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

アプリケーション

環境分析

著者

Mike Szelewski
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA

要約

1 兆分の 1 (ppt) レベルの半揮発性物質の分析は、分析対象成分の活性、バックグラウンドの汚染、機器感度などによって、困難な分析です。1 µL の注入を指定したできるだけ低い感度とフルスキャンデータ取込を使用したメソッドの要件は世界中で異なります。大容量注入 (LVI) を、温度プログラム式気化 (PTV) 注入口と SIM モードでの MSD 操作と一緒に使用することで、さらに低濃度のキャリブレーションを達成することができます。これらの低い検出限界により、サンプルの前処理を少なくすることができます。

緒言

飲料水や原水中の酸、塩基、中性の混合物と農薬を同時測定するためには、低濃度の半揮発性化合物分析用のメソッドが使用されます。大部分のラボでは、20 ～ 40 分のクロマトグラフ分析時間で、100 種類以上の化合物を分析します。液固抽出 (LSE) を C_{18} ディスクまたはカートリッジと一緒に使用することで、サンプル抽出を達成します。ジクロロメタンなどの溶媒を用いた液液抽出が代替方法です。抽出物の注入は通常、米国 EPA メソッド 525.2 [1] などの、一部の一般的に使用されるメソッドで指定されるように、フルスキャンモードで MSD を操作した、1 µL のホットスプリットレスです。

感度は、ラボが性能向上を追求している領域です。感度は、サンプル前処理、注入された抽出物量、機器チューニング、シグナル取込、全体的なシステム活動などの影響を受ける可能性があります。

PTV 注入口は、大容量注入を通じて良い感度を提供します。1 µL の代わりに、相対的にきれいなサンプル抽出物 25 µL を日常的に注入することができます。PTV で活性の高い分析対象成分の分解を最小限に抑えられるため、ホットスプリットレス注入を使用するよりも、検出下限が低くなります。

半揮発性物質用のメソッドでは通常、リテンションタイム (RT) と対象イオンに対するクォリファイアイオンの割合を用いた、分析対象成分の同定が必要です。感度または S/N 比と共にフルスキャンを使用する代わりに、選択イオンモニタリング (SIM) 取込を使用することができ、10 ～ 50 倍の増加になります。

低濃度半揮発性物質の標準的なキャリブレーション範囲は、米国 EPA メソッド 525 に記載のとおり、0.1 ～ 10 ppm です。このアプリケーションノートでは、1,000 倍低く、10 倍幅広い、つまり 0.1 ～ 100 ppb のキャリブレーションを明らかにします。リテンションタイムロック (RTL) された GC/MSD システムに、SIM データ取込と共に LVI-PTV を使用して、この性能を達成しました。このアプリケーションは参考文献 [2] に対するフォローアップノートで、この文献で追加の背景事情を確認することができます。

実験

機器操作パラメータ

推奨機器操作パラメータは表 1 に記載されています。これらの条件を別のラボで使用するには、最適化する必要があるかも知れません。

表 1.　ガスクロマトグラフと質量分析計の条件

GC	Agilent 7890A または 6890N
注入口	EPC PTV
モード	溶媒ベント

温度ランプ	°C/min	次の温度 (°C)	保持時間 (分)
初期		20	0.60
ランプ 1	600	350	1.30
ランプ 2	10	250	0.00

低温	オン
低温使用温度	100 °C
低温タイムアウト	10.00 分 (オン)
低温異常	オン
圧力	11.77 psi (オン)
ベント時間	0.60 分
ベント流量	100.0 mL/min
ベント圧力	0.0 psi
パージ流量	50.0 mL/min
パージ時間	2.50 分
総流量	53.9 mL/min
ガスセーバ	オフ
ガスタイプ	ヘリウム
PTV ライナ	Agilent マルチバッフルライナ、パッキンなし、P/N 5183-2037
オーブン	**240V**

オーブンランプ	°C/min	次の温度 (°C)	保持時間 (分)
初期		40	2.50
ランプ 1	50	110	0.00
ランプ 2	10	320	1.10

総分析時間	26 分
平衡時間	0.5 分
オーブン最高温度	325 °C
カラム	Agilent Technologies HP 5 MSi、P/N 19091S-433i
長さ	30.0 m
径	0.25 mm
膜厚	0.25 µm
モード	定流量
圧力	11.77 psi
公称初期流量	1.5 mL/min
注入口	フロント
注入口	MSD
出口圧力	真空
RTL	システムは、12.700 分のフェナントレン -d10 に対してリテンションタイムがロックされました

フロントインジェクタ

サンプル洗浄	0
サンプルポンプ	2
注入量	25 マイクロリッター
シリンジサイズ	50 マイクロリッター
プレ注入溶媒 A 洗浄	0
プレ注入溶媒 B 洗浄	1
ポスト注入溶媒 A 洗浄	2
ポスト注入溶媒 B 洗浄	2
粘度ディレイ	1 秒
プランジャ速度	可変
注入速度	50 µL/min
吸引速度	600 µL/min
分注速度	6,000 µL/min
プレ注入デュエルタイム	0 分
ポスト注入デュエルタイム	0 分

MSD	Agilent Technologies 5975C、微量イオン検出
ドローアウトレンズ	6 mm 大開口部ドローアウトレンズ、P/N G2589-20045
溶媒ディレイ	4 分
低質量	45 amu
高質量	450 amu
スレッショルド	0
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
EM 電圧	チューン電圧、1,247 V

MSD-SIM

イオン、グループ、切換時間を選ぶために、AutoSIM が使用されました

グループ数	25
化合物/グループ	1 ～ 22 で変化
イオン/グループ	2 ～ 45 で変化
デュエルタイム、msec	5 または 10 で変化
サイクル/ピーク	最小 10

キャリブレーション標準試料

Ultra Scientific, North Kingstown, RI。P/N DWK-5252。4 種類の混合物。共希釈されており、4 種類の濃度で 108 種類の化合物を生じ、50 ppb の 3 種類の内部標準と 50 ppb の代理標準でスパイクされています。

ジクロロメタンと酢酸エチルの両方で別々に作られたキャリブレーション標準試料。

新型 7890A GC は、旧型 6890N を上回る大幅な速度の利点を提供します。320 °Cから 40 °Cへの冷却時間は、7 分から 4.3 分に短縮されます。7890A GC の新しい後ろ側の位置に、MSD をオプションとして設置することができます。同じくバック注入口位置にPTV を設置することで、オーブンインサートまたは“ピロー”を使用して、冷却時間を 3.3 分にさらに短縮することができます。

PTV は、溶媒ベントモードで操作されました。図 1 には、オーブンプログラムと一緒に、PTV 温度および流量プログラムを示します。PTV は 20 °Cに保持され、注入期間中の 0.6 分間は、溶媒ジクロロメタンの沸点 (39.8 °C) 以下の温度に保持されます。溶媒は、流量 100 mL/min のヘリウムを用いて、0 psi に保持され、ベント配管からゆっくりと気化されます。注入期間の最後に、ベント配管は閉じられ、注入口圧力は 11.77 psi に引き上げられ、PTV は 350 °Cに素早く加熱されます。スプリットレス時間 1.3 分の最後にベント配管が再び開けられ、注入口は 50 mL/min でパージされます。分析中、PTV を冷却しても差し支えありません。

ベント配管が閉じられている間、PTV は流量に関して古典的なスプリットレスモードです。プログラムされた温度のため、化合物が気化され、できるだけ低い温度でカラムに転送されます。これにより、農薬や塩基性物質などの活性測定対象化合物の損失を大幅に減らすため、半揮発性物質メソッドでよく指定されます。

PTV 注入口ライナ (P/N 5183-2037) は、複数のバッフルが付いており、不活性化処理済みです。活性化合物の分解に寄与する恐れのあるガラスウールは含みません。このライナは、適切な注入速度で 25 µL の注入量を収容するのに十分な容量を持っています。

PTV パラメータに対するオーブンプログラムの関係は図 1 のとおりです。オーブンは 40 °Cで起動し、注入/溶媒ベントサイクルと測定対象成分のカラムへのスプリットレス転送中はその温度で保持されます。そして、オーブンは 110 °Cに、その後、化合物を分離するためにゆっくりとしたランプにプログラムします。240 V オーブンが使用されましたが、120 V オーブンも表 1 に記載のランプ速度を達成することができます。

HP-5MSi カラムは不活性のために設計されており、このメソッドにも最適です。これは、環境分析ラボで最も人気のあるカラム HP-5MS の最新版です。カラムは、ピーク形状と感度を維持するため、1.5 mL/min の定流量モードで使用されました。

システムは、12.700 分のフェナントレン -d10 に対して、リテンションタイムがロックされました。GC/MSD システムの RTL の基礎は、参考文献 [3] に記載されています。この分析での RTL の主な利点は、SIM グループに対して一定の切換時間を維持することです。カラムを切った後、移動したピーク時間を復元するには、ロック

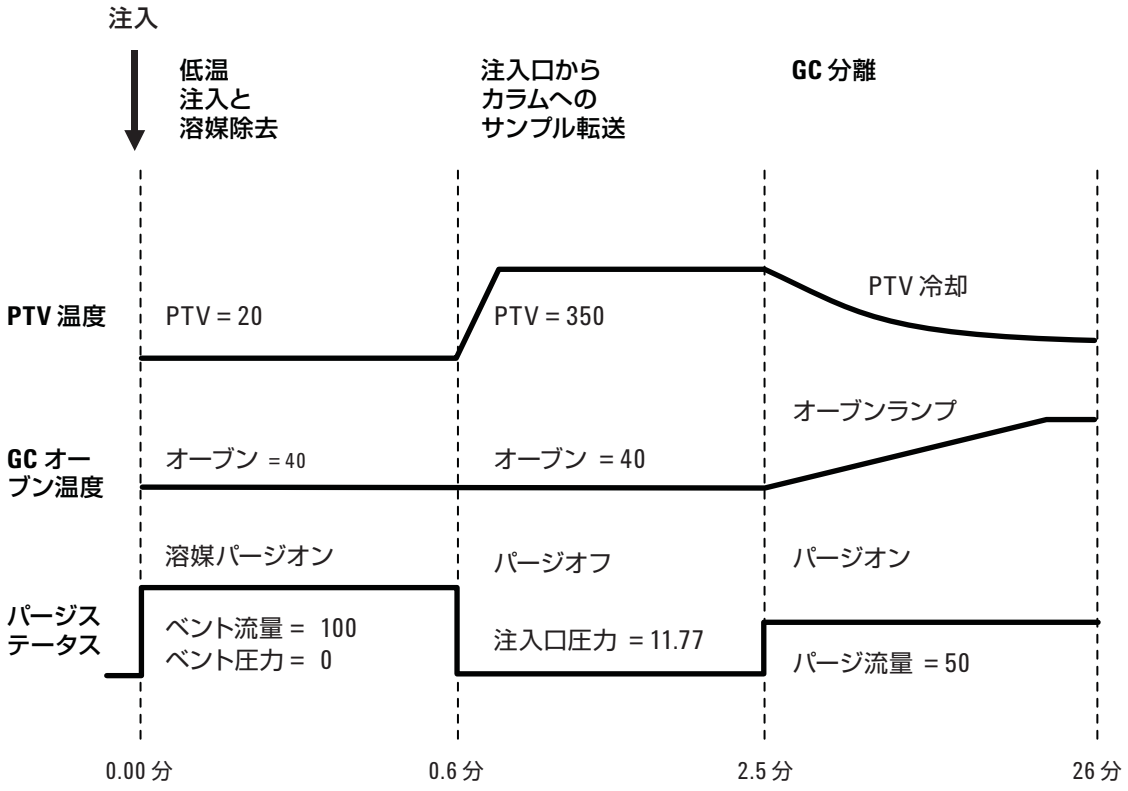


図 1.　PTV 温度と流量プログラム

している標準試料の再分析と解析で事足ります。定量データベースと積分イベント時間を変更する必要もありません。RTL の多数の利点を詳述した追加の RTL アプリケーションノートは、www.agilent.com/chem/jp で入手できます。生産的ラボで、RTL を行わずに、この多くの SIM グループにメソッドを使用するのはほぼ不可能です。

以前の論文では、標準の 3 mm レンズの代わりに、6 mm ドローアウトレンズを使用して、幅広いキャリブレーション範囲にわたる直線性の向上を示してきました [4]。このアプリケーションでは低いキャリブレーション範囲を使用しますが、直線性の向上はまだ有効です。6 mm レンズを使用した S/N 比の損失は、低濃度でも、直線性ゲインと比較して最小限でした。6 mm レンズは、Agilent キット (部品番号 G2860A) にも含まれます。

SIM データを使用してキャリブレーションを行っても、スキャンパラメータが記載されます。1 回の注入で、SIM とスキャンデータ両方を取り込む、SIM/Scan 同時取込モードですべての分析が行われました。5975Cの低ノイズ特性と組み合わせた、1 のサンプリングスピードを使用して、S/N 比を最適化しました。45 ～ 450 の質量範囲にこのサンプリングスピードを使用し、ピーク全域にわたり約 10 スキャン行いました。未知化合物が十分な量存在している場合、フルスキャンデータを使用して、ライブラリ検索ですべての未知化合物を同定することができました。フルスキャンデータが必要ではない場合、SIM/Scan をやめ、SIM データだけを収集することができます。これにより、ピーク全域にわたり約 2 倍のデータポイント数を示すことになります。

イオン、グループ、切換時間を選ぶために、定量データベースとの組み合わせで、AutoSIM セットアップが使用されました。AutoSIM の詳細は、参考文献 [5] に記載されています。2 点だけ変更して、AutoSIM の SIM 取込表を直接使用しました。テブチウロン (イオン 156) とトリシクラゾール (イオン 189) のピーク形状が悪いことは有名です。そのターゲットおよびクォリファイアイオンを、そのピークが溶出したグループ全域に手動で追加しました。すべての内部標準 (ISTD) と代理標準 (SS) に、1 つのターゲットイオンに加えて、1 つのクォリファイアイオンを使用しました。その他の測定対象成分がスペクトル中に十分なアバンダンスで存在する場合、1 つのターゲットイオンに加えて、2 つのクォリファイアイオンを使用しました。キャリブレーションのために、平均ピーク全域にわたり取り込まれた 10 ヶ所の SIM データポイントを使用しました。

イオン源温度は、通常 230 ～ 250 °Cの範囲の代わりに、300 °Cを使用しました。この高温を使用し、ピークテーリングを最小限に抑え、その結果 PAH に対する感度を引き上げ [6]、半揮発性物質に対する性能を向上させました [2]。

単一成分の測定対象化合物に対してのみ、ジクロロメタンでキャリブレーション標準を前処理しました。トクサフェンまたはアロクロールに対しては、標準試料は準備されませんでした。ジスルホトンスルホキシドとジスルホトンスルホンは、市販の混合物には含まれていませんでした。別セットのキャリブレーション標準を酢酸エチルで前処理しました。

結果と考察

ジクロロメタンの標準試料を用いて、0.1、1.0、10、100 ppb の 4 種類の濃度で、システムをキャリブレーションしました。問題があるとして有名なテブチウロンは、低濃度で十分なレスポンスを示さない唯一の測定対象成分でした。SIM/Scan モードでの、1.0 ppb 濃度の分析の SIM 全イオンクロマトグラム (TIC) は、図 2 のとおりです。各キャリブレーション濃度には、50 ppb の 108 種類の成分に加えて、3 種類の ISTD と 4 種類の SS が含まれました。中間のキャリブレーション濃度が一部のメソッドで指定されますが、ここでは、システム性能を実証するために必要ではありませんでした。

表 1 の PTV パラメータを使用して、最高の全体性能を達成しました。PTV 注入を成功させるには、注入速度、温度、ベント流量、ベント時間のバランスを保つことです。

150、100、50 µL/min の注入速度を試しました。RT に関係なく、注入速度を速くするほど、大部分の測定対象成分に対してアバンダンスが低下することが示されました。溶媒が気化する前に、サンプルはライナから通過し、ベント配管から一掃されます。

PTV の初期温度は、10、20、30、40 °Cでテストされました。温度が高くなるほど、揮発度が溶媒の揮発度に近い、早く溶出する成分を失いました。温度を下げるほど、早く溶出する成分は維持されますが、溶媒の排気を妨げます。

ベント流量は、50、100、200、300 mL/min でテストされました。流量またはベント時間のどちらかを増やすと、早く溶出する成分の回収率は下がる恐れがあります。流量またはベント時間を減らすと、カラム上に溶媒が過剰に存在するため、クロマトグラフが悪化する可能性があります。最小ベント時間を注入時間に一致させる必要があります。この場合、注入に 0.5 分 (50 µL/min で 25 µL) 要するため、0.6 分のベント時間を使用しました。

一部のメソッドでは、固相抽出法用の溶媒として、酢酸エチルが使用されます。酢酸エチルの標準試料を用いたキャリブレーションは、ジクロロメタンの標準試料より性能が悪いことが分かりました。酢酸エチルは固定相を均等に湿らせないため、PTV が溶媒の 100% を排除しなかった時に、ピークを変形させます。高沸点の酢酸エチルのために PTV パラメータを調整すると、早く溶出する

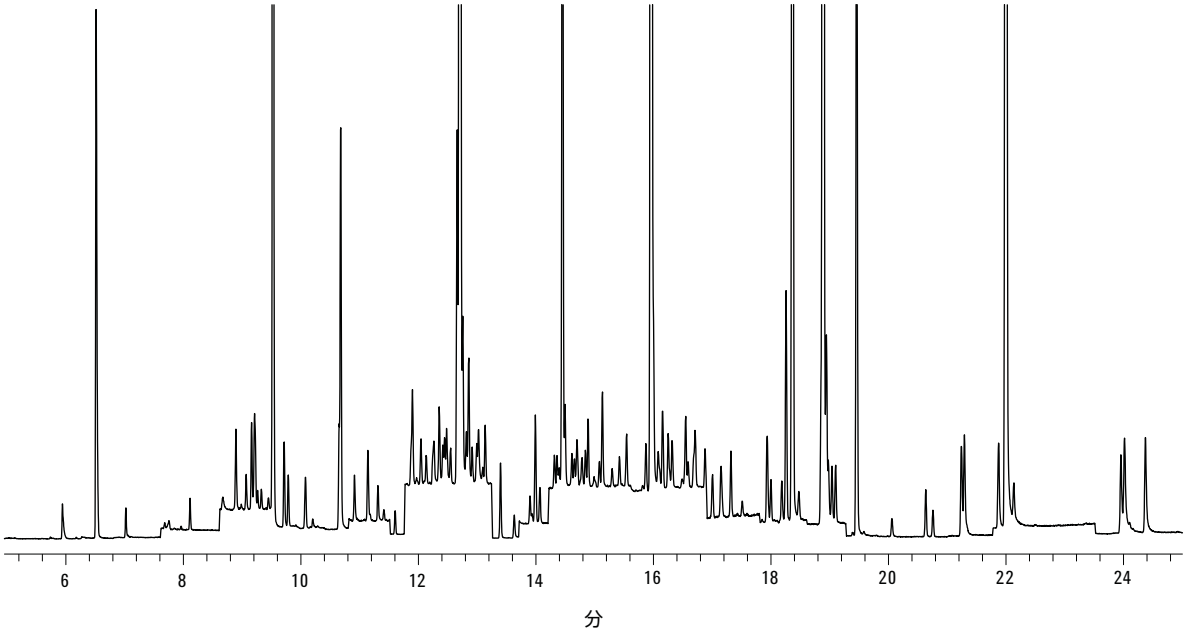


図 2.　SIM/Scan モードでの 1.0 ppb レベルの分析の SIM TIC

成分が無視できないほど失われます。原則として、定量回収率が必要な早く溶出する成分は、溶媒の沸点よりも少なくとも 100 °C高い溶出温度を持つ必要があります。酢酸エチルを上手く使用することができますが、最小限のキャリブレーションポイントが一部の測定対象成分に対して高くなることがあります。

キャリブレーション範囲全体にわたる各化合物に対する、相対レスポンスファクター (RRF) のパーセント相対標準偏差 (%RSD) によって、直線性を測定することができます。%RSD と RRF の計算は、GC/MSD ChemStation ソフトウェアで自動的に行われ、Excel 形式でレポートを作成することができます。%RSD はメソッドに依存するため、正しい %RSD というものはありません。例として、米国 EPA メソッド 525 は 30 %RSD 以上の基準を持ちますが、一部の化合物リスト専用です。選択した化合物に対する RRF の %RSD は、表 2 のとおりです。

一目見ただけで、ペンタクロロフェノール (PCP) や有機リン農薬 (OPP) などの一部の %RSD 値は高いように見えます。PCP は困難な化合物として有名で、一般的に、メソッド 525 のようにかなり高濃度で分析されます。OPP は非常に活性で、上手く分析するにはシステムの不活性さが重要です。このようなことと、幅広いキャリブレーション範囲から、ここで示したデータは優れています。システムの直線性の追加の全体的尺度として、この研究では、すべての %RSD の平均が SIM データに対して 12% でした。低濃度で検出されたフタル酸エステルは、

表 2.　選択した測定対象成分の S/N 比と直線性

化合物	RT	ターゲットイオン	S/N 100 ppt	%RSD
ジクロルボス	7.01	109	6.5	4
メビンホス	8.90	127	7.1	17
シマジン	12.24	201	4.8	6
アトラジン	12.35	200	20	6
ペンタクロロフェノール	12.48	266	22	24
クロルピリホス	14.78	197	2.7	12
2,2',3',4,6'- ペンタクロロビフェニル	15.55	326	12	9
フェナミホス	16.30	303	3.2	25
p,p'-DDT	18.00	235	13	9

一般的なラボの汚染によるため全数から除外されました。SS の %RSD は、2% ～ 4% に及び、良い再現性を示しました。

システムの不活性さのさらなる尺度として、p、p'-DDT の %RSD は 9% です。活性なシステムの分解生成物は、p,p'-DDD と p,p'-DDE です。これらの %RSD はそれぞれ 6% と 4% で、最小限の分解を示しました。p,p'-DDT とエンドリンの個別の混合物も、古典的な米国 EPA 基準を使用して、分解について分析されました。p,p'-DDT の分解割合は 1.2 で、エンドリンは 1.9 で、要求される 15% をはるかに下回りました。

S/N 比の値も表 2 に示しています。ピーク to ピークノイズは、分析者が確認し、作業する必要のある物なので、使用されました。低濃度でキャリブレーションと測定を行うことができるかもしれない、アトラジンと PCP の値は大幅に高くなります。クロルピリホスとフェナミホスは 5 未満の S/N 比を持ち、再現性のある積分ができる限界ですが、定量の下限付近です。PCP とクロルピリホスの抽出イオンは図 3 のとおりです。すべての場合において、測定対象成分は、100 ppt 濃度のキャリブレーションを成功させるために十分なS/N を示しました。

低いキャリブレーション濃度とメソッド検出下限により、表 3 のように、ラボはサンプル前処理を減らすことができました。その最初の列 (従来法) は、1 L の水が抽出され、1 mL に濃縮され、1 µL が注入されると仮定します、この手法で使用するメソッドは、スキャンモードで最低限 100 ppb (0.1 ppm) のキャリブレーション濃度を持ちます。本アプリケーションノートに記載のとおり、“7890A-5975C” の列は同じサンプル前処理を維持しますが、1,000 倍 (ppt レベル) に感度を引き上げます。“迅速な前処理” の列は、10 mL だけを抽出しても、従

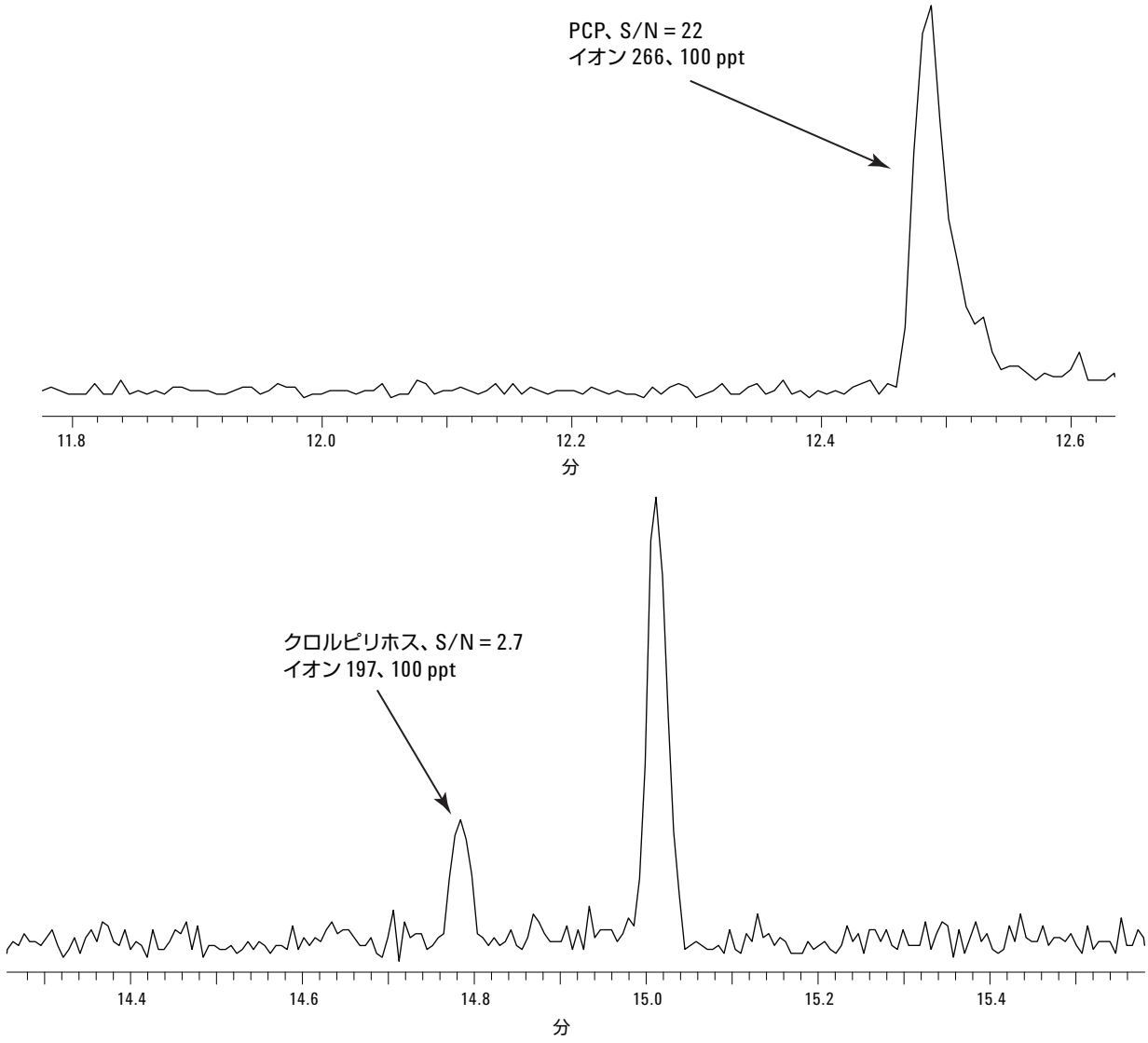


図 3.　PCP とクロルピリホスの抽出イオン

来法と比較して 10 倍メソッドの下限をまだ下回ります。10 mL のサンプル抽出は、1 L よりもかなり簡単で速くなります。抽出物の濃度を低くすることでも、良い回収率を実現できます。クイックスクリーン抽出は、一体型の先の尖った底の 2 mL バイアル (Agilent P/N 5182-3454) で直接行われます。ジクロロメタン抽出物は、オートサンプラシリンジでバイアルの底から吸引されます。様々なこれらの例を用いて、感度を最大限に引き上げ、サンプルの前処理時間を最小限に抑えることができます。

結論

従来の半揮発性物質メソッドを変更して、より良い検出下限を達成することができます。SIM と一緒に大容量注入 PTV により、100 ppt 濃度までのキャリブレーションが可能です。活性な測定対象成分でも、使用される幅広いキャリブレーション範囲に対して直線性が優れています。RTL を使用して、SIM グループ切換時間を維持することで、分析者の時間を節約します。7890A により、オーブン冷却を素早く行うことで、サイクルタイムを短縮します。メソッドキャリブレーション下限の低減および/またはサンプル前処理の削減による時間節約を選択することができます。

参考文献

1. U.S. EPA Method 525.2 is available from different sources listed on this Web site: www.epa.gov/OGWDW/methods/where.html
2. M. Szelewski, “Drinking Water Semivolatiles Analysis Using the 6890N/5975B Inert GC/MSD,” Agilent Technologies publication 5989-5421EN.
3. K. Weiner, N. Mata, and P. Wylie, “Retention Time Locking with the G1701BA MSD Productivity ChemStation,” Agilent Technologies publication 5968-3433E.
4. M. Szelewski, B. Wilson, and P. Perkins, “Improvements in the Agilent 6890/5973 GC/MSD System for Use with U.S. EPA Method 8270,” Agilent Technologies publication 5988-3072EN.
5. H. Prest and D. Peterson, “New Approaches to the Development of GC/MS Selected Ion Monitoring Acquisition and Quantitation Methods,” Agilent Technologies publication 5988-4188.
6. M. Szelewski, “Synchronous SIM/Scan Low-Level PAH Analysis Using the Agilent Technologies 6890/5975 Inert GC/MSD,” Agilent Technologies publication 5989-4184EN.

表 3.　サンプル前処理とキャリブレーション下限

	従来法	7890A-5975C	迅速前処理	クイックスクリーン
サンプル濃度、ppb	0.1	0.0001	0.01	0.02
最低限のキャリブレーション濃度、ppb	100	0.1	0.1	0.1
注入量、µL	1	25	25	25
抽出量、mL	1	1	1	0.25
サンプルサイズ、mL	1000	1000	10	1.25

www.agilent.com/chem/jp

詳細情報

弊社の製品およびサービスに関する詳細情報は、ホームページ www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

アジレントは、本資料に誤りが発見された場合、また、本資料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。また、本資料掲載の機器類は薬事法に基づく登録は行っておりません。

本資料に記載の情報、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、本資料の複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

© Agilent Technologies, Inc. 2007

Printed in Japan
April 13, 2007
5989-6589JAJP

Agilent Technologies