

パージ&トラップGC/MSを用いた 水中揮発性有機化合物の分析における 最適化テクニック アプリケーション

環境

著者

Philip L. Wylie
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1610
USA
(E-mail: phil_wylie@agilent.com)

概要

水中の揮発性有機化合物の分析は、通常はパージ&トラップ/ガスクロマトグラフィ/質量分析によって行われる。パージ&トラップによる試料導入を組み入れたUS EPA メソッド8260Bは、飲料水以外の水質試料の分析に広く用いられている。本アプリケーションノートは、そこで起こりうる諸問題と、それらに対する簡単な解決方法を論じる。ここで紹介されているテクニックを用いれば、範囲1~200µg/Lにおけるメソッド8260Bのキャリブレーション要件を満たす頑健性の高いキャリブレーションを行うことができる。

はじめに

US EPA メソッド8260B[1]は、地下水、地表水、スラッジ、土壌、底質、濾過ケーキ、廃活性炭、使用済み触媒といったマトリックス中の揮発性有機化合物（VOC）を分析するための汎用メソッドである。このメソッドが使用されるのはガスクロマトグラフィ/質量分析法（GC/MS）で分析対象VOCを分析する場合に限られる。本メソッドはまた、分析されるマトリックスに適切な他のEPA試料導入メソッドとして使用することも言及されている。このアプリケーションノートでは、US EPA メソッド5030C[2]に準拠したパー

ジ&トラップ（P&T）試料導入法とGC/MSを組み合わせた分離・分析法（P&T/GC/MS）による水中VOCの分析に焦点を当てる。簡略化のために、メソッド5030Cとメソッド8260Bの組み合わせは単にメソッド8260Bと表記することとする。

このP&T/GC/MS分析法は、表層水、地下水、廃水といった試料中のVOC分析を行う際に環境ラボで広く用いられている。飲料水の分析に用いる同様のメソッドは、EPAメソッド524.2[3]にも記載されている。P&T/GC/MS法は十分に確立されている手法であるが、実際の分析ではときにより困難なことがある。分析対象VOCの十分な回収率を得るためには、数多くのP&T、GC、MSについての変数を最適化する必要がある、さらにトラップ脱着で必然的にGCに移送される水分とメタノールの外乱作用に影響されないようにする必要があるのである。

本アプリケーションノートは、Teledyne Tekmar社の新製品Velocity XPT P&Tシステムに、Agilent 6890N GCおよび新製品Agilent 5973 Inert質量選択検出器（MSD）を組み合わせ、メソッド8260Bを最適化する手法を紹介する。ここでは、水中VOC分析で頑健なメソッドを確立するための、MSDチューニングや試料調製、装置セットポイント、保守に関するテクニックを示す。ここで議論されている内容は、他のほとんどのP&T/GC/MSメソッドにも応用することができる。



Agilent Technologies

実験

化学標準試料、試薬、バイアル

高純度B&JブランドメタノールはHoneywell Burdick & Jackson社 (Muskegon, MI) から入手した。キャリブレーション用試料、スパイク溶液、チューニング試験試料、安定性試験用試料の調製に使う標準混合溶液は、AccuStandard社 (New Haven, CT) から入手した。その内訳は以下のとおりである。部品番号M-502-10X-Pak : 分析対象のVOC化合物が60種類、それぞれ2000 µg/mLの濃度でメタノール中に含まれている溶液 (液体54、気体6)。部品番号M-8260A/B-IS/SS-10X-PAK : p-ブロモフルオロベンゼン (BFB)、クロロベンゼン-d₅、ジブロモフルオロメタン、1,4-ジクロロベンゼン-d₄ (DCB-d₄)、1,2-ジクロロエタン-d₄、フルオロベンゼン (FBz)、トルエン-d₈がそれぞれ2000 µg/mLの濃度でメタノール中に含まれている溶液。部品番号M-

524-FS-PAK : BFB、1,2-ジクロロベンゼン-d₄、フルオロベンゼン (FBz) がそれぞれ2000 µg/mLの濃度でメタノール中に含まれている溶液。

標準試料と試験試料の調製に使用するVOCの含まれていない水。TraceCleanの40mL (名目容量。実際の容量は43mL) VOAバイアル (部品番号15900-022) をVWR Scientific社 (West Chester, PA) から入手した。

キャリブレーション溶液とスパイク溶液の調製

二次スパイク溶液をキャリブレーション濃度ごとに調製し、43mLの水質試料に10 µLのキャリブレーション試料 (60のVOCを含む) と10 µLの内標準/サロゲート混合溶液を添加できるようにした。表1に調製された8つのキャリブレーション用標準試料の詳細が示されている。

表1 キャリブレーション用試料の調製方法

A	B	C	D	E
キャリブレーション濃度(µg/L)	濃度2000µg/mLの標準試料の量(µL)	メタノールで希釈後の量 (mL)	調製した二次標準試料の濃度 (µg/L)	43mLバイアル中に添加する量 (µL)
1	53.75	25.00	4.3	10.00
2	43.00	10.00	8.6	10.00
5	53.75	5.00	21.5	10.00
20	43.00	1.00	86	10.00
50	43.00	0.40	215	10.00
100	43.00	0.20	430	10.00
200	43.00	0.10	860	10.00
300	*	*	2000*	6.45**

列A : 最終的なキャリブレーション用水溶液中の各化合物の濃度。

列B : 列Cで示されている量で希釈された、2000 µg/mL 60成分VOC標準溶液の量。

列C : メタノールで希釈された後のVOC溶液の最終的な量。

列D : 列Bの量の2000 µg/mL標準試料を列Cにある量で希釈することによって調製されたキャリブレーション用スパイク溶液の濃度。

列E : 列Aで示されている濃度のキャリブレーション標準試料を調整するために43mLの水に添加される二次標準溶液 (列D)の量。

*未希釈のVOC標準試料 (2000 µg/mL) がスパイク添加に使用された。

**6.45 µLの2000 µg/mL AccuStandard VOC溶液と3.55 µLのメタノールをVOAバイアル中の水43mLに添加し、300 µg/Lのキャリブレーション標準水溶液が調製された。

以下に記されているように、二次標準（表1の列C）を保存する容器はヘッドスペースを最小限に抑えることができるものが選ばれた。比較的に量の多いものは2mLのスクリーバイアルに移され、少量のものは適切な大きさのクリンブマイクロバイアルに移された。

内標準（ISTD）とサロゲートの溶液は、2000 µg/mL AccuStandard溶液43 µLを400 µLのメタノールで希釈され、215ppmの濃度に調整された。各43mLの水質試料に10 µLの本溶液を添加し、すべての試料と標準試料に各成分が50 µg/L含まれるようにした。

繰り返し精度試験のための溶液調製

繰り返し精度試験ではスパイク添加された水質試料を2種類調製した。

- フルオロベンゼン、BFB、1,2-ジクロロベンゼン-d₄をそれぞれ10 µg/Lの濃度でスパイク添加した上水をシステムブランクとした。
- フルオロベンゼン、BFB、1,2-ジクロロベンゼン-d₄をそれぞれ10 µg/Lの濃度でスパイク添加し、さらに60種類の分析対象成分を20 µg/Lの濃度で添加した上水をVOCスパイクとした。

複製試料は以下のように調製された。

- 2000 µg/mL AccuStandard溶液25 µLをメタノール975 µLで希釈し、フルオロベンゼン、BFB、1,2-ジクロロベンゼン-d₄を50.0 µg/mL含む二次希釈標準試料を2mLオートサンプリングバイアル内に調製した。
- 2000 µg/mL AccuStandard溶液50 µLをメタノール950 µLで希釈し、60成分VOC溶液の二次希釈標準試料を100.0 µg/mLの濃度で2mLオートサンプリングバイアル内に調製した。

システムブランクは、1.0L容量のスクリーキャップボトルに入った500mLの水に、濃度50.0 µg/mLの三成分溶液を100 µL、メタノール100 µLを添加して調製された。逆さに振って十分に混合された後、ボトルは図1で示されるような装置に装着され、窒素圧力下でVOAバイアル11個にスパイク水溶液が充填された。

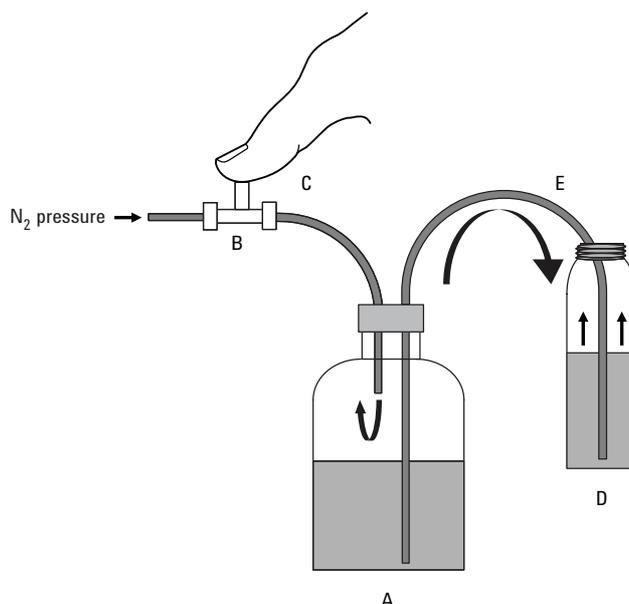


図1 複数のVOAバイアルに同じスパイク添加水溶液を充填するために使用された装置
 A) 1L液体クロマトグラフィー溶媒ボトル
 B) 一方のフィッティングに何も接続されていないSwagelokのティ
 C) キャップフィッティングを指で押してリザーバボトルに加圧
 D) VOAバイアル
 E) 1/8インチPTFEチューブ

VOAスパイク試料は、1.0L容量のスクリーキャップボトルに入った500mLの水に、濃度50.0 µg/mLの三成分溶液を100 µL、濃度100 µg/mLの60成分VOC標準試料100 µLを添加して調製された。逆さに振って十分に混合された後、ボトルは図1で示されるような装置に装着され、窒素圧力下でVOAバイアル11個にスパイク水溶液が充填された。

計装と分析条件

P&Tの計装とセットポイントは表2に一覧表示されている。使用されなかったP&Tオプションは以下のとおりである。DryFlowトラップ、自動ISTD添加、試料温調、ドライパージ、試料のクライオフォーカス。表2に示されているメソッドは、TekLink 2.2 P&T制御ソフトウェアのウィザードを使用して作成した。

表2 パージ&トラップの計装とセットポイント表3 GC/MSの計装とセットポイント

P&T装置	Teledyne Tekmar Velocity XPT
オートサンブラ	Teledyne Tekmar Aquatek 70
ソフトウェア制御	Teledyne Tekmar VOC Teklink version 2.2
トラップ	Vocarb 3000 (Agilent P/N 5182-0775)
P&T-GCインタフェース	P&TトランスファーラインがGCのスプリット/スプリットレス注入口キャリアガスラインに接続され、GCキャリアガスはVelocity XPTに接続される
試料量	5 mL
バルブオープン温度	150 °C
トランスファーライン温度	150 °C
試料マウント温度	90 °C
パージ準備完了温度	45 °C
DryFlow待機温度	175 °C
待機流量	10 mL/分
加圧時間	0.25 分
IS添加時間	0.00 (ISTDは手で添加)
試料移動時間	0.25 分
プレパージ時間	0.00 分
プレパージ流量	40 mL/分
試料温調器	オフ (試料温調なし)
試料予熱時間	1.00 分
予熱温度	40 °C
パージ時間	11.00 分
パージ温度	0 °C (つまり、パージ準備完了温度の45 °Cより低い)
パージ流量	40 mL/分
パージ洗浄時間	0.25 分
パージライン時間	0.25 分
ドライパージ時間	0.00 分 (ドライパージは使用せず)
ドライパージ温度	40 °C
ドライパージ流量	200 mL/分
GC開始	脱着開始時
脱着予熱温度	245 °C
脱着排出	オン
脱着時間	1.00 分
脱着温度	250 °C
脱着流量	200 mL/分
焼き出し洗浄	オン
焼き出し洗浄回数	3
焼き出し排出時間	0.50 分
焼き出し排出流量	400 mL/分
焼き出し時間	3.00 分
焼き出し温度	270 °C
DryFlow焼き出し温度	300 °C
焼き出し流量	400 mL/分
フォーカス温度	使用せず
注入時間	1.00 分
注入温度	180 °C
待機温度	100 °C

表3 GC/MSの計装とセットポイント

ガスクロマトグラフ	Agilent 6890N
注入口	スプリット/スプリットレス
注入口ライナ	シングルテーパ、不活性化処理 (Agilent P/N 5181-3316)
注入口温度	250 °C
スプリット比	50:1
カラム	20m×0.18mm×1.0 μm DB-VRX (Agilent P/N 121-1524)
キャリアガス	ヘリウム。1.0mL/minで流量一定
オープン温度プログラム	40 °C (3分)、10 °C/分~100 °C (0分)、25 °C/分~225 °C (3分)
質量分析計	Agilent 5973 Inert MSD
トランスファーライン温度	260 °C
四重極温度	150 °C
イオン源温度	230 °C
EM電圧	2035 V
スキャン範囲	35~260 m/z
スレッシュホールド	0
試料	3
溶媒遅延時間	0 分
ソフトウェア	MSD プロダクティビティケミステーション・ソフトウェア (P/N G1701DA バージョンD.01.00)

結果と論考

メソッド8260Bのセクション1.3を使えば、沸点が200°C以下のほとんどのVOCを定量することができる。ここでは、様々な試料調製、試料導入法を利用したメソッドによって定量することのできる123の化合物が列挙されている。その中で、7つはISTDまたはサロゲートで、9つはP&T試料導入では推奨されていないもので、3つは効果的な回収率を得るために80°Cでパージする必要があるものである。その他の化合物は水溶性と揮発性がかなりのばらつきがあり、本メソッドの最適化を難しくしている。本アプリケーションノートの目的は、メソッド8260Bまたは水質分析に用いられるその他のP&T/GC/MSDメソッドを最適化するために活用することのできるテクニックをいくつか紹介することである。

この研究では、EPAメソッド502.2に列挙されている60種類のVOCが3種類のISTDならびに4種類のサロゲートと共に分析された (表4)。

表4 二種類のキャリブレーション範囲1~300 µg/Lと1~200 µg/Lにおける平均レスポンスファクタ (RF) とRF %RSDを示した化合物リスト

タイプ*	化合物	保持時間 (分)	最小平均 レスポンス ファクタ**	キャリブ	1-300	1-300	1-200	1-200
				レーション レスポンス ファクタの 最大%RSD***	µg/L での 平均RF	µg/L での RF %RSD	µg/L での 平均RF	µg/L での RF %RSD
T	ジクロロジフルオロメタン	1.25		15	0.283	8.21	0.289	5.44
T,SPCC	クロロメタン	1.34	0.1	15	0.324	9.62	0.328	9.38
T,CCC	塩化ビニル	1.42		30	0.220	2.47	0.220	2.66
T	ブロメタン	1.60		15	0.099	14.11	0.096	12.30
T	塩化エチル	1.67		15	0.152	5.57	0.154	4.27
T	トリクロロモノフルオロメタン	1.97		15	0.372	11.38	0.386	3.49
T,CCC	1,1-ジクロロエテン	2.29		30	0.330	5.31	0.336	1.45
T	塩化メチレン	2.40		15	0.299	5.02	0.301	4.95
T	trans-1,2-ジクロロエテン (E)	2.92		15	0.323	2.54	0.325	1.36
T,SPCC	1,1-ジクロロエタン	3.14	0.1	15	0.444	4.93	0.446	5.22
T	cis-1,2-ジクロロエテン (Z)	3.68		15	0.360	1.28	0.361	1.17
T	ブromoクロロメタン	3.83		15	0.234	1.82	0.234	1.84
T,CCC	クロロホルム	3.89		30	0.442	0.92	0.443	0.60
T	2,2-ジクロロプロパン	3.96		15	0.202	9.87	0.209	4.19
Sur	ジブromofluoroメタン	4.01		15	0.248	0.83	0.248	0.89
Sur	1,2-ジクロロエタン-d ₄	4.47		15	0.298	1.76	0.299	1.79
T	1,2-ジクロロエタン	4.55		15	0.359	1.57	0.359	1.66
T	1,1,1-トリクロロエタン	4.64		15	0.388	7.99	0.398	1.43
T	1,1-ジクロロプロペン	4.86		15	0.336	12.44	0.351	3.16
T	四塩化炭素	5.01		15	0.309	13.88	0.322	7.66
T	ベンゼン	5.08		15	1.063	7.10	1.077	6.52
ISTD	フルオロベンゼン	5.34		15		1.34		1.41
T	ジブromometan	5.68		15	0.198	1.86	0.198	2.01
T,CCC	1,2-ジクロロプロパン	5.75		30	0.266	1.58	0.268	0.77
T	トリクロロエチレン	5.81		15	0.288	6.79	0.295	2.14
T	ブromoジクロロメタン	5.85		15	0.334	5.47	0.331	5.60
T	1,3-ジクロロプロペン (Z)	6.64		15	0.383	5.49	0.381	5.74
T	1,3-ジクロロプロペン (E)	7.18		15	0.322	8.76	0.318	8.93
T	1,1,2-トリクロロエタン	7.32		15	0.236	1.57	0.237	1.67
Sur	トルエン-d ₈	7.47		15	0.945	0.50	0.945	0.51
T,CCC	トルエン	7.55		30	1.098	7.47	1.126	2.07
T	1,3-ジクロロプロパン	7.62		15	0.428	1.28	0.428	1.20
T	ジブromoklorometan	7.86		15	0.254	12.10	0.249	11.88
T	1,2-ジブromometan	8.15		15	0.244	1.88	0.244	2.03
T	テトラクロロエチレン	8.40		15	0.307	18.72	0.327	5.07
T	1,1,1,2-テトラクロロエタン	9.15		15	0.254	8.79	0.254	9.49
ISTD	クロロベンゼン-d ₅	9.19		15		0.98		0.81
T,SPCC	クロロベンゼン	9.22	0.3	15	0.981	5.00	0.997	2.14
T,CCC	エチルベンゼン	9.51		30	1.559	11.66	1.623	1.90
T,SPCC	ブromoホルム	9.72	0.1	15	0.246	14.57	0.242	15.08
T	m- & p-キシレン	9.73		15	2.510	11.97	2.614	2.75
T	スチレン	10.03		15	1.008	5.68	1.022	4.25
T,SPCC	1,1,2,2-テトラクロロエタン	10.08	0.3	15	0.395	3.41	0.394	3.46
T	o-キシレン	10.10		15	1.289	9.27	1.330	1.89
T	1,2,3-トリクロロプロパン	10.21		15	0.347	2.90	0.346	2.94
Sur	BFB	10.44		15	0.381	0.93	0.382	0.82
T	イソブromilbenzen	10.44		15	1.474	17.44	1.562	4.13
T	ブromoベンゼン	0.58		15	0.643	5.20	0.653	3.12
T	n-ブromilbenzen	10.82		15	1.840	17.38	1.950	3.60
T	2-クロロトルエン	10.85		15	1.124	10.66	1.166	1.93
T	4-クロロトルエン	10.92		15	1.184	10.23	1.224	3.75

表4 二種類のキャリブレーション範囲1~300 µg/Lと1~200 µg/Lにおける平均レスポンスファクタ (RF) とRF %RSDを示した化合物リスト (続き)

タイプ*	化合物	保持時間 (分)	最小平均レスポンスファクタ**	キャリブレーションレスポンスファクタの最大%RSD***	1-300 µg/Lでの平均RF	1-300 µg/LでのRF %RSD	1-200 µg/Lでの平均RF	1-200 µg/LでのRF %RSD
T	1,3,5-トリメチルベンゼン	11.08		15	1.275	14.63	1.340	3.02
T	tert-ブチルベンゼン	11.26		15	1.196	18.98	1.274	4.24
T	1,2,4-トリメチルベンゼン	11.36		15	1.353	12.22	1.411	2.35
T	sec-ブチルベンゼン	11.43		15	1.729	21.91	1.858	5.67
T	1,3-ジクロロベンゼン	11.44		15	1.529	10.75	1.579	5.61
T	1,4-ジクロロベンゼン	11.49		15	1.597	9.97	1.643	5.99
ISTD	1,4-ジクロロベンゼン-D ₄	11.47		15		1.09		1.17
T	p-イソプロピルトルエン	11.58		15	2.587	19.00	2.757	3.52
T	1,2-ジクロロベンゼン	11.73		15	1.485	6.33	1.516	2.74
T	ブチルベンゼン	11.87		15	2.355	20.68	2.522	4.81
T	1,2-ジブromo-3-クロロプロパン	12.06		15	0.186	13.90	0.180	11.56
T	1,2,4-トリクロロベンゼン	12.95		15	1.211	12.42	1.250	8.76
T	ナフタレン	13.10		15	2.879	5.54	2.852	5.32
T	ヘキサクロロブタジエン	13.16		15	0.750	24.53	0.809	10.56
T	1,2,3-トリクロロベンゼン	13.22		15	1.196	11.09	1.226	9.06
	分析対象化合物の平均%RSD				9.07		4.60	
	全化合物の平均%RSD					8.22		4.23

*化合物の指定は以下のとおり：T (分析対象)、SPCC (システム性能検査用化合物)、CCC (キャリブレーション検査用化合物)、Surr (サロゲート)、ISTD (内標準)。分析対象化合物はSPCCまたはCCCとしても指定することができる。

**SPCCが満たす必要がある最小平均RF。

***RFの最大%RSD。いずれかのCCCのRF RSDが30%を超えていたら、装置のメンテナンスが必要。いずれかの分析対象化合物のRF %RSDが15%を超えていたら、平均RFの曲線当てはめを他の方法に変える必要がある。

以下はメソッド8260Bの中で最も重要な要件の要約である。本メソッドをすでによくご存知であればこのセクションは読みとばしていただいてもかまわない。

ISTDとサロゲート：表4に挙げられているISTDとサロゲートが本メソッドでの使用を推奨されている化合物であるが、他の化合物を代わりに使用することもできる。

チューニング要件：試料の分析に先立ってMSDの調整を行い、メソッド8260BのBFBチューニング仕様[1]を満たしておく必要がある。しかし本メソッドでは、指定BFBイオン比をCLP[4]、メソッド524.2[3]、またはメーカーの指示する条件で代用することができる。表5では3つのEPAメソッドすべてのBFBチューニング仕様を列挙している。スキャン範囲は35~260m/zを推奨する。

表5 3つのキャピラリーGC/MS揮発性物質分析メソッドのBFBチューニング基準

質量 (m/z)	相対アバundance基準		
	メソッド524.2	メソッド8260B*	CLP-SOW
50	95の15%~40%	同じ**	95の8%~40%
75	95の30%~80%	95の30%~60%	95の30%~66%
95	基準ピーク、100%	同じ	同じ**
96	95の5%~9%	同じ	同じ
173	174の<2%	同じ	同じ
174	95の>50%	同じ	95の50%~120%
175	174の5%~9%	同じ	174の4%~9%
176	174の>95%と同時に<101%	同じ	174の93%~101%
177	176の5%~9%	同じ	同じ

* メソッド性能に悪影響が出ない限りにおいて、メーカーの指示書を含めて他のチューニング基準（たとえばCLPやメソッド524.2など）を使用することもできる。

** 「同じ」は本要件がメソッド524.2で示されているものと同じであることを表す。メソッド8260Bには他のチューニング基準を使用することも銘記のこと（前の脚注を参照）。

システム性能検査用化合物（SPCC）：SPCCはキャリブレーションの後、試料分析の前に、システム性能をチェックするために使用される。これら化合物は活性点と装置の汚染に敏感であることが知られている。この化合物は表4で指定されている最小RFの条件を満たしている必要がある。

キャリブレーション要件：メソッド8260Bは最低でも5点検量線を作成するよう要求している。検量線の直線性を仮定するために、すべての化合物のRF RSDは15%以下である必要がある。6つの化合物がキャリブレーション検査用化合物（CCC）として指定されています（表4）。いずれかの化合物のRF RSDが30%を超えていたら、装置に問題があり、修理が必要であることの兆候である。RFで15%のRSDを超える化合物には、EPAメソッド8000B [5] で指定されているその他の曲線当てはめ方法を使用することができる。

各12時間シフトでのGC/MSキャリブレーションの検証：P&T/GC/MSDの性能は12時間ごとに再評価される必要がある。最も重要な要件は以下のとおりである：

- BFBチューニングが再チェックされ、元のチューニング要件に合格しなければならない。
- 検量線の間差点近くにある試料をP&T試料導入を使用し分析する必要があり、以下の事項が満たされていることが示されなければならない。
 - 各SPCCは最低RF条件を満たしている。
 - 各CCCで現在と元のレスポンスのパーセント差異が20%未満でなければならない。

- 各ISTDの保持時間は30s以上ドリフトしてはいけない。
- ISTD面積は元の間差点となるキャリブレーション濃度から2倍または2分の1よりも多く変化してはいけない（つまり50%から200%までの間）。
- メソッドブランク試料が実行され、キャリオーバーやシステムの汚染が見られないことが示されなければならない。

キャリブレーション結果：

メソッド8260Bを採用している多くのラボでは、5 µg/Lから200 µg/Lの間で5点検量線を作成している。この範囲を上下に拡大しようとするラボもあるということを考慮して、1、2、5、20、50、100、200、300 µg/Lで8点検量が実行された。すべての化合物において1 µg/Lで十分な信号が検知され、さらに低い濃度でのキャリブレーションも可能であることがわかった。しかしながら、本作業で分析された中で最低のキャリブレーション濃度は1 µg/Lであった。図2は、濃度50 µg/Lの分析対象、サロゲート、ISTDのクロマトグラムを示したものである。

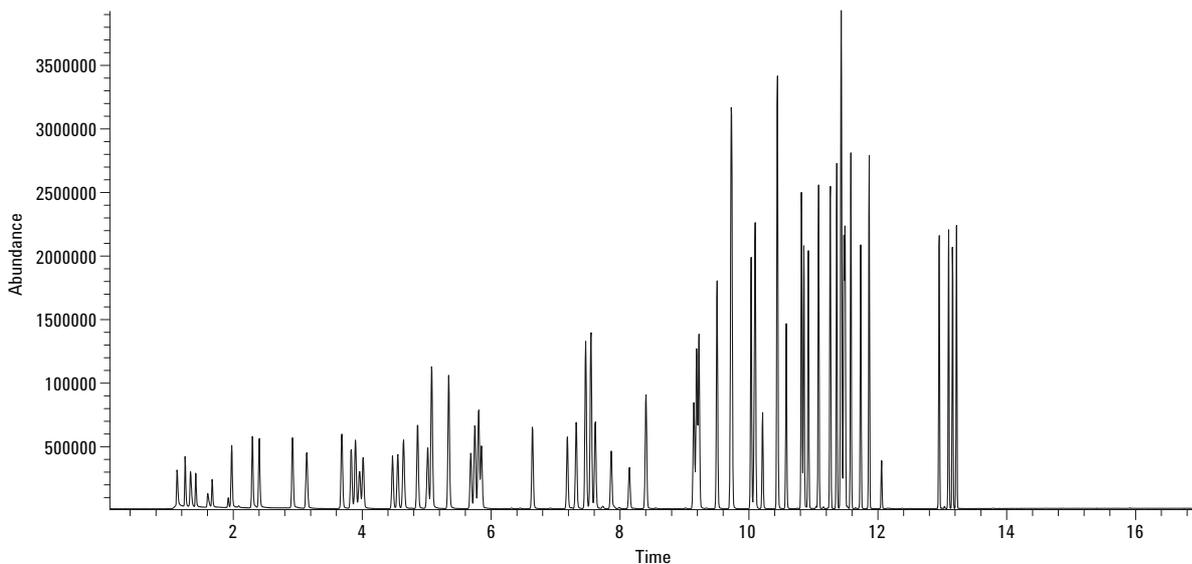


図2 VOCフリーの水中に表4で列挙されている化合物すべてを50 µg/L含む標準試料をP&T/GC/MS分析した結果

1~300 µg/Lと1~200 µg/L範囲におけるそれぞれの化合物の平均RFとRF %RSDが計算された。表4で見られるとおり、5つのSPCCすべてが両方のキャリブレーション範囲で最小RFを十分に上回っていた。

先に述べたとおり、CCCのRF RSDは30%を超えてはならない。表4は6つすべてのCCCに関し、両方のキャリブレーション範囲においてこの数値を大幅に下回っていたことが示されている。実際に、CCCの平均%RSDは1~300 µg/Lキャリブレーションではたった4.90%であり、より狭い1~200 µg/L範囲では著しく小さく1.58%であった。

1~300 µg/Lキャリブレーション範囲でRSD要件を満たさず15%を超えていたのは8つの化合物だけであった。すべてのケースで、RFは300 µg/L標準試料において著しく減少した。

このことは、それほどの高い濃度では対象イオンレスポンスが強すぎてMSDに過負荷がかかったことを示唆している。

1~200 µg/Lキャリブレーション範囲では、平均RFはほとんどすべての分析対象化合物において使用可能であったが、15%の制限を0.08%超えていたプロモホルムだけは例外となるだろう。しかし有効数字を2桁に限れば、プロモホルムでも平均RFをキャリブレーションに使用することができることになる。すべての分析対象化合物の平均%RSDは1~300 µg/Lキャリブレーションでは8.9%であり、1~200 µg/L範囲ではたった4.5%であった（表4）。図3は、1~200 µg/Lキャリブレーション範囲での各分析対象化合物のRFをプロットしたものである。

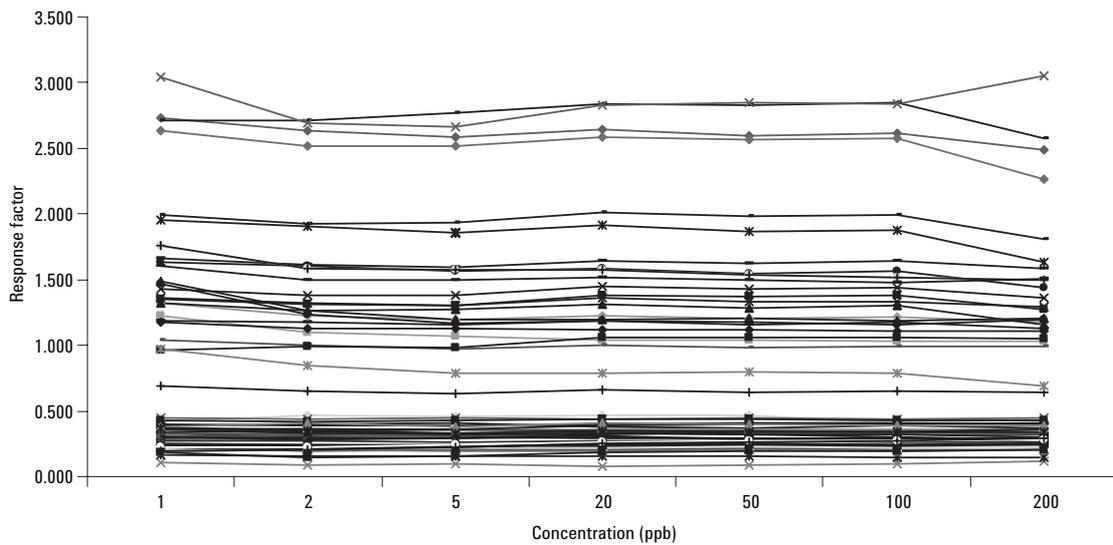


図3 表4で列挙されているすべての分析対象化合物の7つの濃度のキャリブレーションから得たRFのプロット。
濃度は1、2、5、20、50、100、200 µg/L

図4は、59のキャリブレーションピーク（m-キシレンとp-キシレンは分離できず）におけるRF %RSD値のプロットである。そこでは、ほとんどの化合物は1~200 µg/Lキャリブレーション範囲でRFがあり、6%以下のRSDであったことが示されている。91%以上の化合物のRSD値は10%以下であった。

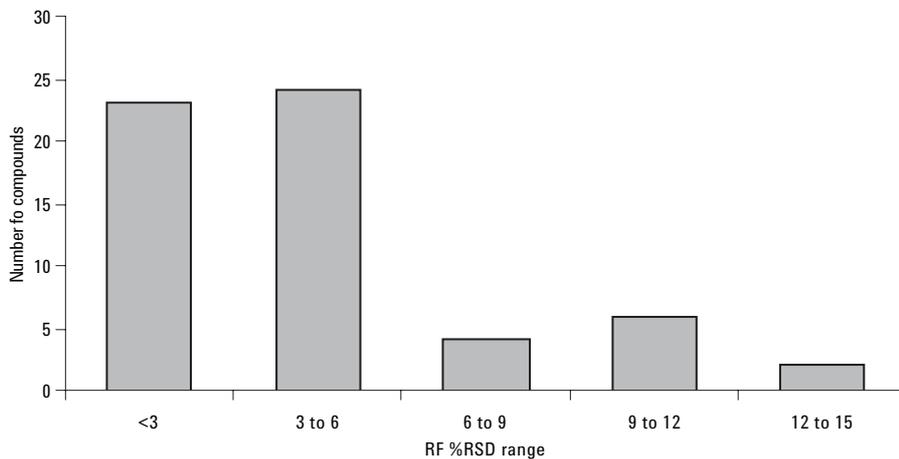


図4 59のキャリブレーションピーク（m-キシレンとp-キシレンは分離できず）におけるRF %RSD値の分布

キャリブレーションの有効期間は、試料を数日、数週間、さらには数か月にわたって連続して分析したときでさえも、すべての化合物から一貫したレスポンスを得ることができかどうかにかかっている。いくつかのラボでは、時間の経過と共にレスポンスが低下しキャリブレーションの有効性が損なわれることを観察されている。さらに、ある化合物の回収率は試料中に他のVOCが存在するかまたは存在しないかにも依存することが観察されている。この問題についてのより詳しい論考とその簡単な解決方法は、以下の「最適化テクニック」セクションで論じられている。

長期にわたる装置安定性を評価するために、2種類の試料を調製する。「システムブランク」は、FBz、BFB、1,2-ジクロロベンゼン-d₄ (DCB-d₄) を10 µg/L添加した水溶液とする。最初の化合物はISTDとして使われ、残りはサロゲートとして選ばれた。「スパイク添加試料」は、システムブランクと同じだが、60種類の分析対象VOCがそれぞれ濃度20 µg/Lで添加されている。これらの試料を交互に分析していく。通常は22回の分析を行うが、時にはそれ以上の分析を数日にわたって行うこともある。

図5は、FBz、BFB、DCB-d₄についてノーマライズした回収率のプロットである。そこでは、装置パラメータが最適化されていない問題が2点観察される。第一は、傾いた矢印で示されているとおり、3つのすべての化合物においてレスポンスが次第に低下していることである。同時にグラフに示されているのは、VOC添加がない場合のサロゲート回収率の低下である。システムブランクとスパイクが添加された試料はシーケンス中で交互に分析されるため、このプロットのように「ジグザグ」の形状となって表れる。

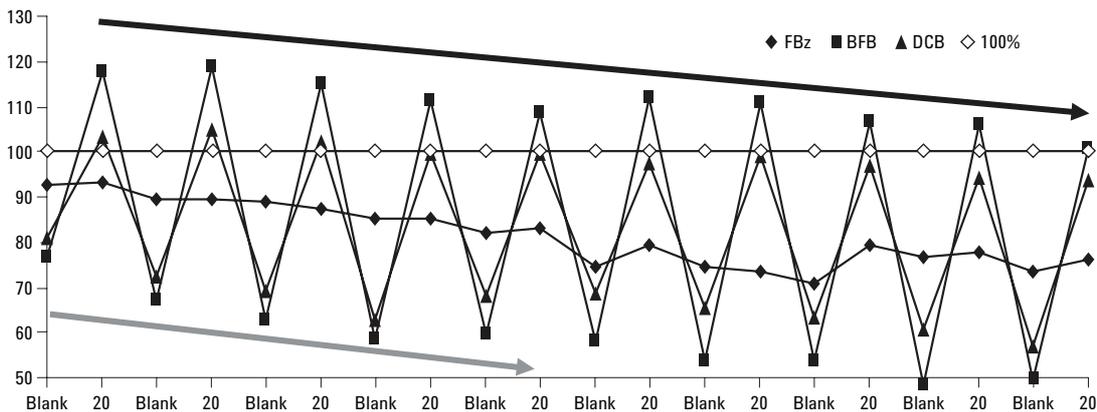


図5 FBz、BFB、1,2-DCB-d₄についてノーマライズした回収率。システムブランク (FBz、BFB、1,2-DCB-d₄ だけをそれぞれ10 µg/L含む) が、追加で60種類のVOCをそれぞれ20 µg/L添加したシステムブランクと交互に分析された。矢印はシーケンスが進むにつれてレスポンスが次第に失われていく様子を示している。BFBとDCB-d₄の回収率は他のVOCが存在しているときの方が高いため、ジグザグのパターンとなって表れている。

図5で示されている問題は、MSDの電子増倍管（EM）に過負荷をかけず、試料の流路に活性点がないようにすることによって容易に回避することができる。図6は、装置パラメータが正しく設定されているときの典型的なBFBとDCB-d₄のノーマライズ後の回収率プロットである。再度システムブランクとスパイク添加試料が交互に分析されたが、今回は時間経過によってレスポンスの低下は見られなかった。サロゲートの回収率は試料のスパイク添加とは独立していた。これらの問題を簡単に解決する方法を以下で論じる。

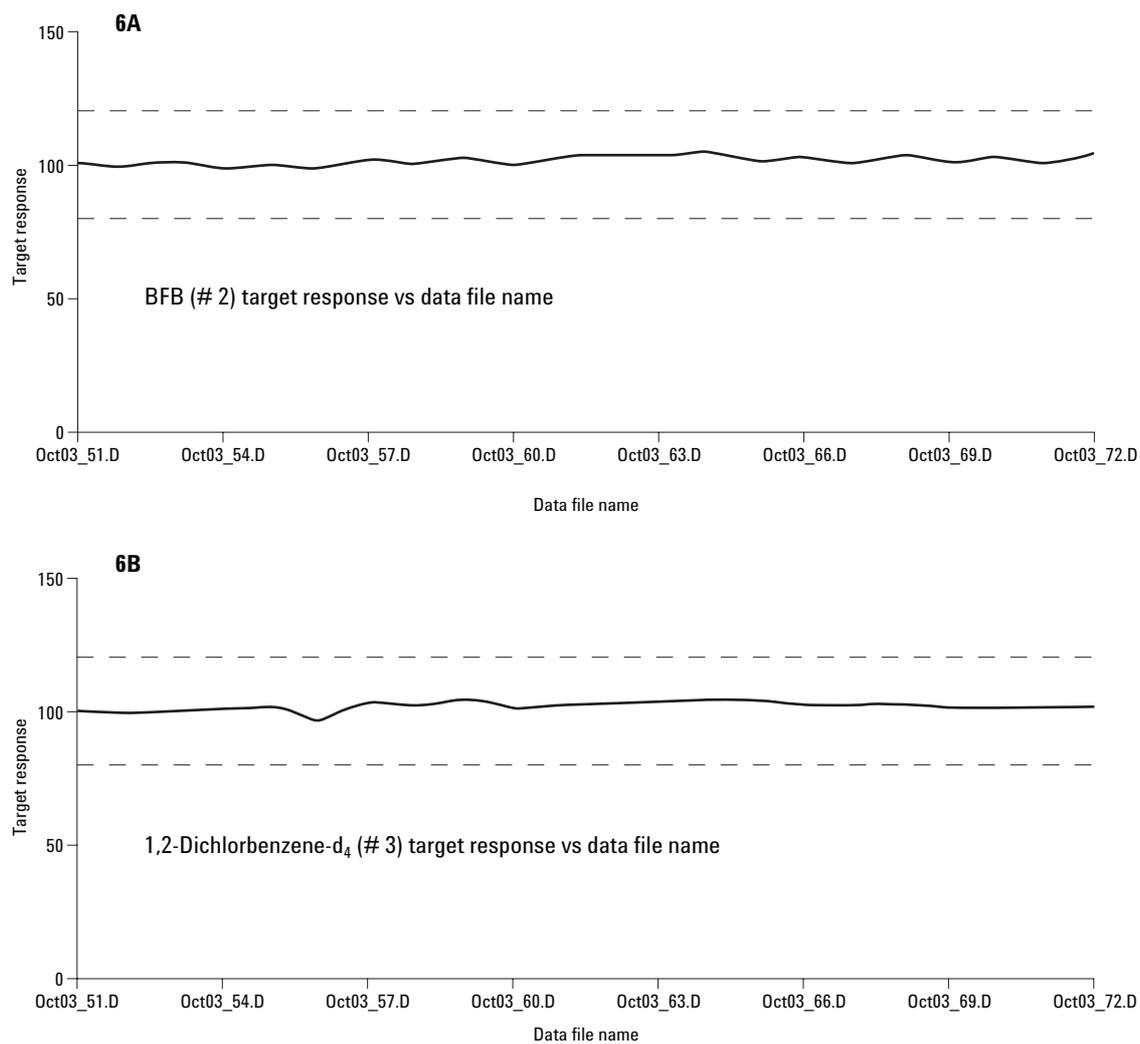


図6. Velocity XPT P&Tを組み合わせ、最適化されたシステムパラメータで設定したAgilent 6890N/5973 Inert GC/MSIによる分析結果から得たBFB (6A) とDCB-d₄ (6B) のノーマライズ後の回収率

最適化テクニック

MSDチューニング：アプリケーションノート5988-4373EN[6]では、BFBの要件を満たすためにAgilent 5973N MSDをチューニングする3つの方法が論じられている。これらの方法は今でも使えるが、最新型の5973 inert MSDではBFBオートチューニングを使う際には可変エントランスレンズ設定をオフにしておく方がよい。CLPワークステーション仕様（表5）は、8260Bチューニング要件よりも寛容である。最も重要なのは、イオン174がイオン95（標準イオン）の120%まで許されている点である。174/95イオン比が90%~120%の範囲に収まるようにMSDをチューニングするとよい。そうすれば、効率が悪い場合にはパージされてしまうプロモホルム（基準ピーク=173）の信号を向上させることができるからである。本作業では「修正オートチューニング」メソッドが使用され、174/95のイオン比は約105%であった。経験から言うと、BFB要件を満たすようにAgilent 5973 Inertをチューニングすればそのチューニングは何週間も安定する。ただ、どれだけの期間かを正確に言うことはできない。なぜなら、いったんチューニングされたらBFB要件に通らなかったことは一度も起こったことがないからだ。

MSDパラメータの最適化：ISTDまたはサロゲートのレスポンスが注入を繰り返していくにつれて減少するなら、Agilent 5973 MSDの高エネルギーダイノード（HED）EMに過負荷がかかっていることが原因である可能性がある。5973はそれ以前の機種よりも感度が大幅に向上するように設計されており、HEDをEM内に採用している。これによって、ノイズが減少、信号が増加し、特により高い質量のイオンで顕著である。しかし、高感度の検出器は連続したイオン衝撃やより高い電圧での操作によって過負荷がかかる可能性がある。その兆候は、時間が経つにつれてレスポンスが通常では考えられないほど大きく損なわれることである。

多くのGC/MSユーザは、EM電圧を上げることによってMSDの感度を向上させることができると考えているが、それは正しくない。MSDの感度は、チューニングの際に目標値を上げる、または「MS SIM/Scan Parameters」ウィンドウのチューニング値に電圧値を加えることで上げることができる。しかし電子衝撃モードでは、ノイズは信号とほぼ同じ比率で増加する。そのため、実際の感度は（信号/ノイズ）は向上しない。結果として、EMの寿命が短くなる。これは時間が経つにつれてレスポンスが低下するという形で現れ、それは数回の分析で顕著に認められることがある。（ここで信号ノイズ比について述べられていることは化学イオン化法には必ずしも当てはまらない。）

この「問題」の解決方法は比較的単純である。最も簡単な方法は、EM電圧を小さくすることである。それによって信号とノイズは減少するが、信号ノイズ比は減少しない。小さいイオンを見分けるようにするためには、「Edit Scan Parameters」ウィンドウでスレッシュホールドを小さくする必要があるかもしれない。オートチューニングまたはBFBチューニングで設定されるEM電圧のデフォルト値は通常適正であるが、上述したような兆候が現れる場合にはいくらか小さく設定することができる。

選択イオン検出（SIM）モードではEMに過負荷がかかりやすいが、それは2、3のイオンフラグメントしかモニタしていないからである。スキャンモードではピーク溶出の間、すべてのスペクトルで信号が小さいかゼロの状態の「空」部分がある。しかしSIMでは、信号はほとんど連続しており、モニタされるイオンは通常もっともアバンドンスが高いものである。ここでも、解決方法は比較的単純である。「High Resolution」オプションを選択することによって、EM電圧を小さくし、SIMドウェル時間を少なくする。さらにピーク幅を小さくすることもできる。後者の2つの値は、「Edit SIM Parameters」ウィンドウで設定する。いずれにしても、信号とノイズはEM電圧とほぼ比例しており、その値をわずかに小さくしても何も犠牲にすることはないと覚えておくことが大切である。ただ、それと同時にスレッシュホールドを下げるかまたはゼロにしておくことを忘れないようにしなくてはならない。

システム活性を小さくする：図5で示されているように、サロゲートの回収率が他の化合物が存在していると高くなる場合には、試料流路にある活性点が原因である可能性が高い。サロゲートはこういった活性点で吸着される可能性があり、そのため回収率が低くなる。サロゲート回収率が他の化合物が存在する場合に高くなるのは、活性点をめぐって競い合うからである。このような問題を防ぐには、不活性度の高いP&T/GC/MSシステムを使用し、発泡性の試料からの汚染を避けることで装置を清浄に保つ必要がある。Agilent 6890N/5973 Inert GC/MSとVelocity XPT P&Tの組み合わせでは、試料吸着の兆候はまったく見られなかった。図6で示されているように、サロゲートの回収率は本システムでは非常に安定していた。もし分析対象成分またはサロゲートの回収率が他の化合物の存在によって変化するようであれば、MSDソースの温度を上げるか、旧型の5973AまたはNを「不活性イオン源」設計の新しい機種にアップグレードすることで解決が図れる。

P&Tメソッドと水質管理：新しいTeledyne Tekmar Velocity XPT濃縮器とAquatek 70オートサンプラを制御するVOC Teklinkソフトウェアには「ウィザード」ツールが用意されており、ユーザがメソッドのパラメータを選択する手助けとなる。このウィザードによって作成されたメソッドにごく小さな修正を行った。ISTDは各試料に手で添加したので、「Fill I.S. Time」は0.00分に設定された。焼き出し時間は3分に、焼き出し洗浄回数は3回に増やされた。その他すべてのパラメータは、ユーザがシステム設定についての情報を入力した後にウィザードがすべて選択した。

P&T/GC/MSメソッドで最も大きな懸念は、化合物と共にもう一つパージされてしまう水の管理である。キャリブレーション、サロゲート、およびISTD溶液はすべてメタノール中で調製されるので、媒体であるメタノールもまたパージされ、トラップ中にとどまる。スキャンを40 μ で開始すれば、メタノールと水のイオンはMSDによって検出されることはなかった。しかしながら、大量の水とメタノールをP&TからGC/MSに移動させた場合には、それらと共溶出する化合物の再現精度が低くなる可能性がある。Velocity XPTとAgilent 6890N/5973 Inertシステムの組み合わせを使用した場合には、水に起因するような問題はまったく見られなかった。P&TはVocarb 3000トラップと使用するよう設定されたので、DryFlowトラップは必要とされなかった。様々なドライバージ時間や流量が試されたが、そのことが与える影響は最初の方の1つあるいはいくつかの溶出ピークの形がゆがむことだけであった。そのため、ドライバージオプションは使用されなかった。いくつかの問題は、MSDのEMIに過負荷をかける結果になる過剰な水に起因する可能性が高い。

標準試料の調製：キャリブレーション用の試料を慎重に調製することの重要性は強調してもしきれない。ほとんどのラボと同じく、一次希釈液は2000 μ g/mLの成分濃度で入手し、冷蔵庫に保管しても問題はない。このラボでの実験で、最良の結果は以下のガイドラインを遵守するときに得られることがわかった。

- 試料のスパイクに使用する二次希釈液は新たに開封した標準試料から調整する。

- 二次希釈液は適切な大きさのガラス製容器に移し、バイアル中にヘッドスペースがほとんどまたはまったくない状態にする。試料はマイクロバイアルに少量保存する。
- Mininert バイアルが試料の保管に試されたが、漏れやすく、その使用は中止された。また、マイクロバイアル用のものがなかった。
- V0Aバイアルのセプタムを通して純水にメタノール溶液を添加し、キャリブレーション標準試料を調整する方法がうまく働く。また、50mLまたは100mL容量のフラスコに標準試料を調整し、その水質試料をV0Aバイアルに注ぎ込む方法もまた同様にうまく働く。
- 同じ溶液からいくつかのV0Aバイアルに試料を一度に調製する場合は、溶液を大容量のフラスコ一つだけに調製してはならない。フラスコから何度も注ぐためにVOCに損失が生じるからである。そのかわり、バイアルそれぞれにスパイク添加し、図1で示された装置を使って試料を移す。
- キャリブレーション標準試料を調整するときは、同じ量のメタノール溶液をそれぞれのVOC試料に移す。この場合、単一の標準試料に異なる量のスパイクを添加する代わりに、各キャリブレーション濃度のメタノール二次希釈液を調整する必要がある。

漏れ：漏れはシステム内のどこで起こっても、低い精度、試料のロス、およびキャリブレーションの失敗という結果を招く。キャリアガス流路での漏れは、MSDで簡単に検出することができ、それは大きな酸素と窒素のバックグラウンドとして現れる。漏れを止めるには、所定の方法を用いて漏れを発見した後、漏れを起こしているフィッティングを増締めするか交換する。もっと検出が難しい問題は、パージ容器をP&T装置に接続しているフィッティングで起きている漏れです。パージサイクル中の最も小さな漏れでさえ、VOCのロスを引き起こし、低い精度の原因となる可能性がある。ヘリウムリーク検出器が見逃したほどの漏れでも、VOCの損失の原因となることがある。もし、あるキャリブレーション濃度のすべてのRFが同じような量だけ低い、またはRF RSDがどれも良く似ていてしかも大きすぎる場合は、P&Tの漏れが原因になっている可能性が高い。その場合は、パージ容器に接続されているフィッティングを締めるか交換する。

結論

P&Tによる試料導入を使ったEPAメソッド8260Bは、広く一般的に利用されている水質分析法である。キャリブレーションカーブの直線性を長く保ち、優れた分析結果を得るには、P&T、GC、およびMSに関して最適化しなければならない変数がいくつもある。本アプリケーションノートは、あらゆる面において本VOC分析法を最適化するためにAgilentが蓄積してきた数多くの経験の要約である。ほとんどの分析者は、キャリブレーション試料、性能評価用試料、MSDのチューニング、および装置パラメータの設定をよく知っている。こういった分析者は、この手法が再チューニング、再キャリブレーションの必要がほとんど不要な頑健なものであると理解できるだろう。ここに示されている情報は、問題が起こった場合、あるいは初めてこのメソッドを使って分析する場合に、手助けとなるよう作成されている。メソッド8260Bに焦点が当てられているが、上記のテクニックはほとんどのP&T/GC/MSメソッドに応用することができる。

参考文献

1. "Volatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)," U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste, SW-846 Method 8260B, revision 2, December 1996 (<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/8260b.pdf>).
2. "Purge-and-Trap for Aqueous Samples," U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste, SW-846 Method 5030C, revision 3, May 2003 (<http://www.epa.gov/SW-846/pdfs/5030c.pdf>)
3. "Methods for the Determination of Organic Compounds in Drinking Water-Supplement III (EPA/600/R-95-131)," Method 524.2, revision 4.1, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, National Exposure Research Laboratory, Cincinnati, OH (1995).
4. "USEPA Contract Laboratory Program Statement of Work for Organics Analysis, Multi-Media, Multi-Concentration, OLM04.2," USEPA Contract Laboratory Program, Office of Emergency and Remedial Response (<http://www.epa.gov/superfund/programs/clp/olm4.htm>).
5. "Determinative Chromatographic Separations," U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste, SW-846 Method 8000B, revision 2, December 1996 (<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/8000b.pdf>)
6. Philip L. Wylie, "BFB Tuning for Environmental Analysis: Three Ways to Succeed," Agilent Technologies publication 5988-4373EN (<http://www.chem.agilent.com/temp/rad48994/00031636.pdf>)

詳細情報

Agilent の製品およびサービスについての詳細情報は、
Webサイト www.agilent.com/chem/jp でご覧ください。

お問い合わせ： 0120-477-111

横河アナリティカルシステムズ株式会社

〒192-0033 東京都八王子市高倉町9-1

Agilentは、本文書に含まれる誤り、および本文書の内容または使用に関連して、
付随的または間接的に引き起こされる損害について、
一切の責任を負いません。

本文書に記載の情報、説明、および仕様は、予告なく変更されることがあります。

© Agilent Technologies, Inc. 2004

Printed in the USA
February 5, 2004
5989-0603JAJP

