

半揮発性有機化合物の ガスクロマトグラフィー / 質量分析における フリットライナとウールライナの比較

著者

Angela Smith Henry, PhD
Agilent Technologies, Inc.

概要

ガスクロマトグラフィー / 質量分析 (GC/MS) は、環境マトリックス中の半揮発性有機化合物の分析に一般的に用いられる技術です。非揮発性化合物を含む環境マトリックスなどの分析に適したライナを選択することでカラム寿命が向上し、GC/MS システムのメンテナンスに伴うダウンタイムを低減できます。一般的に、ガラスウール入りライナや焼結ガラスフリットライナは、環境分析に用いられます。今回の実験において、マトリックスに対する保護に非常に優れた焼結フリットである、Agilent ウルトライナートスプリットレスローフリットライナは、スプリットレスガラスウールライナより難易度が高いマトリックスに対する回復性が高いことが明らかになりました。

はじめに

政府当局や規制機関は、環境マトリックスおよび産業マトリックスにおいて汚染物質として同定される半揮発性有機化合物 (SVOC) について、GC/MS システムによる測定方法および性能基準を規定しています。¹ 米国環境保護庁 (U.S. EPA) メソッド 8270 (バージョン 8270D および 8270E) には、固形廃棄物、土壌、空気および水の抽出物中の、GC/MS による分析に適した 200 種類を超える化合物の一覧が示されています。^{2,3}

GC 注入口ライナは、GC/MS システムを滅菌状態かつ不活性状態に保つのに欠かせない消耗品です。不活性化されたライナは、注入口のピーク劣化を防ぐだけでなく、ガラスウールやガラスフリットなどの不活性化された充填物が加わることで、表面部分の気化が十分に促され、なおかつ土壌などの複雑なマトリックスから GC カラムや MS イオン源を保護するバリアにもなります。このような環境分析の場合、カラムへの分析物の移送を最大化するため、注入は一般的なスプリットレス注入で行います。また、分析物の多くが金属に反応するか活性点となる可能性があるため、シングルテーパライナの使用が推奨されます。これによって、微量の活性化化合物の相互作用をゴールドシールによって最小限に抑えることができ、場合によっては、排除できる可能性もあります。寿命を最大限に延ばすため、カラム上部のマトリックスを最小限に、活性化化合物の金属表面との相互作用の可能性も最小限に抑え、複雑なマトリックスの注入には、ガラスウールまたは焼結ガラスフィット入りのスプリットレスシングルテーパライナを使用します。このアプリケーションノートでは、Agilent ウルトライナートスプリットレスローフリットライナ、Agilent ウルトライナートスプリットレスシングルテーパライナ (ウールライナ入り)、さらに別の 2 種類のスプリットレスシングルテーパライナ (ウールライナ入り) を、寿命、DDT 分解率、一貫した不活性化の再現性、複数回のライナ交換やカラムトリミングにおける検量線の再利用可能性に的を絞って比較しました。

実験方法

酸性、塩基性、中性の化合物の代表的な混合物と、ニトロサミンから多環芳香族炭化水素 (PAH) までのさまざまな化合物クラスで構成される混合物を生成するため、97 種類のターゲット化合物とサロゲート化合物を含む標準原液のセットを選択しました。分析対象物の回収とキャリブレーションに、6 種類の重水素化 PAH の内部標準混合物を使用しました。標準原液を混合してジクロロメタンで希釈し、200 µg/mL の分析用標準を作製しました。作業標準を希釈して、0.1 ~ 100 µg/mL までの標準液を作製しました。内部標準を、各キャリブレーション標準に濃度レベル 40 µg/mL で添加しました。リテンション順に列記した全化合物の一覧については、以前のアプリケーションノートをご覧ください。内部標準については、一覧の末尾に順不同で列記しています。⁴

それぞれ 25 µg/mL のベンジジン、ペンタクロロフェノール、4,4'-ジクロロジフェニルトリクロロエタン (4,4'-DDT)、デカフルオロジクロロジフェニルトリクロロエタン (DFTPP) を含む混合物のチューニング標準を使用して、MS キャリブレーションおよびチューニング設定を得ました。

表 1. GC および MSD 機器および消耗品

構成	機器および消耗品
GC	Agilent 7890 GC
MS	不活性 EI イオン源を搭載した Agilent 5977 GC/MSD
ドロアアウトプレート	9 mm (部品番号 G3440-20022)
シリンジ	Agilent ブルーライン 10 µL PTFE-チッププランジジャーパードシリンジ (部品番号 G4513-80203)
カラム	Agilent J&W DB-8270D ウルトライナート、30 m × 0.25 mm × 0.25 µm (部品番号 122-9732)
注入口セプタム	Agilent 高性能グリーン、ノンスティックセプタム、11 mm (部品番号 5183-4759、50 バック用)
オートサンブラ	Agilent 7650A オートサンブラ
バイアル	Agilent A-Line スクリューバイアル、認定、茶色、100 個 (部品番号 5190-9590)
バイアルインサート	Agilent 不活性化バイアルインサート、100 個 (部品番号 5181-8872)
バイアル用スクリュウキャップ	Agilent スクリューキャップ、PTFE/シリコン/PTFE セプタム、キャップサイズ: 12 mm、500 個 (部品番号 5185-5862)

表 2. ライナタイプおよび本文で使用している略称

ライナ情報	本文で使用している名称
Agilent ウルトライナートスプレットレスローフリットライナ (部品番号 5190-5112)	Agilent フリットライナ
Agilent ウルトライナートスプリットレスシングルテーパライナ、ガラスウール入り (部品番号 5190-2293)	Agilent ウールライナ
メーカー A ガラスウール入り不活性化スプリットレスシングルテーパライナ	ウール A ライナ
メーカー B ガラスウール入り不活性化スプリットレスシングルテーパライナ	ウール B ライナ

メソッド 8270 分析用の、ジクロロメタンで抽出した土壌抽出化合物の混合物は、ラボで目にする多くの代表的なマトリックス残留物ですが、今回は Pace Analytical (Mt. Juliet, TN) から調達しました。

装置構成

Agilent 7890B GC をシングル MS 用流路で構成し、不活性 EI イオン源と 30 m の Agilent J&W DB-8270D ウルトライナートカラムを接続しました。5977A GC/MSD に、9 mm のドロアアウトプレートを取り付けました。表 1 は、今回の実験で使用した GC/MS 機器および消耗品についてまとめたものです。テーパ上部のライナ基部にガラスウールまたは焼結ガラスフリットのいずれかを配したスプリットレスシングルテーパタイプの複数のライナを試験しました。ライナの具体的なタイプについては、表 2 に示しています。GC および MSD のメソッドパラメータ (表 3) は、およそ 22 分のメソッドとなるように最適化したものです。同時に、異性体対に必要な分解能を保持しており、スキャン範囲やスキャン速度などの EPA 8270 のパラメータガイドラインに準拠しています。

表 3. GC および MSD 機器の条件

パラメータ	設定値
注入量	1 µL
注入口	スプリット/スプリットレス、280 °C、パルスドスプリットレス、0.6 分まで 30 psi、0.6 分で 50 mL/min でバージ、スウィッチドセプタムバージ、3 mL/min
カラム温度プログラム	40 °C (0.5 分間保持)、10 °C /分で 100 °C、25 °C /分で 260 °C、5 °C /分で 280 °C、15 °C /分で 320 °C (2 分間保持)
キャリアガスと流量	ヘリウム、1.30 mL/min、定流量
トランスファーライン温度	320 °C
イオン源温度	300 °C
四重極温度	150 °C
スキャン	m/z 35 ~ 500
ゲイン係数	0.4
スレッシュホールド	0
A/D サンプル	4

結果と考察

システム適合性およびシステムキャリブレーション

メソッド 8270 では、GC/MS が、サンプル分析に先立って所定の試験に合格し、定量分析に対する適合性を有していることを示す必要があります。この適合性試験には、DFTPP、4,4'-DDT、ペンタクロロフェノール、ベンジジンを含む DFTPP チューニング標準で、MSD のチューニングと流路の不活性度を評価することも含まれます。DFTPP を用いて、質量分析計のイオン化機能と検出の適合性を試験しました。ペンタクロロフェノールのピークテーリングは酸性性に関係し、ベンジジンのピークテーリングは塩基活性を示すことから、ベンジジンおよびペンタクロロフェノールのテーリングファクターである、4,4'-DDT から 4,4'-DDE および 4,4'-DDD までの分解率は、流路の不活性性の試験に用いられます。メソッド 8270 の性能基準を満たさない場合、そのシステムを分析に用いることは許されず、ライナの交換やカラムトリミングといったメンテ

ナンスを実施する必要があります。また、メソッド 8270 では、ベンゾ(b)フルオランテンとベンゾ(k)フルオランテンなど、近接して溶出する構造異性体対のクロマトグラフィー分離能を示すことと規定しています。これらの異性体が報告される場合は、2 個の構造異性体の間のピークバレー (谷) が、異性体ピークの平均最大高の 50 % 以下とされています。

フリットライナを使用した場合のシステム適合性の結果および近接して溶出する構造異性体対のクロマトグラフィー分離能については、以前のアプリケーションノートで説明しています。⁴ クロマトグラフィー分離能はオープン温度パラメータに多く左右されるため、試験済みのガラスウールライナを使用した場合の異性体対のクロマトグラフィー分離能は、Agilent フリットライナの結果と一致しました。異性体対の確認に関連する、97 種類のターゲット化合物のトータルイオンクロマトグラム (TIC) は、同じようなピーク応答を確認できるよう、図 1 にライナタイプ別の重ね表示で示しています。これらのライナはすべて、テーバのすぐ上のライナ基部にバリアとなるガラス素材が配され

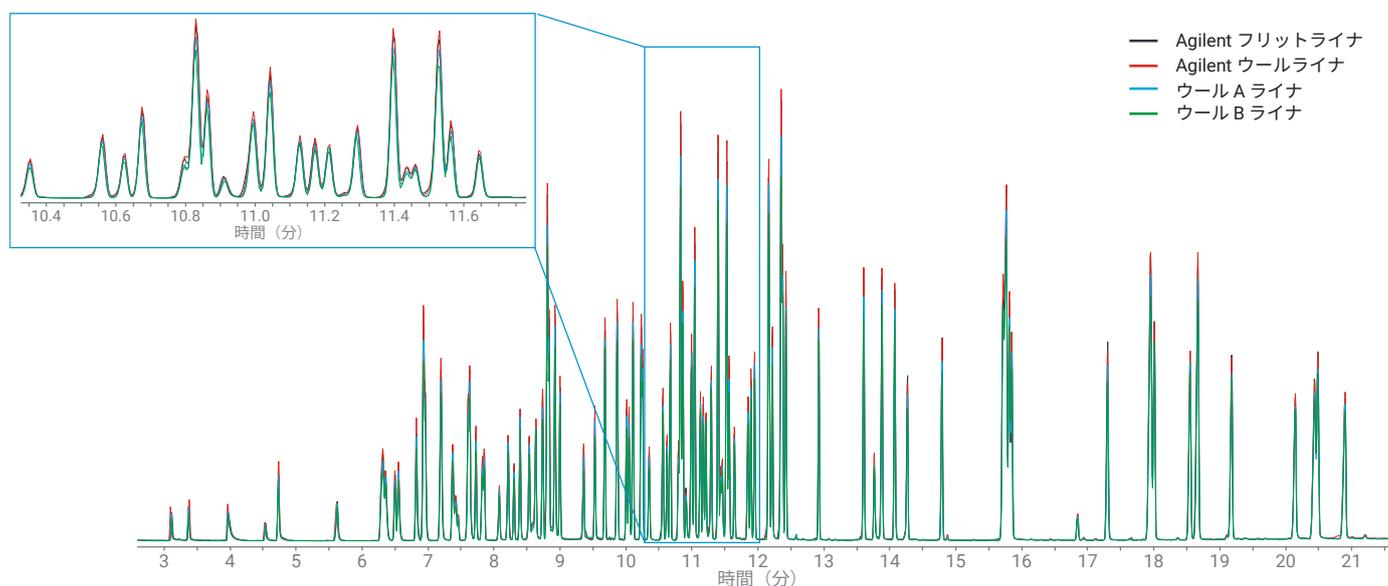


図 1. ターゲット化合物およびサロゲート化合物 20 µg/mL、ISTD 40 µg/mL における Agilent フリットライナ (黒線)、Agilent ウールライナ (赤線)、ウール A ライナ (青線) およびウール B ライナ (緑線) のトータルイオンクロマトグラム (TIC) の重ね表示。差し込み図は、TIC の中央部を拡大したものです。

ています。そのため、同じようなピーク応答が期待され、その後、すべてのライナの初回取り付けでこれを確認しました。図 1 の拡大図は注入中盤に差し掛かったところで溶出を始めた化合物を示したもので、4 タイプのライナのピーク応答の重ね表示をより明確に示しています。

すべてのライナの初回取り付けで DFTPP チューニング標準液を評価して各ライナの分析への適合性を確認し、さらにライナタイプの分析への適合性も確認しました。DDT 初回分解率は、各タイプ 5 つずつのライナ全体で平均しました。各ライナの DDT 初回分解率は 2.0 % を下回りました。ペンタクロロフェノールおよびベンジジンのテーリングファクター (TF) も、4 タイプのライナすべてで 1.2 を下回る値となり、これらを平均しました。これは、TF 2.0 の許容値をはるかに下回っています。また、すべての DFTPP イオン比も、初回キャリブレーションで合格となりました (ここでは示していませんが、以前のアプリケーションノートでご確認いただけます)。⁴ DFTPP の初回チューニング標準液の DDT 分解率 およびテーリングファクターの平均結果を、表 4 にライナタイプごとに示しています。検量線データは Agilent フリットライナで採取し、これについては以前のアプリケーションノートで示しています。⁴ 97 種類のターゲット化合物のうち 4 種類だけが、キャリブレーション基準合格のために直線回帰を用いる必要がありました。

マトリックス実験

一般的に、環境分析を行うラボでは、定期的に点検を実施してシステムの適合性とキャリブレーションの完全性を維持しています。種類

の異なるライナの耐久性を比較するため、マトリックス注入を繰り返し、性能チェックを実施しました。今回の実験では、システムの適合性またはキャリブレーション要件が不合格となるまでマトリックスサンプルの注入を繰り返す手法を用い、その後、ライナ交換などの適切なメンテナンスを行って、システムを許容可能な性能に回復させました。また、ガラスフリットライナおよびガラスウールライナを互いに交換して使用を評価し、ガラスウールライナがキャリブレーション基準に合格するかどうかを、フリットライナに基づいて生成された検量線に照らして見極めました。

このテストでは 10 回のマトリックス注入ごとに、メソッド 8270E の仕様に関連する次の 3 つの測定値で構成される性能チェックを実施しました。³

- QC - 正確な DFTPP チューニング比、ペンタクロロフェノールおよびベンジジンのテーリングファクターが 2.0 未満、4,4'-DDT の分解率が 20 % 未満
- CCV - ターゲット化合物の 90 % 以上でキャリブレーションの中間点のドリフトが ± 20 % 以内
- ISTD - 内部標準のピーク面積のドリフトの係数が 2 以内であることを確認

各ライナに最初の連続のマトリックス注入を実施する前に、先のセクションで説明した、GC/MS システムのシステム適合性およびキャリブレーションの確認の試験を、表 1 に示したメソッド 8270D パラメータを用いて行いました。このシーケンスでは、マトリックス注入前と 10 回のマトリックスサンプル注入ごとに QC および CCV チェックを実施し、効率

性向上のため、シーケンス全体を 20 回のマトリックス注入でバッチ化して処理しました。20 回の各マトリックス注入シーケンス後に、QC と CCV の結果をレビューしました。チェック注入がすべて合格の場合は、次の 20 回のマトリックス注入シーケンスに移行し、QC および/または CCV チェックが不合格になるまでこれを繰り返しました。DDT 分解率 (%) が 20 % を上回る場合は、ジクロロメタンに浸した綿棒で注入口およびターントップをすばやく清掃し、ライナおよびセプタムを交換しました。その後、QC および CCV チェック混合液でシステムを再テストしました。

初回の検量線は Agilent フリットライナを用いて生成し、この初回のライナをマトリックステストの対象としました。QC (または/および CCV) 基準で不合格となった場合、このライナを Agilent ウールライナに交換しました。ライナ交換は、フリットライナとガラスウールライナとを交互に交換する形で行い、ガラスウールライナの場合でも、また、類似した形状のガラスフリットライナで生成された曲線でも、CCV 合格基準に達し得る検量線が生成されるかを確認しました。Agilent フリットライナと Agilent ウールライナ各 5 つをテストした後、ウール A ライナおよびウール B ライナを実験セットに加えしました。

ウール A ライナとウール B ライナを各 5 つテストし、Agilent フリットライナおよび Agilent ウールライナを各 6 つテストして、マトリックス注入合計 510、溶媒ブランク、QC チェックおよび CCV チェックを含め全 788 注入を実施しました。DDT 分解率、テーリングファクターおよびライナ寿命の平均の算出には、Agilent フリットライナおよび Agilent ウールライナの最初の各 5 つのデータのみを使用しました。6 番目の Agilent ウールライナは、3 回目のカラムトリミング後、次のウール B ライナでの注入前に、QC 結果および CCV 結果をチェックするための注入に使用しました。6 つの Agilent フリットライナをテストしたのは、ライナを 18 個使用し、カラムトリミングを 3 回実施した場合には、イオン源洗浄とカラム交換を行う規定となっているため、フリットライナの新しい検量線の確認に、これらの因子が必要だったためです。

表 4. DFTPP チューニング標準液 (QC チェック用) の初回注入の平均結果と、各ライナタイプ別マトリックス注入回数に基づく、5 つのライナで平均した平均寿命

ライナタイプ	初回 DDT 平均分解率 %	初回平均テーリングファクター (TF) ペンタクロロフェノール	初回平均テーリングファクター (TF) ベンジジン	平均寿命 (マトリックス注入回数)
Agilent フリット	0.88 %	1.10	1.00	24
Agilent ウール	1.94 %	1.10	1.16	10
ウール A	1.06 %	1.15	1.13	10
ウール B	1.02 %	1.08	1.02	10

システムが使用に適さなくなった場合を見極めるため、DDT 分解率が 20 % を超えていないか追跡しました。図 2 に示すように、いずれの場合も、ライナを交換すると、DDT 分解率は 20 % 未満に下がり、テスト済みライナではすべて 3 % 未満にまで下がりました。ライナとそれに対応する、初回とその後の 10 回のマトリックス注入ごとの DDT 分解率 (%) を使用順に図 2 に示します。初回 DDT 分解率の平均値は、表 4 に示しています。Agilent フリットライナの分解率平均値は 0.88 % で最大値 1.10 %、Agilent ウールライナの分解率平均値は 1.94 % で最小値 1.70 % でした。ウール A の分解率平均値は 1.06 % で最小値 0.60 % でした。ウール B ライナの分解率平均値は 1.02 % で最大値 1.20 % でした。初回の分解率値が低く、値域も狭いことからわかるように、ライナは、総じて、活性点が少ないかゼロで、十分に不活性化されています。ライナの交換によって分解率が 20 % の限界値未満に適切に回復したことから、ライナへの残留物の蓄積が 4,4'-DDT の分解の原因と考えられます (図 2)。

寿命 (それぞれのライナについてシステムが分析に適さない状態となること) の最も重要な指標としては、DDT 分解率を使用しました。ライナタイプごとの QC チェックデータ、特に DDT 分解率、CCV 不合格数に基づいて平均寿命を算出し、表 4 にまとめました。すべてのウールライナの場合、DDT 分解率が許容値の 20 % を超える前に、平均 10 回のマトリックス注入を完了しました。対して、Agilent フリットライナの場合は、20 % の分解率の許容値を超える前に平均 24 回のマトリックス注入を完了できました。これは、ガラスウールライナの 2 倍の寿命です。ガラスウールライナよりもガラスフリットライナの寿命の方が長いのは、焼結フリットが配されていることと関係があると考えられます。非揮発性マトリックスは、ウールライナの内壁に沿ってカラム上方に降りていくという可能性よりもフリットに浸透していく可能性が断然高いからです。

EPA 8270E メソッドでは、12 時間ごとに検量線の間接点の標準によってキャリブレーションを確認するよう規定されています。この実

験では、20 回のマトリックス注入完了ごとに CCV 標準をテストし、QC または CCV が不合格になるまでこれを繰り返しました。算出された濃度が実際の濃度の $\pm 20\%$ 以内であれば、検量線の有効性が担保されます。また、化合物の 20 % 以上がチェックで不合格となる場合は、システムは分析に不適合となり、是正措置が必要となります。今回の実験では、96 種類のターゲット化合物について、是正措置の許容値を失敗率 10 % (すなわち、9 種類を超える化合物が $\pm 20\%$ の許容限界を逸脱) に引き下げました。図 3 には、各ライナでの CCV 結果をライナの使用順に示し、さらに、初回 QC チェックで不合格となった化合物数、また、10 回のマトリックス注入完了ごとの不合格となった化合物数も示しています。このデータを根拠とし、ガラスフリットライナで生成した検量線を、類似した形状のガラスウールライナにも用いることができます。ガラスフリットライナおよびガラスウールライナでの初回の CCV 不合格数は、いずれも概ね不合格の化合物 4 種類以下となり、ガラ

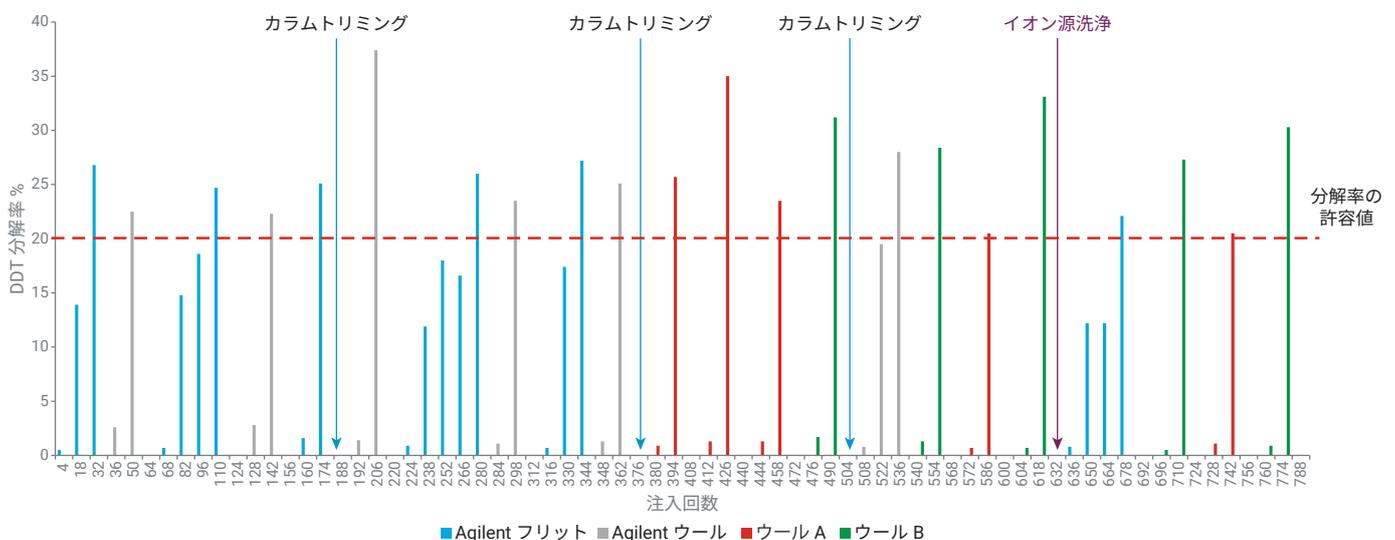


図 2. 各ライナの使用順に示した 4,4'-DDT の分解率と回復性：Agilent フリットライナ (青色)、Agilent ウールライナ (灰色)、ウール A ライナ (赤色) およびウール B ライナ (緑色)。メソッド 8270E の分解率上限を赤色の破線で示しています。カラムトリミングとイオン源洗浄を行ったマトリックス注入回数の位置を矢印で示しています。

スワールライナにガラスフリットの検量線を利用できることを示唆しています。ライナ交換後は必ず、キャリブレーション不合格となる化合物数が減少するか、今回の実験の許容値である 10 % 未満が維持されました。多くの場合で、ライナ交換によって、キャリブレーション不合格となる化合物数が減少すると考えられます。ただし、合計で 376 回（マトリックス注入 250 回）以上の注入を行った後でライナを交換する場合はこの限りではなく、不合格となる化合物数に概ね変化はありません。ライナの中には、CCV 不合格化合物数が今回の実験の許容値に近い値になったものもあります。例えば、マトリックス注入を 30 回行った後の 2 番目のフリットライナや、マトリックス注入を

10 回行った後の最後のウール B ライナ（注入番号 774）では 9 種類の化合物が CCV 基準不合格となり、マトリックス注入後に不合格数が高くなりました。マトリックス注入回数が多くなればなるほど CCV 不合格数が有意に増える場合や、初回 CCV 注入で 4 種類の化合物の不合格数が改善しない場合には、カラムトリミングを検討しました。全体として、CCV 不合格となったのは 18 番目のライナのみです。これは 2 番目のウール B ライナで、11 種類の CCV 化合物でキャリブレーションチェックが不合格となりました。また、同じライナで、DFTPP 化合物の m/z 127 イオン比が最後の QC チェックで不合格となり、イオン源洗浄の措置を取りました。後の方で交換し

たライナや後の方で行ったマトリックス注入のほとんどの場合では、不合格率は 10 % の実験許容値以下を保ったものの、マトリックスがカラムに移動してイオン源に達してしまったために、初回の不合格率がそれまでの値よりも高くなった可能性があります。イオン源洗浄ならびにカラムおよびライナの交換を行うと、CCV 不合格数はゼロになり、DFTPP イオン比も合格になったため、この可能性は高いと考えられます。

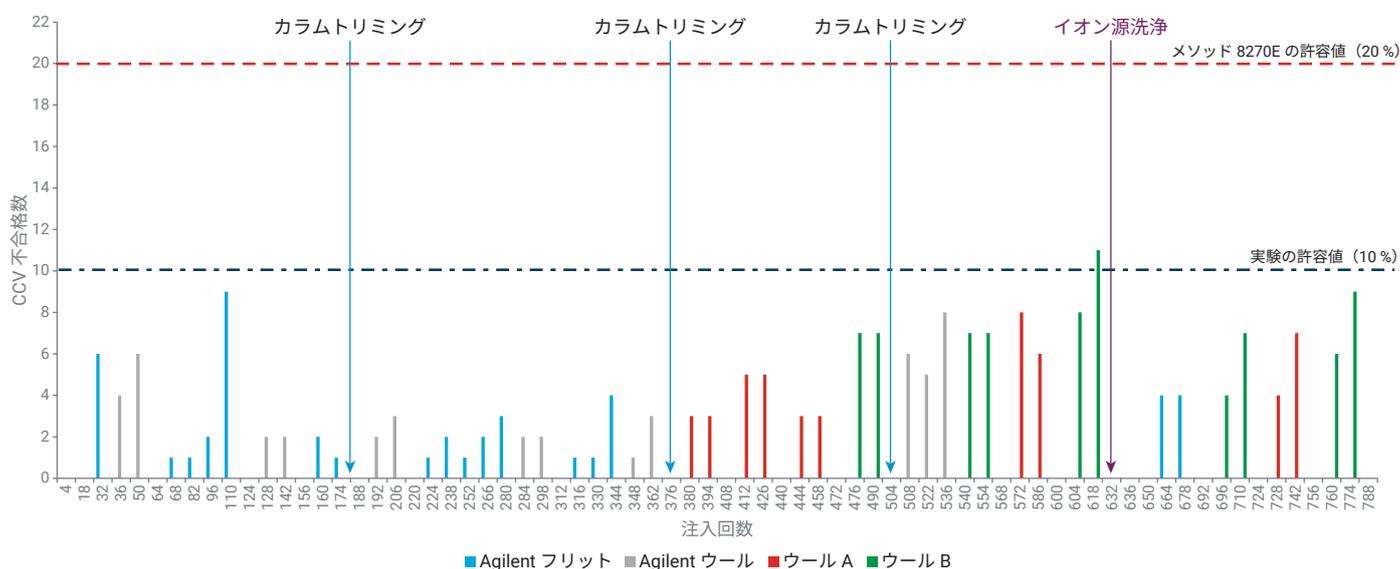


図 3. 各ライナの使用順に示した CCV の不合格数：Agilent フリットライナ（青色）、Agilent ウールライナ（灰色）、ウール A ライナ（赤色）およびウール B ライナ（緑色）。メソッド 8270E の分解率上限を赤色の破線で、今回の実験の 10 % の上限を青色の一点鎖線で示しています。カラムトリミングとイオン源洗浄を行った注入回数の位置を矢印で示しています。

結論

今回の実験で、マトリックスに対する保護に非常に優れた焼結フリットである、ウルトライナー スプリットレスローフリットライナに、難易度が高いマトリックスに対する高い回復性があることが明らかになりました。このフリット入りライナは、マトリックス注入 24 回という最長平均寿命を維持しました。これは、ガラスウールライナの 2 倍以上の寿命です。ガラスフリットまたはガラスウール入りのスプリットレスシングルテーパライナはすべて、新たなライナを取り付けることで、4,4'-DDT 分解率平均が 2 % 未満となったことから、一貫した不活性を示しています。類似した形状およびバリア素材のライナ（ガラスフリットやガラスウールなど）は、この EPA 8270 分析で同じようなピーク応答を示し、同じ検量線を用いることができます。

参考文献

1. Padilla-Sánchez, J.A.; Plaza-Bolaños, P.; Frenich, A.G. Applications and Strategies based on Gas Chromatography-Low-Resolution Mass Spectrometry (GC-LRMS) for the Determination of Residues and Organic Contaminants in Environmental Samples. In *Comprehensive Analytical Chemistry*; Cappiello, A.; Palma, P., Eds.; Advanced Techniques in Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS-MS and GC-TOF-MS) for Environmental Chemistry, Volume 61; Ferrer, I.; Thurman, E., Eds; Elsevier, Oxford, 2013, pp 181-199.
2. Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS); Method 8270D; United States Environmental Protection Agency, Revision 4, February 2007.
3. Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS); Method 8270E; United States Environmental Protection Agency, Revision 4, June 2018.
4. Smith Henry, A. Agilent 焼結ガラスフリットライナを用いたガスクロマトグラフィー / 質量分析法による半揮発性有機化合物の分析, アジレント・テクノロジー, 資料番号 5994-0953JAJP, **2019**.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンター

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いません。
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. 2020
Printed in Japan, July 2, 2020
5994-2179JAJP
DE.3654398148

