

Agilent マルチモード注入口 (MMI) を用いた環境半揮発性物質の高感度分析

アプリケーションノート

環境

著者

Mike Szelewski
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19809-1610
USA

概要

極微量の半揮発性物質の分析は、分析対象物の活性、マトリックスによる汚染、および機器の感度の問題があるため難しい課題です。世界中でさまざまなメソッドが用いられていますが、通常は 1 μ L の注入とフルスキャンのデータ取り込みが要求されます。アジレントのマルチモード注入口 (MMI) を使用してコールドスプリットレス注入または大容量注入を行うと、最も低い検出限界を達成できます。



Agilent Technologies

はじめに

微量の半揮発性物質の分析は、飲料水または原水に含まれる酸性物質、アルカリ性物質、中性物質、および農薬の混合物の同時測定に使用されます。ほとんどのラボでは、25 ~ 40 分間で 100 を超える化合物を分析します。サンプルの前処理は、C18 ディスクまたはカートリッジを使用して液固抽出 (LSE) で実施されます。別の方法として、ジクロロメタンなどの溶媒を使用する液液抽出があります。抽出液の注入には、USEPA Method 525.2 などの良く使用されるメソッドで指定されているように、質量選択検出器 (MSD) のフルスキャンモードで 1 µL のホットスプリットレスを使用します。

ラボで性能向上を目指している分野の 1 つが感度です。これは、サンプル調整、抽出液の注入量、機器の調整、シグナルの取り込み、およびシステム全体の活性の影響を受けます。以前の論文では、活性、直線性、速度、生産性、および大容量注入に焦点をあてました [それぞれ、2 ~ 6]。感度はこれらのすべてに関連する要素で、多くの場合、これらの相互関係より最適な条件が変化します。

最高の感度は、最良の S/N 比と言えますが、これは注入口と注入方法と関係があります。アジレントのマルチモード注入口 (MMI) は、ホットスプリットレス (HSL)、コールドスプリットレス (CSL)、または大容量注入 (LVI) 用に設計されています。本アプリケーションノートでは、半揮発性化合物に対する MMI の使用例について解説します。

機器の操作パラメータ

機器の操作パラメータの推奨値を表 1 にまとめます。これらは、推奨条件で、最適化が必要となる可能性があります。最良の感度を実現するには、最大量の分析対象物がカラムに導入されるようなパラメータを選択する必要があります。さらに、最初に感度が失われるのは活性を持つ分析対象物であることが多いため、システム全体が不活性であることが必要です。

表 1. GC/MS 条件

GC:	Agilent 7890A		
注入口:	電子式圧力/流量制御 (EPC) MMI		
ホットスプリットレスモード注入口パラメータ			
温度ランプ:	°C/min	次の温度 (°C)	保持時間 (分)
初期		280	0.00
パージ時間:	0.75 分		
コールドスプリットレスモード注入口パラメータ			
温度ランプ	°C/min	次の温度 (°C)	保持時間 (分)
初期		20	0.05
ランプ 1	300	280	0.00
パージ時間:	1.75 min		

溶媒ベントモード注入口パラメータ

温度ランプ:	°C/min	次の °C	ホールド時間
(分)			
初期:		-10	0.60
ランプ 1:	300	280	0.00
パージ時間:	2.4 分		
ベントフロー:	200 mL/min		
ベント圧力:	0.6 分まで 0.0 psi		

共通注入口パラメータ

クライオ:	オン
クライオ使用温度:	100 °C
クライオタイムアウト:	5.00 分 (オン)
クライオフォルト:	オン
圧力:	17.292 psi (オン)
パージ流量:	50.0 mL/min
トータル流量:	53.9 mL/min
ガスセーバ:	オフ
ガスの種類:	ヘリウム

MMI ライナ

Agilent Helix、シングルテーパー、
部品番号 5188-5397

オープン:

240V

オープンランプ:	°C/min	次の °C	ホールド時間
(分)			
初期:		40	2.50
ランプ 1:	25	320	4.80
合計分析時間:	18.5 分		
平衡化時間:	0.5 分		
オープン最大温度:	325 °C		

カラム:

Agilent DB 5 MS UI,
部品番号 121-5523 UI

長さ:	20.0 m
内径:	0.18 mm
膜厚:	0.36 µm
モード:	定流量
圧力:	17.292 psi
初期流量:	0.864 mL/min
注入口:	フロント
排出口:	MSD
排出口圧力:	真空

RTL:

リテンションタイムロッキングにより
フェナントレン-d10を 11.000 分に固定

フロントインジェクタ:

Agilent 7693A

ホットスプリットレスモードおよびコールドスプリットレスモードの
インジェクタパラメータ

注入量:	1.0 µL
シリンジサイズ:	10 µL
ブランジャ速度:	高速
洗浄量:	3 µL

溶媒ベントモードのインジェクタパラメータ

注入量:	25 µL
シリンジサイズ:	50 µL
洗浄量:	15 µL
溶媒洗浄吸引速度:	1500 µL/min
溶媒洗浄吐出速度:	30000 µL/min
サンプル洗浄吸引速度:	1500 µL/min
サンプル洗浄吐出速度:	30000 µL/min
注入吐出速度:	50 µL/min

共通インジェクタパラメータ

サンプル洗浄:	1
サンプルポンプ:	2

注入前溶媒 A 洗浄:	0
注入前溶媒 B 洗浄:	1
注入後溶媒 A 洗浄:	3
注入後溶媒 B 洗浄:	2
粘性ディレイ:	1 秒
注入前デュエル:	0 分
注入後デュエル:	0 分
MSD:	Agilent 5975C、トリプルアクシスディテクタ
ドロアアウトレンズ:	3 mm 標準ドロアアウトレンズ
溶媒待ち時間:	3.5 分
低質量:	35 amu
高質量:	550 amu
スレッシュホールド:	5
サンプリング:	1
四重極温度:	180 °C
イオン源温度:	300 °C
トランスファライン温度:	280 °C
チューンタイプ:	オートチューン
EMV モード:	ゲインファクタ = 1

較正用の標準溶液

Ultra Scientific 社、ロードアイランド州ノースキングスタウン。18 種類の分析対象物含有のカスタム混合溶液。希釈および内部/サロゲート標準溶液 (IS/SS) の追加はすべて、自動化されたスタンドアロンデュアルタワーの 7693A-7890A システムを使用し、ジクロロメタン中で実施。10、5、2、1、0.5、0.2、および 0.1 ppm (ng/μL) の濃度レベルを用意。7 つのレベルそれぞれに、5 ppm の IS/SS を添加。各レベルをジクロロメタンで 1:100 に希釈し、50 ppb の IS/SS を使用し、100、50、20、10、5、2、および 1 ppb (pg/μL) の 7 種類の濃度レベルを作成。

分析者の多くは、プログラマブル昇温気化注入口 (PTV) を使用するのには溶媒ベント (SV) モードの LVI のみと考えています [4]。LVI を

使用すると低レベルのキャリブレーションを実現できますが、メソッドの開発では、溶媒を排除する一方で化合物の回収を最適化する必要があります。また、LVI では多くのマトリックスを注入するため、ケミカルノイズによって S/N 比が向上しない可能性があります。Agilent MMI は PTV でもあり、本分析で使用する「コールド」スプリットレスなどの他の操作モードを使用できます。通常のホットスプリットレス注入口の代わりに、コールド注入口へのスプリットレス注入を使用すると、以下の利点があります。

- ・ 溶媒の膨張が最小限で、分析対象物がライナの外や接触金属表面に到達しないので、分解を最小限に抑えられます。
- ・ 分析対象物が最低の温度で気化します。これも、分解を最小限に抑える効果があります。
- ・ 揮発性溶媒が最初にカラムに移動します。溶媒をベントしなくても、2 ~ 5 μL の注入で分析対象物のピーク形状を改善できます。

図 1 は、MMI 温度プログラムおよび流量プログラムをオープンプログラムとあわせて示したものです。0.05 分は高速注入の時間で、MMI は、溶媒ジクロロメタンの沸点 (39.8 °C) よりも低い温度の 20 °C に保たれています。注入時間が終わると、MMI は 280 °C まで急激に加熱され、分析対象物がカラムに移動します。1.75 分にスプリットレス注入時間が終了すると、注入口が 50 mL/min でパージされます。MMI プログラム昇温は調整可能で、複数昇温プログラムが可能です。

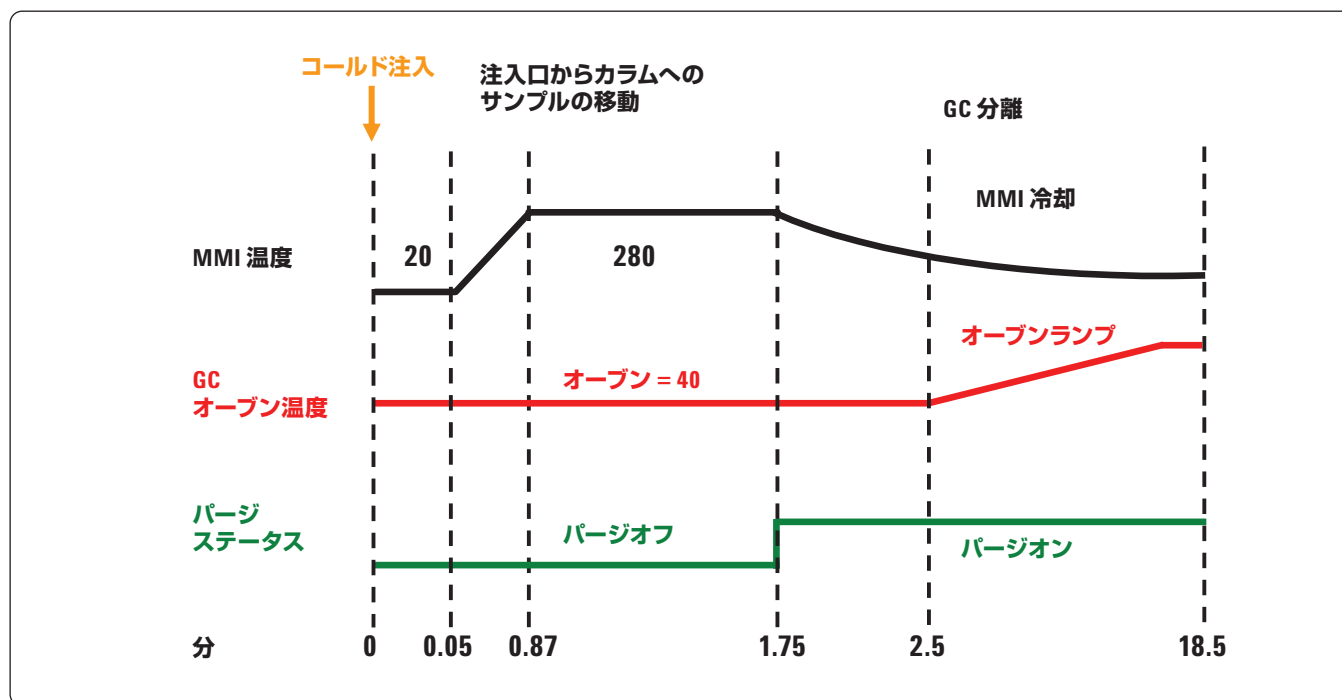


図 1. MMI コールドスプリットレスと ソルベントベント (SV) - 温度プログラムと流量プログラム

MMI の重要な利点は、HSL、CSL、および LVI-SV に対し同じライナを使用できることです。これによって、メソッドの開発時間を大幅に短縮できます。PTV 注入口のような小さなライナを使用している別の注入口にカラムを付け替える必要がありません。注入口パラメータを変更でき、ハードウェアを変更する必要がありません。可能な限り短い開発時間で、最高の感度を実現します。

ヘリックス注入口ライナ 5188-5397 では、ニードル先端から注入口の底までが一直線にならず、不活性化されます。このことは、HSL と CSL のどちらのモードでも重要です。液体が注入口の底に到達しないので、注入口が加熱される際に分析対象物の分解が最小限となります。これには、化合物の分解の原因となるガラスウールが含まれていません。このライナには十分な容量があり、2 ~ 5 μL の高速なコールド注入が可能です。

LVI-SV モードは、コールドスプリットレス注入を拡張したものです。溶媒を気化してベントするため注入スピードを遅くします。最初に溶出する分析対象物のロスを防ぐため、注入口の温度を低温に保ちます。大部分の揮発性化合物と溶媒の沸点の差は、少なくとも 100 $^{\circ}\text{C}$ 、できれば 150 $^{\circ}\text{C}$ が必要です。

注入口モードによって注入口の加熱時間と注入時間が異なるため、各注入口モードのパージ時間 (スプリットレス時間) は異なります。どのモードでも、少なくとも 0.75 分間は、注入口を最終温度に保ちます。

MMI パラメータとオープンプログラムの関連を図 1 に示します。オープンの温度は最初 40 $^{\circ}\text{C}$ で、注入時間と分析対象物がカラムに導入される間、オープンはその温度に保ちます。その後、オープンの温度は 320 $^{\circ}\text{C}$ に昇温されます。システムは、リテンションタイムロッキング (RTL) されており、LVI-SV モードのために、最初に 2.5 分保持しています。これにより、使用する注入口や注入モードに関係なく、ロッキングされたリテンションタイムを維持できます。

Agilent J&W DB-5ms ウルトライナートカラムは、不活性化を実現するよう設計されており、このメソッドに最適です。この短く内径の小さいカラムは、高速分析と厚膜による優れた負荷量を求める環境検査ラボに最適です。ピーク形状と感度を保つため、0.86 mL/min の定流量モードでカラムを使用しました。

システムは、11,000 分のフェナントレン-d10 にリテンションタイムを固定しました。RTL により、特にデコンボリューションレポートソフトウェア (DRS) を使用すると、化合物を簡単に同定できます。カラムを切った後でも、ロッキング標準溶液の分析を行うだけで、ピーク時間のずれを元に戻せます。定量データベースに入力するリテンションタイム、積分イベント、および選択イオンモニタリング (SIM) グループを変更する必要はありません。

RTL に関連するこの他のアプリケーションノートが www.agilent.com/chem/jp で提供されており、RTL の数々のメリットが詳述されています。

最良の感度を得るために、標準の 3 mm のドロアアウトレンズを使用しました。以前の試験では、オプションの 6 mm のレンズを使用して、広いキャリブレーションレンジで直線性に改善が見られました [2]。6 mm のレンズを使用する場合、S/N 比に通常 2 ~ 5 倍の損失が発生します。

イオン源温度は、標準的な 230 ~ 250 $^{\circ}\text{C}$ ではなく、300 $^{\circ}\text{C}$ を使用しました。このように高温で使用することで、ピークテーリングが最小になるため、多環芳香族炭化水素 (PAHs) 類に対して感度が向上します [5]。

化合物は USEPA 525 から採用しました。これは、世界中のラボが微量分析の対象としている典型的な分析対象物です。USEPA 8270 のリストは使用しませんでした。このリストは、高レベルマトリックス中の高濃度の対象化合物を含む廃棄物サンプルを対象としており、ここでの分析の比較には適切ではないためです。固体や廃棄物サンプルの感度を向上する最も良い方法は、抽出液のクリーンアップを行うことです。

5ppm の内部標準溶液 (ISTD) およびサロゲート標準溶液 (SS) を含む 0.01 ~ 10 ppm の標準サンプルを作成しました。LVI-SV で使用する低濃度サンプルに合わせるため、各サンプルを 1:100 に希釈し、50 ppb の ISTD と SS を含む 0.1 ~ 100 ppb のレンジを用意しました。希釈はすべて Agilent 7890A GC システム上で構成した Agilent デュアルタワー 7693 オートサンプリングシステムで行いました。フロントおよびリアのオートインジェクタに、それぞれ 10 μL および 500 μL のシリンジを使用して、300 μL のインサートを入れた 2 mL のバイアルに標準溶液を用意しました。

結果

1 ppm (1 ng/ μL) の分析対象物に対する CSL と HSL を比較したデータを表 2 に示します。表に載せた物質の抽出イオンを使用して、各分析対象物の S/N 比を計算しました。CSL:HSL の S/N 比の値を最後の列に示します。フルオレンやアルドリンなどの不活性化化合物の場合、S/N 比つまり感度が 30 % 以上向上します。CSL を使用すると、より多くの分析対象物がカラムと MSD に到達します。活性化化合物のエンドリンおよび DDT では感度が 50 % 向上します。最も活性の強い化合物ペンタクロロフェノールでは、100 % 以上感度がよくなります。このような感度向上の結果から、CSL では気化が緩やかで、より多くの分析対象物が注入口から移動することがわかります。

表 2. ホットスプリットレス注入とコールドスプリットレス注入を行った際の S/N 比の向上

	RT	m/z	Ratio コールドの S/N : ホットの S/N
フルオレン	11.152	166	1.36
アルドリン	15.205	66 263	1.33 1.33
メビンホス	9.338	127	1.33
ペンタクロロフェノール	12.989	266	2.19
エンドリン	17.600	263	1.48
p,p'-DDT	18.600	235	1.51

18 種類の化合物すべてについて、HSL および CSL での 1 ppm で得られた面積の比較を溶出順に図 2 に示します。内部標準溶液とサロゲート標準溶液の結果は除きます。最初の青い棒グラフは、1 μ L のホットスプリットレス注入に対する 1 μ L のコールドスプリットレス注入の面積の比を示します。イソホロンやアルドリンなどの不活性化化合物にレスポンスの向上が見られます。2 ~ 5

番目の棒グラフは、1 μ L のホットスプリットレスに対する 2、3、4、および 5 μ L のコールドスプリットレス注入の面積の比です。イソホロンやアルドリンなどの不活性化化合物の場合、比は一定です。このことから、CSL を使用する場合は、注入量を増やすと、面積値は増加し検出限界を下げられることが分かります。

活性化化合物の場合は、ペンタクロロフェノールが最も良い例です。青い棒グラフは、HSL に比べ CSL ではレスポンスが 180 % 向上することを示しています。2 μ L 注入すると、レスポンスが 250 % を超えます。3、4、または 5 μ L 注入した場合、レスポンスに変化が見られません。活性化化合物では、カラムへ入る量が増加し、注入口の活性が抑制されるメリットがあります。

ピーク形状は、3 μ L まではいずれの化合物でも良好ですが、4 μ L で多少くずれ、5 μ L ではピーク形状が悪くなります。積分を簡単にするには、注入量を通常 3 μ L にするのが適切です。例として、1,3-ジメチル-2-ニトロベンゼンのトータルイオンクロマトグラムを図 3 に示します。レスポンスが最も悪いのは、黒い線で示した 1 μ L の HSL です。4 μ L の CSL からピーク形状の悪化が現れ始めます。

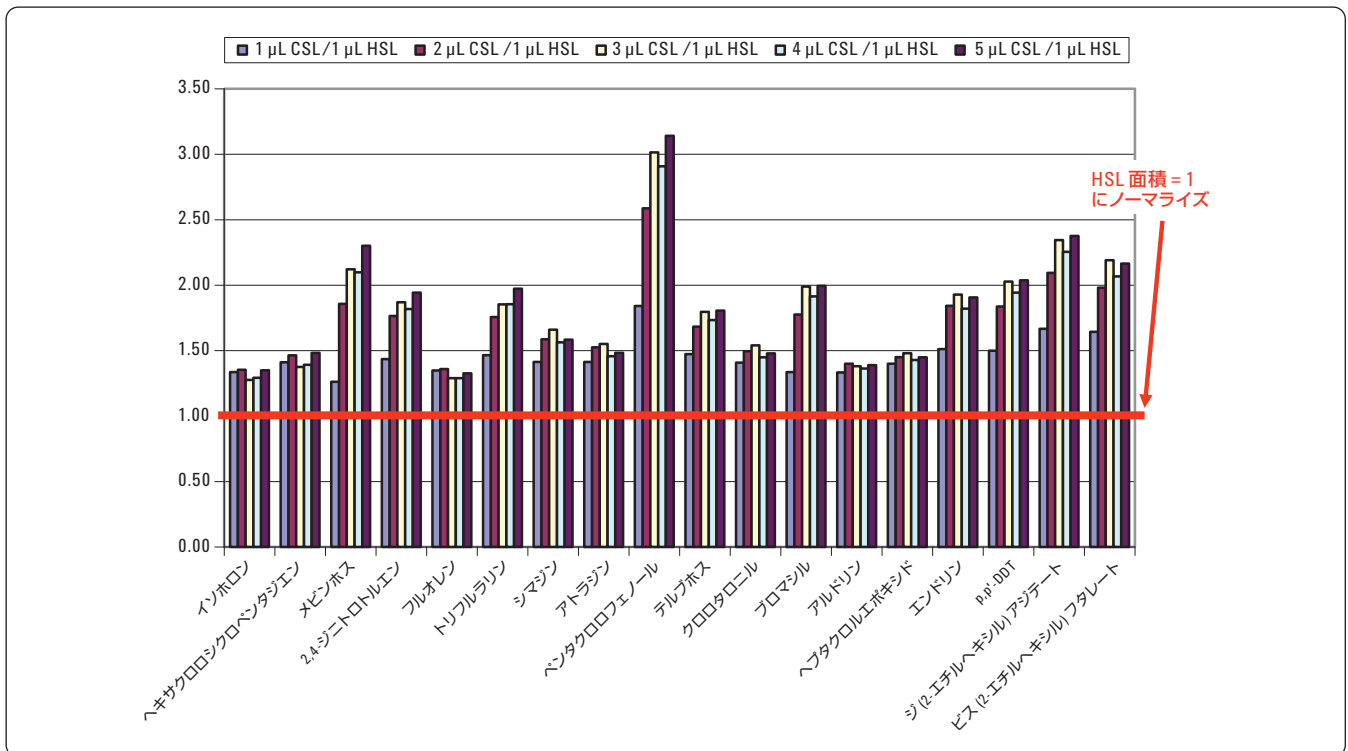


図 2. 1 μ L の HSL に対する 1 ~ 5 μ L の CSL の面積比

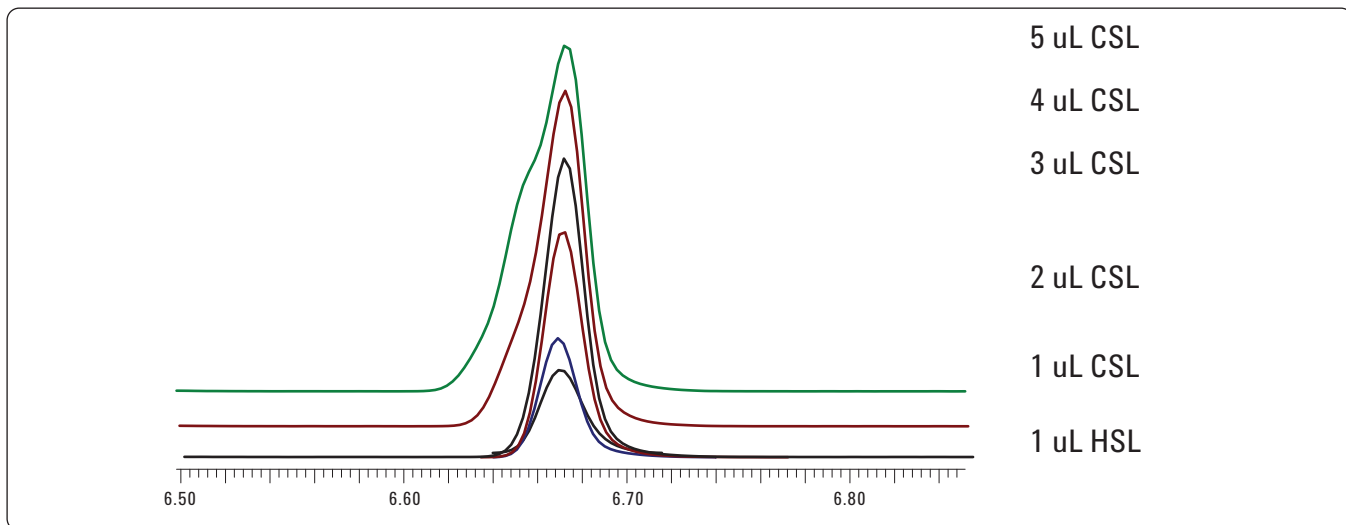


図 3. 1,3-ジメチル-2-ニトロベンゼンの TIC。(4 および 5 uL はずらしてプロットしています。)

7693A オートサンプラを使用して、7 レベルのキャリブレーションレベルと 100 倍薄い希釈レベルを用意しました。0.1 ~ 10 ppm の標準溶液を HSL (1 μ L) および CSL (3 μ L) で分析しました。各クロマトグラムの面積を使用して、相対レスポンスファクタ (RRF) を各レベルで計算しました。RRF の相対標準偏差 (%RSD) を計算し、ノーマライズした比較を図 4 に示します。青い棒グラフは HSL、

赤い棒グラフは CSL、黄色の棒グラフは 25 μ L の LVI-SV です。LVI-SV のキャリブレーションレンジは 1 ~ 100 ppb です。ISTD の %RSD は面積値のもので、各種の注入方法は安定しています。ISTD および SS の %RSD はすべて 10 % 未満で、7693A のサンプル調整の精度の高さを示しています。

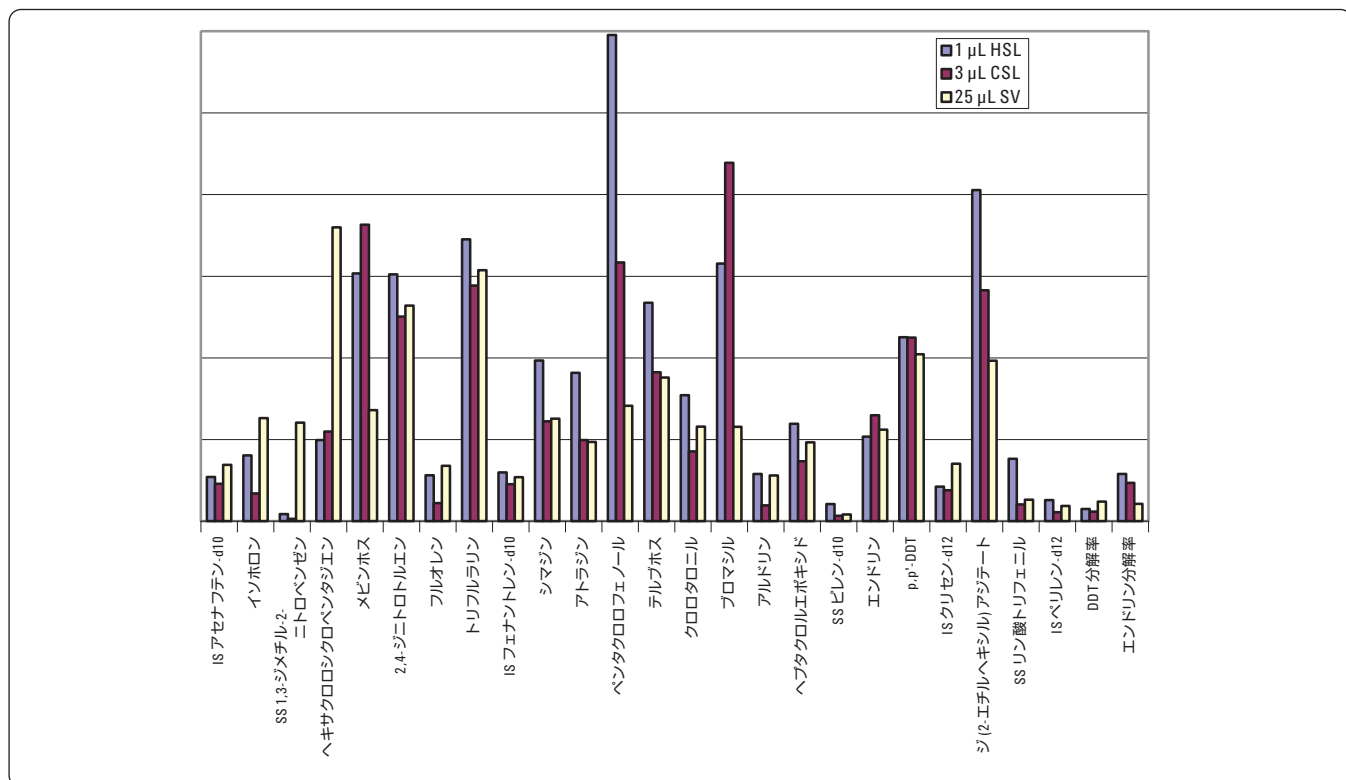


図 4. HSL、CSL、および LVI-SV に対する 7 レベルのキャリブレーションのノーマライズした %RSD の比較

シマジン、アトラジン、ペンタクロロフェノール、およびテルブホスなどの活性化化合物は、CSL を使用すると %RSD が大きく改善します。吸着性を持つ化合物として知られるフタル酸類とアジピン酸類も改善が見られます。プロマシルは、カラムの先端に吸着しやすい、扱いにくい化合物です。コールドスプリットレスの場合、そのピーク形状は、ホットスプリットレスよりも劣ります。正確な理由は不明ですが、使用したヘリックスライナと反応している可能性があります。

エンドリンと DDT の分解率のデータを図の右端に示します。これらのデータは、7 つのキャリブレーションレベルに対する分解率 (%) の平均です。MMI および不活性ヘリックスライナを使用すると、すべての注入方法で素晴らしい結果が得られました。

LVI-SV の %RSD は、ほとんどの化合物で CSL と同程度ですが、一部の化合物で CSL より大きくなりました。これは、キャリブレーションレンジが低く、カラム内の余分な溶媒が、最初に溶出する物質に影響を与えることが原因である可能性があります。直線性は良好で、検出限界はホットスプリットレスに比べて少なくとも 25 倍低くなります。

結論

従来の半揮発性物質のメソッドを変更すると、機器の検出限界を改善できます。マルチモード注入口を使用すると、コールドスプリットレス注入のメソッド開発時間が最小となります。より多くの分析対象物がカラムに到達し、活性化化合物の劣化が抑えられるので、ホットスプリットレスに比べて検出限界が下がります。溶媒ベントを使用した大容量注入を行うと、感度がさらに向上します。カラムを変更しなくてもメソッドを迅速に開発できるので、生産性が向上します。

参考文献

1. USEPA Method 525.2 は、ウェブサイト www.epa.gov/OGWDW/methods/where.html に記載されている複数の情報源から入手できます。
2. M. Szelewski, B. Wilson and P. Perkins, "Improvements in the Agilent 6890/5973 GC/MSD System for Use with USEPA Method 8270," Agilent Technologies, publication 5988-3072EN, www.agilent.com/chem.
3. M. Szelewski, 「Agilent 6890/5973 inert GC/MSD を用いた半揮発性物質の高速分析」、5989-0207JAJP
4. M. Szelewski, 「LVI-PTV-GC/MSD を用いる半揮発性物質の 1 兆分の 1 (ppt) レベルのキャリブレーション」、5989-6589JAJP
5. M. Szelewski, 「Agilent 6890/5975 inert GC/MSD を使用した同時SIM/スキャンScan 低濃度PAH 分析」、5989-4184JAJP
6. M. Szelewski, 「トリプルアクシスディテクタを用いた環境半揮発性物質分析におけるフェムトグラムレベルの GC/MSD 検出下限」、5989-8342JAJP
7. 「Agilent ガスクロマトグラフ用マルチモード注入口」、5990-3954JAJP

詳細情報

アジレントの製品およびサービスの詳細は、弊社ウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

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。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2009
Published in Japan
June 16, 2009
5990-4199JAJP



Agilent Technologies