環境



# 水素キャリアガスおよび Agilent HydroInert イオン源を用いた GC/MS による PAH の 分析



## 概要

Agilent 8890 GC および Agilent 5977C GC/MSD を、水素オペレーションに最適化された新しいイオ ン源および水素キャリアガスと組み合わせて使用しました。Agilent HydroInert イオン源を、本アプリ ケーションノートに記載されているメソッドで使用すると、多環芳香族炭化水素(PAH)の分析において 0.25 ~ 1,000 pg の全キャリブレーション範囲で優れたピーク形状、感度、直線性を実現できます。機 器の構成および使用条件を適切に選択することによって、水素キャリアガスを用いたシステムで、ヘリウ ムガスを用いたシステムに匹敵するかそれ以上の結果を得ることができます。有機物濃度の高い土壌か らの抽出物の繰り返し注入において、システムの精度と堅牢性が実証されました。

## 著者

Bruce D. Quimby, Samuel Haddad, and Anastasia A. Andrianova Agilent Technologies, Inc.

## はじめに

PAH は、分子中の環の間で共有される一対 の炭素原子を持つ 2 個以上の縮合したベン ゼン環で構成されている化合物のグループで す。PAH には複数の発生源があるため、汚染 物質として世界中に広く分布しています。PAH は至る所に存在しており、海産物、食用油、燻 製肉などさまざまな食品で微量汚染物質とし てモニタリングされます。また、空気、水、お よび土壌などの環境内でもモニタリングされ ます。PAH の分析には HPLC/UV、GC/FID、 GC/MS、GC/MS/MS など複数の手法が用い られています。

本アプリケーションノートでは、GC キャリアガ スとして水素を使用した、選択イオンモニタリ ング (SIM) モードでの GC/MS を取り上げ ます。一般的に GC/MS 分析用のキャリアガ スとしてヘリウムが最適であると考えられて いますが、ヘリウム不足の再発によりキャリア ガスとして水素を使用するアプリケーションの 需要が高まっています。GC/MS 分析に水素 を用いる場合、いくつか考慮すべき事項があ ります。

第一に、水素は反応性ガスであり、注入口や カラム内、時には質量分析計の電子イオン化 (EI) イオン源内で化学反応が生じる可能性 があり、分析結果が変わってしまうことがあり ます。重要なことは、GC/MS内が高温条件 下である場合に分析成分と水素ガスとの化学 反応の問題を起こさないようにすることです。

第二に、クリーンな水素ガスの信頼できるソー スを使用することが大切です。長期間使用す る場合は、純度が > 99.9999%で、水と酸 素についてはそれぞれ低濃度であることが仕 様で示された発生装置を推奨します。水素発 生装置とともに使用するためには水分フィル タを推奨します。短期間の使用には、クロマト グラフィーまたは研究グレードの水素ボンベ の使用が可能です。また、可燃性ガスや爆発 性ガスを扱う全作業者が適切なガスの取り扱 いおよび使用を含むラボ安全コースを受講す ることも推奨します。

加えて、GC/MS アプリケーションでは、水 素キャリアガスに切り替えるときにガスクロ マトグラフと質量分析計でハードウェアの変 更が必要となる場合があります。『Agilent El GC/MS Instrument Helium to Hydrogen Carrier Gas Conversion user guide』<sup>1</sup> (Agilent El GC/MS 機器のヘリウムから水素 キャリアガスへの切り替えのユーザーガイド) は、切り替えの手順を詳細に説明しています。 この手順には、注入ロライナ、カラム、真空ポ ンプ、El イオン源の選択も含まれています。ク ロマトグラフィー条件および注入溶媒の調整 が必要となることもあります。

水素キャリアガスでみられる利点の1 つは、 El イオン源のクリーニングの必要性が低減す ることです。分析中にイオン源へ低流量の水 素を連続的に加える Agilent JetClean テクノ ロジーの使用時にも、同様の改善があります。 <sup>2,3,4</sup> 水素キャリアガスの使用でよくみられる 2 つ目の利点は、クロマトグラフィー分離能を 維持したまま分析時間を短縮できることです。

PAH は相対的に耐久性のある化合物である ため、本アプリケーションノートで説明する最 適化されたメソッドを使用して推奨に従って実 行することにより、水素キャリアガスでの分析 が可能となります。今回取り組んだ PAH 分析 の他の課題には、遅れて溶出する分析成分に よく見られるピークテーリング、および全キャ リブレーション範囲での ISTD レスポンスの不 一致が含まれます。HydroInert イオン源を用 いた最適化されたメソッドによって、27 種す べての分析成分の各キャリブレーション範囲 で R<sup>2</sup>  $\ge$  0.999 の優れた直線性が観察されま した。27 種の分析成分のうち 18 種のキャリ ブレーション範囲は 0.1 ~ 1,000 pg、8 種は 0.25 ~ 1,000 pg、1 種は 0.5 ~ 1,000 pg でした。メソッド検出下限 (MDL) は 0.03 ~ 0.20 pg の範囲で平均は 0.09 pg でした。

## 実験方法

この実験で使用したシステムは、PAH 分析に おいて水素キャリアガスに伴う潜在的な問題 を最小化するように構成しました。使用した重 要なパラメータは次のとおりです。

- 水素ガス:99.9999%純度仕様の水素で、 水および酸素がそれぞれ低濃度仕様のも のをキャリアガスとして使用しました。
- パルスドスプリットレス注入:特に高沸
  点の PAH のカラムへの導入を最大化する
  ために使用しました。
- カラム寸法: Agilent J&W DB-EUPAH、
  20 m × 内径 0.18 mm、0.14 µm (部品
  番号 121-9627)を使用して最適なガス
  流量と注入口圧力を維持しました。
- 注入ロライナ: Agilent ユニバーサルウル トライナートミッドフリット付きライナ(部 品番号 5190-5105)は土壌抽出物に対し て良好なピーク形状、不活性度、長寿命 を示すことが分かりました。
- HydroInert El イオン源: PAH はヘリウ ムをキャリアガスとして使用した場合でも MS El イオン源に対して特有の課題を提 起します。<sup>2</sup> 水素キャリアガスでは通常、 特に水素キャリア専用の HydroInert イオ ン源と使用した場合は、PAH での性能が 向上します。9 mm エクストラクタレンズ は標準で HydroInert イオン源に付属して おり、最高の検量線直線性、レスポンス精 度、ピーク形状を提供するため PAH 分析 に最適な選択肢です。

図 1 に、今回の調査で使用したシステムの構 成を示します。

機器の操作パラメータを表1 および2 に示し ます。機器の温度を十分な高さに保ち、最も 沸点の高い PAH が残留しないようにする必 要があります。注入口および MSD トランス ファラインを 320 ℃に保ちます。MS イオン源 を 320 ℃で運転します。

特に重い PAH のカラムへの導入を最大化す るため、パルスドスプリットレス注入を使用し ます。ウルトライナートミッドフリット付きライ ナは今回のアプリケーションで良好に機能し ます。フリットによって熱が PAH に伝わり、注 入口底部に直接接触しなくなります。PAH が 注入口底部で凝結すると、PAH の気化とカラ ムへの導入が難しくなります。

Agilent PAH アナライザキャリブレーション キット(部品番号 G3440-85009)をイソオク タンで希釈して、PAH キャリブレーション標準 を調製しました。このキットには 27 種の PAH の原液 10 µg/mL と 5 種の ISTD の原液 50 µg/mL が含まれます。12 のキャリブレーショ ンレベル(0.1、0.25、0.5、1、2、10、20、 100、200、400、750、1,000 ng/mL)を用 意しました。各レベルに ISTD 500 ng/mL も含まれていました。化合物の同定につい ては、表 2 および図 2 を参照してください。 すべての定量 測定は Agilent MassHunter Quantitative Analysis ソフトウェアバージョ ン11.1 を使用して実施されました。

市販の表土サンプル (Weaver Mulch、コー ツヴィル、ペンシルベニア州、米国)を120 ℃で一晩乾燥させました。乾燥土5gを ジクロロメタン/アセトン (1:1 v/v) 30 mL 用 いて一晩撹拌し、抽出しました。抽出物をろ過 し、ろ液を蒸発させて容量を7.5 倍濃縮しま した。生成された抽出物を堅牢性の実験に使 用しました。



#### 図1.システム構成

#### 表 1. PAH 分析用の GC および MS 条件

メソッドパラメータ				
注入口	EPC スプリット/スプリットレス			
モード	パルスドスプリットレス			
注入パルス圧力	40 psi、0.70 分まで			
スプリットベントへのパージ流量	0.75 分で 50 mL/min			
注入量	1 μL			
注入口温度	320 ℃			
注入ロライナ	Agilent ユニバーサルウルトライナートミッドフリット付きライナ(部品番号 5190-5105)			
カラム	Agilent J&W DB-EUPAH、20 m × 0.18 mm、0.14 µm (部品番号 121-9627)			
カラム温度プログラム	60 ℃ (1 分間保持) 25 ℃ /min で 200 ℃まで 10 ℃ /min で 335 ℃まで(6 分間保持) トータル分析時間:20 分			
キャリアガスと流量	H <sub>2</sub> 、0.9 mL/min 定流量			
MSD	HydroInert 9 mm			
トランスファライン温度	320 °C			
イオン源温度	320 °C			
四重極温度	150 ℃			
EM 電圧ゲインモード	3			
モード	SIM			
チューニング	ETUNE.U			

堅牢性テストで使用する土壌抽出物には、シ ステムでの測定が難しい高マトリックスが含 まれるものを意図的に選びました。なお、こ のようなレベルの有機物を含む土壌の場合、 ルーチン分析では追加のサンプルクリーンアッ プを検討する必要があります。今回の調査 で使用したサンプル前処理法はテストのみを 目的としています。また、抽出溶媒(1:1 v/v ジクロロメタン/アセトン)は、水素キャリア ガスを用いたルーチン分析用には推奨しませ ん。ジクロロメタンなどのハロゲンを含む溶 剤は高温の注入ポートで水素と反応する可能 性があり、低濃度の HCI を形成し、経時的に ライナやカラムヘッドを劣化させることがある ためです。

#### 表 2. 定量および定性に用いる SIM イオン

名前	RT (分)	定量イオン	確認イオン 1	確認イオン 2	確認イオン 3	
ナフタレン-d <sub>8</sub>	4.068	136	134	108		
ナフタレン	4.089	128	127	129	102	
1-メチルナフタレン	4.681	142	141	115	139	
2-メチルナフタレン	4.833	142	141	115	143	
ビフェニル	5.215	154	153	76	155	
2,6-ジメチルナフタレン	5.236	156	141	155	115	
アセナフチレン	5.761	152	151	153	76	
アセナフテン-d <sub>10</sub>	5.851	164	80			
アセナフテン	5.889	153	154	151	155	
2,3,5-トリメチルナフタレン	6.075	170	155	169	153	
フルオレン	6.380	166	165	163	167	
ジベンゾチオフェン	7.424	184	185	139	152	
フェナントレン-d10	7.552	188	189			
フェナントレン	7.585	178	179	177	152	
アントラセン	7.625	178	179	177	152	
1-メチルフェナントレン	8.438	192	191	193	190	
フルオランテン	9.529	202	203	201	101	
ピレン	10.060	202	203	201	101	
ベンゾ[a]アントラセン	12.611	228	226	229	114	
クリセン-d <sub>12</sub>	12.731	240	236			
クリセン	12.794	228	226	229	114	
ベンゾ[b]フルオランテン	15.058	252	126			
ベンゾ[k]フルオランテン	15.114	252	126			
ベンゾ[j]フルオランテン	15.181	252	126			
ベンゾ[e]ピレン	15.821	252	253	126	250	
ベンゾ[a]ピレン	15.927	252	253	250	126	
ペリレン-d12	16.133	264	260			
ペリレン	16.191	252	253	126	250	
ジベンズ[a,c]アントラセン	18.020	278	279	139	138	
ジベンズ[a,h]アントラセン	18.093	278	279	139	138	
インデノ[1,2,3-cd]ピレン	18.093	276	138	277	137	
ベンゾ[ghi]ペリレン	18.655	276	138	277	137	

## 結果と考察



図 2.100 pg/µL キャリブレーション標準と 500 pg/µL ISTD の SIM TIC

図 2 に 100 pg/µL キャリブレーション標準と 500 pg/µL ISTD の SIM TIC を示します。今 回の調査で使用したパラメータを用いると、特 により遅く溶出する PAH でピーク形状が優れ ています。例外として、パルスド注入の使用の ためにいくらか歪んだナフタレン-d8 とナフタ レンの最初の2つのピークがあります。一般 的に、HydroInert イオン源は水素キャリアガ スの使用時に PAH で最高のピーク形状を提 供します。また、今回のセットアップで得られ たクロマトグラフィー分離能は、ヘリウムで得 られる分離能よりも高くなっています。2分析 時間はヘリウムメソッドでは26分ですが、水 素キャリアガスとより径の小さいカラムとの組 み合わせによって今回のメソッドでの分析時間 は 20 分です。 ヘリウムメソッドと同じ分離能 を維持したまま、今回のメソッドでは分析時間 を短くできました。ただし、この 20 分メソッド 条件は、ジベンズ[a,c]アントラセン、インデノ [1,2,3-cd]ピレン、ジベンズ[a,h]アントラセンで 最高の分離能が得られるように選択されたも のでした。

また、HydroInert イオン源の使用により、優れた S/N 比がもたらされ、図3に示されるように、キャリブレーション範囲をサブピコグラムレベルにまで拡張できました。

27 種の分析成分のうち 18 種は 0.1 ~ 1,000 pg のキャリブレーションに十分なシグナルが ありました。8 種は 0.25 ~ 1,000 pg でキャ リブレーションしました。唯一、2-メチルナフタ レンのみが 0.5 ~ 1,000 pg でのキャリブレー ションが必要でした。表 3 に、0.1 ~ 1,000 pg の 12 のレベルによるシステムのキャリブ レーション結果を示します。すべての分析成分 が範囲全体で優れた直線性を示しています。

必要に応じて、相対標準誤差(RSE)の値を 使用し、RSE値 < 20%を達成するように最 小キャリブレーション点の削除をします。すべ てのキャリブレーションで R<sup>2</sup>値は 0.999以上 でした。



図 3. 最低濃度レベルでの選択化合物の定量イオンのレスポンス。(A) ベンゾフルオランテンの [b]、[k]、および [j] 異性体。(B) ジベンゾアントラセンの [a,c] および [a,h] 異性体。 (c) ベンゾ[ghi]ベリレン

#### メソッド検出下限

初期キャリブレーションが完了した後に、MDL を調べました。0.25 pg キャリブレーション標 準を用いて 8 回分析しました。式 1 に示され る計算式を適用することによって MDL を求 めました。下限がより大きい化合物の場合は、 0.5 pg の濃度で 8 回分析しました。表 3 に、 計算された MDL を示します。27 種の化合物 の MDL は 0.03 ~ 0.20 pg でした。

#### 式 1.MDL の計算式

 $MDL = s \times t(n - 1, 1 - alpha = 99) = s \times 2.998$ 

#### ここで、

t(n - 1, 1 - alpha) = 自由度 n - 1 で信頼度 99%の場合のtの値

n = 分析回数 (8)

s=8回の分析の標準偏差

## キャリブレーション範囲での ISTD レスポンスの安定性

PAH の分析にヘリウムキャリアガスと標準の 3 mm エクストラクタレンズを使用した場合に 生じる問題の 1 つは、分析成分の濃度が高く なるにつれて ISTD のレスポンスが上昇するこ とです。この効果が原因で、ペリレン-d<sub>12</sub> のレ スポンスがキャリブレーション範囲にわたって 60% も増大し、定量で大きな誤差が生じる可 能性があります。以前に、JetClean と 9 mm エクストラクタレンズを使用してこの問題に対 処しています。<sup>3.4</sup> JetClean を使用し、ヘリウ ムをキャリアガスとして使用するものですが、 水素を通常 0.2 ~ 0.35 mL/min の範囲の流 量でイオン源に連続的に加えます。この方法 によって、ISTD のクリープ効果が大幅に低減 され、優れた定量結果が得られます。 図 4 に、現行メソッドによるキャリブレー ション範囲での ISTD レスポンスの安定性 を示します。図 4 から、水素キャリアガスを HydroInert イオン源と 9 mm エクストラクタ レンズとで使用することによっても、ISTD の クリープレスポンス問題が除かれることが分 かります。全キャリブレーション範囲で生の面 積レスポンスの %RSD はすべて 3.3 % 以下で した。このことは、表 3 に示す優れたキャリブ レーションの直線性の達成において重要な要 素です。

表 3.0.1 ~ 1,000 pg 範囲にわたる 12 濃度レベルの SIM モードでの ISTD キャリブレーションの結	果。
すべてのキャリブレーションが重み付け 1/x で線形適合されました。	

名前	RT (分)	CF 下限 (pg)	CF 上限 (pg)	CF R <sup>2</sup>	相対標準誤差	平均 RF RSD	MDL の濃度 (pg)	MDL (pg)
ナフタレン-d。[ISTD]	4.068	ISTD						
ナフタレン	4.089	0.1	1,000	0.9998	5.7	23.0	0.50	0.19
1-メチルナフタレン	4.681	0.25	1,000	0.9992	11.4	4.8	0.50	0.06
2-メチルナフタレン	4.833	0.5	1,000	0.9992	10.9	7.6	0.50	0.07
ビフェニル	5.215	0.25	1,000	0.9991	11.1	9.7	0.50	0.18
2,6-ジメチルナフタレン	5.236	0.25	1,000	0.9989	12.8	5.4	0.50	0.07
アセナフチレン	5.761	0.25	1,000	0.9999	6.6	4.3	0.50	0.06
アセナフテン-d <sub>10</sub> [ISTD]	5.851				ISTD			
アセナフテン	5.889	0.25	1,000	0.9995	8.7	7.4	0.25	0.14
2,3,5-トリメチルナフタレン	6.075	0.25	1,000	0.9997	13.8	12.6	0.50	0.20
フルオレン	6.380	0.25	1,000	0.9996	10.0	5.0	0.25	0.05
ジベンゾチオフェン	7.424	0.1	1,000	0.9998	7.6	16.9	0.25	0.09
フェナントレン-d <sub>10</sub> [ISTD]	7.552				ISTD			
フェナントレン	7.585	0.25	1,000	0.9998	6.2	5.3	0.25	0.10
アントラセン	7.625	0.1	1,000	0.9998	15.1	17.3	0.25	0.16
1-メチルフェナントレン	8.438	0.1	1,000	0.9996	8.5	4.9	0.25	0.10
フルオランテン	9.529	0.1	1,000	0.9994	11.6	10.7	0.25	0.03
ピレン	10.060	0.1	1,000	0.9993	11.3	16.4	0.25	0.06
ベンゾ[a]アントラセン	12.611	0.1	1,000	0.9998	8.3	19.8	0.25	0.03
クリセン-d <sub>12</sub> [ISTD]	12.731				ISTD			
クリセン	12.794	0.1	1,000	0.9999	6.2	19.3	0.25	0.06
ベンゾ[b]フルオランテン	15.058	0.1	1,000	0.9990	11.4	16.2	0.25	0.05
ベンゾ[k]フルオランテン	15.114	0.1	1,000	0.9993	13.1	18.5	0.25	0.06
ベンゾ[j]フルオランテン	15.181	0.1	1,000	0.9994	10.6	18.4	0.25	0.06
ベンゾ[e]ピレン	15.821	0.1	1,000	0.9996	9.3	16.2	0.25	0.09
ベンゾ[a]ピレン	15.927	0.1	1,000	0.9998	8.2	4.7	0.25	0.05
ペリレン-d <sub>12</sub> [ISTD]	16.133				ISTD			
ペリレン	16.191	0.1	1,000	0.9999	5.2	55.6	0.25	0.12
ジベンズ[a,c]アントラセン	18.020	0.1	1,000	0.9997	6.3	14.3	0.25	0.06
ジベンズ[a,h]アントラセン	18.093	0.1	1,000	0.9997	7.0	11.6	0.25	0.07
インデノ[1,2,3-cd]ピレン	18.093	0.1	1,000	0.9993	10.9	9.2	0.25	0.08
ベンゾ[ghi]ペリレン	18.655	0.1	1,000	0.9997	9.4	11.0	0.25	0.14

### 土壌抽出物におけるレスポンスの 安定性

図5に、土壌抽出物のスキャンTICと比較の ための溶媒ブランクのスキャン TIC を示しま す。図から分かるように、土壌抽出物には非 常に高いレベルのマトリックスが含まれてお り、システムを検証するために土壌抽出物を 選択しました。なお、有機物含有量がこのレ ベルの土壌の場合、ルーチン分析では追加の サンプルクリーンアップを推奨します。今回の 調査で使用したサンプル前処理法はテストの みを目的としています。また、抽出溶媒(1:1 v/v ジクロロメタン/アセトン) は、水素キャリ アガスを用いたルーチン分析用には推奨しま せん。ジクロロメタンなどのハロゲンを含む 溶剤は高温の注入ポートで水素と反応する可 能性があり、低濃度の HCI を形成し、経時的 にライナやカラムヘッドを劣化させることがあ るためです。







図 5. (A) 土壌抽出物のスキャン TIC。(B) 比較用の溶媒ブランクのスキャン TIC

図 6 に、100 ppb の PAH 標準と 500 ppb の ISTD を添加した土壌抽出物の SIM TIC を 示します。この SIM TIC が示すように、土壌マ トリックスはいくつかの時間セグメントでバッ クグラウンドシグナルに大きな影響を与え、最 も悪い影響が最後のセグメントに現れていま す。定量に適していることを示すために、抽出 された SIM 276 イオン (ベンゾ[g,h,i]ペリレ ンの定量イオン) もプロットしています。

図 7 は添加済み土壌抽出物中の PAH につい て測定した濃度のレスポンス安定性を示して います。100 回注入テスト中に GC 注入口ま たはカラムのメンテナンスは不要でした。キー ワードを使用してシーケンスする間、15 回分 析するごとにエレクトロンマルチプライアのゲ イン曲線を自動的に更新しました。図 7 に示 すように、100 回の注入にわたって結果は安 定していました。すべての化合物の測定濃度 は 92 ~ 131 pg の範囲に収まりました。









## 結論

水素キャリアガスと Agilent HydroInert イオ ン源を使用した GC/MS メソッドを紹介し、次 に示すように従来のヘリウムメソッドを超える 複数の利点を説明しました。

- テーリングが皆無またはわずかしかない
  優れたクロマトグラフィーピーク形状
- ヘリウム使用の場合に匹敵またはより良 好な MDL および線形性
- より短い分析時間でより良好なクロマトグ
  ラフィー分離能
- 4 桁の全キャリブレーション範囲で安定性のある ISTD レスポンス
- < 1 ~ 1,000 pg にわたっての優れた直 線性
- およそ 0.1 pg の平均 MDL
- 分析が難しい土壌抽出物の 100 回注入
  にわたっての優れた性能

PAH 分析において、より持続可能な水素 キャリアガスへの切り替えを目指すラボは、 HydroInert イオン源と9 mm エクストラクタ レンズを用いて同等またはより良好な性能へ の移行を実現できます。

## 参考文献

- Agilent El GC/MS Instrument Helium to Hydrogen Carrier Gas Conversion. Agilent Technologies user guide, publication number 5994-2312EN, 2022. https://www.agilent. com/cs/library/usermanuals/public/ user-guide-coverting-ei-gcmsinstruments-5994-2312en-agilent.pdf
- Andrianova, A. A.; Quimby, B. D. 測 定困難なマトリックスにおける PAH の GC/MS 分析の最適化.Agilent Technologies application note, publication number 5994-0499JAJP, 2019.
- Anderson, K. A. *et al.* Modified Ion Source Triple Quadrupole Mass Spectrometer Gas Chromatograph for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *J. Chromatogr.A* 2015, 1419, Pages 89–98.
- Quimby, B. D.; Prest, H. F.; Szelewski, M. J.; Freed, M. K. In-Situ Conditioning in Mass Spectrometer Systems. US Patent 8,378,293, **2013**.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

#### カスト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。

#### DE82649723

アジレント・テクノロジー株式会社 © Agilent Technologies, Inc. 2023 Printed in Japan, February 14, 2023 5994-5711JAJP

