

半揮発性有機化合物のフルスキャン定量分析

SVOC 分析における Agilent 7000D GC/TQ の フルスキャンデータ取り込みモードでの性能の評価

著者

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

概要

Agilent 7000D トリプル四重極 GC/MS システム (GC/TQ) をフルスキャンデータ取り込みモードで動作させ、環境サンプル中の半揮発性有機化合物 (SVOC) を定量分析しました。GC/TQ システムの使用条件を適切に設定することにより、幅広いダイナミックレンジにわたって優れたスペクトルライブラリ一致スコア、高感度、および直線性を実現しました。リテンションタイムロッキング (RTL) 機能を使用して、リテンションタイムを GC/TQ と GC/MSD システムで同じにすることにより、確認プロセスを簡略化できます。このアプリケーションノートでは、GC/TQ をフルスキャンデータ取り込みモードで動作させてデータ取り込みと処理を実施する際のガイドラインについて示します。これらのガイドラインに従って検量範囲 0.4 ~ 100 ppm で SVOC を分析したところ、GC/TQ のフルスキャン性能はシングル四重極 GC/MSD システムと同等でした。

はじめに

GC/MS による SVOC の分析は、ターゲット化合物が多数存在するため困難です。この中には、分子量と沸点が幅広い範囲にわたる塩基性、中性、酸性物質も含まれています。EPA メソッド 8270D/E は、GC/MS を使用した SVOC を分析する条件および品質管理チェックのガイドラインを示しています。¹以前のアプリケーションノート²では、Agilent 7890B GC と組み合わせた Agilent 5977 GC/MSD をフルスキャンデータ取り込みモードで動作させています。単一メソッドで検量範囲 0.2 ~ 160 ppm にわたるキャリブレーションにより性能要件に適合し、USEPA メソッド 8270D/E に準拠しています。EPA 8270E リビジョン 6 は、SVOC 分析用の GC/MS/MS (GC/TQ) の使用方法が含まれています。マルチプルリアクションモニタリング (MRM) モードで動作している GC/TQ は、GC/MSD と比較してマトリックス干渉が除去されるため、MRM により選択性が高まり感度が向上して、データはより堅牢になり、バッチ確認が高速化されます。GC/TQ は、標準操作手順書 (SOP)、メソッドバリデーション、またはサンプルスクリーニングでも、フルスキャンデータ取り込みモードが使用できます。

今回の実験では、7000D GC/TQ システムをフルスキャンモードで動作させ、スペクトルライブラリー一致を使用することにより、GC/MSD と同等の性能で化合物を同定できることを実証します。このアプリケーションノートでは、GC/TQ を使用したフルスキャンデータ取り込みと処理のベストプラクティスについて説明します。実験の目的は、90 を超える優れたスペクトルライブラリー一致スコア、大部分の化合物において 50 ppb 以下の検出下限 (LOD) での高感度、および 0.4 ~ 100 ppm の幅広いダイナミックレンジにわたる直線性を実現することです。

実験

この実験で使用した GC/TQ および GC/MSD システムを、以前の 2 つのアプリケーションノート^{2, 3}に従って、SVOC 分析で最高の性能を達成するように構成しました。図 1A のように Agilent 7890B GC を 7000D GC/TQ または 5977 シリーズ GC/MSD と組み合わせました。イナートプラス EI イオン源が搭載されています。スプリット/スプリットレス (SSL) 注入口、図 1B に示す低圧力損失 (LPD) GC 注入口ライナ (p/n 5190-2295)、および 30 m × 0.25 mm、0.25 μm、5 % フェ

ニル (ポリシロキサン) カラム (p/n DB-UI 8270D) を搭載した GC で、最適な分離を実施しました。機器の操作パラメータを表 1 に示します。

直径 9 mm のエクストラクタレンズ (p/n G3870-20449) を、GC/TQ および GC/MSD システムの両方で使用しました。SVOC 分析では、このレンズがメソッドの性能を大幅に向上させます。³

注入量はスプリットモードで 1 μL、GC/TQ のスプリット比は 10:1、パルスドスプリットモードでの GC/MSD のスプリット比は 5:1 です。メソッド 8270 の規定に従って、ベンゾ[b]フルオランテンとベンゾ[k]フルオランテンに対する分解能要件を満たすように、スプリット比を最適化しました。TQ を Atunes.eiex.tune.xml によりチューニングし、MSD を Atune.u によりチューニングしました。エレクトロンマルチプライアのゲインを GC/TQ では 1 に、GC/MSD では 0.3 に設定しました。使用する最高濃度の標準溶液のベースピーククロマトグラム (BPC) における最も高いピークが、GC/TQ では $3 \sim 6 \times 10^7$ カウント、GC/MSD では $3 \sim 6 \times 10^6$ カウントの範囲になるようにしました。

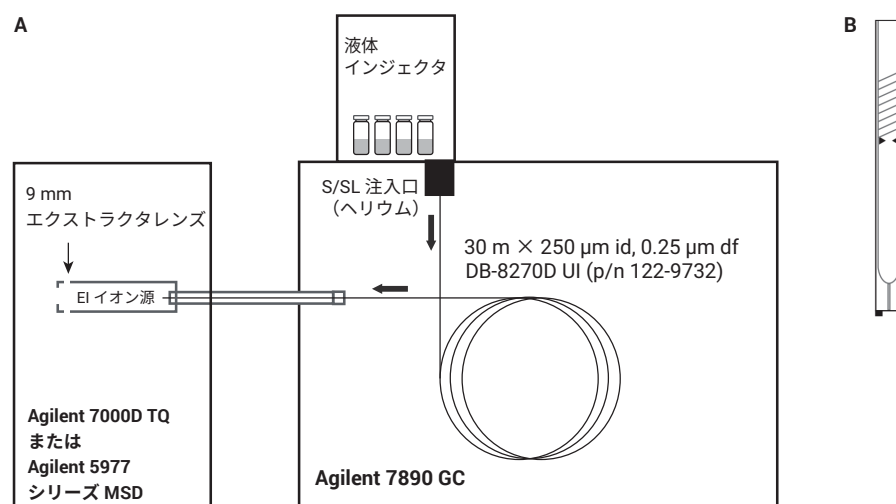


図 1. (A) Agilent 7890/7000D GC/TQ または Agilent 7890/5977 シリーズ GC/MSD の構成。
(B) ウルトラインアート (UI) 汎用低圧力損失ライナ (p/n 5190-2295)

表 1. GC/TQ および GC/MSD を使用した SVOC 分析のガスクロマトグラフおよび質量分析計条件

| | GC/TQ | GC/MSD |
|------------------------|--|-----------------------|
| GC | | |
| モデル | Agilent 7890、高速オープン付き、オートインジェクタ、およびトレイ | |
| 注入口 | スプリット/スプリットレス注入口 (SSL) | |
| モード | スプリット | パルスドスプリット |
| スプリット比 | 10:1 | 5:1 |
| 注入パルス圧力 | — | 30 psi、0.6 分まで |
| セブタムパージ流量 | 3 mL/min | |
| 注入量 | 1.0 µL | |
| 注入の種類 | 標準 | |
| L1 エアーギャップ | 0.2 µL | |
| 注入口温度 | 280 °C | |
| キャリアガス | ヘリウム | |
| 注入口ライナ | Agilent 汎用低圧力損失ライナ、ガラスウール入り (p/n 5190-2295) | |
| オープン | | |
| グラジエント | 40 °C、0.5 分間保持、 10 °C /min で 100 °C まで昇温、 25 °C /min で 260 °C まで昇温、 5 °C /min で 280 °C まで昇温 | |
| 合計分析時間 | 21.567 min | |
| ポストランタイム | 0 分 | |
| 平衡化時間 | 0.5 分 | |
| カラム 1 | | |
| タイプ | Agilent DB-8270D UI、30 m × 0.25 mm、0.25 µm (p/n 122-9732) | |
| コントロールモード | 定流量 | |
| 流量 | 0.992 mL/min | 1.292 mL/min |
| 注入口接続 | スプリット/スプリットレス注入口 (SSL) | |
| 出口接続 | MSD | |
| MS | | |
| モデル | Agilent 7000D TQ | Agilent 5977 シリーズ MSD |
| イオン源 | Agilent 不活性エクストラクタイオン源、9 mm エクストラクタレンズ付き | |
| 抽出レンズ | 9 mm (部品番号 G3870-20449) | |
| 真空ポンプ | パフォーマンススターボ | |
| チューニングファイル | Atunes.eiex.tune.xml | Atune.u |
| モード | MS1 スキャン | スキャン |
| 開始質量 | 35 | |
| 終了質量 | 500 | |
| スキャンスピード | 220 msec | N = 2 |
| タイムフィルタ | オン | — |
| 溶媒ディレイ | 2.5 min | |
| EM 電圧ゲインモード | 1 | 0.3 |
| 四重極温度 (MS1 および MS2) | 150 °C | 180 °C |
| イオン源温度 | 300 °C | |
| トランスファーライン温度 | 320 °C | |
| He クエンチガス | 2.25 mL/min | — |
| N ₂ コリジョンガス | 1.5 mL/min | — |

GC/TQ のフルスキャン取り込みモードでは、次のパラメータを選択しました。MS1 スキャン、 m/z 35 ~ 500、スキャンスピード 220 ms、タイムフィルター オンです。図 2 に示すように、これらのパラメータを Agilent MassHunter ワークステーションソフトウェアの TQ MS Method Editor で設定しました。コリジョンセルガスに対しては、デフォルトのパラメータを使用しました。He クエンチガスおよび N_2 コリジョンガスそれぞれに対して、2.25 mL/min および 1.5 mL/min です。

GC/TQ 分析のフルスキャンデータ取り込みモードでは、68 種類の混合化合物と 6 種類の内部標準 (ISTD) を使用して、0.4 ~ 100 ppm で 12 のキャリブレーション濃度を調製しました。ISTD の濃度は中間点の 20 ppm です。スプリットモードのスプリット比 10:1 で 0.5 ppm 標準溶液を 9 回連続して注入し、LOD を計算しました。データの取り込みと処理には、MassHunter ワークステーションソフトウェアを使用しました。

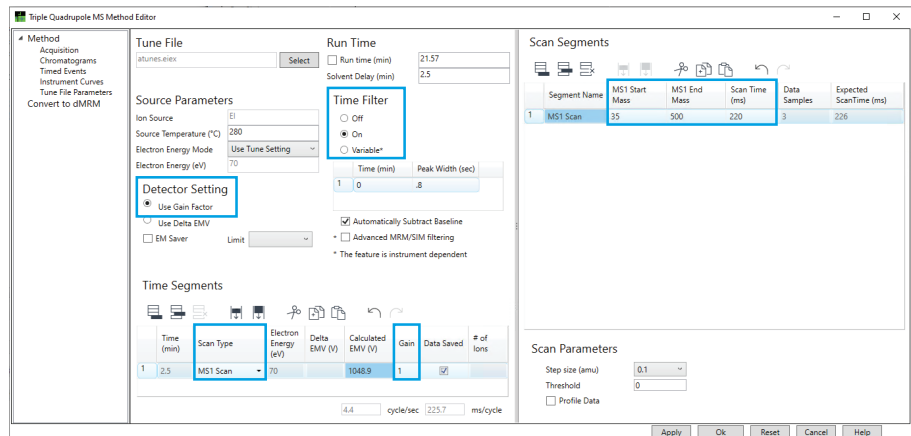


図 2. この実験で使用したフルスキャン取り込みパラメータを示す TQ MS Method Editor

結果と考察

EPA 8270E SVOC 分析において MRM で動作させた GC/TQ の使用方法については、以前のアプリケーションノートで説明しています。³この実験の目的は、Agilent 7000D GC/TQ システムをフルスキャンモードで動作させ、スペクトラライブラリ一致を使用することにより、GC/MSD と同等の性能で化合物を同定して

定量する方法を示すことです。GC/TQ を使用したフルスキャンデータ取り込みと処理のベストプラクティスについて説明します。

SVOC 分析で GC/TQ をフルスキャン取り込みモードで動作させた際の性能を、GC/MSD をスキャンモードで動作させた際の性能と比較しました。図 3 上に、スプリット比 10:1 の 1 ppm 標準 (0.1 ng オンカラム) に対して、GC/TQ で取り込んだフルスキャンデー

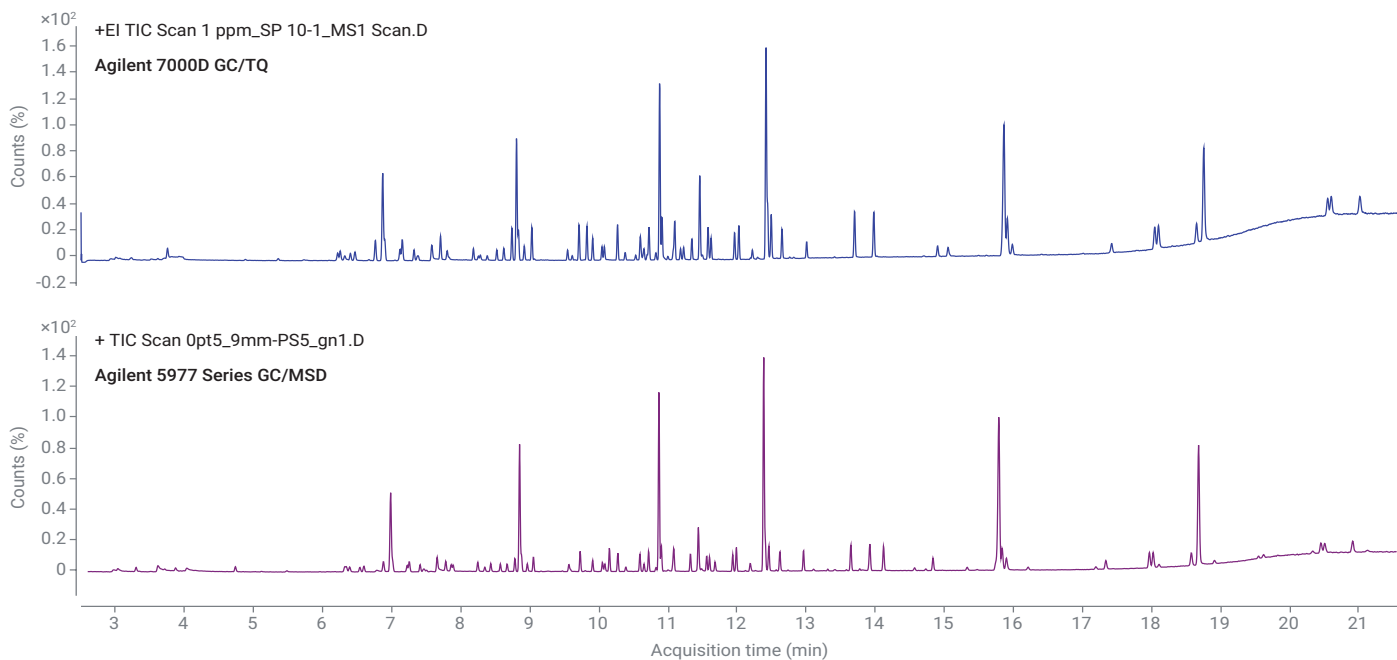


図 3. Agilent 7890/7000D GC/TQ で分析したスプリット比 10:1 の 1 ppm 標準 (0.1 ng オンカラム) のスキャン TIC (上)。Agilent 7890/5977 シリーズ GC/MSD で分析したバルドスプリット比 5:1 の 0.5 ppm 標準 (0.1 ng オンカラム) のスキャン TIC (下)

タのトータルイオンクロマトグラム (TIC) を示します。パルスドスプリット比 5:1 の 0.5 ppm 標準 (0.1 ng オンカラム) に対して、GC/MSD のスキャンモードで取り込んだ TIC を図 3 下に示します。

Agilent RTL 技術により、異なる Agilent GC/MS システムにおいても、すべてのターゲット化合物に対して同じリテンションタイムを実現しています。⁴RTLにより、メンテナンス後も 1 つのシステムのリテンションタイムを維持できます。図 3 に示すように、RTL では同じ種類のカラムを使用して機器間でリテンションタイムを一致させることができます。

GC/TQ のフルスキャンモードでのスペクトル忠実度

図 4 に、GC/TQ のフルスキャンデータ取り込みモードがすべての SVOC で NIST スペクトルライブラリに対して、優れたスペクトルライブラリー一致スコア (LMS) であったことを示します。LMS 値の取り込みには、GC 注入口スプリット比 10:1 で分析した 10 ppm 標準を、NIST スペクトルライブラリに対して MassHunter Unknowns Analysis ソフト

ウェアで処理しました。得られた LMS 値は GC/MS で取得した値と同等であり、74 種類の化合物すべての平均 LMS は 95 です。この結果は、サンプルスクリーニングで GC/TQ システムを使用して、スペクトルライブラリー一致により化合物を同定できることを実証しています。

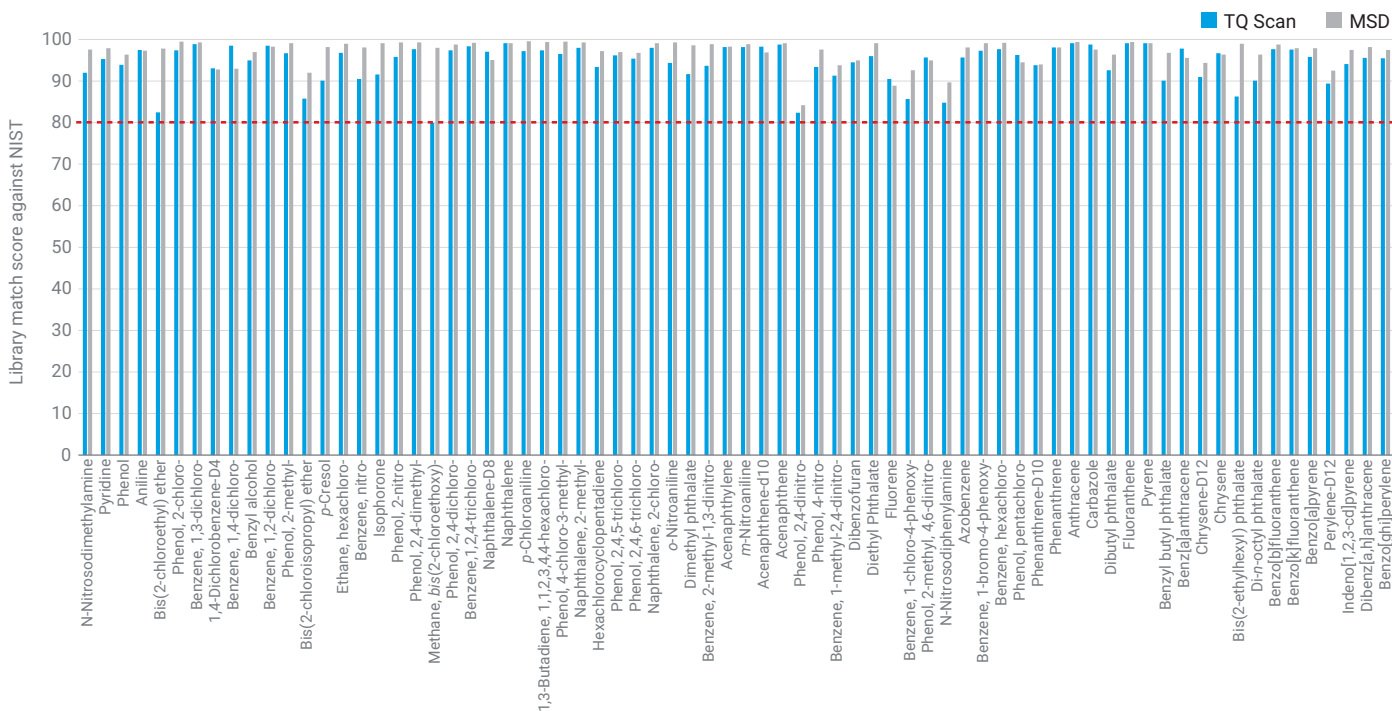


図 4. NIST スペクトルライブラリに対するライブラリー一致スコア (LMS)。青色のバー：Agilent 7890/7000D GC/TQ で分析したスプリット比 10:1 の 10 ppm 標準 (成分ごとに 1 ng オンカラム) の結果。灰色のバー：Agilent 7890/5977 シリーズ GC/MSD のフルスキャンデータ取り込みモードで分析したパルスドスプリット比 5:1 の 5 ppm 標準 (成分ごとに 1 ng オンカラム) の結果

GC/MSD RTL ライブラリに対する GC/TQ フルスキャンデータの分析

図4に示すLMS値は、NISTライブラリに対してサンプルを分析した際に取得しています。また、GC/MSDまたはGC/TQにより取得したEPA 8270 SVOC標準でフルスキャンデータを使用して作成したカスタムのリテンションタイムロックSVOCライブラリで、サンプルを分析することもできます。カスタムのライブラリに対してGC/TQフルスキャンサンプルを分析する利点は、化合物のヒットをリテンションタイムに基づいてフィルタリングできるということです。⁵RTL機能により、7890/7000D GC/TQおよび7890/5977シリーズGC/MSDにおいて、同じリテンションタイムを実現しました(図3)。その結果、GC/TQフルスキャンサンプルをGC/MSDデータで作成したライブラリに対して分析するには、化合物のヒットをリテンションタイムに基づいてフィルタリングできるため、確認プロセスが簡略化できます。

図5に、GC/MSD SVOCの分析結果を使用して社内で作成したスペクトルライブラリに対して、GC/TQのフルスキャンモードで分析したサンプルのUnknowns Analysisウィンドウを示します。74種類の化合物すべての平均LMSは95でした。これは、NISTスペクトルライブラリに対して、GC/TQで取り込んだスペクトルを検索する際に得られた平均LMSと同じです。

図5の成分表ウィンドウは、溶出順に並べた同定成分、GC/MSDデータにより作成したカスタムのSVOCライブラリに対するマッチファクター(一致度)、成分面積、およびデルタRTを示しています。デルタRTは、観察されたリテンションタイムとライブラリ内のターゲットのリテンションタイムの差です。デルタRTの値が小さい場合は、GC/TQとGC/MSDで得られたリテンションタイムがよく一致したことを示しています。このワークフローは、GC/MSDからGC/TQにメソッドを移行する際に有用です。

図5右上では、フルスキャンデータ取り込みモードで取り込んだGC/TQクロマトグラムを黒線で示しています。同定した成分を緑線で示しています。選択した成分(7.121分のベンジルアルコール)を赤線で示しています。ミラープロット(図5の右、中間)は、選択した成分(ベンジルアルコール)のデコンボリュートした質量スペクトルと対応するライブラリスペクトルを比較したものです。ミラープロットの下スペクトルは、デコンボリューション前の未加工の質量スペクトルです。重ね表示したイオンピークウィンドウから、成分に属するイオンはリテンションタイムの頂点が同じで、分離ピークの形状も同じであることがわかります。

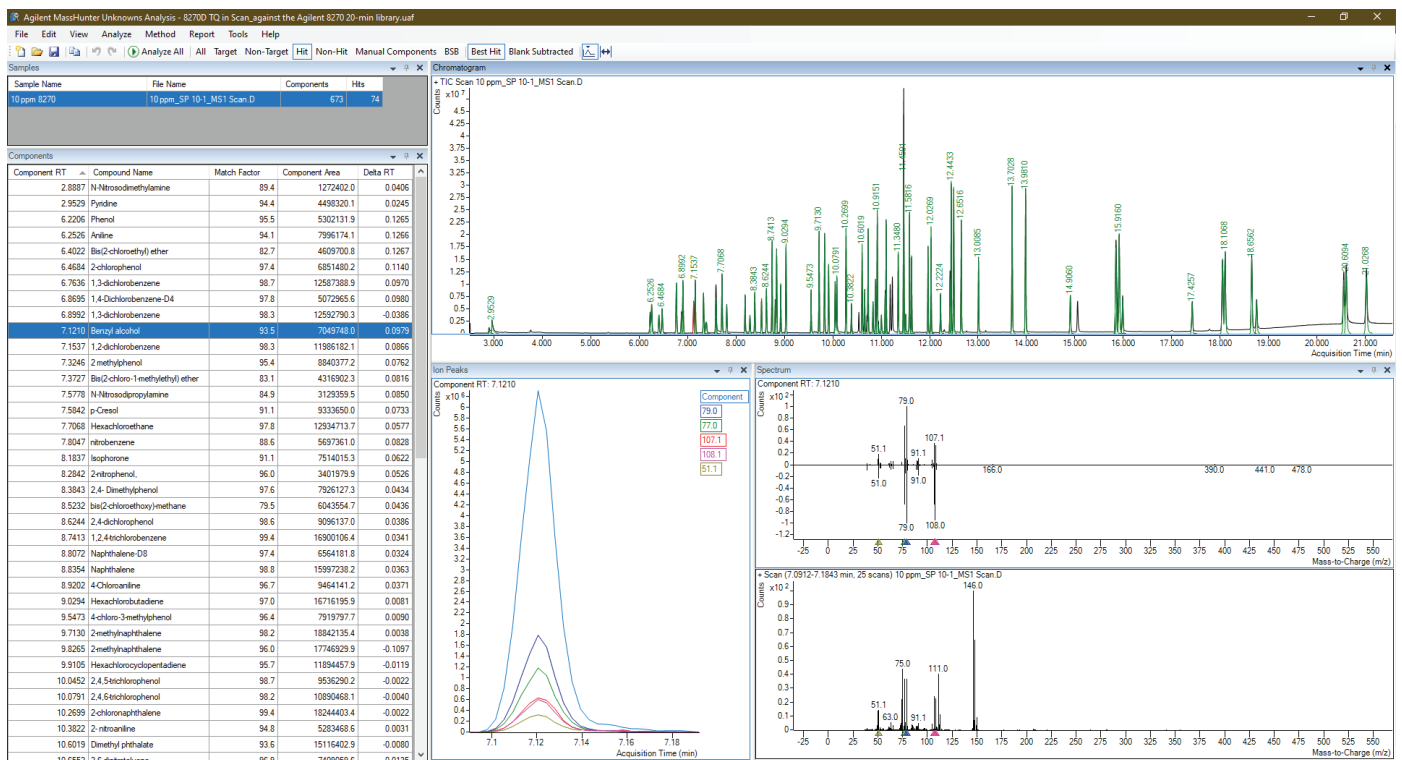


図5. GC/MSD SVOC 分析結果を使用して社内で作成したスペクトルライブラリに対して、GC/TQのフルスキャンデータ取り込みモードで分析した10 ppm SVOC標準(GC注入口スプリット比10:1)を示すUnknowns Analysisウィンドウ

GC/TQ のフルスキャンモードでの感度

図 6A と 6B は、GC/TQ のフルスキャンデータ取り込みモード（上）および GC/MSD（下）で分析したヘキサクロロベンゼンとアセナフテンの抽出イオンクロマトグラム（EIC）を比較したものです。オンカラムロード量は、成分あたり 40 pg でした。これは、GC/TQ では 0.4 ppm 標準を GC 注入ロスプリット比 10:1 で分析し、GC/MSD では 0.2 ppm 標準を GC 注入ロスプリット比 5:1 で分析した結果です。今回の実験で示した条件で GC/TQ をフルスキャンモードで動作させて得られた EIC の S/N 比は、GC/MSD のフルスキャンデータ取り込みモードで得られた S/N 比と同等でした。

7890/7000D GC/TQ をフルスキャンデータ取り込みモードで動作させて得られた LOD を図 7 に示します。大部分の化合物の LOD は 50 ppb (pg/ μ L) 未満でしたが、これは GC/MSD で得られた LOD と同等です。得られた LOD が高い化合物は、低濃度での GC/MS 分析が困難であることがわかっています。このような化合物には、N-ニトロソジメチルアミン、2-ニトロフェノール、2,4 ジニトロフェノール、および 2-メチル-4,6-ジニトロフェノールがあります。

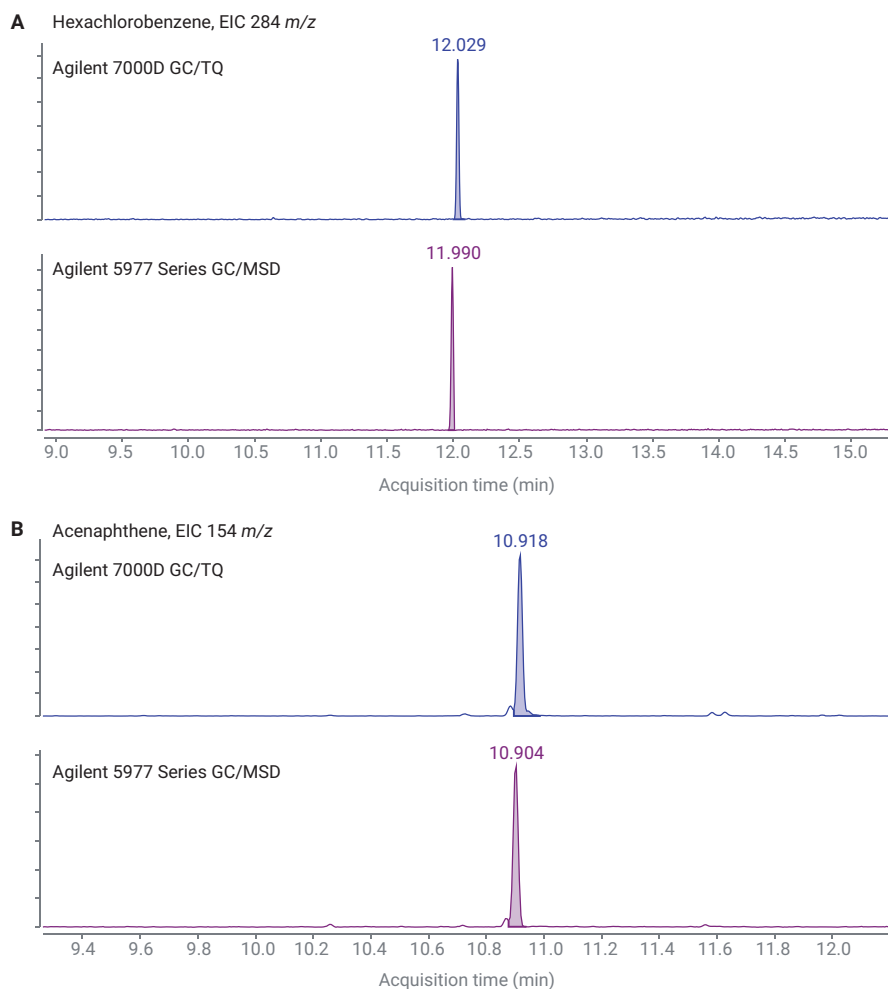


図 6. GC/TQ のフルスキャンデータ取り込みモードで取り込んだ EIC (上のクロマトグラムの青色)、および GC/MSD のフルスキャンモードで取り込んだ EIC (下のクロマトグラムの紫色)。(A) 40 pg のヘキサクロロベンゼン (m/z 284)、(B) 40 pg のアセナフテン (m/z 154)

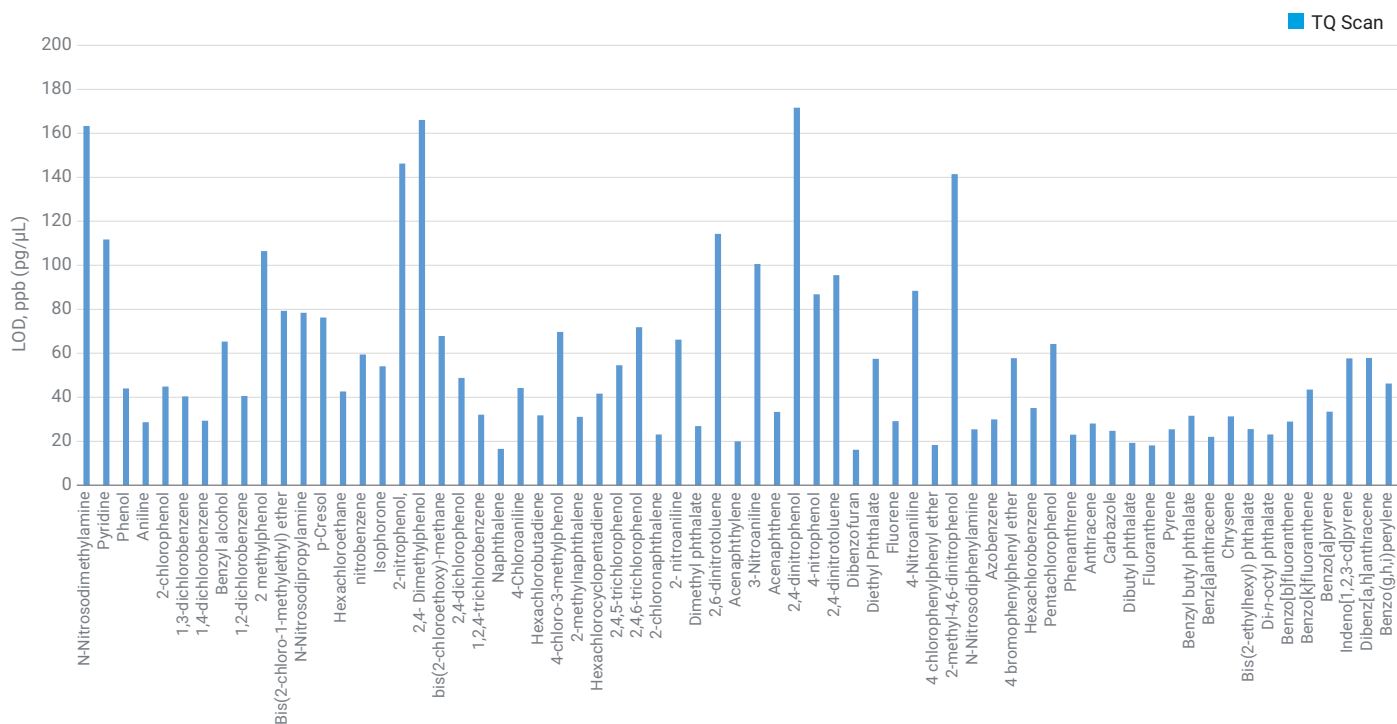


図 7. GC 注入ロスプリット比 10:1 の 0.5 ppm 標準を 9 回連続して注入した際に得られた、7890/7000D GC/TQ のフルスキャンデータ取り込みモードでの LOD

ベンゾ[*b*]フルオランテンと ベンゾ[*k*]フルオランテンの分離能

ベンゾ[*b*]フルオランテンとベンゾ[*k*]フルオランテンの 2 つの異性体ピーク間のクロマトグラフィー分離度を評価しました。これは、多数の標準メソッドでクロマトグラフィー性能のマーカーとして一般的に使用されています。図 8 は、ベンゾ[*b*]フルオランテンとベンゾ[*k*]フルオランテンの 2 つの異性体ピーク間の谷の高さのクロマトグラフィー分離度が、GC/TQ のフルスキャンモードによる分析での中間点濃度における 2 つのピーク高の平均の 50 % 以下であったことを示しています。

GC/TQ のフルスキャンモードでの 初期キャリブレーション性能

GC/TQ のフルスキャンモードでのキャリブレーション性能を評価するために、68 種類の混合化合物と 6 種類の ISTD を使用して、0.4 ~ 100 ppm の 12 ポイントでのキャリブレーションを分析しました。MassHunter 定量分析を使用して、相対レスポンス係数を各キャ

リブレーション濃度で成分ごとに測定しました。平均レスポンス係数を各化合物の検量線の平均相対レスポンス係数全体に対して算出し、相対標準偏差 (RSD) を得ました。合格基準には、平均レスポンス係数 %RSD ≤ 20 の必要があると記載されています (望ましい合格基準として)。これが満たされない場合

は、直線近似で $R^2 \geq 0.990$ であることが必要です。 $R^2 \geq 0.990$ の二次曲線近似を使用し、低キャリブレーションポイントの再計算濃度を、標準の実際の濃度の ± 30 % 以内にする必要があります。最も低濃度のデータポイントの真度は ± 30 % でなければならず、曲線近似を用いる場合は 6 つのポイントが必要

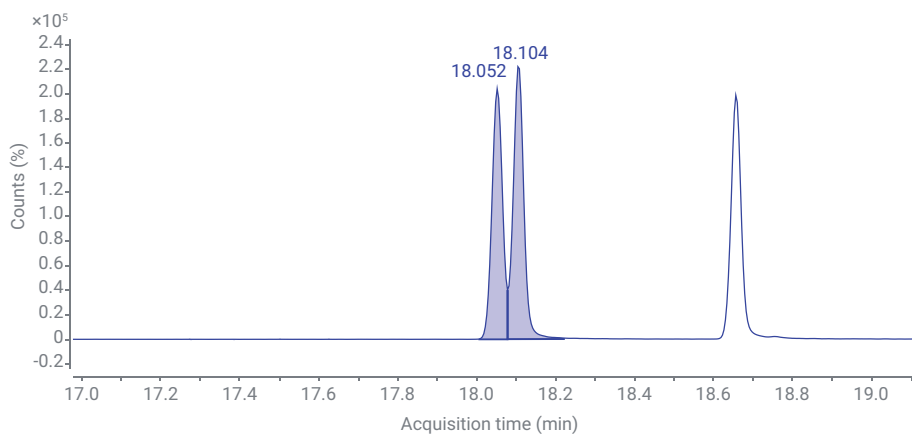


図 8. GC/TQ のフルスキャンモードでの 10 ppm、EIC m/z 252 におけるベンゾ[*b*]フルオランテンとベンゾ[*k*]フルオランテンの分離能

です。MassHunter 定量分析で相対標準誤差 (RSE) を計算して、曲線品質の評価基準も提供しました。

表 2 に、評価濃度範囲 0.4 ~ 100 ppm にわたって GC/TQ のフルスキャンモードで得られた SVOC 分析の初期キャリブレーション性能をまとめています。68 種類の化合物の平均レスポンス係数 %RSD は 16.1 であり、68 種類の化合物のうち 47 種類が平均レスポンス係数 %RSD の合格基準 ≤ 20 を満たしていました。残りの 21 種類の化合物に対しては、直線または二次の検量線近似を使用しました。

68 種類の化合物すべての初期検量線において $RSE \leq 20$ であり、すべてのターゲットの平均 RSE は 11.0 でした。

N-ニトロソジメチルアミンとビス(2-クロロ-1-メチルエチル)エーテルの検量線を図 9 に示します。初期キャリブレーションは優れた直線性を示しており、平均レスポンス係数 %RSD はそれぞれ 8.2 および 1.4 であると同時に、低キャリブレーション濃度での精度も維持しています。

表 2. 評価濃度範囲 0.4 ~ 100 ppm にわたって GC/TQ のフルスキャンデータ取り込みで得られた SVOC 分析の初期キャリブレーション性能

| 平均レスポンス係数 %RSD < 20 の化合物数 | 68 種類の化合物の平均レスポンス係数 %RSD | 相対標準誤差 (RSE) < 20 の化合物数 | 68 種類の化合物の平均相対標準誤差 (RSE) | 直線近似で $R^2 > 0.99$ および精度 30% に合格した化合物数 | 二次曲線近似で $R^2 > 0.99$ および精度 30% に合格した化合物数 |
|---------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--|--|
| 47 | 16.1 | 68 | 11.0 | 10 | 11 |

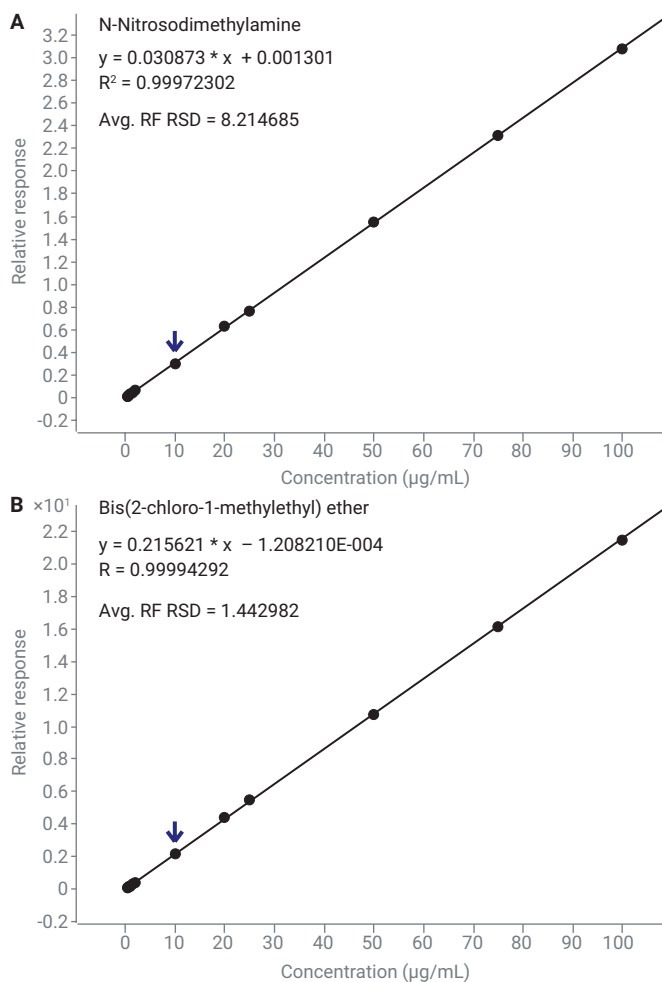


図 9. GC/TQ のフルスキャンモードで GC 注入口スプリット比 10:1 を使用して取り込んだ、キャリブレーション範囲 0.4 ~ 100 ppm にわたる N-ニトロソジメチルアミンとビス(2-クロロ-1-メチルエチル)エーテルの検量線の例

結論

Agilent 7000D トリプル四重極 GC/MS システムのフルスキャンデータ取り込みモードを使用して、半揮発性有機化合物 (SVOC) を分析しました。7000D GC/TQ システムのフルスキャンデータ取り込みモードにおいて、このアプリケーションノートで示した使用条件を使用することにより、優れたスペクトルライブラリー一致、高感度、および幅広いダイナミックレンジ 0.4 ~ 100 ppm にわたる直線性を実現しました。

NIST ライブラリーおよびカスタムの SVOC スペクトルライブラリーの両方に対して、すべてのターゲット化合物が同定されており、両方の場合においてライブラリー一致スコアは良好でした (平均 95)。68 種類の化合物の平均レスポンス係数 %RSD は 10.96 であり、68 種類の化合物のうち 47 種類が平均レスポンス係数 %RSD の合格基準 ≤ 20 を満たしました。大部分の化合物において GC/TQ で得られた LOD は 50 ppb (pg/ μ L) 未満でした。

データ取り込みと処理のベストプラクティスに従うことにより、SVOC 分析での GC/TQ のフルスキャンデータ取り込みの性能は、シングル四重極 GC/MS システムの性能と同等であることがわかりました。この性能によりラボでは必要に応じて、GC/TQ でシングル四重極 GC/MS ワークフローを実行できます。これにより、サンプルスクリーニングやフルスキャンモードでの化合物の同定のようなルーチンワークフローにおいて GC/TQ が適用できます。

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。

DE44385.3305671296

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2021

Printed in Japan, September 28, 2021

5994-3859JAJP

参考文献

1. Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS); Method 8270E. *United States Environmental Protection Agency* June **2018**, Revision 6. https://www.epa.gov/sites/production/files/2019-01/documents/8270e_revised_6_june_2018.pdf
2. Churley, M.; Szelewski, M.; Quimby, B. EPA 8270 Re-optimized for Widest Calibration Range on the 5977 Inert Plus GC/MSD, *Agilent Technologies application brief*, publication number 5994-0350EN, **2018**.
3. Churley, M.; Quimby, B.; Andrianova, A. 7000 シリーズトリプル四重極 GC/MS によるMRM モードでの EPA 8270D/E 用高速メソッド, *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-0691JAJP, **2019**.
4. Agilent Retention Time Locking <https://www.agilent.com/en/retention-time-locking>.
5. Andrianova, A.; Quimby, B.; Westland, J. デコンボリュートしたスペクトルのライブラリー検索によるイチゴ中の農薬の許容レベルでの GC/MSD スクリーニング, *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-0915JAJP, **2019**.