

高速ガスクロマトグラフィーによる 環境サンプル中の全石油炭化水素の分析

アプリケーションノート

著者

James D. McCurry, Ph.D.
Agilent Technologies, Inc.

概要

環境サンプル中の全石油炭化水素を測定できる高速 GC メソッドを開発しました。短い薄膜キャピラリカラム、高速カラム昇温、高キャリアガス流量により、分析時間を 3 分に短縮することができました。このメソッドを使えば、ISO 16703 メソッドによって規定されているすべての性能基準に適合することが実証されました。また、分析時間が短いだけでなく、正確さと精度について優れた結果が得られました。以上のことは、TPH 汚染物質の量が異なる 2 種類の認証標準土壌サンプルと河川堆積物サンプルを用意し分析することによって実証されました。



Agilent Technologies

はじめに

ガスクロマトグラフィー (GC) は、水、土壌、堆積物中の全石油炭化水素 (TPH) 汚染物の定量分析に適した手法です。この TPH 分析を各規制地域内で標準化するために多くのメソッドが開発されています。ISO 16703 は、普及しているメソッドの 1 つで、n-デカン (C₁₀H₂₂) とテトラコンタン (C₄₀H₈₂)¹ との間の炭素数によって飽和、環状、芳香族炭化水素を測定するものです。このメソッドでは、複数段階のサンプル前処理手順を踏みサンプルから多環芳香族炭化水素 (PAH) が除去されているため、多環芳香族炭化水素 (PAH) 分析の必要がありません。炭化水素のクロマトグラフィーでは、個々の化合物や化学種別のスペシエーションは不要です。むしろ、ピークは、分離されない一つの大きな山としてカラムから溶出されます。この観点から、TPH 分析は、短いカラムと高速昇温と高キャリアガス流量を組み合わせることで、分析時間を短縮する高速ガスクロマトグラフィー 分析に適したものとなります。高速 GC は、サンプルスループットを最大限に高め、分析時間を最小限にしようと努めているコントラクトラボにとって特に魅力的な手法です。

Agilent Intuvo 9000 ガスクロマトグラフシステムは、高速 GC を想定して設計されています。独自のダイレクトカラムヒーティング技術により、従来の空気浴式カラムオープンが不要になり、40 °C から 350 °C まで 250 °C /min のカラム昇温速度を実現しています。高速昇温時は、高いカラム流量を正確に維持して、分析間で優れたリテンションタイムの再現性を確保する必要があります。カラムの加熱と流量との相乗効果は、第 6 世代のエレクトロニックニューマティクスコントロール (EPC) 注入口モジュールを搭載した Intuvo 9000 GC で実現されます。本アプリケーションノートでは、ISO 16703 から移行した TPH 分析のための高速 GC メソッドを紹介いたします。この手法は、ISO 16703 メソッドが設定する性能基準に適合しています。

分析条件

サンプル前処理

今回の実験では、TPH 汚染土サンプル (BAM-U021) と河川堆積物サンプル (BAM-U022) をドイツ連邦材料試験研究所から入手しました。各サンプルの TPH 含有量の認証値は、不確かさ指標とともに公表されています。

各サンプルは、ISO 16703 メソッドで解説されている抽出およびクリーンアップ手順を使用して 2 つずつ (A、B) 用意して前処理を行いました。

- 15 グラムのサンプルを、超音波処理によって、アセトンとリテンションタイムウィンドウ (RTW) 標準溶液 (ヘプタンで溶解した C10 および C40) で抽出しました。
- サンプル抽出物を遠心分離して微粒子を取り除きました。
- 微粒子が取り除かれた抽出物を 100 mL の水で 2 回洗浄しました。
- 有機層を捕集して、硫酸ナトリウムで乾燥させました。
- 10 ミリリットルの乾燥有機抽出物を、活性化した Florisil を含む SPE カートリッジでクリーニングしました。

サンプル前処理を容易にするために、ISO 16703 手順に必要なすべてのコンポーネントを含むキットを Sigma-Aldrich Company から購入できます (p/n 56681-1KT-F)²。

高速ガスクロマトグラフィー

Agilent Intuvo 9000 シリーズガスクロマトグラフは次の製品で構成されています。

- スプリット/スプリットレス注入口
- Agilent ウルトライナートスプリットレスライナ、シングルテーパ、ガラスウール入り (p/n 5190-2293)
- Agilent Intuvo 9000 ガードチップ
- シングル検出器用 Intuvo フローパス
- Agilent DB-5ht カラム、5 m × 0.32 mm、0.1 μm 膜厚
- 水素炎イオン化検出器
- Agilent 7693 自動液体サンプリング (ALS) と 10 μL シリンジ

表 1 に機器の分析条件を示します。

表1. 分析条件

パラメータ	仕様
注入口	スプリットレス、380 °C
注入量	0.5 μL
カラム流量	10 mL/min (コンスタントフロー) ヘリウム
カラム温度プログラム	40 °C (0.5 min) - 250 °C /min - 350 °C (1.3 min)
Intuvo ガードチップの温度	350 °C
検出器	FID、350 °C

キャリブレーションおよびサンプル分析の前に、50 mg/mL の C₁₀ から C₄₀ までの炭素数が偶数の炭化水素（ヘプタン溶媒）を注入することによって適合性テストを実行しました。このテストでは、分離度、回収率、レスポンスについて GC システムの性能を検証しました。また、2 つの異なるタイプの鉱物油を含む標準を使用して、0.24 mg/mL から 8.0 mg/mL までの間の 6 レベルでキャリブレーションを行いました。濃度レベルが 3 番目のキャリブレーション標準溶液 3 (1 mg/mL の鉱物油) を、再現性テスト用のコントロール溶液として使用しました。キャリブレーション後、2 つずつ用意した各サンプル (A,B) を 5 回分析して精度と正確さを算出しました。

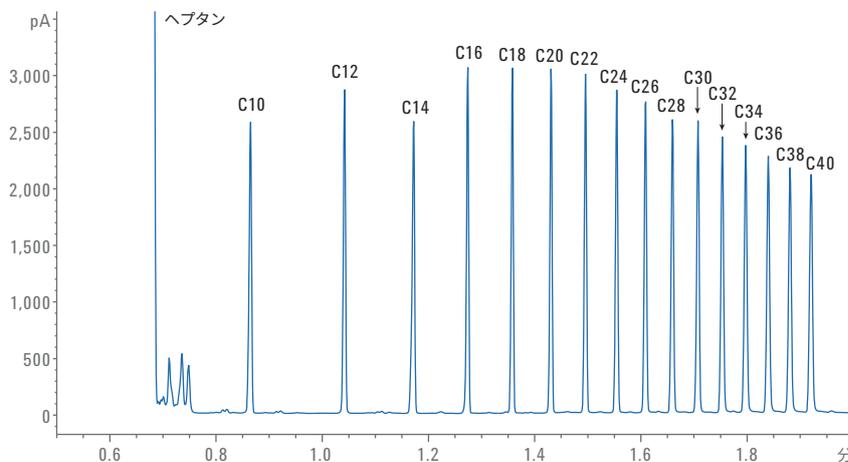


図 1. Agilent Intuvo 9000 GC による炭化水素の分離

結果と考察

図 1 と表 1 はシステム適合性テストの結果を示しています。デカンのピークはヘプタン溶媒のピークから十分に分離され、混合物中の各 n-アルカンはベースライン分離されています。テトラコンタン (C40) のレスポンスは、イコサン (C20) レスポンスを基準にして 0.93 と算出されました。この値は、メソッド下限の 0.80 よりも十分に大きく、つまり、沸点のディスクリミネーションに関して優れたシステム性能を示しています。

図 2 はキャリブレーション性能を示しています。相関係数の 0.9998 は、フルキャリブレーション範囲にわたっての良好な直線近似を示しています。キャリブレーション標準溶液 3 (1 mg/mL) を 3 回連続注入して検出器レスポンスを測定することによって、キャリブレーションの再現性をテストしました。その結果を表 2 に示します。測定した相対標準偏差 (RSD) は 1.7% で、求められる 5% 以内という RSD を下回っていました。

表1. TPH 性能確認用混合物中の C10 ~ C40 炭化水素の回収率。

	ピーク面積	回収率
C10	861	0.98
C12	867	0.98
C14	877	0.99
C16	890	1.01
C18	875	0.99
C20*	882	1.00
C22	882	1.00
C24	882	1.00
C26	873	0.99
C30	867	0.98
C34	859	0.97
C36	853	0.97
C38	829	0.94
C40	817	0.93

表2. ISO 16703 キャリブレーション再現性テストの結果

分析	標準 3 のピーク面積
1	18,044
2	17,644
3	18,236
平均値	17,975
標準偏差	301.9
RSD	1.7%

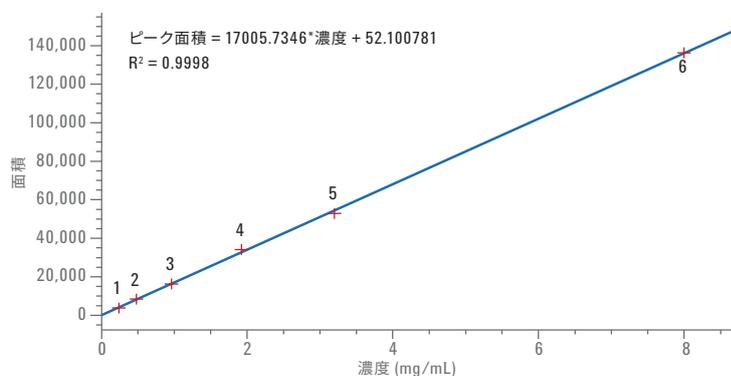


図 2. 0.24 mg/mL ~ 8 mg/mL TPH のキャリブレーションカーブ。

図3は、2つのBAM-U021 土壌サンプル5回注入(合計10回注入)のクロマトグラムの重ね書きです。高速GC条件により、1回のサンプル分析のためのGC分析は約3分以内に完了しました。C10 および C44 のピークは、破線のベースラインで示されているように、TPH サンプルのレスポンスを判断するための積分マーカーとしてサンプルに加えられました。これらの2つずつ用意したサンプルでは、各分

析のクロマトグラムは、ほぼ同一のレスポンスとリテンションタイムとなっています。2つの挿入図はC10とC40のマーカーピークの詳細を示しています。C10のピークのリテンションタイム範囲はわずか0.003分でしたが、C40のピークリテンションタイムの範囲はさらに小さく0.001分でした。各ピークのリテンションタイムの再現性は、図3中の表に示されています。TPHレスポンスを判断するための積分の開

始時間と終了時間を設定するため、2つのマーカーのピークは高いリテンションタイム精度を示していることが重要です。また、図4は、河川堆積物サンプルのBAM-U022の分析を示しています。このサンプルには土壌サンプルに比べてより多くのTPHが含まれています。

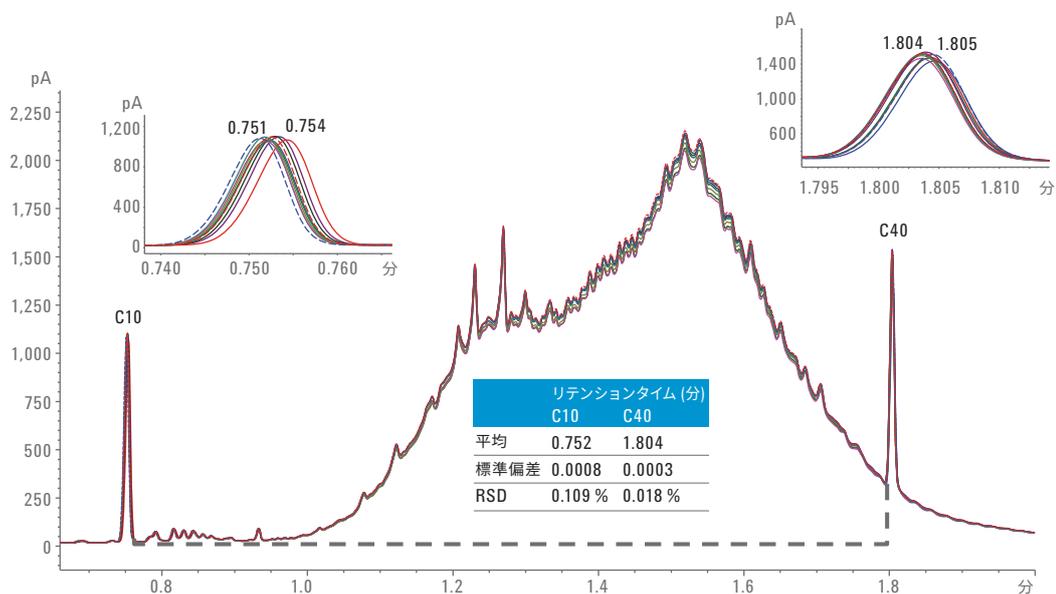


図3. 2つのBAM-U021 土壌サンプルを5回ずつ(計10回)分析したクロマトグラムの重ね書き挿入したクロマトグラムおよび表は、C10とC40のマーカーのピークのリテンションタイム精度を示しています。

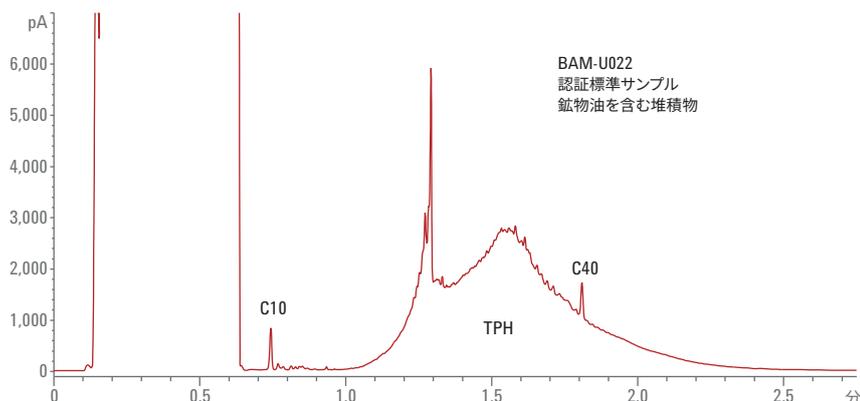


図4. 河川堆積物サンプルに含まれるTPHの高速GC分析の結果。

表 3 は、各サンプルの定量結果を示しています。この結果を用いて、3 つの分析性能指標が示されます。1 つ目は、BAM が発行した認証値に対して測定した TPH 含有値を比較した、メソッドの正確さです。2 つずつ用意した各サンプルで測定された TPH の量は認証値と一致しており、許容誤差内に十分に収まっています。2 つ目は、分析対象物の結果から計算した RSD で示される装置全体の精度です。2 つずつある各サンプルの 5 回の分析で RSD は 1 % 未満でした。3 つ目は、ISO 16703 メソッドで規定される単一のラボ内再現性 (r) のテストにもとづいて、2 つずつある各サンプルの分析結果から求めたメソッド全体の精度です。BAM-U021 土壌サンプルでは、実験の再現性は 59 mg/kg で、要求される上限値 139 mg/kg を大きく下回る結果となりました。同様に、BAM-U022 の河川堆積物サンプルでも、実験の再現性は 126 mg/kg で、要求される上限値 337 mg/kg を大きく下回る結果となりました。

表3. 標準溶液 3 (1 mg/mL) の 3 回連続注入から得られたキャリブレーション再現性の結果。

分析	U021 A (mg/kg)	U021 B (mg/kg)	U022 A (mg/kg)	U022 B (mg/kg)
1	3,462	3,480	8,701	8,630
2	3,487	3,485	8,724	8,658
3	3,502	3,482	8,656	8,610
4	3,513	3,479	8,736	8,732
5	3,538	3,492	8,728	8,606
平均値	3,500	3,484	8,709	8,647
認証値	3,560 ± 260		8,270 ± 550	
標準偏差	28.547	5.234	32.319	51.704
RSD	0.82 %	0.15 %	1.37 %	0.60 %
r (実験)	59		126	
r* (標準)	136		337	

結論

環境サンプル中の TPH を分析する高速 GC メソッドを開発しました。

- 高速 GC メソッドでは、短いカラム、高速オープンプログラミング、高キャリアガス流量により、TPH サンプル分析を 3 分以内に完了します。
- Agilent Intuvo 9000 GC のダイレクトカラムヒーティングと第 6 世代 EPC は、特筆すべき高いリテンションタイム精度で高速 GC 分析を行い、余分なデータ操作は必要ありません。
- 高速 GC メソッドは、選択性、分離能、ディスクリミネーション、キャリアレーションについて、ISO 16703 基準に適合しています。
- 認定参照物質サンプルに対する定量結果はきわめて優れた正確さを示しています。
- 定量結果は、ISO 16703 メソッドの再現性要件を十分満たしています。

参考文献

1. Soil Quality-Determination of content of hydrocarbon in the range C10 to C40 by gas chromatography.ISO 16703:2004(E).Geneva, Switzerland: ISO
2. <http://www.sigmaaldrich.com/technical-service-home/product-catalog.html>

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタ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。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2017

Printed in Japan, March 1, 2017

5991-7367JAJP



Agilent Technologies