

有害化学物質分析のための GC/TQ メソッドの開発

Agilent MassHunter Optimizer による
MRM データ取り込みメソッドの迅速な開発

著者

Meena Mariappan
TÜV SÜD
Bangalore, India

Soma Dasgupta
Agilent Technologies, Inc.
Bangalore, India

Praveen Arya
Agilent Technologies, Inc.
Manesar, India

概要

欧州連合の化学物質の登録・評価・認可・制限に関する規制（REACH）は、有害化学物質を管理することを目的としており、候補リストに 219 の高懸念物質（SVHC）を掲載しています。候補リストは半年ごとに更新され、新規化合物が追加されると、ラボは分析メソッドを見直し、マルチプルリアクションモニタリング（MRM）トランジションを開発する必要があります。本アプリケーションノートでは、Agilent 8890 GC と Agilent 7000D GC/TQ システムの組み合わせを用いて、GC トリプル四重極（GC/TQ）用の Agilent MassHunter Optimizer ソフトウェアが、新しく追加された化合物に対する MRM トランジションの生成にどのように役立つかを説明します。Optimizer を使用することで、メソッドの設定や結果データの解析に必要な時間、労力、専門知識を劇的に低減できます。MRM の最適化の後、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するか、任意のデータベースの形式にエクスポートできます。この試験で開発された MRM を 170 の化合物に対する dMRM メソッドを作成するために使用しました。直線性は 0.1 ～ 10 mg/L の濃度範囲に対してプロットし、メソッドはポリマーサンプルを分析して評価しました。

はじめに

REACH は、世界中のさまざまな産業に影響する欧州規則（EC No. 1907/2006）です¹。REACH は、化学物質の管理に対する、最も複雑かつ厳重な規則のうちの 1 つといわれています。SVHC の候補物質リストは頻繁に更新され、懸念される新規化学物質が追加されます。REACH の施行以来、SVHC リストは何度も更新されており、現在 219 の物質が含まれています。SVHC は原材料から、または製造工程中に一般消費製品に混入することがあります。この規制を遵守するために、製造業者および輸入業者は、製品の SVHC 検査およびスクリーニングを実施する必要があります。

多成分残留農薬分析と同様に、1 つの手法だけですべての化合物を解析できるわけではありません。しかし、いくつかの SVHC は、ガスクロマトグラフィー質量分析法（GC/MS）を用いて分析することが可能です。『Compendium of analytical methods recommended by the forum to check compliance with REACH annex XVII restrictions』によると、GC/MS はこれらの分析対象物の多くに対して好ましい手法とされています²。

REACH 試験ラボが頻繁に直面する課題は、さまざまな製品で特定しなければならない化合物の数であり、干渉する化合物によってさらに複雑になることがよくあります。複数の MRM トランジションは、データ取り込み中に代替 MRM トランジションを使うことによって干渉の回避に役立つことがあります。GC/TQ 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ことがよくあります。GC/TQ 用の MassHunter Optimizer により、MRM トランジションのエンドツーエンドの自動最適化が可能となり、メソッド開発に必要な時間を

大幅に短縮できます。MRM データを dMRM モードで収集する場合、複雑なタイムセグメントベースのメソッドを設定するための要件を削除することができます。タイムセグメント MRM メソッドと比較して、dMRM メソッドは同様の感度、直線ダイナミックレンジ、定量真度と、より高い精度を達成できます。

本アプリケーションノートでは、異なる化学物質群に属する 170 の化合物を対象に、ダイナミック MRM データ取り込みメソッドを開発しました。最適化した MRM は、dMRM ベースの取り込みメソッドの形式で簡単に保存でき、実際のサンプルの分析にすぐに使用できます。初めに、従来のアプローチを用いてデータ取り込み MRM メソッドを開発し、このメソッドに 100 の化合物を含めました。この作業では、GC/TQ 用 MassHunter Optimizer を用いて、70 を超える化合物に対する MRM トランジションを開発し、これを既存のメソッドに加えました。

実験方法

サンプル調製

本研究で開発した GC-TQ メソッドを用いて、分析対象物の複数のグループについては 2 種類の添加ポリマーサンプルを、フタレートおよびアルキルフェノンについては 1 種類の添加ポリマーサンプルを分析しました。サンプルを 2 つに切断しました（2 cm × 2 cm）。抽出溶媒は、ヘキサン：アセトン（1:1）の混合物で構成しました。0.5 g サンプルの一部を抽出溶媒混合物 5 mL で 50 °C で、1 時間抽出しました。サンプル抽出物の 1 µL の一部を GC/TQ に注入しました。サンプル中の化合物を、70 の化合物に対して生成された外部検量線に対して定量しました。サンプル中に特定された分析対象物の反応が検量線範囲よりも高かった場合、サンプルをさらに希釈しました。

標準溶液の前処理

標準原液はそれぞれの化学物質群に従ってグループ化しました。原液を抽出溶媒中で適切に混合し、各化合物 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10 µg/mL を含む一連のキャリブレーション溶液を作製しました。

装置構成

Agilent 7693A オートサンブラを備えた 8890 GC を 7000D トリプル四重極 GC/TQ に組み合わせました。このメソッドは、ポストカラムバックフラッシュ設定で開発しました。Agilent J&W HP-5ms GC キャピラリカラム（30 m × 0.25 mm、0.25 µm）を、注入口からページ付き Agilent Ultimate ユニオンに接続しました。0.7 m × 0.15 mm の不活性化されたキャピラリを、ページ付き Ultimate ユニオンから MS に接続しました。本メソッドの目的は、1 回の分析に複数の分析対象物を含めて、合計のサンプル分析時間を短縮することでした。GC 操作パラメータを表 1 に示します。検証した成分の分析性能は、J&W DB-35ms GC カラム（30 m × 0.25 mm、0.25 µm）で十分であることが認められました。これは代替カラムとしても使用できる可能性があります。

MS 取り込みメソッド

すべての化合物に対する MRM は MassHunter Optimizer 内の MRM Optimizer ツールを用いて開発しました。データ取り込みには、表 2 の TQ 操作パラメータを使用しました。

結果と考察

本メソッドの MRM の開発には、従来のアプローチ（100 の化合物）と、GC/TQ 用 MassHunter Optimizer（70 の化合物）という 2 種類のアプローチを用いました。ダイナミック MRM ベースの取り込みメソッドは、100 の化合物に対する MRM を用いて作成しました。

自動化 MRM 開発を用いて、MassHunter Optimizer ソフトウェア内の [スキャンデータから開始] ワークフローオプションを使用し、70 の化合物の最適化した MRM を取得しました。自動化 MRM 開発のプロセスについては、他の文献で説明されています³。最適化された MRM はデータ取り込みメソッドの形式で保存でき、すぐに測定に用いることができます。70 の化合物に対する最適化 MRM を、これまでに開発された 100 の化合物に対する MRM を含むメソッドにエクスポートしました。その後、サンプル測定をしました。

MRM の自動開発のためのステップ

図 1 ～ 3 は MRM の自動開発に含まれるステップを説明しています。最適化は、次のように一連のステップで実施しました。

- 1. 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
- 2. プリカーサイオンの同定
- 3. プロダクトイオンの同定
- 4. コリジョンエネルギー（CE）の最適化

GC/TQ 用 Optimizer ソフトウェアは、スペクトルデータのデコンボリューションによって化合物を同定し、プリカーサイオンを選択します。このソフトウェアは、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、正しくターゲット化合物を同定し、プリカーサイオンを高い信頼性で選択できます。

次のステップ（図 2）は、プロダクトイオンの同定です。CE の大まかな特定を実施し、Optimizer がプロダクトイオンスキャンデータを取得中に、最大 4 つの異なる CE をユーザーが定義しました。

表 1. Agilent 8890 GC パラメータ

パラメータ	設定値	
MMI 注入モード	スプリットレス	
注入口温度	280 °C	
オープン温度プログラム	60 °C (1 分間) 40 °C /min で 170 °Cまで昇温 (0 分間) 10 °C /min で 310 °Cまで昇温 (10 分間)	
分析後	5 分間	
合計分析時間	32.75 分	
MS トランスファーライン温度	310 °C	
注入量	1 µL	
構成	MMI + 30 m + PUU + リストリクタ + MS	
カラム	1	2
	Agilent HP-5ms Ultra Inert、 30 m × 0.25 mm、0.25 µm (p/n 19091S-433UI)	活性フェーズドシリカ、不活性化、 0.7 m × 0.15 mm (p/n 160-2625-1)
コントロールモード	定流量	一定圧力
流量	1.2 mL/min	2.624 mL/min
注入口接続	マルチモード注入口 (MMI)	PSD (PUU)
出口接続	PSD (PUU)	MSD
ポストラン流量 (バックフラッシュ)	-1.55	
キャリアガス	ヘリウム、1.2 mL/min (定流量) 注入口圧力 2 psi (バックフラッシュ中)	
レストリクタ圧力	1 psi (分析時) 35 psi (ポストラン中)	

表 2. Agilent 7000D TQ MS パラメータ

パラメータ	設定値
チューニングファイル	atunes.eiex.tune.xml
モード	電子衝撃、70 eV
イオン源温度	280 °C
四重極温度	Q1 および Q2 = 150 °C
MRM モード条件	
コリジョンガスフロー	窒素、1.5 mL/min
クエンチガスフロー	ヘリウム、2.25 mL/min

次のステップは、CE の最適化であり、前ステップで選択した値を中心に最適化、またはユーザーが定義した範囲で最適化をすることができます。この最適化実験では、CE の最適化は 2 eV のステップサイズで、0 ～ 60 eV の範囲で実施しました（図 3）。

MRM 開発プロセス全体が完全に自動化され、化合物同定から CE 最適化まで、ユーザーによる操作は一切不要でした。フタレート、アミン、有機スズ化合物（NaBEt₄ による誘導体化後）、有機ケイ素、有機窒素、PAH、難燃剤

などを含むさまざまな群に属する表 3 に示す化合物に対して MRM を開発しました。開発された MRM はデータ取り込みメソッドで使用し、標準とサンプルの両方を分析しました。

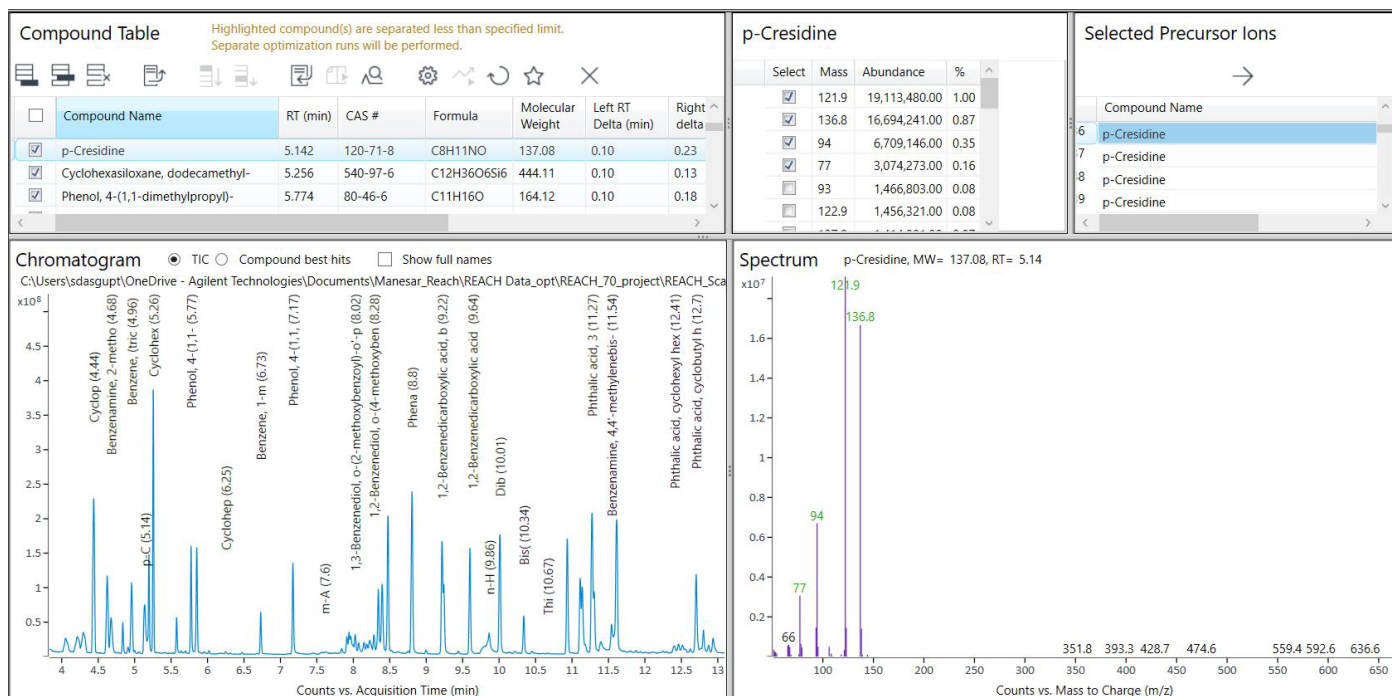


図 1. MRM 開発のステップ 1 と 2。[スキャンデータから開始] ワークフローで、リテンションタイム特定、およびプリカーサイオンの選択をしました。デコンボリューションした化合物を同定し、化合物表（上左側のパネル）にリストで示し、プリカーサイオンの最適な選択肢が自動的に選択され、隣のペインに表示されています。クロマトグラムとスペクトラムも表示されています。ユーザーは、化合物表の隣のペインに表示された選択からプリカーサイオンを変更することもできます。

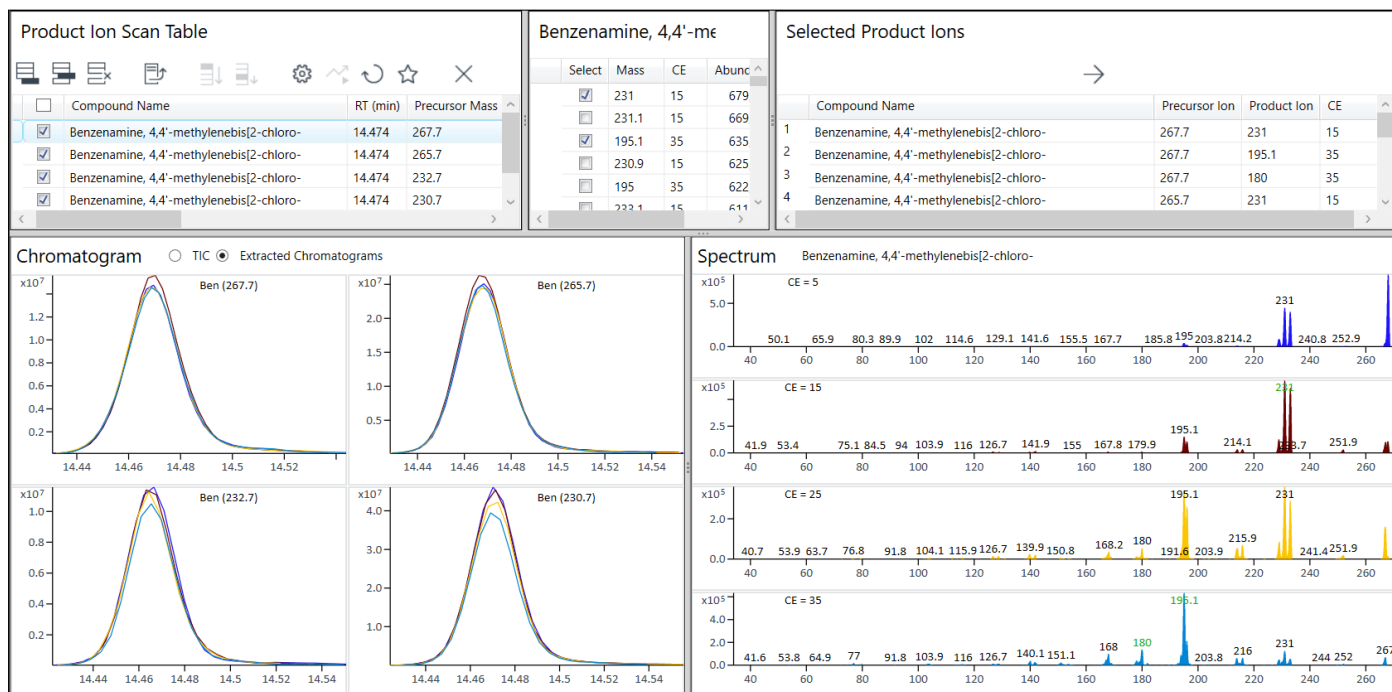


図 2. MRM 開発のステップ 3。[スキャンデータから開始] ワークフローで、プロダクトイオンの同定を行いました。これまでのステップで同定した各プリカーサについて、最大 4 つの異なる CE でプロダクトイオンスキャンを実施します。この実験では、5、15、25、35 V を使用しました。プロダクトイオンの選択は自動的に行われ、選択されたプロダクトイオンのリストが表示されています（上右側）。クロマトグラムとスペクトラムはその下に表示されています。ユーザーは選択を確認し、変更することができます。

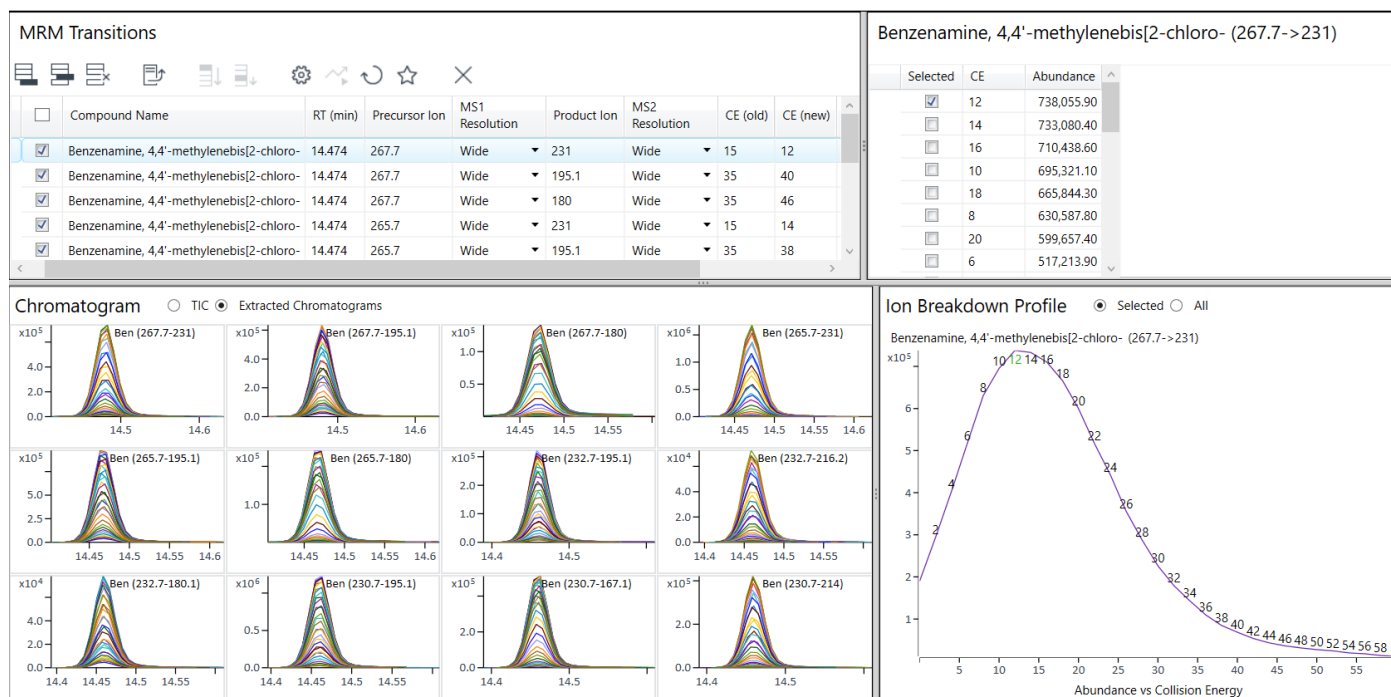


図 3. MRM 開発のステップ 4. [スキャンデータから開始] ワークフローで、コリジョンエネルギーの最適化を行いました。このウィンドウは、MRM トランジションリスト、強調表示された MRM トランジションに対するアブダンスによるコリジョンエネルギー、異なる CE での各 MRM トランジションのクロマトグラム、およびイオンブレイクダウンプロファイルが示されています。イオンブレイクダウンは、MRM トランジションアブダンスとコリジョンエネルギーを比較したプロットです。このプロットのピークは、それぞれ一致する MRM トランジションに対して最適化された CE 値に一致します。

表 3. データ取り込みメソッドに含まれる化合物と CAS 番号のリスト。MRM トランジションを用いた 100 の化合物が含まれている最初の GC/TQ メソッドは、従来のアプローチを用いて開発されました。70 の新規化合物を従来のメソッドに加え、これらの化合物に対する MRM トランジションを、GC/TQ 用 Optimizer を用いて開発しました。

番号	化合物名	CAS No.
1	2-エトキシエタノール [†]	110-80-5
2	2-エトキシエチルアセテート [†]	111-15-9
3	1,2,3-トリクロロプロパン [†]	96-18-4
4	ビス(2-メトキシエチル)エーテル [†]	111-96-6
5	オクタメチルシクロテトラシロキサン (D4) [†]	556-67-2
6	2-クロロトルエン	95-49-8
7	3-クロロトルエン	108-41-8
8	4-クロロトルエン	106-43-4
9	フェノール	108-95-2
10	1,3-ジクロロベンゼン	541-73-1
11	1,4-ジクロロベンゼン	106-46-7
12	o-トルイジン	95-53-4
13	1,2-ジクロロベンゼン	95-50-1
14	ニトロベンゼン [†]	98-95-3
15	アニリン	62-53-3
16	デカメチルシクロペンタシロキサン (D5)	541-02-6
17	2,6-ジメチルフェノール	576-26-1
18	2,3-ジクロロトルエン	32768-54-0
19	2,4-ジクロロトルエン	95-73-8
20	2,5-ジクロロトルエン	19398-61-9
21	1,2,4-トリクロロベンゼン	120-82-1
22	2-メトキシアニリン: o-アニジジン [†]	90-04-0

番号	化合物名	CAS No.
23	3,4-ジクロロトルエン	95-75-0
24	2,6-ジクロロトルエン	118-69-4
25	1,2-ビス(2-メトキシエトキシ)エタン (TEGDME、トリグリム) [†]	112-49-2
26	2-クロロフェノール	95-57-8
27	1,2,3-トリクロロベンゼン	87-61-6
28	α,α,α-トリクロロトルエン [†]	98-07-7
29	3-クロロフェノール	108-43-0
30	ナフタレン [†]	91-20-3
31	ジブチルスズ*	683-18-1
32	4-クロロフェノール	106-48-9
33	1,3,5-トリクロロベンゼン	108-70-3
34	6-メトキシ-m-トルイジン (p-クレジジン) [†]	120-71-8
35	2,4-キシリジン	95-68-1
36	2,6-キシリジン	87-62-7
37	ドデカメチルシクロヘキサシロキサン (D6) [†]	540-97-6
38	トリ-n-プロピルスズ*	2279-76-7
39	2,3-ジクロロフェノール	576-24-9
40	2,4,5-トリクロロトルエン	6639-30-1
41	2,3,6-トリクロロトルエン	2077-46-5
42	2,4-ジクロロフェノール	120-83-2
43	2,5-ジクロロフェノール	583-78-8
44	1,2,3,5-テトラクロロベンゼン	634-90-2

番号	化合物名	CAS No.
45	2,6-ジクロロフェノール	87-65-0
46	4-クロロアニリン	106-47-8
47	<i>n</i> -プチルスズ*	1118-46-3
48	<i>p</i> -(1,1-ジメチルプロピル) フェノール (PTAP) [†]	80-46-6
49	4-メチル- <i>m</i> -フェニレンジアミン (トルエン-2,4-ジアミン) [†]	95-80-7
50	2,4,5-トリメチルアニリン	137-17-7
51	3,4-ジクロロフェノール	95-77-2
52	4-クロロベンゾトリクロリド [†]	5216-25-1
53	1,2,4,5-テトラクロロベンゼン	95-94-3
54	1,2,3,4-テトラクロロベンゼン	634-66-2
55	3,5-ジクロロフェノール	591-35-5
56	4-クロロ- <i>o</i> -トルイジン	95-69-2
57	2,4,5-トリクロロフェノール	95-95-4
58	2,3,4-トリクロロフェノール	15950-66-0
59	<i>p</i> -フェニレンジアミン	106-50-3
60	テトラクロロトルエン	2136-89-2
61	アセナフチレン [†]	208-96-8
62	アセナフテン [†]	83-32-9
63	2,3,5-トリクロロフェノール	933-78-8
64	2,3,6-トリクロロフェノール	933-75-5
65	2,6,α,α-テトラクロロトルエン	81-19-6
66	2,4,6-トリクロロフェノール	88-06-2
67	トリプチルスズ*	1461-22-9
68	3,4,5-トリクロロフェノール	609-19-8
69	2,4-ジニトロトルエン (2,4-DNT) [†]	121-14-2
70	ペンタクロロベンゼン	608-93-5
71	フタル酸ジエチル [†]	84-66-2
72	トリ- <i>n</i> -オクチルスズ*	2587-76-0
73	4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノール (4- <i>tert</i> -オクチルフェノール) [†]	140-66-9
74	フルオレン [†]	86-73-7
75	2,3,5,6-テトラクロロフェノール	935-95-5
76	2-フェニルフェノール	90-43-7
77	2,3,4,5-テトラクロロフェノール	4901-51-3
78	テトラプチルスズ*	1461-23-2
79	2,3,4,6-テトラクロロフェノール	58-90-2
80	2,4-ジアミノアニソール	615-05-4
81	4-ノニルフェノール、分岐型および直鎖型 [†]	--
82	4-プロモジフェニルエーテル	101-55-3
83	2,3,4,5,6-ペンタクロロトルエン	877-11-2
84	4-プロモビフェニル	92-66-0
85	4-フェニルフェノール	92-69-3
86	2,4,6-トリプロモフェノール	118-79-6
87	ヘキサクロロベンゼン	118-74-1
88	2-ナフチルアミン	91-59-8
89	4- <i>n</i> -オクチルフェノール	1806-26-4
90	リン酸トリス(2-クロロエチル) [†]	115-96-8
91	ジイソプロピルフタレート	131-16-8

番号	化合物名	CAS No.
92	4-ビフェニリルアミン [†]	92-67-1
93	安息香酸ベンジル [†]	120-51-4
94	1,2,4-ベンゼントリカルボン酸 1,2 (トリメリット酸無水物) (TMA) [†]	552-30-7
95	フェナントレン [†]	85-01-8
96	5-ニトロ- <i>o</i> -トルイジン	99-55-8
97	アントラセン [†]	120-12-7
98	2-(1-メチルプロピル)-4,6-ジニトロフェノール [†]	88-85-7
99	ペンタクロロフェノール [†]	87-86-5
100	テトラクロログアヤコール	2539-17-5
101	フタル酸ジイソブチル [†]	84-69-5
102	4- <i>n</i> -ニルフェノール	104-40-5
103	5- <i>tert</i> -ブチル-2,4,6-トリニトロ- <i>m</i> -キシレン (ムスクキシレン) [†]	81-15-2
104	ジフェニルスズ*	1135-99-5
105	フタル酸ジ- <i>n</i> -ブチル [†]	84-74-2
106	フタル酸ビス(2-メトキシエチル) [†]	117-82-8
107	4,4'-ジプロモジフェニルエーテル	2050-47-7
108	4,4'-ジプロモビフェニル	92-86-4
109	フタル酸ジイソアミル [†]	605-50-5
110	フルオランテン [†]	206-44-0
111	4-アミノアゾベンゼン [†]	60-09-3
112	<i>n</i> -オクチルスズ*	3091-25-6
113	フタル酸イソベンチルベンチル [†]	776297-69-9
114	4,4'-オキシジアニリン [†]	101-80-4
115	ビレン [†]	129-00-0
116	4,4'-ジアミノジフェニルメタン (MDA) [†]	101-77-9
117	フタル酸ジベンチル (DPP) [†]	131-18-0
118	2,4,5-トリプロモジフェニル	115245-07-3
119	2,3,4-トリプロモジフェニルエーテル	147217-78-5
120	1-メチルビレン	2381-21-7
121	<i>o</i> -アミノアゾトルエン [†]	97-56-3
122	4,4'-メチレンジ- <i>o</i> -トルイジン [†]	838-88-0
123	トリフェニルスズ*	639-58-7
124	フタル酸ジヘキシル [†]	84-75-3
125	フタル酸ブチルベンジル [†]	85-68-7
126	2,2',4,5'-テトラプロモビフェニル	60044-24-8
127	3,3',4,4'-テトラプロモビフェニル	77102-82-0
128	N,N,N',N'-テトラメチル-4,4'-メチレンジアニリン (ミヒラーズベース) [†]	101-61-1
129	1,2-ベンゼンジカルボン酸 (C7 を主成分とする C6 ~ C8 分岐) アルキルエステル (DHNUP C7-C11 またはフタル酸ジイソヘブチル) [†]	71888-89-6
130	ベンゾ[a]アントラセン [†]	56-55-3
131	クリセン [†]	218-01-9
132	ベンジジン	92-87-5
133	2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4,6-ジ- <i>tert</i> -ブチルフェノール (UV-320) [†]	3846-71-7
134	トリシクロヘキシルスズ*	3091-32-5
135	4,4'-メチレンビス(2-クロロアニリン) (MOCA) [†]	101-14-4
136	2-(2H-ベンゾトリアゾール-2-イル)-6- <i>sec</i> -ブチル-4- <i>tert</i> -ブチルフェノール (UV-350) [†]	36437-37-3

番号	化合物名	CAS No.
137	2,2',4,4'-テトラブプロモジフェニルエーテル	5436-43-1
138	フタル酸ジシクロヘキシル (DCHP) [†]	84-61-7
139	1,2-ベンゼンジカルボン酸 (C7 ~ 11 分岐および直鎖アルキルエステル) (ヘプチルウンデシルフタル酸エステル) [†]	68515-42-4
140	フタル酸ビス(2-エチルヘキシル) [†]	117-81-7
141	2,2',4,5'-ペンタブプロモジフェニル	59080-39-6
142	ジ- <i>n</i> -オクチルスズ*	3542-36-7
143	2-(3,5-ジ- <i>tert</i> -アミル-2-ヒドロキシフェニル)ベンゾトリアゾール (UV-328) [†]	25973-55-1
144	3,3'-ジメチルジベンジジン	119-93-7
145	フタル酸ジ- <i>n</i> -オクチル [†]	117-84-0
146	ベンゾ[b]フルオランテン [†]	205-99-2
147	2,2',4,4',5'-ペンタブプロモジフェニルエーテル	60348-60-9
148	ベンゾ[j]フルオランテン	205-82-3
149	フタル酸ジイソノニル [†]	68515-48-0
150	4,4'-チオジアニリン	139-65-1
151	ベンゾ[k]フルオランテン [†]	207-08-9
152	3,3'-ジシクロベンジジン	91-94-1
153	ベンゾ[e]ピレン	192-97-2
154	3,3'-ジメトキシベンジジン	119-90-4

番号	化合物名	CAS No.
155	4,4'-ビス(ジメチルアミノ)ベンゾフェノン (ミヒラーケトン) [†]	90-94-8
156	ベンゾ[a]ピレン [†]	50-32-8
157	フタル酸ジノニル	84-76-4
158	フタル酸ジイソデシル [†]	26761-40-0
159	3,3',4,4',5,5'-ヘキサブプロモジフェニル	60044-26-0
160	2,2',4,4',5,5'-ヘキサブプロモジフェニル	59080-40-9
161	2,2',4,4',5,5'-ヘキサブプロモジフェニルエーテル	68631-49-2
162	HBCDD [†]	25637-99-4
163	インデノ[1,2,3- <i>cd</i>]ピレン [†]	193-39-5
164	ジベンズ[a,h]アントラセン [†]	53-70-3
165	ベンゾ[g,h,i]ペリレン [†]	191-24-2
166	2,2',3,4,4',5,6'-ヘプタブプロモジフェニルエーテル	207122-16-5
167	ジベンズ[a,i]ピレン	191-30-0
168	ドデカシクロペンタシクロ[12.2.1.16,9.02,13.05,10]オクタデカ-7,15-ジエン (ドデカシクロドデカヒドロジメタノジベンゾシクロオクテン) [†]	-
169	ジベンズ[a,e]ピレン	192-65-4
170	ジベンズ[a,h]ピレン	189-64-0

[†] 印のついた化合物に対する MRM は TQ Optimizer を用いて開発しました。

* NaBEt₄ による誘導体化後

** NaOH 存在下での無水酢酸によるアセチル化後

表 4 に一覧で示した 170 の化合物の混合物は、開発したデータ取り込みメソッドを用いて GC/TQ で分析しました。図 4 に、化合物混合物の抽出した MRM クロマトグラムを示します。

表 4. 追加した 70 の新規化合物、R²、および検証したサンプルの検出濃度のリスト

番号	化合物名	R ²	検出濃度 (ppm)		
			ポリマーサンプル 1	ポリマーサンプル 2	ポリマーサンプル 3
1	2-エトキシエタノール	0.999			
2	2-エトキシエチルアセテート	0.990			
3	1,2,3-トリクロロプロパン	0.999			
4	ビス(2-メトキシエチル)エーテル	0.999			
5	オクタメチルシクロテトラシロキサン (D4)	0.999	6.45	2.17	
6	ベンゼン、ニトロ-	0.999			
7	デカメチルシクロペンタシロキサン (D5)	0.999	7.95	35.85	
8	2-メトキシアニリン：o-アニジン	0.999	13.20	5.31	
9	1,2-ビス-(2-メトキシエトキシ)エタン (TEGDME、トリグリム)	0.998	8.55	5.23	
10	ベンゾトリクロリド	0.999	7.30	-	
11	ナフタレン	0.999			
12	6-メトキシ- <i>m</i> -トルイジン (p-クレジジン)	0.999	12.90	5.89	
13	ドデカメチルシクロヘキサシロキサン (D6)	0.999	41.60	84.21	
14	p-(1,1-ジメチルプロピル) フェノール (PTAP)	0.999			
15	4-メチル- <i>m</i> -フェニレンジアミン (トルエン-2,4-ジアミン)	0.998	11.10		
16	4-クロロベンゾトリクロリド	0.999	8.20	7.01	
17	アセナフチレン	0.999			

番号	化合物名	R ²	検出濃度 (ppm)		
			ポリマーサンプル 1	ポリマーサンプル 2	ポリマーサンプル 3
18	アセナフテン	0.999			
19	2,4-ジニトロトルエン (2,4-DNT)	0.992	10.15	—	
20	フタル酸ジエチル	0.998			
21	4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノール (4-tert-オクチルフェノール)	0.995	10.80	2.02	33.60
22	フルオレン	0.997			
23	4-ノニルフェノール、分岐型および直鎖型	0.989	13.40	6.43	
24	リン酸トリス(2-クロロエチル)	0.987	13.25	8.09	
25	4-ビフェニリルアミン	0.992			
26	安息香酸ベンジル	0.999	14.65	9.66	
27	1,2,4-ベンゼントリカルボン酸 1,2 無水物 (トリメリット酸無水物) (TMA)	0.978	6.85	9.81	
28	フェナントレン	0.999			
29	アントラセン	0.998			
30	2-(1-メチルプロピル)-4,6-ジニトロフェノール	0.975	16.20	10.86	
31	ペンタクロロフェノール	0.987			
32	フタル酸ジ-n-ブチル	0.999	13.55	6.24	
33	5-tert-ブチル-2,4,6-トリニトロ-m-キシレン (ムスクキシレン)	0.982	6.55	8.83	
34	フタル酸ジイソブチル	0.998	13.55	11.87	168.50
35	フタル酸ビス(2-メトキシエチル)	0.997	13.60	11.76	163.80
36	フタル酸ジイソアミル	0.994	10.70	9.74	8.05
37	フルオランテン	0.999			
38	4-アミノアゾベンゼン	0.991	11.10	9.74	
39	フタル酸イソベンチルベンチル	0.999	10.90	7.99	80.50
40	4,4'-ジアミノジフェニルエーテル	0.972	14.70	9.68	
41	ピレン	0.999			
42	4,4'-ジアミノジフェニルメタン (MDA)	0.986	13.90	6.61	
43	フタル酸ジベンチル (DPP)	0.999	10.90	6.94	118.00
44	2-アミノアゾトルエン	0.995	12.45	9.63	
45	4,4'-ジアミノ-3,3'-ジメチルジフェニルメタン	0.978	10.15	9.41	
46	フタル酸ジヘキシル	0.997	10.20	10.31	121.40
47	フタル酸ブチルベンジル	0.997	11.10	10.40	119.90
48	N,N,N',N'-テトラメチル-4,4'-メチレンジアニリン (ミヒラズベース)	0.999	10.20	—	
49	フタル酸ジアルキル (C7 を主成分とする C6 ~ C8 分岐) エステル (DHNUP C7-C11 またはフタル酸ジイソヘプチル)	0.987	10.15	11.62	
50	ベンゾ[a]アントラセン	0.999			
51	クリセン	0.999			
52	2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4,6-ジ-tert-ブチルフェノール (UV-320)	0.996	7.00	—	
53	4,4'-メチレンビス(2-クロロアニリン) (MOCA)	0.994	14.00	9.39	
54	2-(2H-ベンゾトリアゾール-2-イル)-6-sec-ブチル-4-tert-ブチルフェノール (UV-350)	0.989	6.85	11.02	
55	フタル酸ジシクロヘキシル (DCHP)	0.995	9.60	9.45	123.80
56	1,2-ベンゼンジカルボン酸 (C7 ~ 11 分岐および直鎖アルキルエステル) (ヘプチルウンデシルフタル酸エステル)	0.989	7.30	11.20	128.50
57	フタル酸ビス(2-エチルヘキシル)	0.997	9.25	9.82	154.40
58	2-(3,5-ジ-tert-アミル-2-ヒドロキシフェニル)ベンゾトリアゾール (UV-328)	0.993	5.90	11.13	
59	フタル酸ジ-n-オクチル	0.991	10.05	9.40	130.60
60	ベンゾ[b]フルオランテン	0.999			
61	フタル酸ジイソノニル	0.976	9.65	13.73	
62	ベンゾ[k]フルオランテン	0.999			

番号	化合物名	R ²	検出濃度 (ppm)		
			ポリマーサンプル 1	ポリマーサンプル 2	ポリマーサンプル 3
63	4,4'-ビス(ジメチルアミノ)ベンゾフェノン (ミヒラケートン)	0.971	8.05	11.88	
64	ベンゾ[a]ピレン	0.999			
65	フタル酸ジイソデシル	0.975			
66	HBCDD	0.995			
67	インデノ[1,2,3-cd]ピレン	0.999			
68	ジベンズ[a,h]アントラセン	0.999			
69	ベンゾ[g,h,i]ペリレン	0.999			
70	ドデカクロロペンタシクロ[12.2.1.16.9.02,13.05,10]オクタデカ-7,15-ジエン (ドデカクロロドデカヒドロジメタノジベンゾシクロオクテン)	0.984	7.55	12.14	

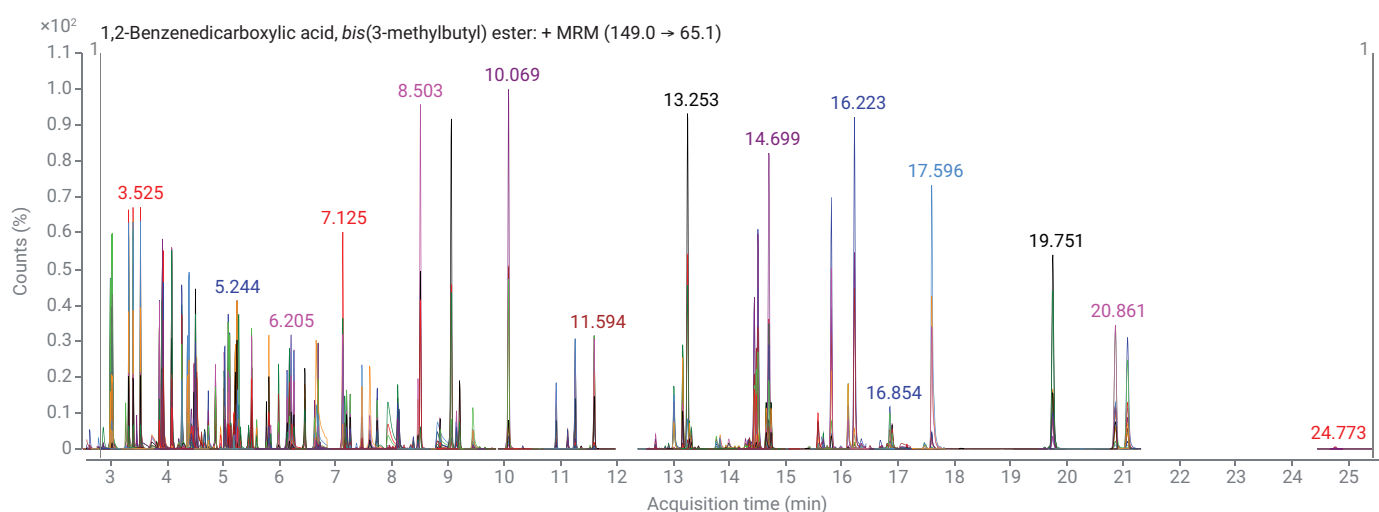


図 4. 170 の化合物(フタレート、アリルアミン、PAH など)の抽出した MRM

サンプル分析

GC/TQ メソッドを用いて、3 つのサンプル抽出物を分析しました。これらサンプルのクロマトグラムおよび 0.5 mg/L の混合化合物標準の分析結果を図 5 ～ 8 に示します。

70 の化合物を試験サンプルのターゲット分析用を選択しました。7 つのキャリブレーションポイント、0.1、0.2、0.5、1、2、5、10 mg/L による外部標準メソッドを用いて化合物の検量線を作成しました。大半の化合物の直線回

帰係数は濃度範囲内で 0.97 を上回りました。キャリブレーション方程式と R² データを表 4 に示します。

ピークのクラスターが溶出したノニルフェノール（直鎖型と分岐型）などの化合物については、ピーククラスターでの総面積を検量線の作成の対象としました。1,2-ベンゼンジカルボン酸、C7 ～ 11 分岐と直鎖状のアルキルエステル（ヘプチルウンデシルフタル酸エステル）などの、ベースライン分離のあるクラスターと

して溶出したその他の化合物については、化合物の数学的な特性を用いました。レスポンスは、個別のピークすべての総計ピーク面積として計算し、その濃度に対してプロットしました。図 9 に、異なる化合物クラスに属する化合物の代表的な検量線を示します。

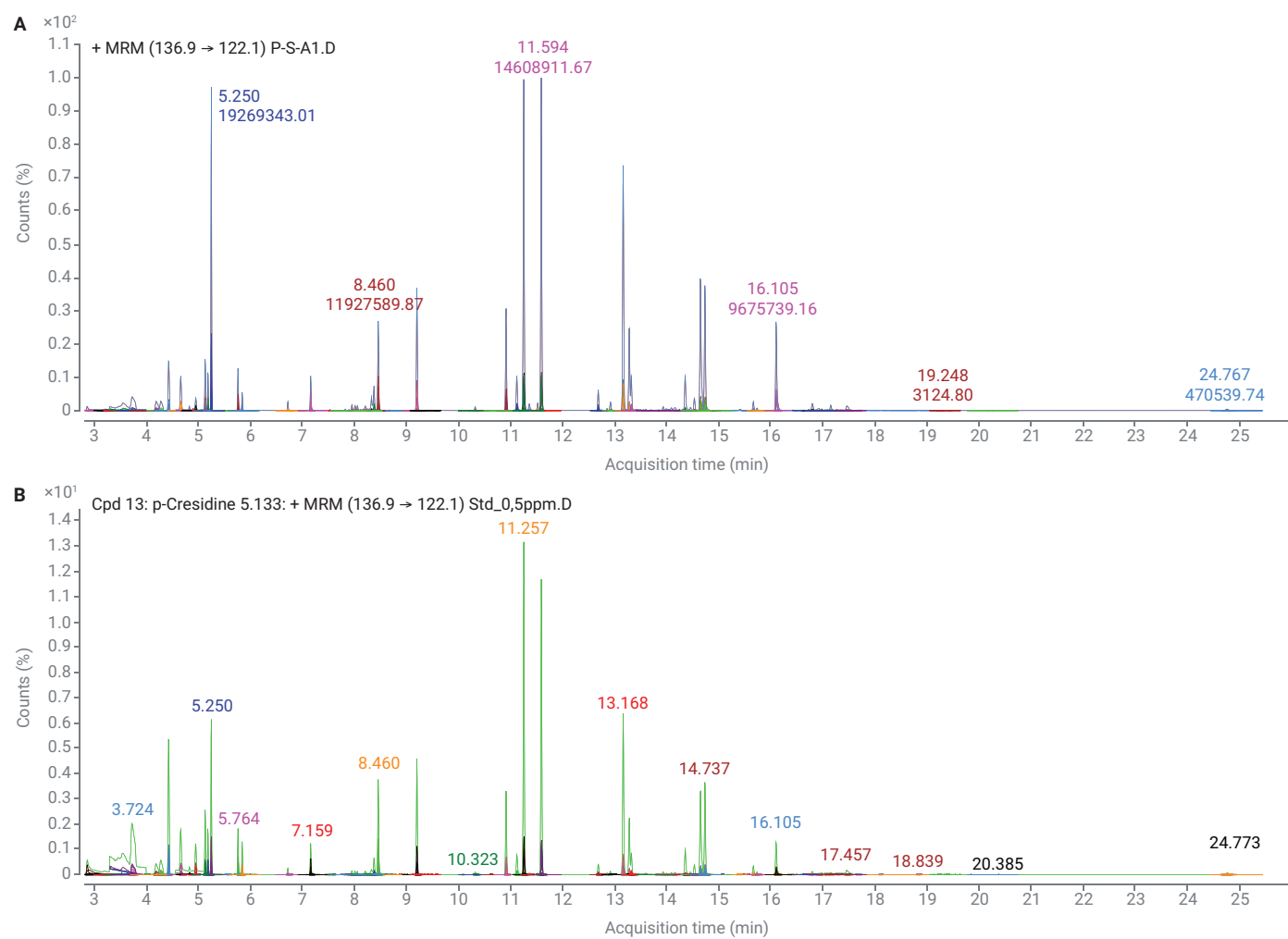


図 5. 実際のサンプル (A) および 0.5 mg/L 標準 (B) 中の化合物の抽出した MRM クロマトグラム

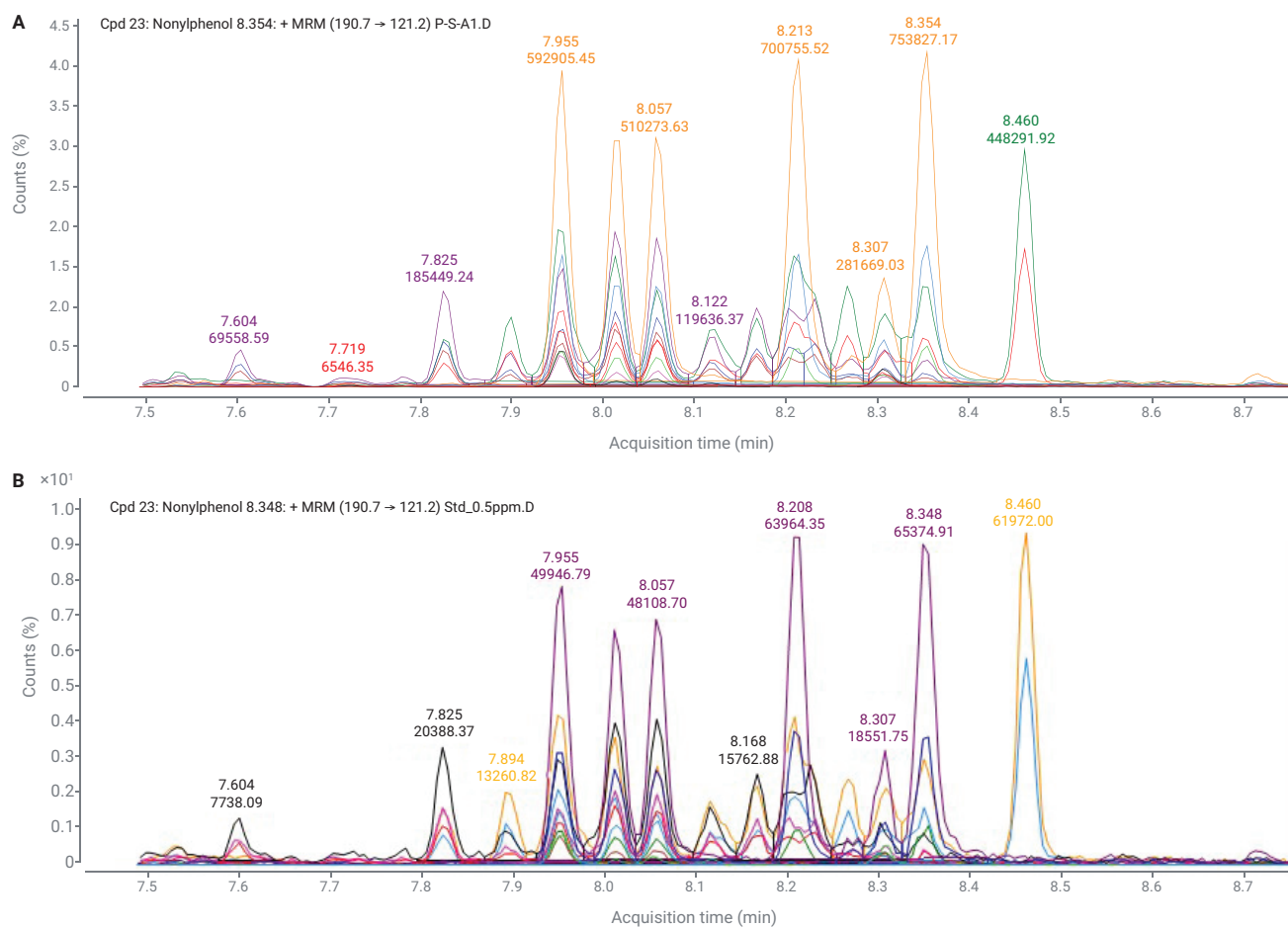


図 6. サンプル (A) および 0.5 mg/L 標準 (B) 中のノニフェノール (分岐型と直鎖型) のクロマトグラム

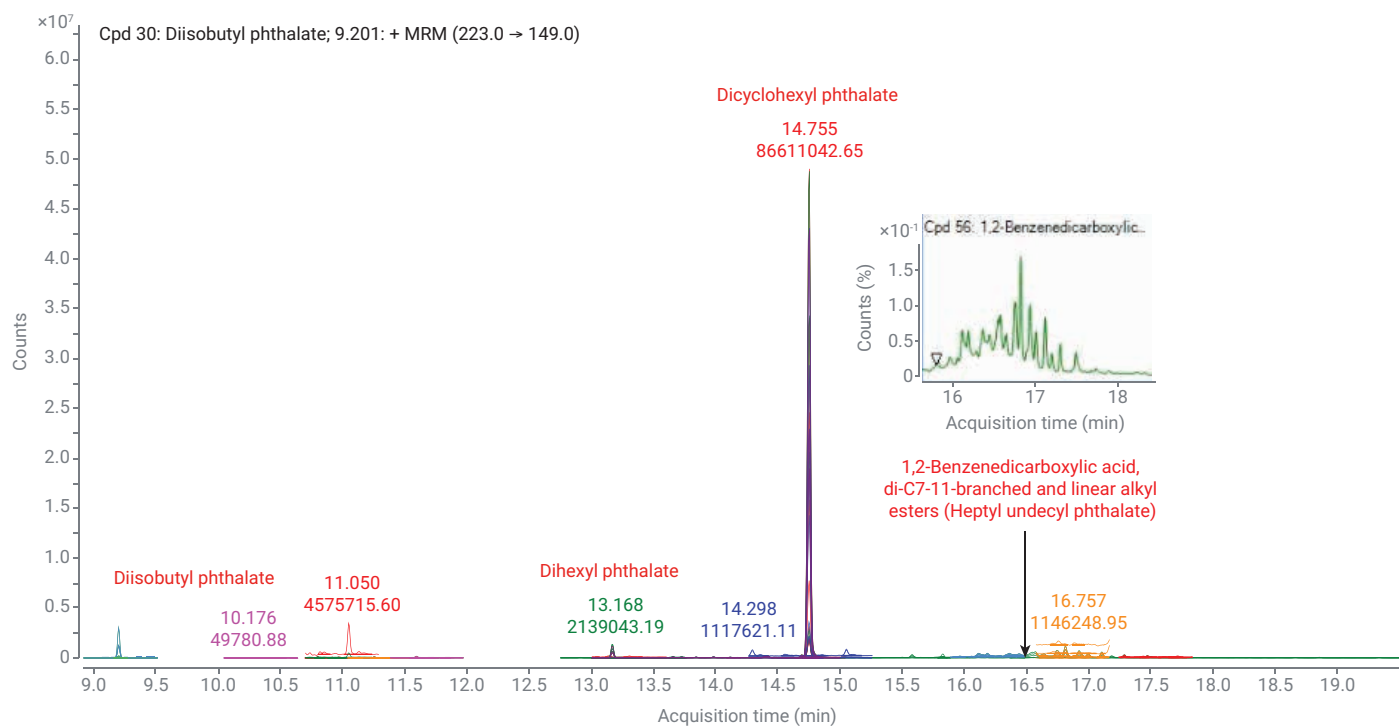


図 7. サンプルの 1 つに検出されたフェノール化合物の一部の結果

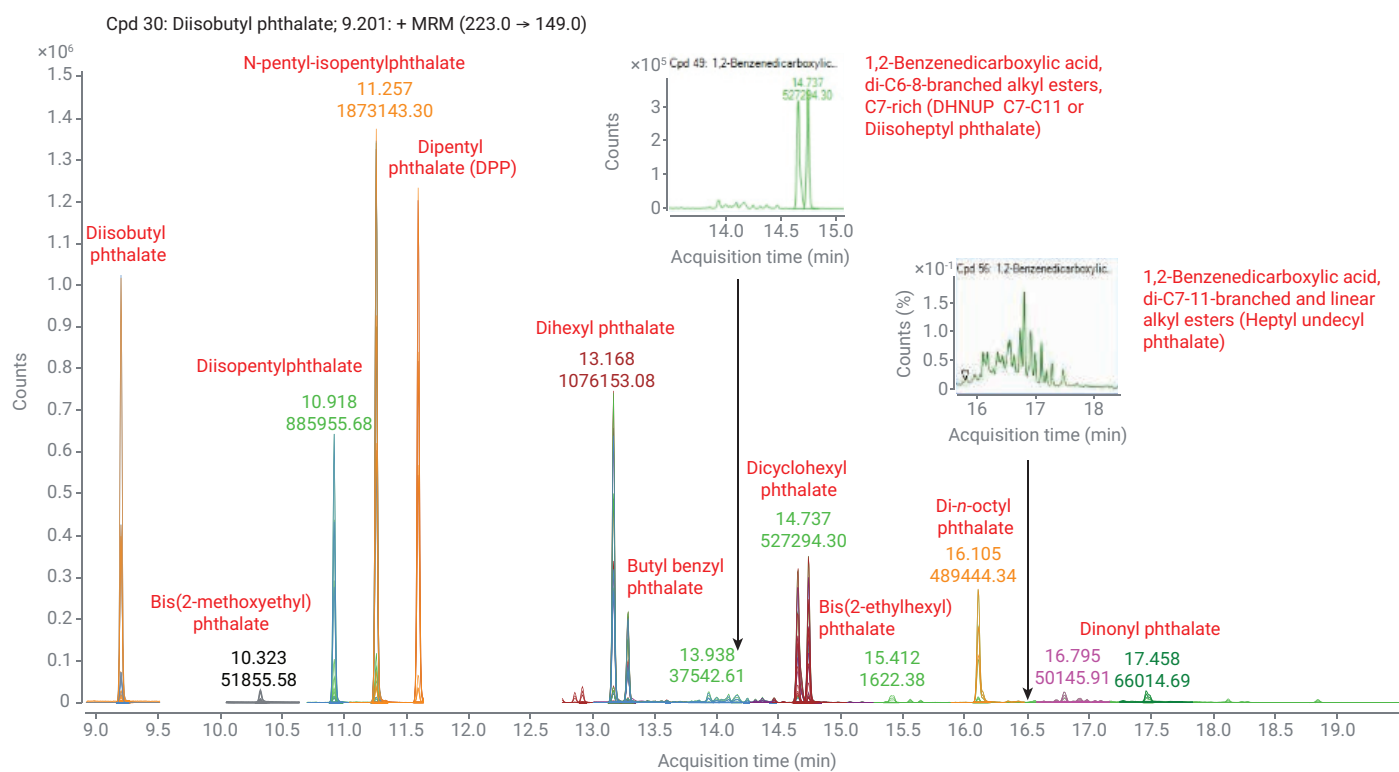


図 8. 0.5 mg/L 標準混合物中のフタル酸エステルの結果

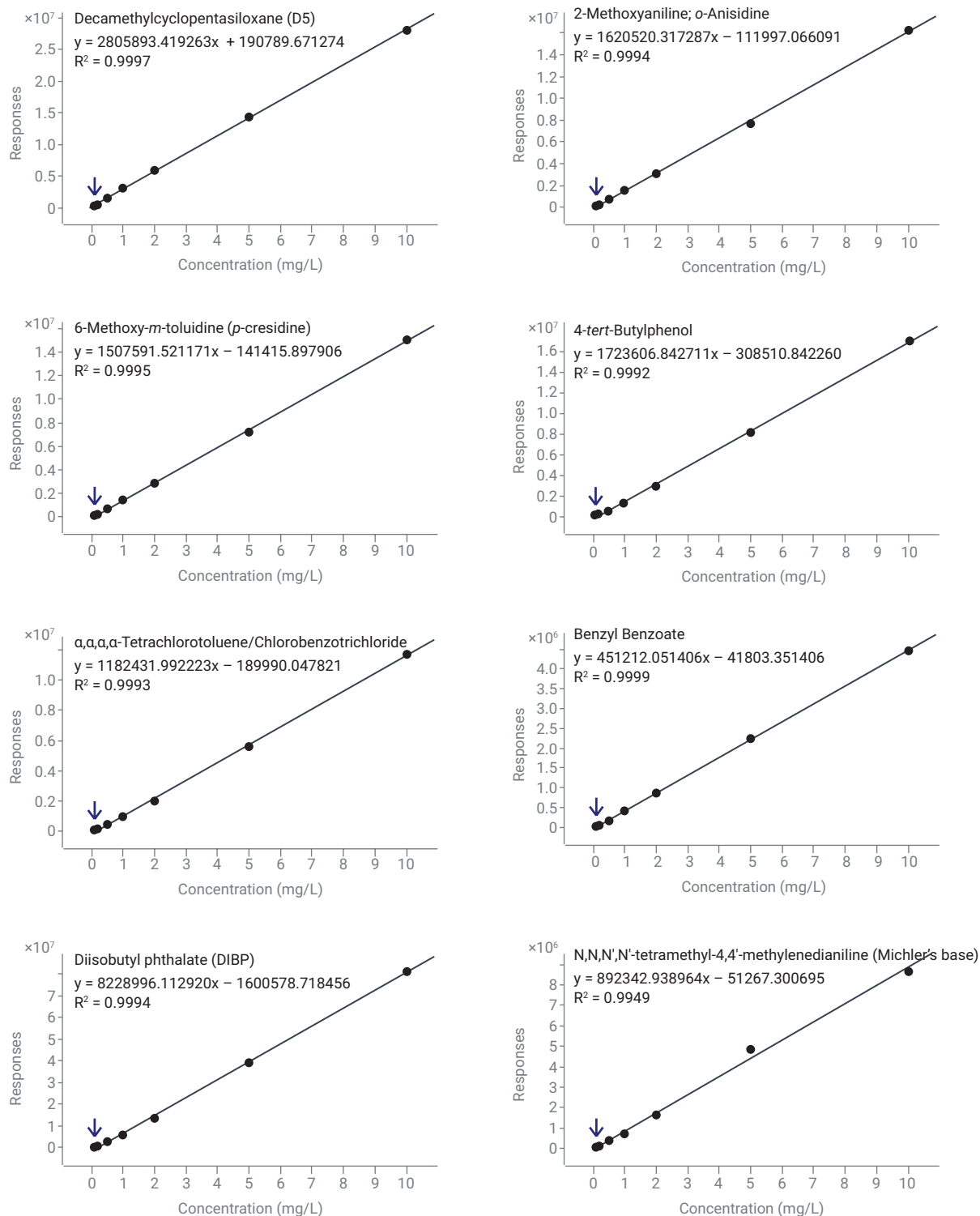


図 9. 異なる化合物クラスからの化合物の選択に対するキャリブレーション結果の例

結論

GC/TQ 用 Agilent MassHunter Optimizer は MRM トランジション開発に必要な時間と労力を大幅に低減します。SVHC のような化合物の複雑な混合物の場合、MRM の選択性によりメソッドの性能が大幅に向上し、サンプルの複雑な確認の必要性が低下しました。

生成した MRM のリストは、ダイナミック MRM メソッドまたはタイムセグメントベースの MRM メソッドとしてエクスポートするか、データベースとして保存できます。代替 MRM トランジションは、正確な定量とともに、ターゲット化合物の有無を明確に確認するために使用できます。

Optimizer ツールを用いて、70 の化合物に対する MRM トランジションを [スキャンデータから開始] ワークフローを用いて開発しました。新しく開発した MRM を、既に 100 の MRM を含む MRM データ取り込みメソッドに追加しました。この 100 の MRM は従来のアプローチを用いて開発されました。

これまで、従来のメソッドを用いた MRM 開発に要する時間は 1 週間を超えていました。Agilent 8890 GC と Agilent 7000D TQ とともに MassHunter Optimizer を用いることで、MRM 開発にかかる合計時間は、データ分析を含めて、24 時間以内でした。合計 41 のクロマトグラフィー分析（スキャン分析 1 分析とプロダクトイオン同定のための 20 分析と CE 最適化のための 20 分析）は、ユーザーによる操作が不要で、すべて自動で取得しました。このワークフローは、複雑な複数化合物の MRM メソッドを構築するために必要な時間と労力を大幅に削減します。

このメソッドは、REACH 規則で規制されている 70 の化合物に対する許容可能なキャリブレーションデータを提供します。また、MRM 取り込みメソッドを用いて、3 種類の検証したサンプル中の 70 の化合物の微量定量も行いました。

参考文献

1. The implementation of REACH and CLP are managed by ECHA, the European Chemicals Agency: <https://www.echa.europa.eu/web/guest/regulations/reach/understanding-reach>
2. Forum methodology for recommending analytical methods to check compliance with REACH Annex XVII restrictions
3. Andrianova, A.; Quimby, B.; Churley, M. Agilent MassHunter Optimizer を用いた US EPA 8270 準拠の GC/TQ MRM メソッドの開発. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-2086JAJP, **2020**.

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。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2021

Printed in Japan, September 27, 2021

5994-3748JAJP

DE44369.4990393519