

ガスクロマトグラフィー用の温度および フローをプログラム可能な マイクロ流体プレカラムの特性

著者

Matthew Giardina, Ph.D.
Agilent Technologies, Inc.
Wilmington, USA

概要

このアプリケーションノートでは、GC における分離および選択性を向上させる手段としての Agilent Intuvo ガードチップの温度制御について述べます。等温またはパルシングのいずれの温度制御も、ガードチップの溶質トラッピングに影響を及ぼすことが示されています。温度によって生じるガードチップでの保持とバックフラッシュにより、カラムでの分離の前に、揮発性が低い溶質の除去が可能になります。また、この方法のバックフラッシュが、従来のポストカラムバックフラッシュよりも高効率であることを実証します。

はじめに

近年のマイクロ流体および表面コーティング技術の進歩によって、ガスクロマトグラフィー (GC) で使用するモジュール型の Intuvo フローチップの製造が可能になりました。これらのフローチップを使用して、さまざまな GC アプリケーションにおいて各アプリケーションに固有の流路を作成できます。例えば、液相のない、不活性化処理されたマイクロ流体フローチップは、GC 注入口と分析カラムとの間に配置できます。このフローチップは、リテンションギャップとしても、従来の GC で使用される液相なしの不活性化処理されたプレカラムと類似したガードカラム (ガードチップ一体化) としても機能します。しかし、従来の GC とは異なり、独立した温度制御によって、揮発度に応じて溶質を選択的かつ定量的に保持したり移動させたりすることができます。分析カラムへの導入前にマトリックスを除去するために、温度制御と圧力制御を組み合わせることで逆方向の流れを起こすことができます。このアプリケーションノートでは、マイクロ流体ガードチップの選択能力について詳細に説明します。また、半揮発性有機化合物の分析での、土壌マトリックスのトラッピングとバックフラッシュのためのガードチッププログラミングの例を紹介します。

実験方法

すべての実験は、マルチモード注入口、1 本の GC カラム、質量分析計 (MS) でのポストカラムバックフラッシュ用フローチップ付きの Agilent Intuvo 9000 GC で行いました。GC はシングル四重極 Agilent 5977A MSD と接続しました。ガードチップは、長さ約 1 m、直径 0.5 mm の不活性化処理された流路を使用し、マイクロ流体プレカラムとして機能します。ガードチップの温度制御は、GC カラムとは独立しており、低熱容量のセラミックヒーターによる伝導加熱と高速送風による対流冷却が行われます (図 1)。ポストカラムバックフ

ラッシュモジュールを取り付けると、GC カラムとガードチップ内でバックフラッシュ中にフローを逆方向にすることができます。

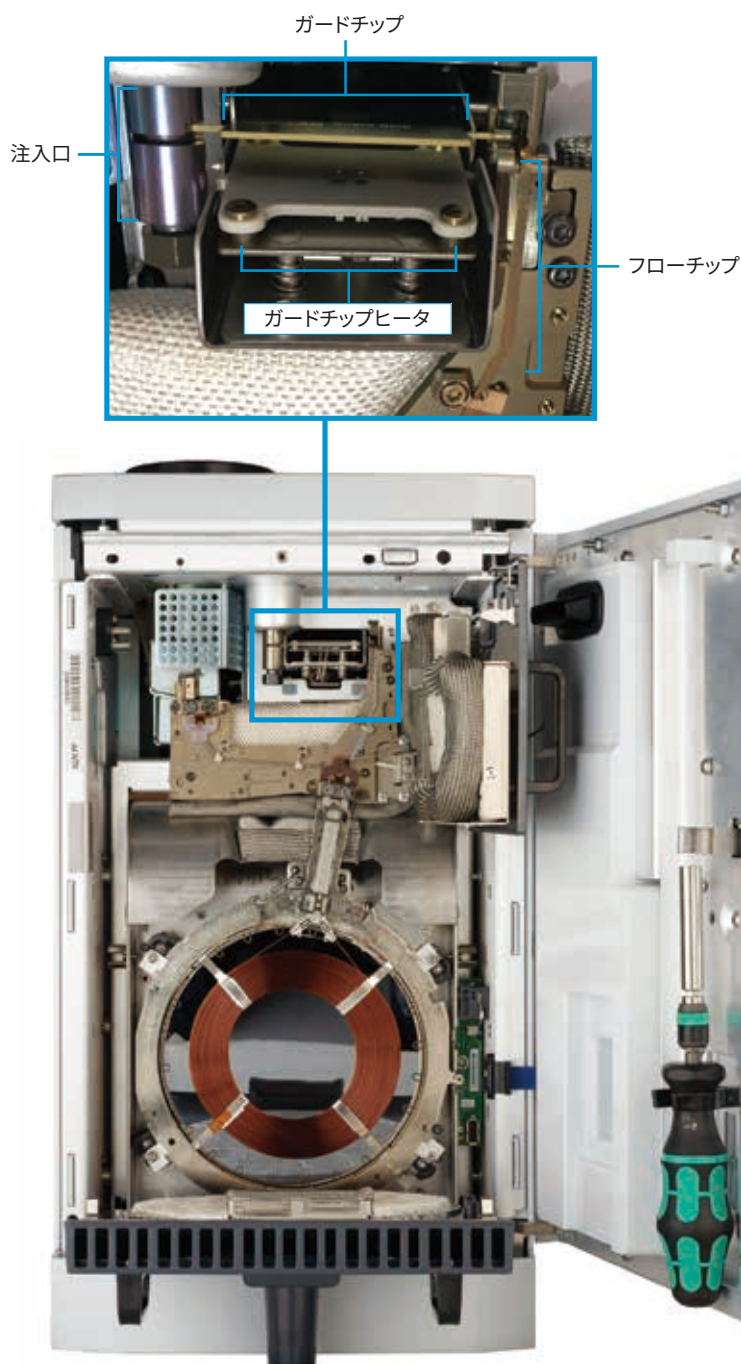


図 1. Intuvo GC とマイクロ流体プレカラム (すなわち、ガードチップ)

サンプル

- **アルカン標準:** GC システムの性能評価用アルカン標準混合物 (C₁₀–C₄₀、Sigma-Aldrich、p/n 68281)
- **サンプル抽出物:** ESC Lab Sciences (Mt. Juliet, TN) から提供された複合ジクロロメタン土壌抽出物

結果と考察

ガードチップのトラッピング実験

最初の実験では、ガードチップの熱トラッピング能力を調べました。GC 分析を 2 回実施しました。1 回はガードチップを 40 °C の一定温度とし、もう 1 回はガードチップを 350 °C の一定温度とし、どちらの場合もオープン温度は昇温プログラムに従いました (図 2)。

分析条件

パラメータ	設定値
GC	9000 Intuvo GC、シンプル MS 流路付き
MS	5977A MSD、EI エクストラクタイオン源付き
カラム	Agilent J&W DB-UI 8270D Intuvo GC カラム、30 m × 0.25 mm、0.25 µm (p/n 122-9732-INT)
ライナ	ウルトライナート、スプリットレス、シングルテーパーライナ、ガラスウール入り (p/n 5190-2293)
注入量	1 µL
注入口	スプリット/スプリットレス、280 °C 0.5 分に 60 mL/min でパージ セプタムパージ切り替えモード、3 mL/min
ガードチッププログラム	単なるプログラム
カラム温度プログラム	単なるプログラム
バス温度	310 °C
流量	1.2 mL/min 定流量モード
トランスファーライン温度	320 °C
イオン源温度	320 °C
四重極温度	200 °C

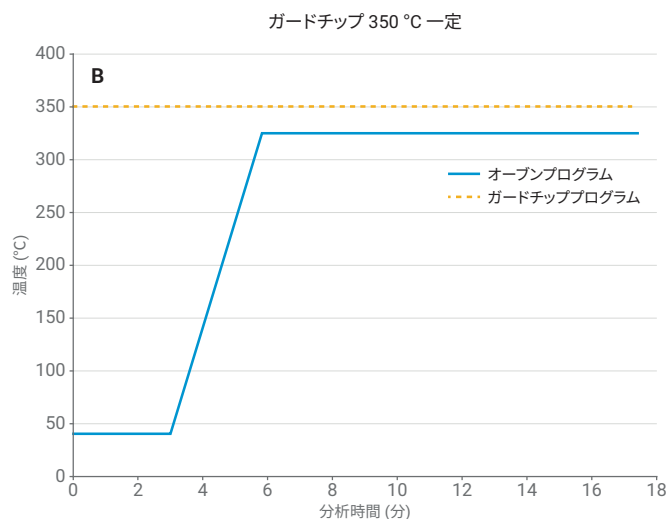
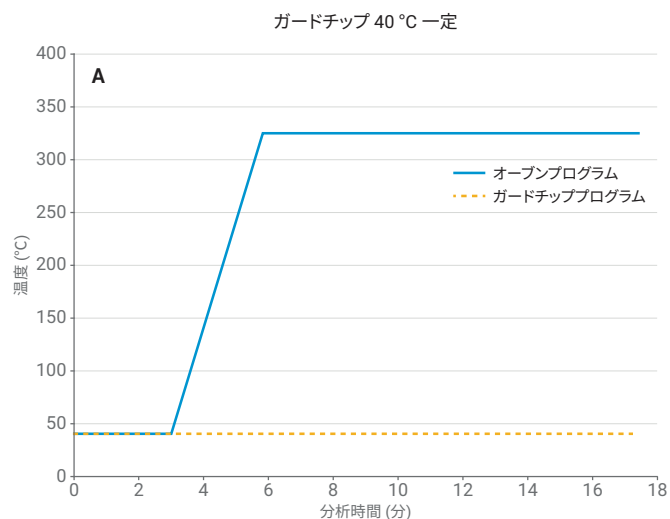


図 2. ガードチップのヒーターおよびカラムオープンの昇温プログラム

図 3 は $C_{10} \sim C_{40}$ を注入した結果を示しています。40 °C では、 $C_{10} \sim C_{14}$ はガードチップに保持されず、 C_{16} は部分的に保持されました。350 °C では、 $C_{10} \sim C_{40}$ がガードチップを通過しカラムから溶出されました。オープンプログラムに従ったガードチップでは、 $C_{10} \sim C_{40}$ の回収は定量的です (図 4)。

ガードチップのパルス実験

ガードチップの温度は、300 °C/min で 350 °C まで上昇した後、急速に冷却されるようにプログラムされています (つまり、温度パルス)。図 5 は、ガードチップおよび GC パルスプログラムと、関連するクロマトグラムを示してい

ます。温度パルスをかけたガードチップによる $C_{10} \sim C_{40}$ の回収率は、350 °C の等温ガードチップ分析または GC オープンプログラムに従った場合と同じでした。

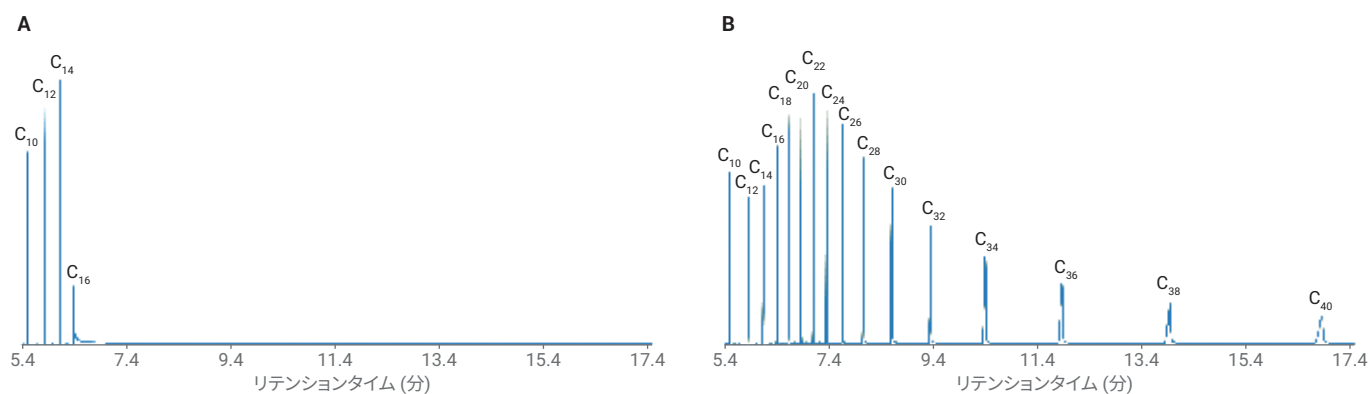


図 3. 等温ガードチップ設定でのクロマトグラム

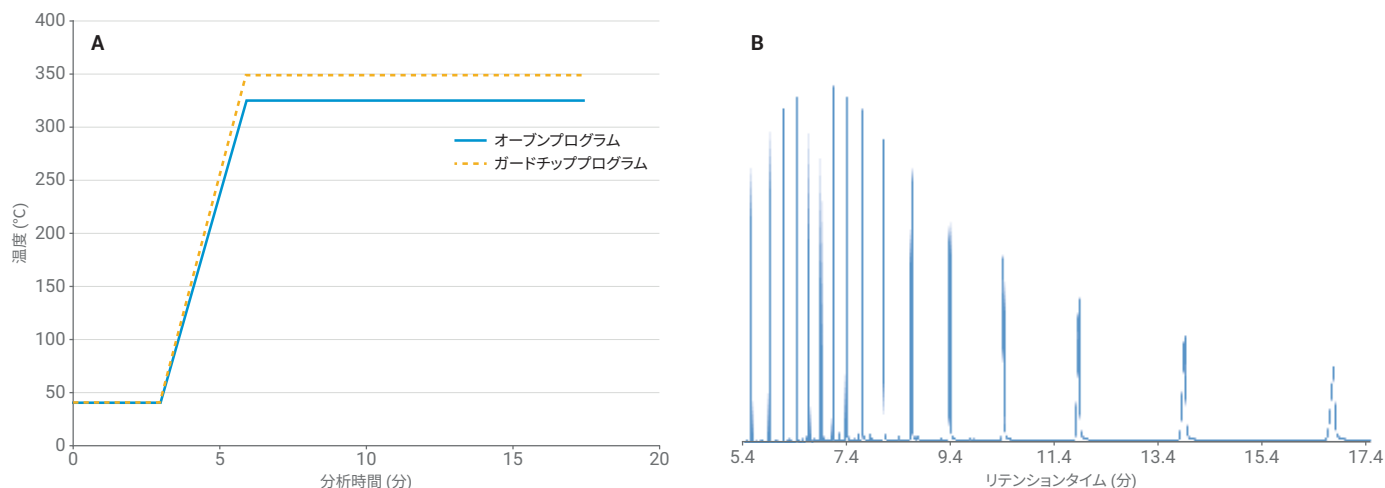


図 4. ガードチップおよび GC オープンを昇温すると $C_{10} \sim C_{40}$ を定量的に回収できた

ガードチップパルスの選択性

ガードチップ温度はパルス化により、さまざまな最高温度まで加熱された後、急速に冷却されました。図 6 は、ガードチップが 100、110、

120、125、130 °C にパルス化された場合の一連のクロマトグラムを示しており、温度パルスによって得られる選択性を示しています。

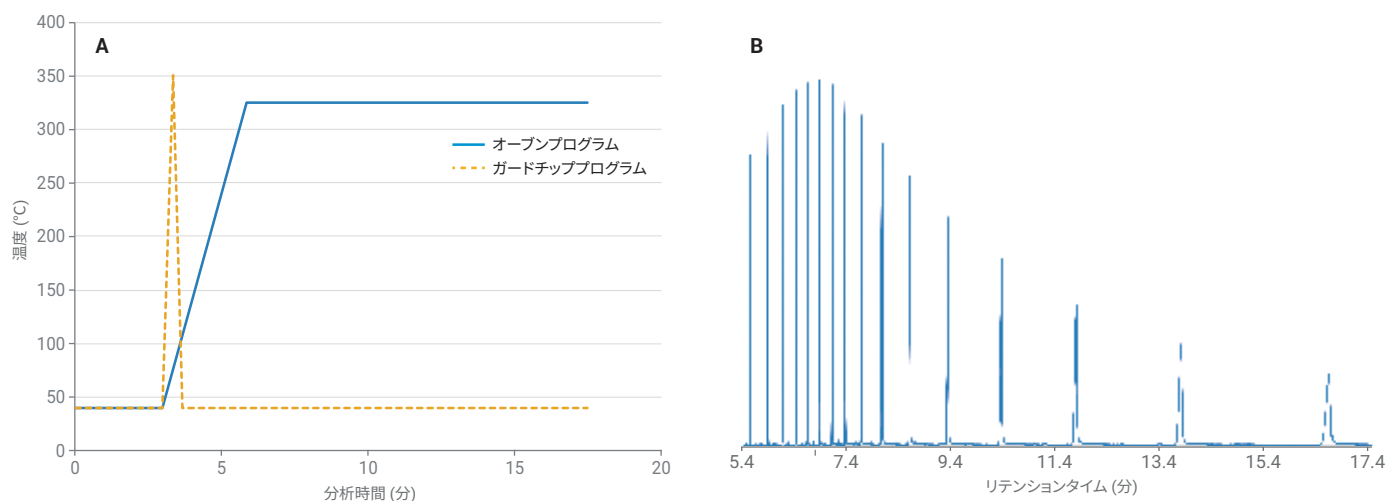


図 5. ガードチップパルス実験と $C_{10} \sim C_{40}$ の回収率

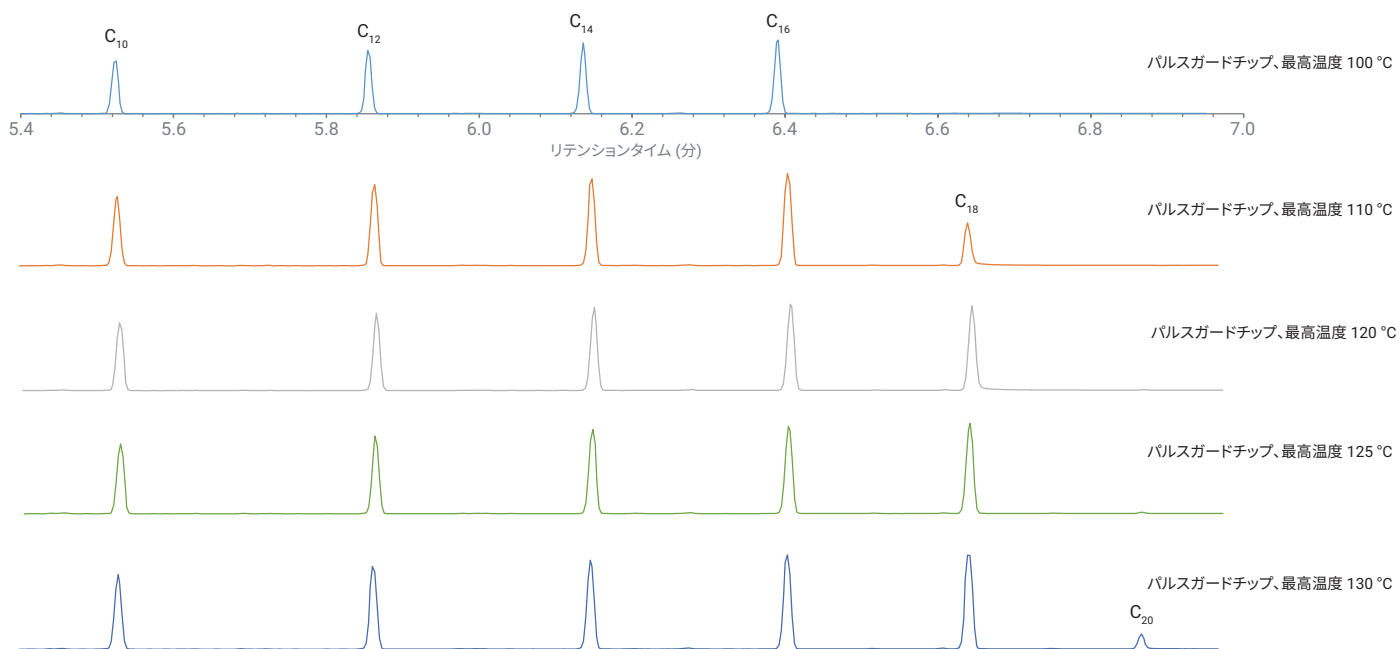


図 6. さまざまな最高温度でのガードチップパルス

さらに、ガードチップのパルス化の最高温度を 100 °C から 310 °C まで 5 °C 度刻みで上昇させる、追加の実験を実施しました。各アルカンが部分的に揮発し始める温度と完全に揮発する温度を、各アルカンの沸点に対してプロットしました (図 7)。このプロットは、各アルカンの沸点範囲におけるガードチップパルスを選択性の指標になります。これはガードチップで化合物を揮発また保持するのに必要な最高パルス温度の予測に使用できます。

ガードチップパルスとバックフラッシュ

ガードチップパルスをポストカラムのバックフラッシュと組み合わせました。バックフラッシュ中、カラムフローは逆方向になって揮発性が低い化合物をカラムとスプリットベントラインから押し出します。バックフラッシュが、リテンションタイムの再現性を高めカラム寿命を延長させることが実証されました。図 8 はバックフラッシュに使用した温度と圧力プログラムを示しています。

図 7 の選択性曲線を基にすると、パルス温度 200 °C では $C_{10} \sim C_{26}$ が揮発する一方で $C_{28} \sim C_{40}$ は保持されます。図 9 は図 8 のメソッドパラメータに基づいたクロマトグラムを示しています。200 °C のパルス温度では、 C_{28} の部分的な揮発を伴って、 $C_{10} \sim C_{26}$ を定量的にリリースします (A)。続くブランクラン (B) はバックフラッシュが $C_{28} \sim C_{40}$ を適切に除去することを示しています。

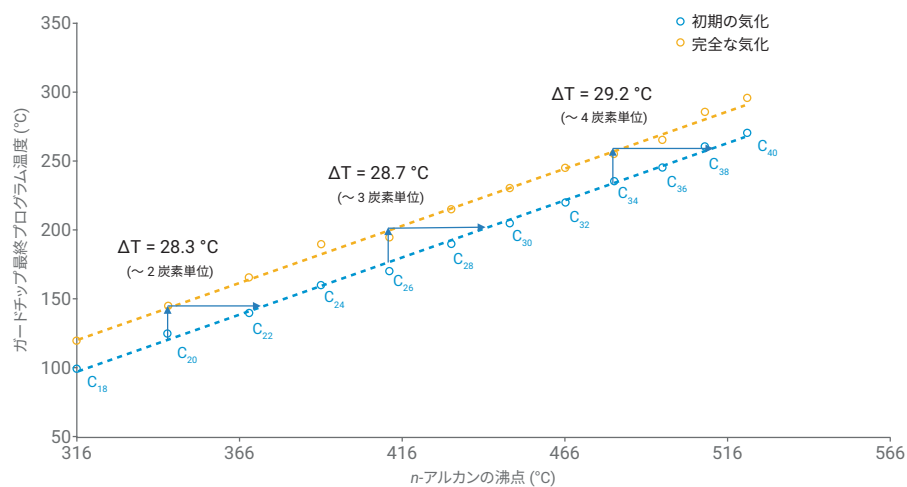


図 7. ガードチップパルスによる沸点と炭素数の選択性

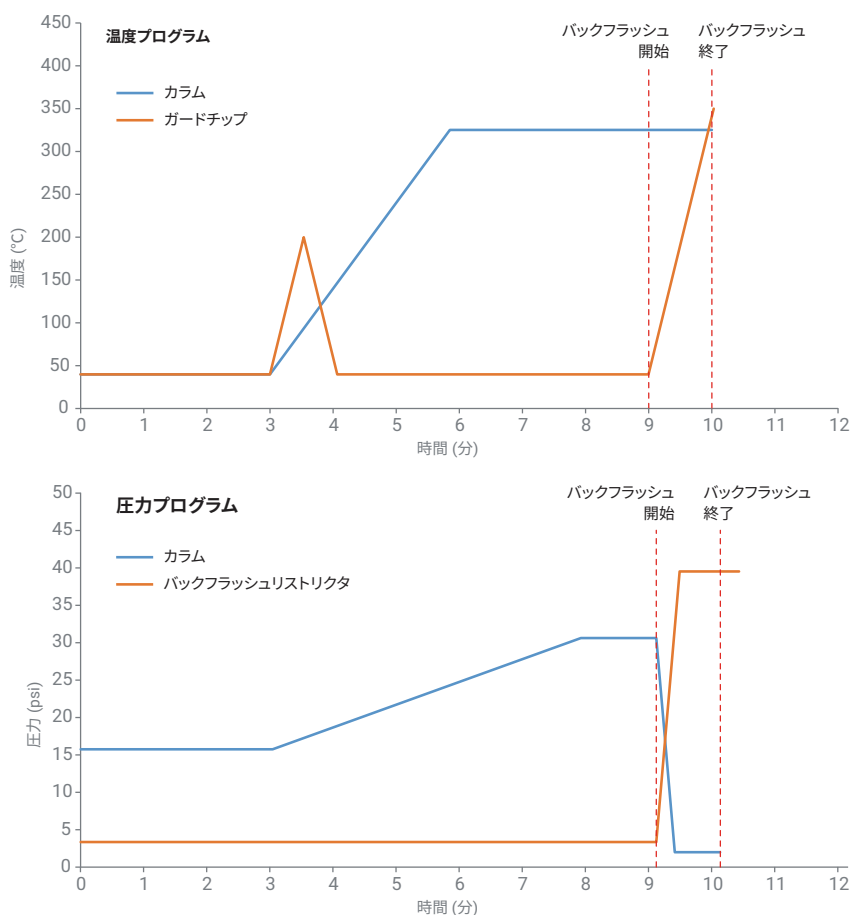


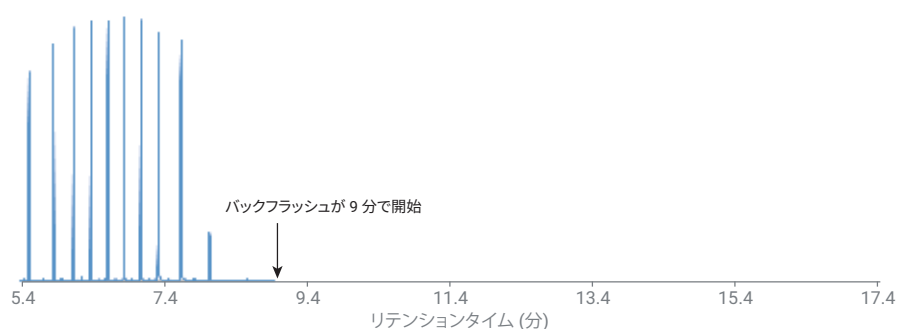
図 8. バックフラッシュのための温度と圧力プログラム

ガードチップパルスは、上限のパルス温度により化合物をガードチップで効果的にリリースまたはトラップできるため、ポストカラムバックフラッシュの効果的な手段です。従来の GC ではガードカラムは分析カラムと同じオープン内にあり、バックフラッシュの対象の溶質またはマトリックスがガードカラムを通して分析カラムに移動するため、バックフラッシュに長い時間がかかります。これらの溶質とマトリックス化合物がガードチップで分離できると、バックフラッシュ時間を短縮できます。図 10 は、ガードチップパルスおよび従来の GC 手法を使用した場合の $C_{28} \sim C_{40}$ のバックフラッシュに必要な時間を示しています。ここで、従来の GC 手法のガードチップ温度はカラムの昇温プログラムに従ってプログラムされました。従来のバックフラッシュを使用した場合は 3.5 分かかりますが、ガードチップパルスを使用したバックフラッシュは 30 秒以内に完了しました。

ガードチップパルスとバックフラッシュ：マトリックスを使用した実験

ガードチップパルスとバックフラッシュを土壌抽出物に適用しました。土壌抽出物には、ターゲット PAH のインデノ[1,2,3-cd]ピレンとベンゾ[ghi]ペリレンが含まれていたほか、ターゲット化合物の後に溶出した重いマトリックス化合物（おそらく PAH の異性体）が含まれていましたが、これは分析対象物ではありませんでした（図 11）。

A 1 μ L 注入



B 注入ブランク

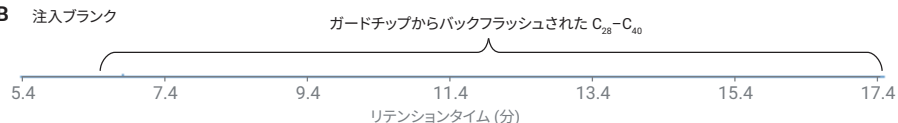


図 9. ガードチップパルスとバックフラッシュを示すクロマトグラム

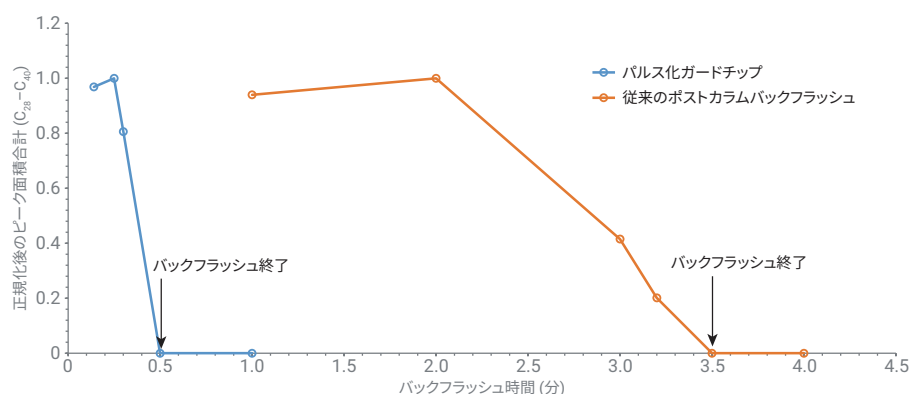


図 10. ガードチップパルスによる時間短縮とポストカラムバックフラッシュ

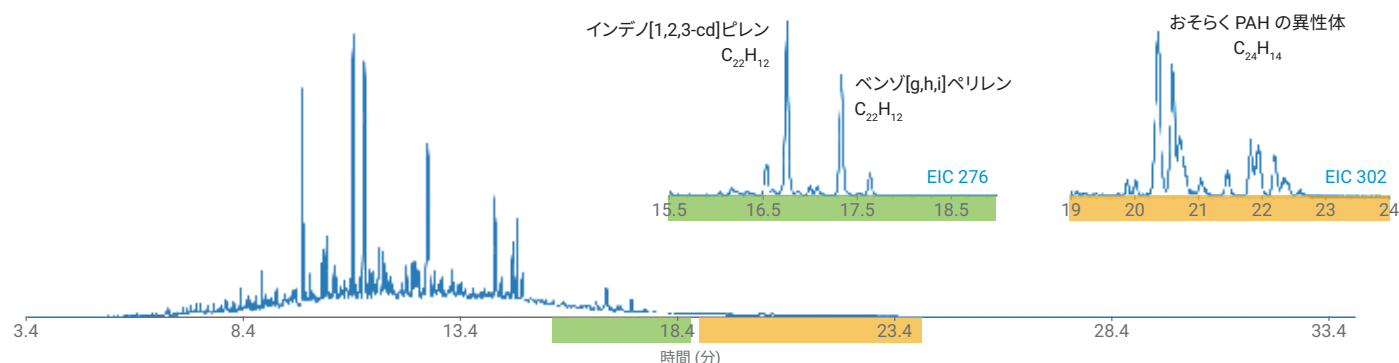


図 11. 土壌抽出物とターゲット PAH およびマトリックス

ターゲット PAH を気化させ、一方でマトリックスをガードチップにトラップするには、250 °C でパルス温度を 3 秒間保持しておく必要があります (図 12)。マトリックスをガードチップから除去するために必要なバックフラッシュ時間はわずか 1 分でした (図 13)。

結論

このアプリケーションノートでは Intuvo ガードチップの機能と選択性に関する基本的な情報を説明しました。等温および温度パルスの両方でのガードチップ加熱プログラムの調整により、選択性の要素を溶質分離に付加できます。精密な温度制御を使用すれば、化合物をガードチップに選択的にトラップできます。ガードチップ温度のパルスを精密なフロープログラミングと組み合わせて使用することで、揮発性が低い化合物がカラムに入る前にガードチップからバックフラッシュすることが可能になります。この手法により、従来のポストカラムバックフラッシュと比べて、バックフラッシュの効率がよくなる可能性があります。

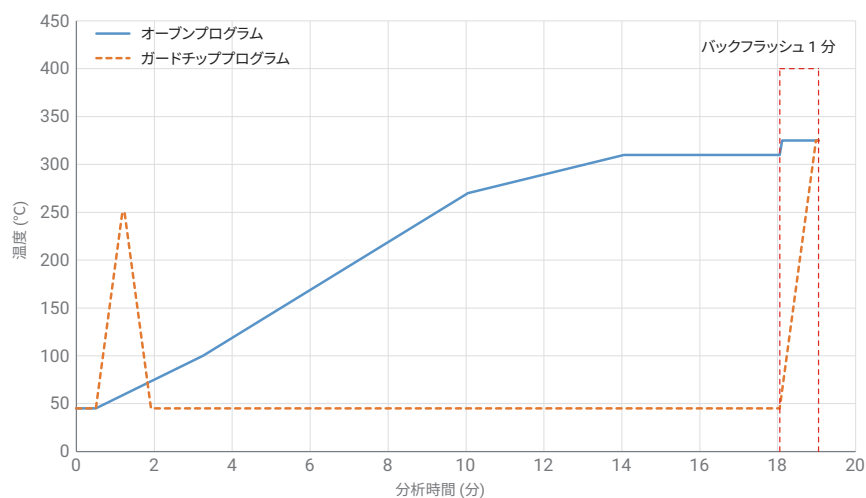
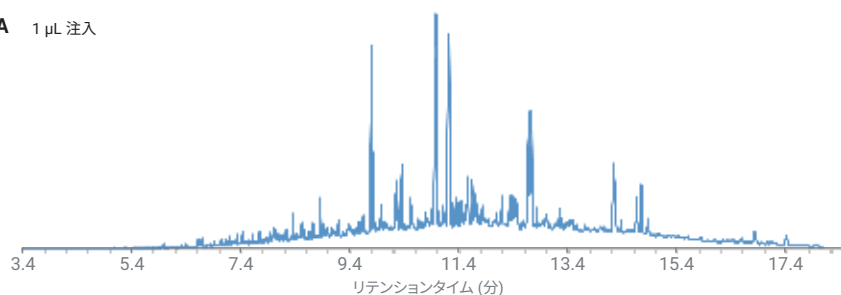


図 12. 土壌マトリックス用のガードチップとオープンのプログラム

A 1 µL 注入



B 注入ブランク

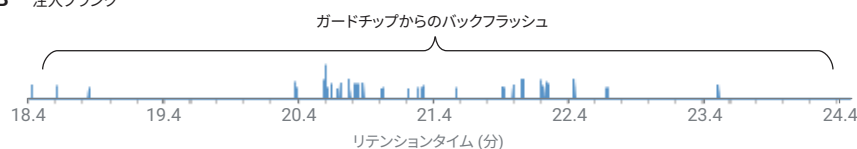


図 13. バックフラッシュを使用してマトリックスを除去した土壌マトリックス

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. 2018
Printed in Japan, July 16, 2018
5994-0058JAP