사용하여 분석하기가 어려운 것으로 잘 알려져 있습니다.

스캔 데이터에서 시작 워크플로에 따라 용매의 농약 표준 혼합물을 사용하여 각 화합물에 대해 최대 18개의 MRM 전이를 개발했습니다. 그런 다음, 개발된 MRM 전이에 대한 충돌 에너지를 대마초 매트릭스에서 다시 최적화했습니다. 매트릭스에 최적화된 최종 MRM 수집 분석법에는 화합물당 최대 5개의 전이가 포함되었으며 까다로운 대마초 매트릭스에서 표적 농약에 대해 최고의 선택성을 실현했습니다.

## 실험

GC/TQ용 MassHunter Optimizer는 Agilent MassHunter GC/MS Data Acquisition 버전 10.0 이상에 자동으로 함께 설치됩니다. 이 도구는 Agilent 7000 시리즈 및 7010 시리즈 GC/TQ와 함께 사용할 수 있습니다. Agilent GC/MS 구성 도구를 사용하여 GC/MS 기기를 구성하면 바탕화면 아이콘이 생성됩니다. MRM 개발을 시작하려면 기존 데이터 수집 방법이 필요합니다. MRM 전이를 개발하고 최적화할 때 수집 방법의 모든 GC 파라미터가 유지됩니다.

이 소프트웨어는 MRM 전이를 개발하고 최적화할 때 사용할 수 있는 몇 가지 워크플로를 제공합니다. 워크플로의 선택은 시작 수집 분석법에 따라 다릅니다. 이러한 워크플로에는 다음이 포함됩니다.

- 스캔 데이터에서 시작
- SIM 이온에서 시작
- MRM에서 시작

이 응용 자료에서는 스캔 데이터에서 시작 워크플로를 설명하면서 전체 MRM 개발 프로세스를 다룹니다. Agilent 8890/7010B GC/TQ 시스템과 MassHunter Acquisition 10 SR1을 포함한 Agilent MassHunter 워크스테이션 버전 10이 이 작업에 사용되었습니다. 대마초 내 농약을 GC로 성공적으로 분석하기 위해 시작 수집 분석법을 사전에 최적화했습니다.<sup>3</sup> 스캔 데이터에서 시작 워크플로에서 질량 분석기는 전체 스캔 모드(MS2)로 작동시켜 화합물 식별 및 전구 이온 선택을 위한 스캔 데이터 파일을 얻었습니다. 이때 140ms의 스캔 시간으로  $m/z$  35~450 범위에서 스캔을 수행했습니다.

스캔 데이터에서 시작 워크플로에는 순차적으로 실행되는 다음 단계가 포함됩니다.

- 표적 화합물을 식별하기 위한 전체 스캔 데이터의 수집 또는 가져오기
- 전구 이온 식별
- 생성 이온 식별
- 충돌 에너지 최적화

스캔에서 시작할 때 MRM 개발의 첫 단계로 deconvoluted 스펙트럼의 라이브러리 검색을 사용하여 분석물질을 식별합니다. 이를 통해 컬럼 블리딩 또는 동시 용리 분석물질 또는 매트릭스 간섭과 같은 크로마토그래피 간섭이 있는 경우에도 표적 분석물질을 올바르게 식별하고 전구 이온을 안정적으로 선택할 수 있습니다. 스펙트럼 deconvolution 및 라이브러리 검색 알고리즘은 Agilent MassHunter Unknowns Analysis 소프트웨어에서 사용되는 것과 유사합니다. GC/TQ용 Optimizer에서 지원하는 라이브러리 형식은 \*.L 및 \*.mslibrary.xml입니다. 이는 NIST와 같은 대규모 스펙트럼 라이브러리 또는 Agilent MassHunter 라이브러리 편집기 소프트웨어로 구축된 소규모 사용자 생성 라이브러리를 사용하는 유연성을 더합니다. 본 응용 자료에서는 표적 화합물만 포함된 사용자 생성 농약 라이브러리를 사용했습니다.

MRM 개발 마지막 세 단계는 사용자의 개입 없이 고도로 자동화할 수 있습니다. 또는, 다음 단계로 진행하기 전에 각 단계의 결과를 검토할 수 있습니다. 계속 진행하기 전에 사용자는 자동 선택을 수정하고 원하는 경우 추가 이온을 선택할 수 있습니다. 이 응용 자료에서는 다음 최적화 단계로 진행하기 전에 표적 농약에 대해 선택된 전구 이온을 검토했습니다. 여기서 소개한 나머지 MRM 최적화는 완전히 자동화되었습니다.

MRM 개발 및 충돌 에너지 최적화를 완료한 후에는 개발된 수집 방법을 시간 세그먼트 MRM 분석법 또는 다이내믹 MRM(dMRM) 분석법으로 저장할 수 있습니다. 후자를 선택하면 최소 머무름 시간과 초당 사이클 수를 정의할 수 있습니다.

GC/TQ 시스템으로 쉽게 검출할 수 있는 농도의 관심 화합물을 포함한 순수 용매 표준물질을 사용하여 초기 MRM 개발을 수행하는 것이 좋습니다. 이 응용 자료에 나타난 바와 같이 개발된 전이에 대한 충돌 에너지는 매트릭스에서 다시 최적화할 수 있습니다.

## 결과 및 토의

### 라이브러리 검색 및 전구 이온 식별

맞춤 제작한 농약 라이브러리에서 deconvoluted 질량 스펙트럼을 검색하는 방법으로, 수집한 표준 혼합물의 전체 스캔 크로마토그램을 사용하여 25종의 농약을 식별했습니다. 그림 1A는 화합물 식별을 완료한 후 Optimizer 창을 보여줍니다. 그 혁신은 다음과 같습니다.

- 화합물 표
- 피크 라벨이 표시된 크로마토그램
- Deconvoluted 질량 스펙트럼
- 각 화합물에 사용 가능한 전구 이온
- 식별된 모든 화합물에 대해 선택된 모든 전구 이온의 요약 정보 전체 화합물 표는 그림 1B에 나타내었습니다.

라이브러리 매치 스코어는 그림 1의 표에서 Hit Score 열 아래에 표시했습니다. 화합물 명칭, CAS 번호, 분자식 및 분자량과 같이 라이브러리에서 제공하는 정보를 Optimizer의 Compound Table로 가져옵니다. 식별된 각 화합물에 대한 deconvoluted 스펙트럼은 화합물 표에서 해당 화합물을 선택할 때 표시됩니다. 그림 2는 pentachloronitrobenzene (또는 quintozene이라고 함)에 대한 deconvoluted 스펙트럼을 보여주며,

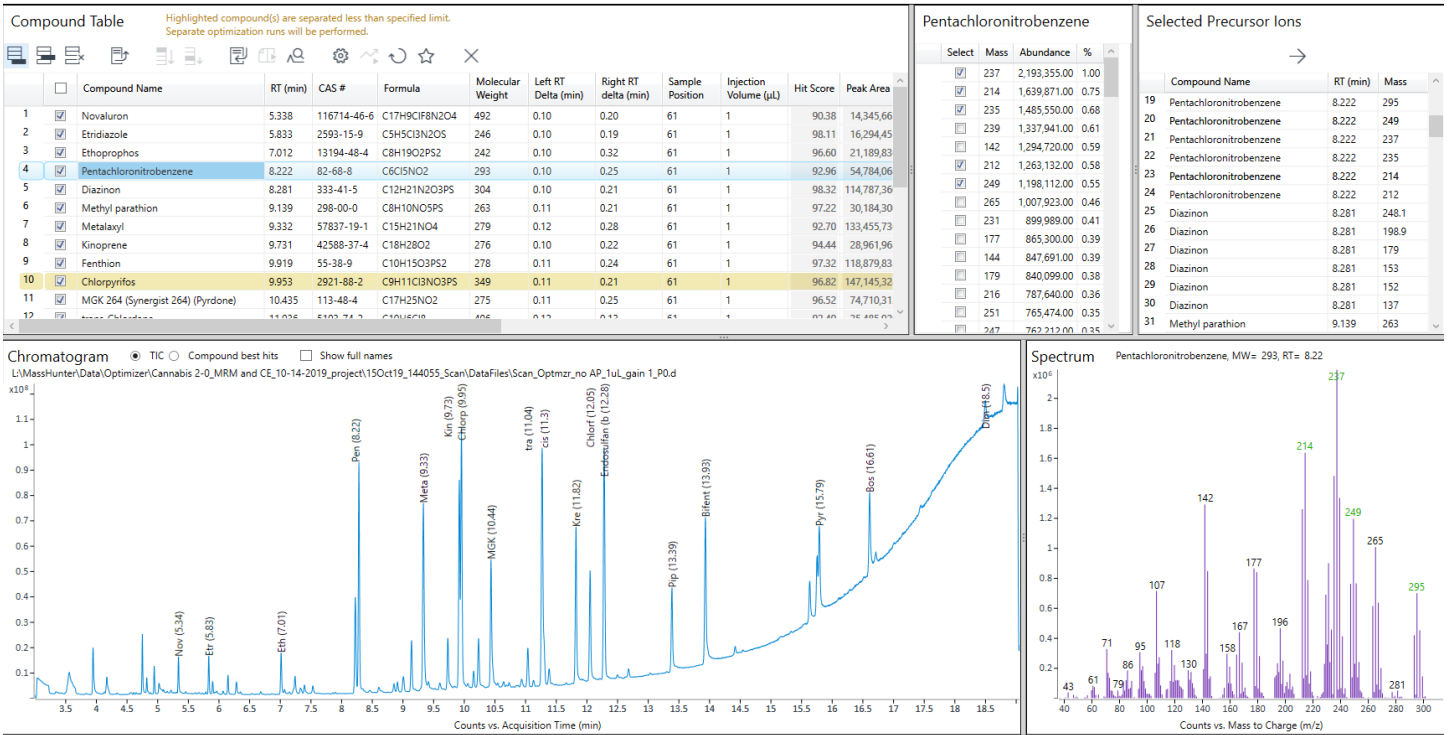
제안된 전구 이온이 녹색으로 강조 표시되어 있습니다. 스펙트럼 deconvolution은 컬럼 블리딩 또는 동시 용리 피크와 같은 크로마토그래피 간섭에서도 화합물을 정확하게 식별하고, 높은 신뢰도로 전구 이온을 선택하는 데 도움을 줍니다.

화합물 표에서 해당 화합물을 선택할 때 사용 가능한 전구 이온 목록이 표시됩니다. 그림 3A는 pentachloronitrobenzene에 이용 가능한 전구 이온의 일부를 보여줍니다. Optimizer 분석법이 각 화합물의 전구 이온으로 6개 이상의 이온을 선택하지 않도록 설정되었기 때문에 표에서 선택된 이온은 소프트웨어에 의해 자동으로 전구 이온으로 선택되었습니다(그림 3B).

소프트웨어가 제안하는 전구 이온의 선택은 존재비와  $m/z$  값을 기준으로 합니다. 또한 하나의 클러스터에서 두 개 이상의 이온을 선택할 수 없습니다. 예를 들어, pentachloronitrobenzene의 분자 이온  $m/z$  295는 스펙트럼에서 가장 존재비가 높은 이온이 아님에도 불구하고 높은  $m/z$  값과 고유한 특성으로 인해 전구 이온으로 자동 선택되었습니다. 사용자는 선택된 이온을 선택 취소하고 사용 가능한 다른 이온을 확인하고 소프트웨어에서 제안한 전구 이온을 덮어쓸 수 있습니다.

다음 MRM 개발 단계(예: 생성 이온 식별 및 충돌 에너지 최적화)는 자동화할 수 있으므로 사용자는 최적화된 최종 전이만 검토하면 됩니다. 또한 이 작업을 단계에 따라 순차적으로 수행하여 충돌 에너지 최적화 단계를 실행하기 전에 선택된 생성 이온을 검토할 수도 있습니다.

A



B

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

	<input type="checkbox"/>	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	<input checked="" type="checkbox"/>	Novaluron	5.338	116714-46-6	C17H9ClF8N2O4	492	0.10	0.20	61	1	90.38	14,345,663.00	L\Mas
2	<input checked="" type="checkbox"/>	Etridiazole	5.833	2593-15-9	C5H5Cl3N2O5	246	0.10	0.19	61	1	98.11	16,294,451.00	L\Mas
3	<input checked="" type="checkbox"/>	Ethoprophos	7.012	13194-48-4	C8H19O2PS2	242	0.10	0.32	61	1	96.60	21,189,836.00	L\Mas
4	<input checked="" type="checkbox"/>	Pentachloronitrobenzene	8.222	82-68-8	C6Cl5NO2	293	0.10	0.25	61	1	92.96	54,784,068.00	L\Mas
5	<input checked="" type="checkbox"/>	Diazinon	8.281	333-41-5	C12H21N2O3PS	304	0.10	0.21	61	1	98.32	114,787,360.00	L\Mas
6	<input checked="" type="checkbox"/>	Methyl parathion	9.139	298-00-0	C8H10NO5PS	263	0.11	0.21	61	1	97.22	30,184,300.00	L\Mas
7	<input checked="" type="checkbox"/>	Metalaxyl	9.332	57837-19-1	C15H21NO4	279	0.12	0.28	61	1	92.70	133,455,736.00	L\Mas
8	<input checked="" type="checkbox"/>	Kinoprene	9.731	42588-37-4	C18H28O2	276	0.10	0.22	61	1	94.44	28,961,968.00	L\Mas
9	<input checked="" type="checkbox"/>	Fenthion	9.919	55-38-9	C10H15O3PS2	278	0.11	0.24	61	1	97.32	118,879,832.00	L\Mas
10	<input checked="" type="checkbox"/>	Chlorpyrifos	9.953	2921-88-2	C9H11Cl3NO3PS	349	0.11	0.21	61	1	96.82	147,145,328.00	L\Mas
11	<input checked="" type="checkbox"/>	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	<input checked="" type="checkbox"/>	trans-Chlordane	11.036	5103-74-2	C10H6Cl8	406	0.12	0.13	61	1	92.40	25,485,920.00	L\Mas
13	<input checked="" type="checkbox"/>	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	<input checked="" type="checkbox"/>	cis-Chlordane	11.299	5103-71-9	C10H6Cl8	406	0.18	0.16	61	1	79.24	11,491,115.00	L\Mas
15	<input checked="" type="checkbox"/>	Kresoxim-methyl	11.821	143390-89-0	C18H19NO4	313	0.11	0.25	61	1	96.33	91,899,800.00	L\Mas
16	<input checked="" type="checkbox"/>	Chlorfenapyr	12.051	122453-73-0	C15H11BrClF3N2O	406	0.11	0.14	61	1	97.62	65,994,096.00	L\Mas
17	<input checked="" type="checkbox"/>	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	<input checked="" type="checkbox"/>	Piperonyl butoxide	13.386	51-03-6	C19H30O5	338	0.12	0.24	61	1	96.50	49,822,004.00	L\Mas
19	<input checked="" type="checkbox"/>	Bifenthrin	13.931	82657-04-3	C23H22ClF3O2	422	0.12	0.25	61	1	94.68	51,573,560.00	L\Mas
20	<input checked="" type="checkbox"/>	Bifentazate	13.964	149877-41-8	C17H20N2O3	300	0.21	0.26	61	1	58.53	4,678,718.00	L\Mas
21	<input checked="" type="checkbox"/>	(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	<input checked="" type="checkbox"/>	(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	<input checked="" type="checkbox"/>	Pyridaben	15.787	96489-71-3	C19H25ClN2O5	364	0.11	0.21	61	1	93.84	51,883,384.00	L\Mas
24	<input checked="" type="checkbox"/>	Boscalid (Nicobifen)	16.610	188425-85-6	C18H12Cl2N2O	342	0.13	0.23	61	1	80.58	51,811,116.00	L\Mas
25	<input checked="" type="checkbox"/>	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

그림 1. 화합물 식별 결과(A)를 나타내는 GC/TQ용 Agilent MassHunter Optimizer 창 및 라이브러리 검색과 함께 질량 스펙트럼 deconvolution을 이용해 전체 스캔 크로마토그램에서 식별한 25종 농약을 나열한 확대된 화합물표. 동시 용리 화합물은 노란색으로 강조 표시했습니다. 이러한 화합물은 개별 주입에 의해 최적화되었습니다(B).

A

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

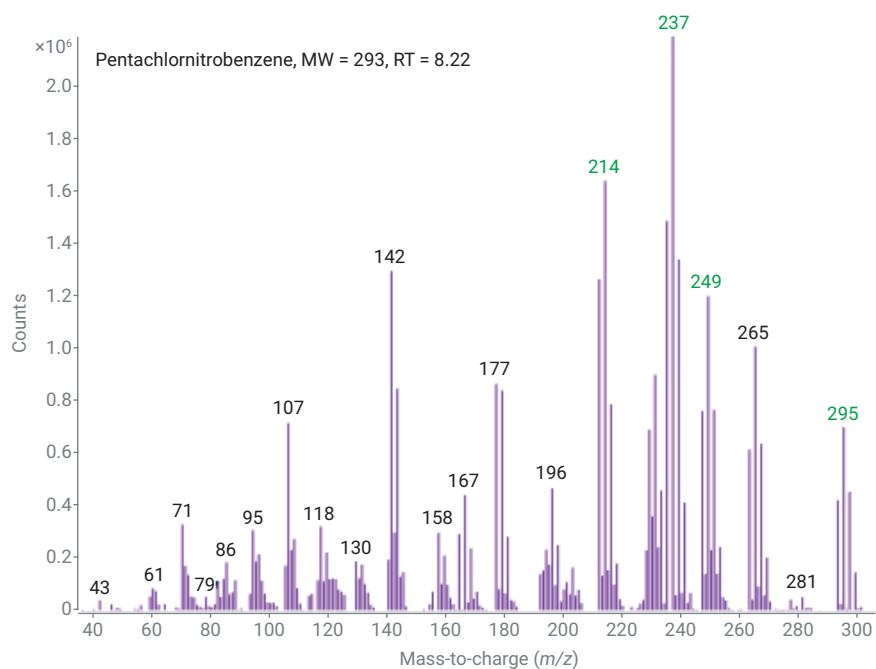


그림 2. Pentachloronitrobenzene의 deconvoluted 질량 스펙트럼. 제안된 전구 이온을 녹색으로 표시하였습니다.

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

그림 3. Pentachloronitrobenzene에 제안된 전구 이온(A) 및 전구 이온 식별 파라미터(B).

## 생성 이온 식별

각 전구 이온에 대한 생성 이온 식별은 사용자가 정의한 다수의 충돌 에너지에서 이루어지는 생성 이온 스캔을 통해 수행됩니다. 생성 이온 스캔에는 최대 4가지 충돌 에너지가 허용됩니다. 본 연구에서 생성 이온 스캔 실험은 5, 15, 25 및 35eV의 기본값으로 수행되었습니다. 생성 이온 최적화를 위해 분석물질당 전구 이온의 수 및 표적물질의 크로마토그래피 분리에 따라 여러 번의 주입이 필요할 수 있습니다. 가능한 효과적인 MRM 개발을 위해 분석물질의 크로마토그래피 베이스라인 분리를 권장합니다. 그러나, 질량 스펙트럼이 상이하고 화합물의 감응 존재비가 대등한 경우, 동시 용리 화합물에 대해 MRM 개발을 수행할 수 있습니다. 동시 용리 표적물질에 대한 MRM 개발을 수행하려면 추가 주입이 필요할 수 있습니다. 본 연구에서는 그림 1B의 화합물 표에서 노란색으로 강조 표시한 바와 같이 표준물질에서 여러 농약이 동시 용리되었습니다. 모든 표적 농약에 대한 생성 이온 스캔 결과를 얻기 위해 12회 주입이 필요했으며, 화합물당 6개의 전구 이온 각각에 대해 6번의 주입 및 강조 표시한 동시 용리 화합물에 대해 또 다시 6번의 주입을 수행했습니다.

생성 이온 식별 결과를 그림 4A에 표시했으며 pentachloronitrobenzene을 생성 이온 스캔 표에 강조 표시하였습니다. 이 창에는 다음이 포함됩니다.

- 각 라인이 하나의 전구 이온에 해당하는 생성 이온 스캔 표
- 4개의 서로 다른 충돌 에너지에서 획득한 각 전구 이온에 대한 총 이온 크로마토그램(TIC) 또는 추출 이온 크로마토그램(EIC)
- 4가지 충돌 에너지에서 수집되고 강조 표시된 전구 이온에 대한 생성 이온 스캔 질량 스펙트럼
- 강조 표시한 전구 이온에 사용 가능한 생성 이온이 포함된 표
- 선택된 모든 생성 이온의 요약 정보

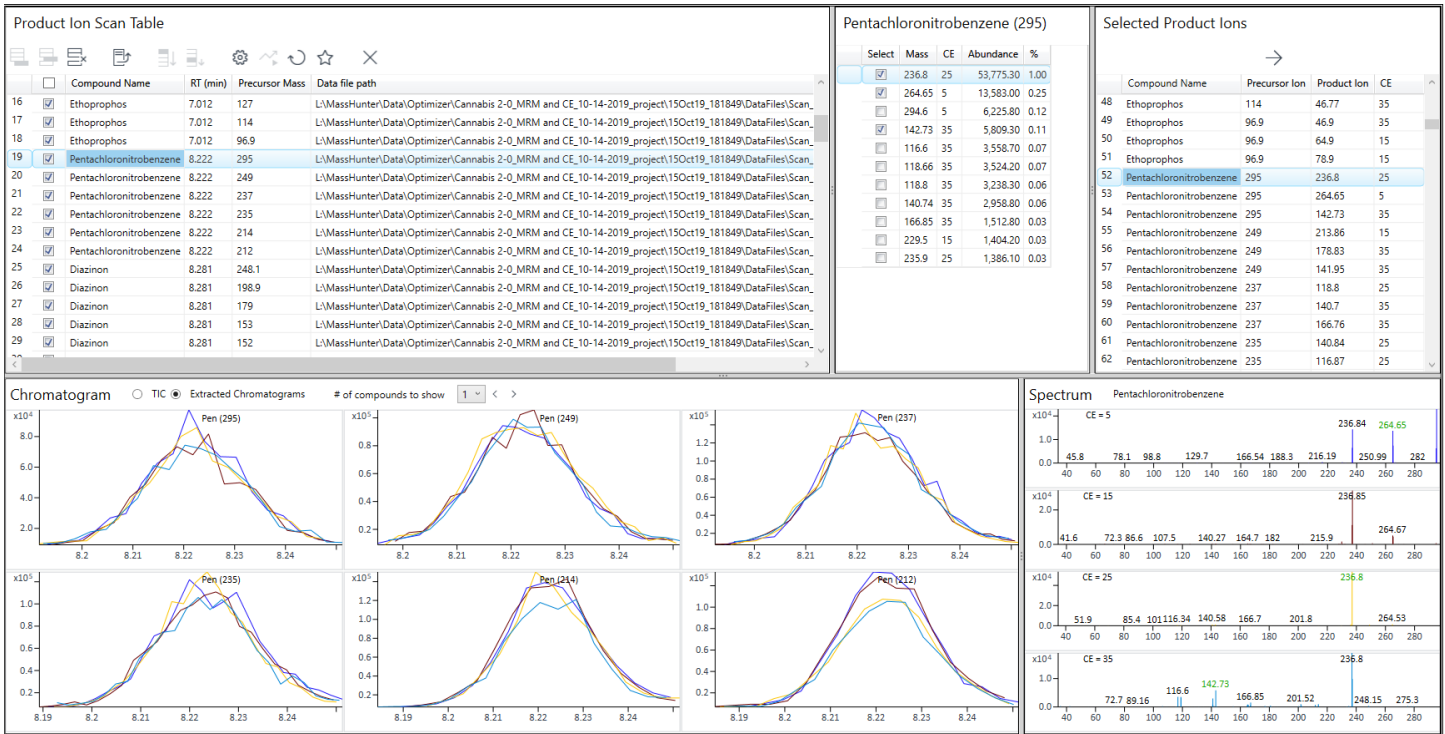
생성 이온 식별 파라미터는 그림 4B에 나타냈습니다. 생성 이온은 그림 4A에서 pentachloronitrobenzene의 전구 이온 ( $m/z$  295)에 대해 나타낸 바와 같이 존재비에 기초하여 선택합니다. 생성 이온 식별 단계를 수동으로 수정하는 경우, 선택된 이온을 선택 취소하고 이용 가능한 이온을 선택하는 식으로 사용자가 소프트웨어에서 제안한 생성 이온을 덮어쓸 수 있습니다.

## 충돌 에너지 최적화

충돌 에너지 최적화는 이전 단계의 선택한 값 범위에서, 또는 정의된 범위에서 수행할 수 있습니다. 본 연구에서 충돌 에너지는 5eV의 단계 크기로 0~60eV 범위에 걸쳐 여섯 번의 주입을 통해 375 MRM 전이를 최적화했습니다(그림 5B). 동시 용리가 발생하지 않았거나 동시 용리 화합물이 간과되었다면 이 단계에 6회가 아닌 3회의 주입만 필요했을 것입니다. 충돌 에너지 최적화 결과는 그림 5A에 표시되어 있으며 pentachloronitrobenzene에 대한 295 → 236.8 전이는 MRM 전이 표에 강조 표시하였습니다. 이 창에는 다음이 포함됩니다.

- 각 행이 하나의 MRM 전이에 해당하는 MRM 전이 표
- 테스트한 모든 충돌 에너지 값에서 획득한 각 전이의 TIC 또는 EIC
- MRM 전이 존재비와 충돌 에너지의 관계를 설명한 이온 분해 프로파일 그래프
- 강조 표시된 MRM 전이에 대한 해당 존재비와 충돌 에너지

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)

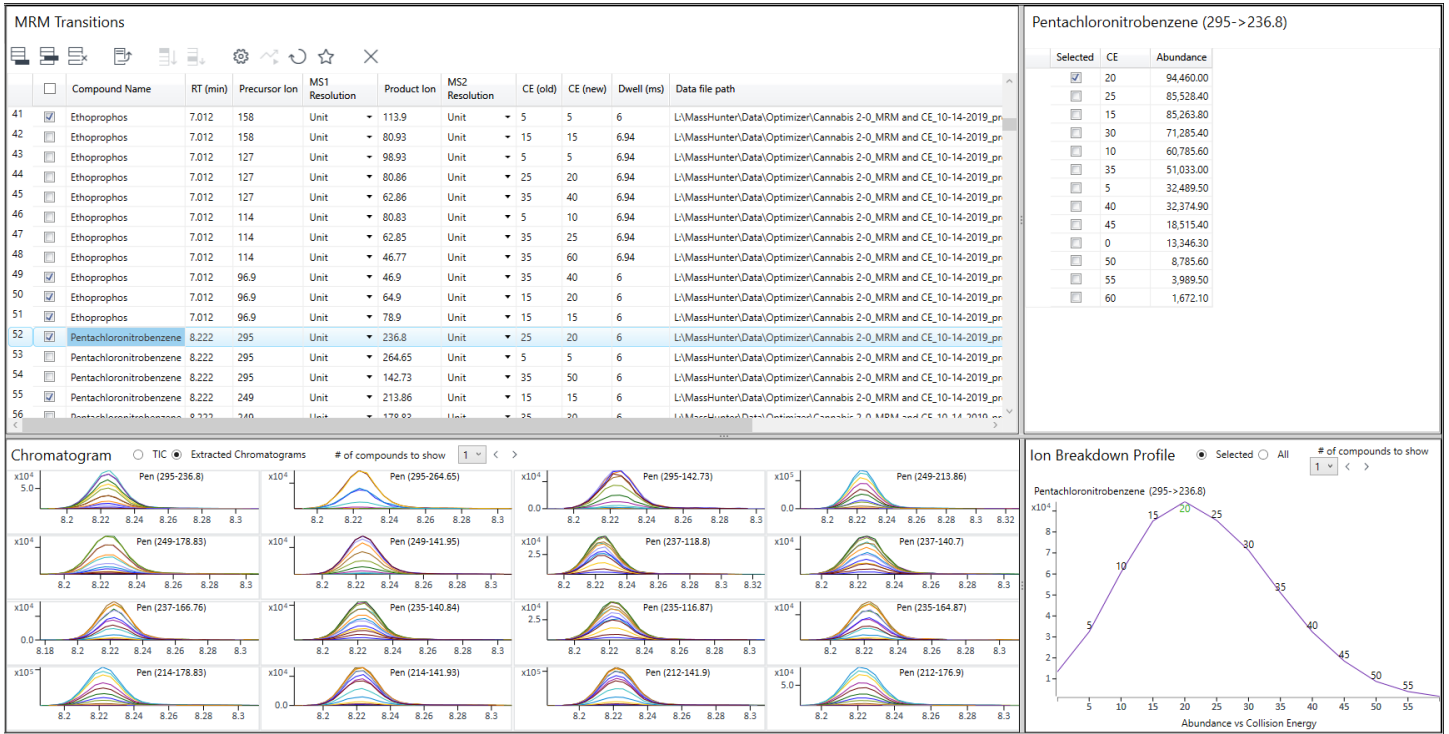
☒ Do not exclude masses

☐ Exclude masses

m/z values  (separate by commas)

그림 4. 생성 이온 식별 결과. Pentachloronitrobenzene의 전구 이온( $m/z$  295)을 강조 표시한 생성 이온 스캔표(A). 생성 이온 식별 파라미터(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)

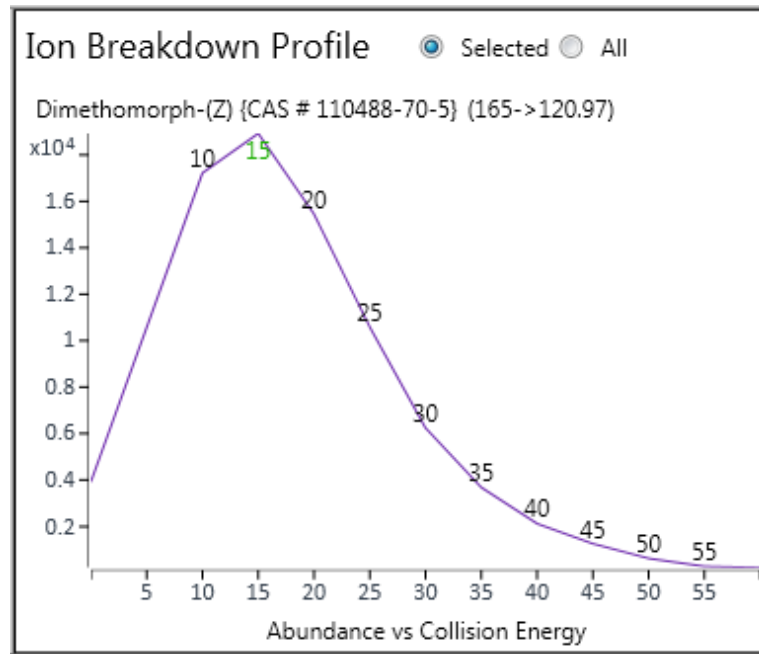
그림 5. 충돌 에너지 최적화 결과. Pentachloronitrobenzene의 295 → 236.8 전이(A)를 강조 표시한 MRM 전이표. 충돌 에너지 최적화 파라미터(B)

## 말린 대마초 꽃 추출물 매트릭스에서 충돌 에너지 재최적화

매트릭스에서 충돌 에너지 재최적화는 옵션입니다. 이 단계를 수행하면 분석법의 선택성이 향상될 수 있습니다. 본 연구에서는 용매에서 개발된 MRM 전이의 충돌 에너지를 건조된 대마초 꽃 추출물 매트릭스에 맞게 재최적화했습니다. 다수의 표적 화합물의 경우, 매트릭스에서 최적의 충돌 에너지는 용매에서 최적화된 것과 유사한 것으로 나타났습니다. Dimethomorph에 대한 165 → 121 전이는 대마초 매트릭스에서 더 높은 감응을 일으키고, 용매에 최적화된 값에 비해 충돌 에너지가 더 높은 것으로 (즉, 20eV 대 15eV) 나타났습니다(그림 6). 또한, 대마초 매트릭스 내 dimethomorph는 25eV의 높은 충돌 에너지를 사용해도 감응 손실이 거의 없는 것으로 나타났습니다. 일부 매트릭스에서는 충돌 에너지가 높을수록 더 높은 신호 대 잡음비를 성취할 수 있었습니다.

최적화된 MRM 분석법에 최고의 선택성을 보장하기 위해 대마초 매트릭스로부터 간섭이 없는 MRM 전이를 최종 개발된 수집 분석법에 포함했습니다.

A



B

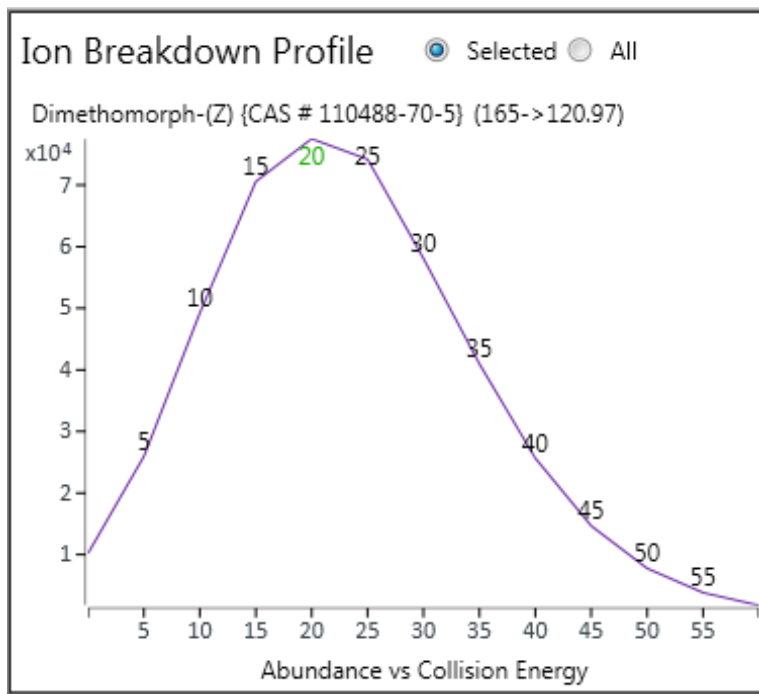


그림 6. 용매(A) 및 건조된 대마초 꽃 추출물(B)에서 dimethomorph의 165 → 121 MRM 전이에 대한 이온 분해 프로파일

결과 검토 및 분석법 저장

충돌 에너지 최적화가 완료되면 결과를 검토하고 수집 분석법을 저장할 수 있습니다. 개발된 모든 전이에 대한 정보는 “Results” 아래 확장표 보기에 표시됩니다(그림 7A).

저장할 상위 MRM 전이 수는 *상위 전이* 수 선택에 지정된 값으로 정의됩니다. 확인된 MRM 전이만 수집 분석법에 포함됩니다. 본 연구에서는 대마초 매트릭스에 간섭이 없고 존재비가 가장 높은 다섯 가지 전이를 선택했습니다.

분석법 검토를 단순화하기 위해 결과표에서 중첩 결과 보기를 사용할 수 있으며(그림 7B), pentachloronitrobenzene의 확대 보기는 그림 7C에 표시되어 있습니다.

A

Optimized MRM Transitions

Select number of top ranked transitions

5

Left RT Delta (min)

0.20

Right RT delta (min)

0.20

Overwrite 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	<input checked="" type="checkbox"/>	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	<input checked="" type="checkbox"/>	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	<input checked="" type="checkbox"/>	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	<input checked="" type="checkbox"/>	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	<input checked="" type="checkbox"/>	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	<input type="checkbox"/>	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	<input type="checkbox"/>	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	<input type="checkbox"/>	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	<input type="checkbox"/>	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	<input type="checkbox"/>	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	<input type="checkbox"/>	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	<input type="checkbox"/>	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	<input type="checkbox"/>	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	<input type="checkbox"/>	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	<input type="checkbox"/>	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	<input type="checkbox"/>	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

그림 7A. MRM 전이 최적화 결과를 확대한 화면(A)

B

Optimized MRM Transitions

Select number of top ranked transitions

5

Left RT Delta (min)



0.20

Right RT delta (min)

0.20

Overwrite 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	C8H19O2P5S2	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	C12H21N2O3P5	304	61	1	
6	Methyl parathion	9.139	0.11	0.21	298-00-0	C8H10NO5P5	263	61	1	
7	Metaxalyl	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	C10H15O3P5S2	278	61	1	
10	Chlorpyrifos	9.953	0.11	0.21	2921-88-2	C9H11Cl3NO3P5	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	C9H6Cl6O3S5	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	C9H6Cl6O3S5	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	C19H25ClN2O5	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	

그림 7B. MRM 전이 최적화 결과를 중첩시킨 화면

개발된 MRM 수집 분석법은 시간 세그먼트 MRM 분석법 또는 dMRM 분석법으로 저장할 수 있습니다(그림 8). 사용자는 분석법을 저장할 때 최소 머무름 시간과 초당 사이클 수를 정의합니다. 개발된 전이를 적합한 형식의 .CSV 파일로 내보낼 수도 있습니다.

개발한 최적화된 MRM 수집 분석법은 까다로운 대마초 매트릭스 내 극미량 수준의 농약을 정량하는 데 성공적으로 사용되었으며 그 결과는 다른 자료에서 확인할 수 있습니다.<sup>3</sup>

## 결론

MRM 수집을 위한 고도로 자동화된 최적화 도구인 GC/TQ용 MassHunter Optimizer를 사용하여 대마초에서 규제 대상인 25종의 관심 농약 각각에 대해 최대 18개의 전이를 효율적으로 개발했습니다. *스캔 데이터에서 시작* 워크플로는 전구 이온 식별 단계를 수동으로 수정하여 적용했습니다. 나머지 최적화 단계는 자동화를 수행했습니다. 건조 대마초 꽃 매트릭스에서 충돌 에너지를 재최적화하여 분석법의 선택성을 향상시켰습니다. 최적화된 결과는 시간 세그먼트 또는 dMRM 분석법으로 저장됩니다.

**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					

그림 7C. MRM 전이 최적화 결과를 중첩시키고 pentachloronitrobenzene 결과를 확장한 화면

Create Method

Cycles per second

5

Min dwell (ms)

10

Method folder

C:\Users\andriano\Documents\MassHunter\GCMS\1\met

Browse...

Method name

MRM\_Twenty-five Pesticides\_Cannabis

Create MRM method

Create dMRM method

Close

그림 8. GC/TQ용 Agilent MassHunter Optimizer로 분석법 생성.

## 참고 문헌

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](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**.

애질런트 제품 및 솔루션은 주/국가 법률에 따라 사용이 허용되는 실험실에서 대마초 품질 관리 및 안전 시험에 사용하도록 설계되었습니다.

[www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)

DE.543634259

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2020  
2020년 6월 22일, 한국에서 인쇄  
5994-2087KO

한국애질런트테크놀로지스(주)  
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,  
A+ 에셋타워 9층, 06621  
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)  
팩스: 82-2-3452-2451  
이메일: [korea-inquiry\\_lsca@agilent.com](mailto:korea-inquiry_lsca@agilent.com)