

環境研究総合推進費【5G-2101】
「水環境中の要調査項目調査へのターゲットスクリーニング分析の実装」

2. AIQS-GC で一斉分析可能な要調査項目物質のデータ解析マニュアル

作 成：横浜国立大学 亀屋隆志

更新日： 2024年5月10日

※本マニュアルは、環境研究総合推進費【5G-2101】「水環境中の要調査項目調査へのターゲットスクリーニング分析の実装」（代表：東京大学 栗栖太）のサブテーマ2「GC/MSを用いた要調査項目のスクリーニング分析」（サブテーマ代表：横浜国立大学 亀屋隆志）において作成したものです。

※本マニュアルを作成者の許可なく改変、転載することを禁じます。

※本マニュアルに基づいて解析されたデータについて作成者は一切の責任を負いません。

0-1. 本マニュアルの狙い

本マニュアルは、AIQS-GC のデータ解析ソフトウェアとして広く利用されている(株)島津製作所製の GCMSsolutin と西川計測(株)製の AXEL-NAGINATA において、ソフトウェアの違いや利用者の技量によらず、①できるだけ同一性の高い段階的な検出判定結果が得られるようにするデータ解析条件を提案し、また、②誤同定の可能性を段階的に把握できるようにする方法を提案するものです。段階的な検出判定結果および誤同定検証結果の意味についても作成者としての考察を示していますが、実試料についてのデータ解析結果をもとに提案したものであるため、多数の物質×サンプルに対してデータ解析結果が完全一致するものではありません。このため、本マニュアルに基づく解析結果の真偽や確度の最終判断は利用者自身に委ねられており、作成者がその責任を負うものではないことを申し添えます。

0-2. おことわり

(1) 適用するソフトウェア

本マニュアルは、基本的に環境省の「AIQS-GC によるスクリーニング分析法暫定マニュアル※」に基づいて分析された GCMS データを GCMSsolutin あるいは AXEL-NAGINATA を用いて解析する際に用いることを前提としています。その他の解析ソフトウェアでの検討は行っていません。 ※令和5年3月版、<https://www.env.go.jp/content/000123882.pdf>

(2) 適用できるデータファイル

GCMSsolutin では「.qgd」形式のデータファイル、AXEL-NAGINATA では「.CDF」形式のデータファイルをそれぞれのソフトウェアでデータ解析することを前提としています。その他の形式のデータファイルは、変換することで適用可能になるものと考えていますが、その検証までは行っていません。

1. ソフトウェア間で同一性の高い検出判定方法マニュアル

AIQS-GCによる検出結果として、GCMSsolutionでは検出／不検出で分けて出力されるのに対し、AXEL-NAGIANATAでは確度の高い順に+++++、++++、+++、++、+の5段階に分けて出力しています。このため、GCMSsolutionとAXEL-NAGIANATAで同一性のある検出結果を出力できるようにするための検出判定条件を表1のように提案し、図1のフローに従ってデータ解析を行うことにより、V点からIV点、III点、II点、I点までの5段階で検出判定する作業フローを提案しました。

(1) 用いる解析パラメータは以下のとおりです。

- 保持時間同定幅
- GCMSsolutionの類似度（リバースサーチ法：デフォルト）あるいは、AXEL-NAGIANATAの一致度（バックグラウンド減算法：デフォルト）
- QT比率（=分析試料スペクトルでの定量イオンに対する確認イオンの強度比÷標準スペクトルでの定量イオンに対する確認イオンの強度比）

(2) パラメータの設定値は表1のとおりですが、以下のとおりです。

- 保持時間同定幅：RT<20minのピークは $\leq RT \pm 6\text{sec}$ の範囲とし、RT $\geq 20\text{min}$ のピークは $\leq RT \pm 0.5\%$ の範囲とする。
- 類似度80に対し、一致度25をV点、IV点に適用する。
類似度65に対し、一致度6をIII点、II点に適用する。
- QT比率の許容範囲として $\pm 20\%$ （=0.2）をV点、III点に適用する。

(3) 検出判定作業フローは図1のとおりですが、以下のように同定点数が付与されます。

- ① 保持時間同定幅の中に該当するピークを判定対象とします。
- ② 類似度<65（あるいは一致度<6）を同定点数I点と判定します。
- ③ $|QT\text{比率}-1| > 0.2$ かつ類似度<80を同定点数II点と判定します。
- ④ $|QT\text{比率}-1| \leq 0.2$ かつ類似度<80を同定点数III点と判定します。
- ⑤ $|QT\text{比率}-1| > 0.2$ かつ類似度 ≥ 80 を同定点数IV点と判定します。
- ⑥ $|QT\text{比率}-1| \leq 0.2$ かつ類似度 ≥ 80 を同定点数V点と判定します。

表1 GCMSsolutionとAXEL-NAGIANATAにおける検出判定条件

	GCMS Solution			AXEL NAGIANATA			検出結果の特徴
	RT同定幅	類似度 リバースサーチ法	QT比率許容範囲	RI同定幅	一致度 バックグラウンド減算法	QT比率許容範囲	
V	6sec(RT<20min) 0.5%(RT \geq 20min)	80	0.2	6sec(RT<20min) 0.5%(RT \geq 20min)*	25	0.2	同定の信頼性がかなり高い
IV	6sec(RT<20min) 0.5%(RT \geq 20min)	80	-	6sec(RT<20min) 0.5%(RT \geq 20min)*	25	-	同定の信頼性が高い
III	6sec(RT<20min) 0.5%(RT \geq 20min)	65	0.2	6sec(RT<20min) 0.5%(RT \geq 20min)*	6	0.2	同定の信頼性がある
II	6sec(RT<20min) 0.5%(RT \geq 20min)	65	-	6sec(RT<20min) 0.5%(RT \geq 20min)*	6	-	同定の信頼性は低いですが、検出していないとは言いつけない
I	6sec(RT<20min) 0.5%(RT \geq 20min)	-	-	6sec(RT<20min) 0.5%(RT \geq 20min)*	-	-	同定の信頼性は極めて低い

*AXEL NAGIANATAのRI同定幅は、6sec(RT<20min)、0.5%(RT \geq 20min)に対応したRI幅

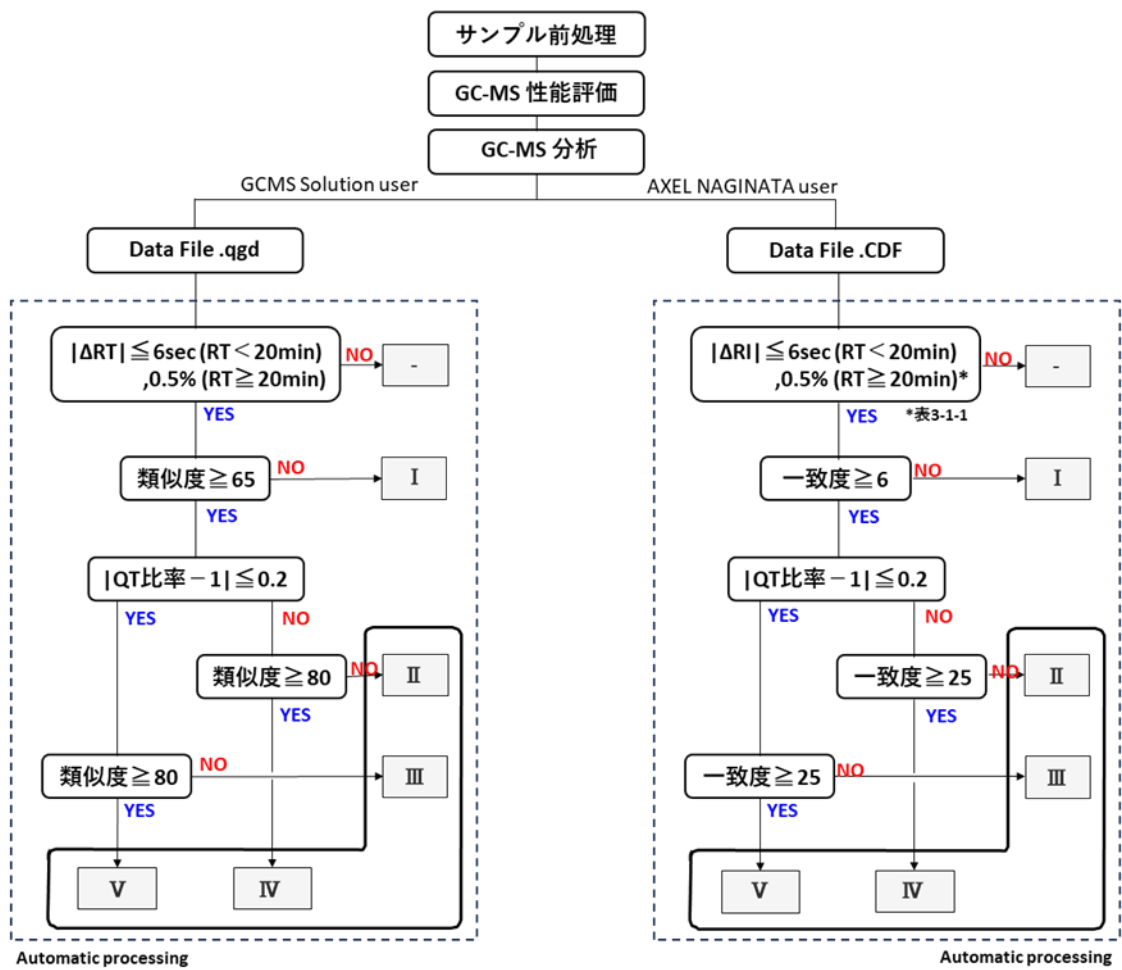


図1 GCMSsolution と AXEL-NAGIANATA における検出判定フロー

2. AIQS-GC データベース内での誤同定検証方法マニュアル

AIQS-GC 分析では、その限界として、誤同定の発生が指摘されています。一定条件の昇温ガスクロマトグラフィーとスキャンモードのシングル四重極質量分析で得られる情報は限られており、保持時間が近接する物質や類似のフラグメントイオンを生成する物質は誤同定の要因となります。そうしたなか、本研究では誤同定の発生をできるだけ少なくする努力として、誤同定の明らかな根拠が認められる物質を排除することとし、また、誤同定懸念がある物質であっても明らかな根拠が無い場合には排除せずに検出漏れの発生を避け、誤同定懸念の根拠内容を把握できるような段階的な誤同定ランクを付与することにしました。

(1) 誤同定が懸念される物質のリストを表2、表3のように作成しました。

誤同定懸念リスト①：AIQS-GC データベース内において保持時間が近接し定量イオンや確認イオンが共通するため誤同定対象となりやすい相手物質

誤同定懸念リスト②：構造に由来して類似度／一致度が高くなりやすい特異なスペクトルパターンを生成する物質

(2) 誤同定ランクを表4のようにA、B、C、D、Eの5段階ランクに区分しました。誤同定の根拠内容も合わせて示しています。

A ランク：誤同定懸念の根拠が見つからないことが確認された目的物質を検出

B ランク：目的物質 or 誤同定相手物質を検出

C ランク：目的物質 or 誤同定相手物質 or 目的物質と誤同定相手物質の両方を検出

D ランク：判別不能な物質

E ランク：誤同定相手物質を検出

(3) 誤同定検証作業フローは図2のとおりです。以下、図2中の①~⑮のチェック項目について順次確認します。

①十分な感度があるピークか否かの確認

定量値/LOQ<3 となった場合には、ピークトップの位置（保持時間）が不明確になりやすく、定量イオン以外のイオンの確認も困難であることから、定性・定量の根拠となるだけの感度が足りずに判定不能であるとして、「D ランク」を付与する。

②AIQS-GC データベース内で近接する類似ピークの存在の確認

「誤同定懸念物質リスト①」の該当物質であるか否かを確認する。

③保持時間の詳細確認1

目的物質とその誤同定懸念物質との比較において、データベース登録されている Retention Index (RI) が2以上離れている場合には両者が「RT で分離可能」と判断する。

④類似ピークの存在確認

類似度 (or 一致度) が最も高いために自動同定されたピーク以外に検出要件を満たす類似度 (or 一致度) 以上のピークが存在するか否かを確認する。

⑤保持時間 RT の詳細確認2

自動同定されたピークと④で検出要件を満たす類似ピークの RT 順 (データベース登録 RI 順) が、データベース登録されている目的物質と誤同定相手物質の RT 順 (データベ

ース登録 RI 順) と一致しているか否かを詳細に確認する。

⑥質量スペクトルの差異の詳細確認

分析試料の質量スペクトルで相対強度が 20%以上で検出されているイオンを対象に、目的物質と誤同定相手物質の間でデータベース登録されている質量スペクトルに明確な差異があるか否かを確認する。

⑦ピークトップが揃っているか否かの詳細確認 1

誤同定懸念相手物質のみから出現するはずの**③**誤同定確認イオンのピークトップが目的物質の**①**定量イオンのピークトップと揃っていることを確認する。この際、ピークトップのずれが 1 回 Scan 間隔 0.3sec までは同じピーク (揃っている) と判断し、それ以上のずれがある場合は揃っていないと判断する。

※**①**≠**②**が確認された場合には誤同定ランク E (誤同定物質を自動同定) と判定し、確認されなかった場合には誤同定ランク A (目的物質を自動同定) と判定する。

⑧ピークトップが揃っているか否かの詳細確認 2

③誤同定確認イオンのみが**①**定量イオンと揃っていて**②**確認イオンは揃っていない (**③** = **①** ≠ **②**) ことを確認する。この際、ピークトップのずれが 1 回 Scan 間隔 0.3sec までは同じピーク (揃っている) と判断し、それ以上のずれがある場合は揃っていないと判断する。

※**①**≠**②**が確認された場合には誤同定ランク E (誤同定物質を自動同定) と判定しする。

⑨ピークトップが揃っているか否かの詳細確認 3

②確認イオンのみが**①**定量イオンと揃っていて**③**誤同定確認イオンは揃っていない (**②** = **①** ≠ **③**) ことを確認する。この際、ピークトップのずれが 1 回 Scan 間隔 0.3sec までは同じピーク (揃っている) と判断し、それ以上のずれがある場合は揃っていないと判断する。

※**①** = **②** ≠ **③**が確認された場合には誤同定ランク A (目的物質を自動同定) と判定する。

⑩ピークトップが揃っているか否かの詳細確認 4

②確認イオンと**③**誤同定確認イオンの両方が**①**定量イオンと揃っている (**②** = **③** = **①**) ことを確認する。この際、ピークトップのずれが 1 回 Scan 間隔 0.3sec までは同じピーク (揃っている) と判断し、それ以上のずれがある場合は揃っていないと判断する。

※**②** = **③** = **①**であることが確認された場合には誤同定ランク B (目的物質 or 誤同定懸念物質を自動同定) と判定し、確認されなかった場合には**⑧** (E 判定) と**⑨** (A 判定) の経緯と合わせて誤同定ランク D (判別不能) と判定する。

⑪特異な質量スペクトルパターンの詳細確認 1

「誤同定懸念物質リスト②」に収録されている「高強度のイオンが限られている物質」の該当物質であるか否かを確認する。

⑫特異な質量スペクトルパターンの詳細確認 2

「誤同定懸念物質リスト②」のうち「n-アルカン」であるか否かを確認する。

⑬特異な質量スペクトルパターンの詳細確認 3

$m/z=57$ 、 71 、 85 のピークトップがすべて揃っているか否かを確認する。
※環境サンプル中では、 $m/z=43$ 、 57 、 71 、 85 のピークが常に一定強度以上で検出され、 n -アルカンが自動同定される事例が頻繁にあるが、 $m/z=43$ 、 57 、 71 、 85 のピークトップが揃っていなければ n -アルカンではないため、誤同定ランク D (判別不能) と判定する。

⑭特異な質量スペクトルパターンの詳細確認 4

標準スペクトルに存在しないピーク (n -アルカンについては $m/z=43$ 、 57 、 71 、 85 以外のピーク) が相対強度 20%以上で検出されているか否かを確認する。

※標準スペクトルに存在しないピークが検出されていなければ、誤同定ランク A (目的物質を自動同定) と判定する。

⑮特異な質量スペクトルパターンの詳細確認 4

標準スペクトルに存在しないピーク (n -アルカンについては $m/z=43$ 、 57 、 71 、 85 以外のピーク) のピークトップが、定量イオン (n -アルカンについては $m/z=43$ 、 57 、 71 、 85) のピークトップと揃っているか否かを確認する。この際、ピークトップのずれが 1 回 Scan 間隔 0.3sec までは同じピーク (揃っている) と判断し、それ以上のずれがある場合は揃っていないと判断する。

※標準スペクトルに存在しないピークのピークトップが定量イオンピークトップと揃っている場合には誤同定相手物質はわからないが誤同定ランク C (目的物質 or 誤同定相手物質 or その両方を自動同定) と判定し、揃っていない場合には誤同定ランク A (目的物質を自動同定) を判定する。

表2 要調査項目の誤同定懸念物質リスト①

(AIQS-GC データベース内において保持時間が近接し定量イオンや確認イオンが共通するため誤同定対象となりやすい相手物質を収録したリスト)

目的物質		誤同定相手物質	
要調査ID	物質名	要調査ID	物質名
4-05	2-(Dimethylamino)ethyl acrylate	-	N-[2-(dimethylamino)ethyl]acrylamide
5	Acetamiprid	-	Tetramethrin-1
11-02	m-Aminophenol	11-03	4-Aminophenol
11-03	4-Aminophenol	11-02	m-Aminophenol
35	Octanol	-	3-Toluidine
43	Captan	-	Folpet
43	Captan	-	Allethrin 2 & Bioallethrin 1
43	Captan	-	gamma-Linolenic acid methyl ester
50-01	2-Chloroaniline	-	1,4-divinylbenzene
53-01	1-Chloro-2-nitrobenzene	53-03	4-Chloronitrobenzene
53-03	4-Chloronitrobenzene	53-01	1-Chloro-2-nitrobenzene
64	Cyclohexanone	-	n-C9H20
64	Cyclohexanone	-	Oxirane, [(2-propenyloxy)methyl]-
77	Diphenylamine	136-05	N,N-Diphenylnitrosoamine
89	N,N-Dimethyldodecan-1-ylamine	90	1-Dodecanamine, N,N-dimethyl-, N-oxide
90	1-Dodecanamine, N,N-dimethyl-, N-oxide	89	N,N-Dimethyldodecan-1-ylamine
104	3-[(2-Chloro-1,3-thiazol-5-yl)methyl]-5-methyl-N-nitro-1,3,5-oxadiazinan-4-imine	-	Thiamethoxam deg.
121	Methyl dodecanoate	-	2-Phenylphenol
121	Methyl dodecanoate	-	2-Naphthol
121	Methyl dodecanoate	-	2,4-Dinitrotoluene
136-05	N,N-Diphenylnitrosoamine	77	Diphenylamine
137-02	3-Nitrotoluene	-	alpha-Terpineol
161	3- & 4-tert-Butylphenol	-	Thymol
180	Benzo(a)pyrene	-	Benzo(e)pylene
195	Oxiran-2-ylmethyl methacrylate	-	3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-Tridecafluorooctan-1-yl methacrylate
-	N-[2-(dimethylamino)ethyl]acrylamide	4-05	2-(Dimethylamino)ethyl acrylate
-	3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-Tridecafluorooctan-1-yl acrylate	4-05	2-(Dimethylamino)ethyl acrylate
-	cis-11,14-Eicosadienoic acid methyl ester	66	N-(Cyclohexan-1-ylsulfanyl)phthalimide
-	n-C15H32	89	N,N-Dimethyldodecan-1-ylamine
-	n-C15H32	90	1-Dodecanamine, N,N-dimethyl-, N-oxide
-	Thiamethoxam deg.	104	3-[(2-Chloro-1,3-thiazol-5-yl)methyl]-5-methyl-N-nitro-1,3,5-oxadiazinan-4-imine
-	Allyl heptanoate	140	1-Nonanol
-	Benzamide, N-phenyl-	157-03	Di-n-butyl phthalate
-	Thymol	161	3- & 4-tert-Butylphenol
-	Tribufos	164	Buprofezin
-	Benzo(e)pylene	180	Benzo(a)pyrene
-	Penconazole	183	Pendimethalin
-	2-Chloronaphthalene	184-01	1-Chloronaphthalene
-	2,6-Diaminotoluene	184-01	1-Chloronaphthalene
-	3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-Tridecafluorooctan-1-yl methacrylate	195	Oxiran-2-ylmethyl methacrylate
-	Benzidine	199	Didec-1-yl(methyl)amine
-	Methyl decanoate	200-01	1-methylnaphthalene

表3 要調査項目の誤同定懸念物質リスト②

(構造に由来して類似度／一致度が高くなりやすい特異なスペクトルパターンを生成する物質を収録したリスト)

要調査	物質名
4-04	2-Hydroxyethyl acrylate
4-05	2-(Dimethylamino)ethyl acrylate
20	Isophorone
84	2,4-Di-tert-pentylphenol
89	N,N-Dimethyldodecan-1-ylamine
90	1-Dodecanamine, N,N-dimethyl-, N-oxide
132	Naphthalene
157-03	Di-n-butyl phthalate
157-04	Diisobutyl phthalate
196	2-(Dimethylamino)ethyl methacrylate

表4 提案した誤同定ランク

誤同定ランク	判定根拠
A	誤同定相手物質のピークを誤同定していないことが確認できる
B	目的物質と誤同定相手物質の重なったピークを自動同定してしまった可能性が高い 目的物質のピークを同定してしまった
C	or 誤同定相手物質のピークを同定してしまった or 目的物質と誤同定相手物質を重なったピークを自動同定してしまったか、 いずれか判断できない
D	目的物質でも相手物質でもない可能性が高い／誤同定か否かの判別不能
E	誤同定相手物質のピークを同定してしまった可能性が高い

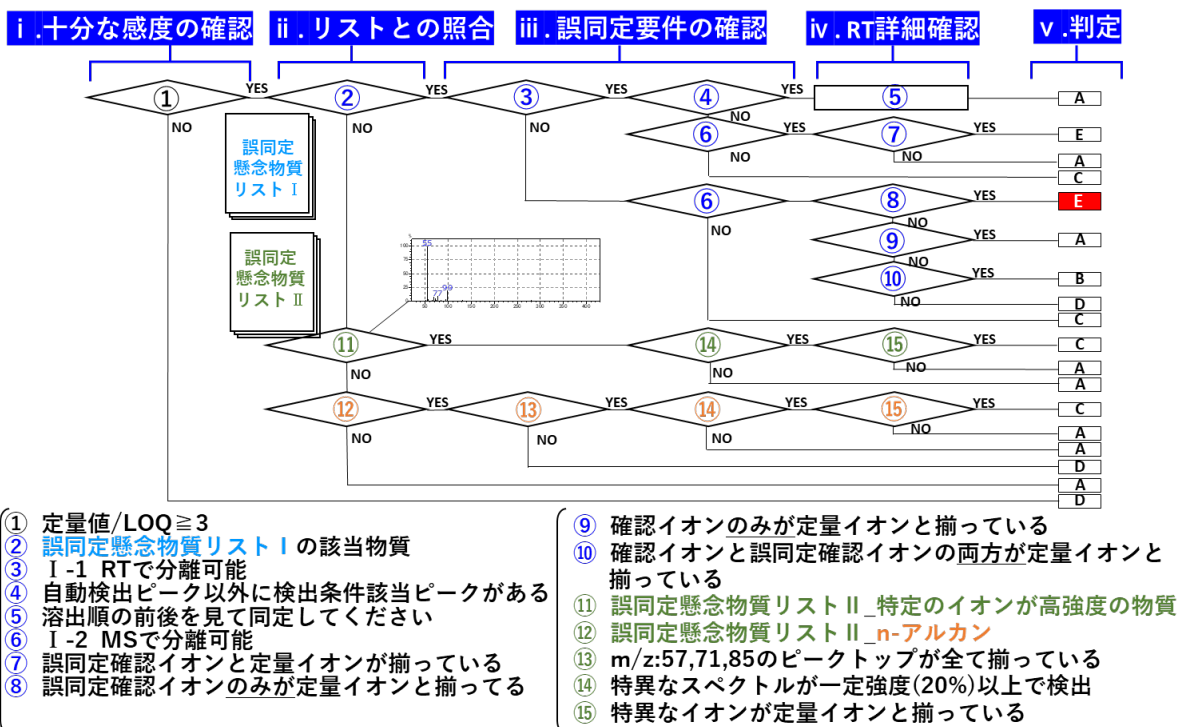


図2 誤同定チェックフローチャート