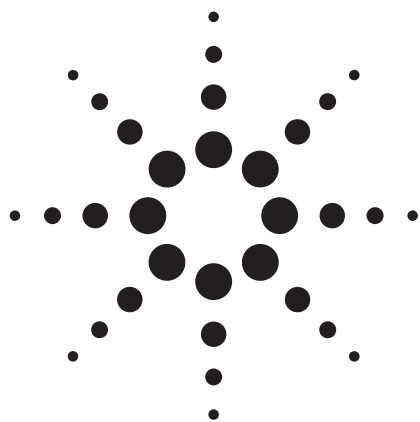




애질런트 멀티모드 주입구(MMI)로 쉽게 낮은 검출 한계 달성

응용 자료

모든 산업 분야

저자

Bill Wilson and Chin-Kai Meng
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA

개요

본 응용 자료는 멀티모드 주입구의 고온 비분할, 냉각 비분할 및 용매 배출 모드 등 세 가지 주입 기법을 논의합니다. 분석자는 냉각 비분할 및 용매 배출 모드의 대용량 주입(LVI)으로 낮은 검출 한계를 달성할 수 있습니다. 고온 비분할 2 μ L, 냉각 비분할 10 μ L 및 용매 배출 25 μ L에서의 농약 표준물질 40ppb의 총 이온 크로마토그램 오버레이는 LVI의 사용으로 신호 대 잡음 비율의 향상을 보여줍니다.



Agilent Technologies

서론

기존 분석 연구의 개선을 위해 대용량 주입(LVI) 기법을 연구하는 분석자가 증가하고 있습니다. 캐필러리 가스 크로마토그래피의 기존 액체 주입 기법은 대부분의 주입구 및 컬럼에서 한 번에 1~2 μ L만 처리할 수 있습니다. 주입량 증가 시도는 넓게 퍼지고 왜곡된 분석물질 피크, 크고 긴 용매 꼬리 흘림 및 포화 또는 손상된 검출기의 원인이 될 수 있습니다.

주입량 증가 목적은 일반적으로 극미량 분석에서의 검출 한계 향상에 있습니다. 더 많은 시료의 시스템 도입으로, 검출기에 도달하는 분석 물질의 질량은 비례적으로 증가하여 보다 큰 피크 면적 및 피크 높이를 얻게 됩니다. 베이스라인 노이즈가 일정한 경우, 피크 높이가 커질수록 신호 대 잡음 비율이 커지고 시스템 검출 한계는 낮아집니다. LVI의 또 다른 이점은 처음 처리되는 시료량을 줄일 수 있다는 것입니다. 주입구에 10~100배 많은 양의 처리 시료를 주입 및 농축하여, 10~100배 더 적은 시료량으로 시료 전처리를 시작하고 컬럼에 동일한 질량의 분석물질을 얻을 수 있습니다. LVI(용매 배출) 사용의 또 다른 장점은 실제 검출기 도달 용매의 감소입니다. 보통, 주입 용매의 10~30%만이 컬럼에 들어가 검출기에 도달합니다.

LVI는 몇 마이크로리터에서 최대 1mL 이상까지 주입량을 적용할 수 있습니다. 대부분의 LVI 접근법은, 분석물질의 분리 컬럼 전달 전 주입구 시스템에서 시료 용매는 기화 및 제거됩니다. 이와 같이, LVI는 용매의 질소 및 회전 증발과 유사하며, 홈 후드보다는 GC 주입기에서 수행되는 추가적인 이점이 있습니다. 질소 기화 동안, 손실할 수 있는 분석물질은 주입구에 남아 LVI로 성공적으로 분석할 수 있습니다. 또한, LVI 과정은 자동화할 수 있고 재현 가능합니다. 다른 증발 기법과 같이, LVI 접근법은 용매 유형, 주입구 온도, 기화 가스 배출 유속 및 분석물질 비점에 따릅니다. 또한, 기화 동안의 주입구 압력과 주입구 라이너는 용매 제거 속도 및 분석물질 회수율에 영향을 줍니다. 본 응용 자료는 이러한 파라미터를 논의합니다.

실험

MMI 운용 모드

애질런트 멀티모드 주입구(MMI)는 표준 분할/비분할 주입구와 동일한 라이너 및 소모품을 사용하여 기존 고온 분할 및 비분할 분석법과 호환됩니다. 운용 모드는 고온 분할/비분할(펄스 모드), 냉각 분할/비분할(펄스 모드), 용매 배출 및 직접 모드 등이 있습니다.

고온 비분할(1~3 μ L 주입 경우)

LVI를 고려하는 분석자 대부분은 고온 비분할 주입을 이용한 분석법을 사용합니다. 이 검증되고 신뢰할 수 있는 시료 도입 기법은 거의 40년 동안 사용되었습니다; 그러나, 시료 무결성에서와 분석법 개발자에게는 몇 가지 문제를 제시합니다. 우선, 주입구는 용매 및 분석물질을 순식간에 기화할 수 있도록 충분히 고온이어야 하며, 기화된 증기 구름을 컬럼으로 전달할 수 있어야 합니다. 주입구 라이너 부피는 이 증기 구름을 수용할 수 있도록 충분히 커야 합니다. 라이너 부피가 너무 작으면, 기화된 시료는 라이너에서 흘러나와 활성 표면과 접촉하여 분석물질을 손실할 수 있습니다. 또한, 기화 시료에 의한 압력 파장은 유입되는 운반 가스를 반대로 밀어내어 운반 가스가 고감도 압력 및 유속 시스템으로 들어갈 수 있습니다. 애질런트 압력/유속 계산기[1]를 사용하여 240°C, 14.5psig 주입구의 acetone 1 μ L 주입을 가스 288 μ L로 확장합니다. 표준 분할/비분할 주입구의 주입구 라이너 대부분은 공칭 부피 1mL를 가집니다. 이러한 조건에서는 주입 부피 3.5 μ L 증가로도 1mL의 증기 구름을 생성하며, 이는 주입구 라이너에서 쉽게 넘쳐 흐를 수 있습니다.

또한, 고온 비분할 주입은 열적으로 불안정하거나 불안정한 분석 물질에게는 주입 및 컬럼 전달이 어려운 환경입니다. 유기염소계 농약인 DDT 및 endrin과 같은 화합물의 분해 화합물 형성을 위해 주입구를 재조정할 수 있습니다. 이들 화합물의 분석은 일반적인 주입구 온도의 사용으로 그 처리 과정을 가속할 수 있습니다. 라이너의 효과적인 화학적 비활성으로 분석물질의 분해를 최소화할 수 있습니다. 그러나, 높은 주입구 온도는 비활성 라이너의 수명을 단축합니다.

고온 비분할 주입의 또 다른 문제는 니들 분취 또는 분석물질 차이 식별이 발생할 수 있다는 것입니다. 시료가 시린지에서 주입구로 전달될 때, 니들과 셉텀의 접촉으로 니들 온도는 증가합니다. 니들 온도 상승으로 용매가 "끓어서" 니들 안에 고비점 분석물질이 쌓일 수 있습니다. 이러한 분취 문제 방지를 위해, 일부 분석자는 먼저 실린지에 용매 플러그를 넣은 다음, 원하는 시료량을 빼냅니다(7693A 자동 시료 주입기 지원). 용매 플러그가 주입구의 모든 침전물을 씻어낼 것이라고 생각합니다. 이 문제를 해결하는 효과적인 방법은 고속 주입을 하는 것입니다. 이것은 니들과 셉텀 및 시료와 니들의 접촉 시간을 최소화합니다. 이러한 문제에도 불구하고, 고온 비분할 주입은 널리 사용되는 기법입니다. 냉각 비분할과 같은 대체 기법으로 이러한 우려를 해결하고 분석 결과를 개선할 수 있습니다.

냉각 비분할(1~10μL 주입 경우)

MMI의 다용도 온도 프로그래밍 기능으로 냉각 분할 및 비분할 분석을 수행할 수 있습니다. 냉각 비분할 모드에서 MMI는 시료 용매 비점 이하의 온도로 냉각되어, 시료 주입 시 기화 발생을 방지합니다. 주입은 단순히 시린지에서 주입구로 액체를 전달하는 것입니다. 시린지가 주입구에서 제거되면, 주입구는 가열되어 시료를 기화하고 컬럼으로 기화된 시료를 전달합니다. 용매는 먼저 기화 후 컬럼으로 이동하여, 일반 고온 비분할 주입에서와 같이 분석물질이 주입구에 포커싱할 수 있습니다. 그 후, 분석물질은 기화되고 컬럼으로 이동합니다. 주된 장점은 분석물질이 일정한 고온이 아닌, 가장 낮은 주입구 온도에서 기화한다는 것입니다. 이것은 열분해를 최소화하면서 동시에 광범위한 분석 물질을 기화할 수 있습니다. 또한, 냉각 비분할 운용은 고온 비분할에서와 같이 라이너에 열적 스트레스를 주지 않아 사용 가능한 수명을 연장합니다. 또한, 어떤 경우에 냉각 비분할은 주입 가능한 시료량을 늘릴 수 있습니다. 느린 주입구 온도 프로그램으로 용매는 천천히 기화하고 라이너 부피를 초과하지 않습니다. 분석물질을 컬럼에 다시 포커싱할 수 있는 한, 느린 주입구 온도 프로그램은 크로마토그래피에 나쁜 영향을 주지 않습니다.

용매 배출(5~1,000μL 주입 경우)

용매 배출 모드는 MMI로 5μL 이상 LVI를 수행할 수 있는 분석법입니다. 용매 배출 모드에서 주입구는 시료 주입 동안 낮은 초기 온도를 유지합니다. 기체역학적으로 분할 모드의 주입구는 낮은 주입구 압력을 갖습니다. 가스 흐름은 주입구 라이너를 통과하고 배출되어 기화 용매를 제거합니다. 유입되는 액체가 라이너 벽면에 쌓이고 비슷한 속도의 용매 기화를 위해 시료를 천천히 주입합니다. 모든 시료가 주입되면, 주입구는 분석물질 전달을 위해 비분할 모드로 전환됩니다. 그런 다음, 주입구는 가열되어 농축 시료를 기화하고 남은 용매와 증기를 컬럼으로 전달합니다. 충분한 시료 전달 시간이 지난 후, 주입구는 퍼지 모드로 전환되어 주입구 라이너에 남은 물질을 배출합니다. 시료 주입 및 용매 배출 시간 동안, GC 오븐은 컬럼에서 분석물질을 다시 포커싱하기 위한 적절한 온도를 유지합니다. 이 리포커싱(refocusing)이 완료되면, 오븐 프로그래밍으로 분리를 수행합니다.

LVI 분석법 개발

MMI의 LVI 분석법 개발을 위한 효과적인 방법은 먼저, 기존 분석법 실행으로 소량 주입에 대한 피크 면적을 확인하는 것입니다. 이 결과는 LVI 분석법 성능 평가에 있어 베이스라인 역할을 합니다. 다음 단계는 용매 배출 모드로 전환하여 약간 더 많은 주입량(예, 2~5배 많은 양)을 사용합니다. 결과 피크 면적을 비교하고 주입량 증가를 고려하여 분석물질 회수율을 계산하고 분석 조건을 더욱 최적화할 수 있습니다.

백플러시

후반 용리물 제거를 위한 일반적인 베이커아웃 단계는 복잡한 매질 시료의 경우, 긴 분석 시간만큼 매우 많은 시간이 소요될 수 있습니다. Capillary flow 장치(이 경우, purged ultimate union)는 백플러시[2, 3] 기능을 제공합니다. “백플러시”는 컬럼의 시료 성분이 컬럼의 주입구 쪽 끝으로 밀려 나가도록 컬럼을 통과하는 흐름을 역전하는 것을 말합니다. 마지막 관심 화합물의 용리 직후 컬럼 흐름을 역전하여 잔류성이 강한 성분의 긴 베이커아웃 시간을 제거할 수 있습니다. 따라서, 컬럼 블리딩 및 고스트 피크를 최소화하고, 컬럼 수명 연장 및 MS 이온화원 세척 빈도를 줄입니다. 분할 배출 트랩은 평소보다 더 자주 교체해야 할 수 있습니다.

기기 파라미터

GC	Agilent 7890A
MS	Agilent 5975C MSD
컬럼	HP-5MS UI, 15m×0.25mm×0.25μm (19091S-431UI), 주입구에서 purged union까지
MMI	일정 압력(~18psi), chlorpyrifos-methyl RT 8.297분에 고정, 백플러시를 위한 분석 후 실행, 2psi
MMI 라이너	Double taper deactivated, Helix(5188-5398)
셉텀 퍼지	3mL/분
Purged Union	4psi; 백플러시를 위한 분석 후 실행, 70psi
저항체	0.7m×0.15mm deactivated fused silica tubing (purged union에서 MSD까지)
시린지	10μL, 비분할 주입의 경우(5181-3354) 50μL, 용매 배출 모드의 경우(5183-0318)
ALS	Agilent 7693A
MS 파라미터	
용매 지연	2.5분
게인 계수	1
질량 범위	44~550
임계값	0
샘플링	2
튠 파일	atune.u

오븐

최초 온도	70°C
최초 유지 시간	1분
단계 1	50°C/분
온도 1	150°C
유지 시간	0분
단계 2	6°C/분
온도 2	200°C
유지 시간	0분
단계 3	16°C/분
온도 3	280°C
유지 시간	5분
총 분석 시간	20.933분
분석 후 실행	5분(백플러시 경우)
오븐 분석 후 실행 온도	280°C

시료: Acetone의 40ppb 농약 표준물질(화합물 목록 그림 5 참조)

멀티모드 주입구(MMI)

파라미터	고온 비분할	저온 비분할	용매 배출
최초 온도	280°C	30°C	35°C
최초 시간	–	0.01분	0.35분
단계 1	–	700°C/분	700°C/분
최종 온도	–	320°C	320°C
배출 유속	–	–	150mL/분
배출 압력	–	–	5psig
배출 시간	–	–	0.33분 (계산기, 그림 3)
퍼지 시간	0.75분	1.25분	1.5분
퍼지 유속	50mL/분	50mL/분	50mL/분
주입량	2μL	10μL	25μL
주입 속도	빠름	빠름	75μL/분 (계산기, 그림 3)
극저온	–	켜짐(액체 CO ₂)	켜짐(액체 CO ₂)
극저온 오류 감지	–	켜짐	켜짐
극저온 사용 온도	–	125°C	125°C
타임아웃 감지	–	켜짐(15분)	켜짐(15분)

용매 배출 주입 25μL의 파라미터는 ChemStation의 Solvent Elimination 계산기로 결정하였습니다. 이 계산기는 LVI 분석법에 대한 합리적인 시작 조건 결정을 지원하기 위해 설계되었습니다. MMI가 PTV 용매 배출 모드이면 그림 1과 같이, 주입구 화면에 버튼이 추가로 나타납니다.

Solvent Elimination 계산기의 첫 번째 화면(그림 2)에서, 시료 용매와 원하는 주입량을 선택하고 입력합니다. 계산기는 현재 설치된 시린지를 “알고” 한 번에 부피의 50%만 주입하도록 합니다. 더 많은 주입량을 계산기에 입력할 수 있지만, 주입량은 다운로드할 수 없습니다. 계산에는 또한 최초로 용리되는 분석물질의 비점이 필요하며, 이것으로 주입구 초기 온도를 선택할 수 있습니다. 비점을 알 수 없는 경우, 온도는 다양한 범위의 분석물질에 적용할 수 있는 150°C로 설정해야 합니다.

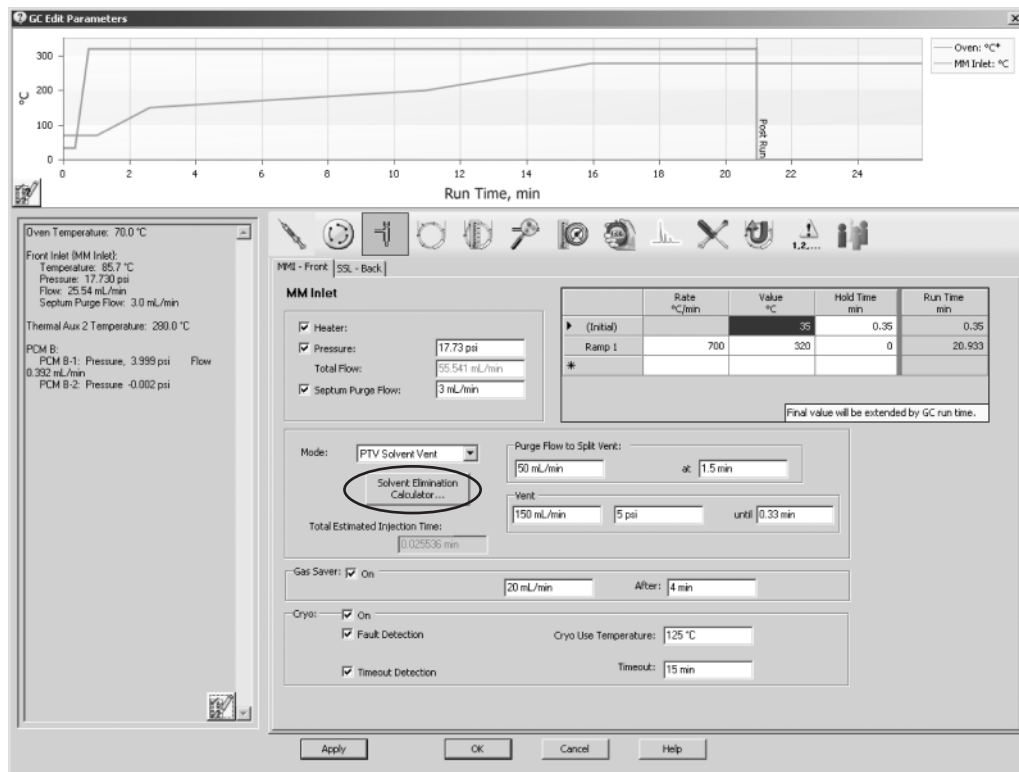


그림 1. 간편한 분석법 개발을 위한 ChemStation의 멀티모드 주입구 "Solvent Elimination 계산기"

Agilent
Solvent Elimination
Calculation Wizard

Welcome to the Solvent Elimination Calculator!

Please supply the following information.

If you don't know the first analyte boiling point, leave it at 150 °C.

Solvent:
acetone

Injection Volume (uL)
25 uL

Boiling Point of first eluting analyte (°C)
150 °C

LVI Method Help

Next

Cancel

Help

그림 2. 용매 선택을 선택하고 주입량을 입력하여 계산을 시작합니다.

그림 3은 계산 화면입니다. 계산기는 기본 이론에 따라, 용매 제거 속도를 결정하기 위해 최초 주입구 설정 조건을 사용합니다[4]. “제거 속도”는 LVI에 특징적인 기타 요인(예, 용매 기화에 의한 국소 냉각)을 고려하지 않으며, 일반적으로 실제 경험으로 결정한 것보다 빠릅니다. “제한된 주입 속도”는 이러한 요인을 고려하여 배출 시간이 끝날 때 라이너에 소량의 용매를 남기도록 설계되었습니다. 이 용매는 더 많은 휘발성 분석물질의 액체 “트랩” 역할을 하며 회수율을 높입니다. “제한된 배출 시간”은 주입량을 “제한된 주입 속도”로 나누어 결정합니다.

제거 속도 결정을 위한 몇 가지 변수는 창 아랫부분에서 사용자가 설정할 수 있습니다. 약간의 주입구 온도 변화에도 제거 속도에는 유의미한 영향을 줄 수 있습니다. 배출 유속은 선형(linear) 효과를 가져, 배출 유속이 2배 감소하면 제거 속도도 동일하게 감소합니다. 배출 압력이 감소하면 제거 속도는 증가합니다. 또한, 배출 압력은 배출 동안 컬럼에 도달하는 용매의 양에도 영향을 준다는 것을 염두해야 합니다. 배출 압력이 증가하면 분석물질 전달 전, 컬럼에 더 많은 용매가 로드됩니다. 마지막으로 용매의 종류 특히, 일반적인 비점은 제거 속도에 상당한 영향을 줍니다.

그림 3. 계산기는 선택한 주입구 온도 및 배출 유속에 따라 주입 속도와 배출 시간을 계산합니다.

그림 4의 다운로드 화면은 편집 파라미터 화면으로 다운로드되는 분석법 변경사항 모두입니다. 체크박스는 사용자가 이러한 파라미터 모두를 수락(확인) 또는 거부할 수 있게 합니다. 현재 분석법의 이러한 값을 변경하지 않을 경우(예, 머무름 시간 고정 분석법) 오븐 최초 온도 및 유지 시간을 자동 체크하지 않습니다.

Confirm Copy values to Method Editor.	
(Check parameters to change.)	
☒ Inlet temperature	35 °C
☒ Initial hold time	0.33 min
☒ First ramp rate	600 °C/min
☒ First temperature	325 °C
☒ First hold time	5 min
☒ Vent time	0.33 min
☒ Vent pressure	5 psi
☒ Vent flow rate	150 mL/min
☒ Purge time	2.83 min
☒ Purge flow rate	60 mL/min
☒ Injection rate	75 µL/min
☐ Oven initial temperature	50 °C
☐ Oven initial hold time	2.83 min

Buttons: LVI Method Help, Previous, Confirm and Copy, Cancel, Help

그림 4. 계산기가 제안한 값을 확인하고 ChemStation으로 다운로드합니다.

결과 및 토의

그림 5는 세 가지 주입 모드에서의 표준물질 용액 40ppb의 감응 비교입니다.

맨 아래, 총 이온 크로마토그램(TIC)은 일반적인 2 μ L 고온 비분할 주입입니다. 농약 40ppb의 일부는 거의 보이지 않습니다(컬럼에 각 80pg). 가운데, TIC는 냉각 비분할

주입 10 μ L입니다. MMI 시작 온도는 30°C였습니다.

이 TIC에서는 각 분석물질의 컬럼에서의 양은 400pg입니다. 마지막으로, 맨 위의 TIC는 MMI 시작 온도가 35°C인 용매 배출 주입 25 μ L입니다. 이 TIC에서는 서론에 언급한 바와 같이, 신호대 잡음비는 고온 비분할 주입(맨 아래 TIC)의 TIC 보다 상당히 좋았습니다. 주입량 25 μ L에서도 피크 모양 및 분리능을 유지합니다. 이것은 주입 동안, 용매는 대부분이 제거됨을 의미합니다.

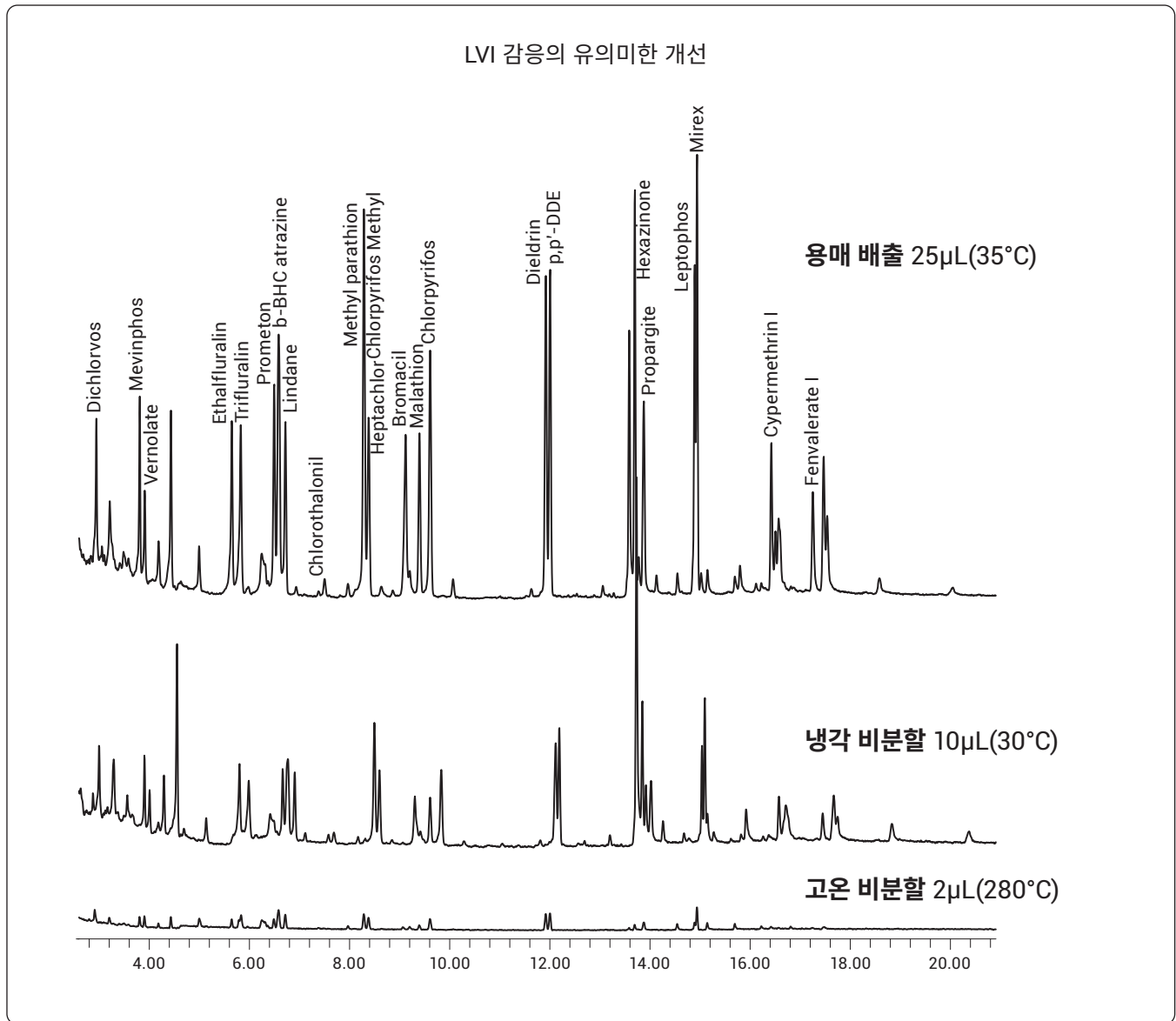


그림 5. 세 가지 주입 모드의 총 이온 크로마토그래피(TIC) 오버레이(같은 축적의 플롯)

결론

새로운 애질런트 멀티모드 주입구(MMI)는 기존 분할/비분할 주입구와 동일한 구성 요소와 동일한 소모품(예, 라이너, o-rings 및 셉타)을 사용하여 기존 고온 비분할 분석법을 복제할 수 있습니다. 또한, 온도 프로그래밍 기능은 검출 한계 개선을 위해 냉각 비분할 주입 및 대용량 주입(LVI) 분석법 모두를 지원합니다. 통합 Solvent Elimination 계산기는 간편한 LVI 분석법 개발을 위하여 완벽한 초기 조건을 제공합니다. 응용 분석 결과는 용매 배출 주입 25 μ L과 고온 비분할 주입 2 μ L을 비교한 유의미한 신호 대 잡음 개선 (낮은 검출 한계)을 보여줍니다.

참고 문헌

1. Agilent Pressure/Flow Calculator Included in the Instrument Utility DVD, available with each gas chromatograph and MMI accessory kit.
2. Chin-Kai Meng, "Improving Productivity and Extending Column Life with Backflush," Agilent Technologies publication, 5989-6018EN, December 2006.
3. Matthew Klee, "Simplified Backflush Using Agilent 6890 GC Post Run Command," Agilent Technologies publication, 5989-5111EN, June 2006.
4. J. Stanieski and J. Rijks, *Journal of Chromatography* 623 (1992) 105-113.

자세한 정보

애질런트 제품과 서비스에 대한 더 자세한 정보는 www.agilent.com/chem을 방문하십시오.

www.agilent.com/chem

애질런트는 이 문서에 포함된 오류나 이 문서의 제공, 이행 또는 사용과 관련하여 발생한 부수적인 또는 결과적인 손해에 대해 책임을 지지 않습니다.

이 발행물의 정보, 설명 및 사양은
사전 공지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc., 2009
한국에서 인쇄
2009년 6월 18일
5990-4169KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr



Agilent Technologies