7890A/5975A GC/MSシステムでの自動バックフラッシュの使用

バイオマーカーを使用した設定例

アプリケーション

炭化水素の解析

著者

Courtney Milner and Russell Kinghorn
BST International
41 Greenaway Street
Bulleen, VIC 3105
Australia

Matthew S. Klee
2850 Centerville Road
Agilent Technologies, Inc.
Wilmington, DE 19808
USA

概要

キャピラリガスクロマトグラフでのカラムバックフラッシュは、長い間あまり使用されてきませんでした。その主な理由は、自動的/ルーチンなラボで使用するには複雑であり、データシステムコントロールが必要とされていたためです。バックフラッシュの潜在能力は、高沸点で複雑なマトリクスを含んだ試料が一般的である環境、精製、および食品残留物のアプリケーションの領域で実証されてきました。このアプリケーションでは、原油のバイオマーカーのモニタリングの例において、7890A/5975A GC/MSシステムでのバックフラッシュの設定、使用、要領およびアドバイスについて示しています。

はじめに

最近まで、キャピラリカラムのバックフラッシュは、部品や数個のコントローラの集合体で扱いにくいものでした。手動圧力調整器、タイマー、スタンドアロンのバルブコントローラおよび実験で決定されたGC設定値など、バックフラッシュに関心を持つ分析者にとって、その複雑さは使用上の障害となってきました。特定のシステムでバックフラッシュが成功した例もなかったわけではありませんが、それをルーチンで使用することはまれでした。一方、6890 GCおよび6890/5973 GC MSDシステムでは、バックフラッシュの使用はかなり改良されました[1–6]。さらに、ソフトウェアにChemStationバージョンE.01.00を用いたAgilent 7890A/5975A GC/MSシステムでは、バックフラッシュは今までにないほど簡単になりました。GC/MSシステムではそれまで提供されていなかった方法で、すべてのバックフラッシュパラメータの完全な電子制御が可能になっています。同時に、フルイディックスデバイスの大きな進歩によって、ルーチンでキャピラリカラムバックフラッシュを使用するための機械的な部分が大きく改善されました。

キャピラリガスクロマトグラフィにおけるバックフラッシュの利点は数多くあります。

- 日/機器あたりのサンプル数が増えます。
- データの質が向上します。
- 運用コストが低下します。
- GCおよびMSDのメンテナンスの頻度が減り、メンテナンス時間が短縮されます。
- カラムの寿命が延びます。
- ケミカルノイズが少なくなります。

質量分析計（MS）を使用する場合の重要な利点は、キャピラリカラムから注入口へ排出する（通常は、スプリット/スプリットレスインレットまたはPTV経由）高沸点成分のバックフラッシュにより、これらがイオン源に蓄積されないことです。これにより、二次的なサンプルの検出下限が向上し（バックグラウンドが低減され）、イオン源クリーニングが必要になるまでに分析できるサンプル数が大幅に増えます。

これまでの多くの例で示されているように（参考文献を参照）、バックフラッシュテクノロジーは地球科学/石油石化など多くの分野で使用されています。広い沸点範囲の成分が含まれ、分析に時間がかかるが、対象の成分は1つまたは2つであるようなサンプルに有効です。原油におけるバイオマーカーの判別は、バックフラッシュがいくつかの大きな利点を提供できる例です。分析時間が大幅に短縮され、高沸点の重要度の低い成分はシステムから除去されて質量分析計に到達しないようになり、カラムがさらされる最終オーブン温度もはるかに低くなります。このアプリケーションでは、7890A/5875システムでのバックフラッシュを示し、新しい設定画面と、さらに容易になったバックフラッシュ条件の設定を示します。

実験手法

表1に、従来の原油のGC/MS分析で使用されていた分析条件を示します。この原油サンプルの沸点範囲は非常に広く（C_4 C_{50}）、ターゲット成分は分析時間74分のうち前半30分で溶出されています（「結果と考察」を参照）。

表1.　元の分析メソッド条件

カラム	HP5-MS 30m × 0.25µm × 0.25µm; 部品番号19091S-433
キャリアガス	ヘリウム、コンスタントフローモード; 1.2mL/min
スプリット/ スプリットレス インレット	340°C、スプリット比：30:1
オーブン	50°C（1分）→ 5°C/minで320°C、 20分間のホールド
分析時間	74分
サンプル	CS_2中の原油、1-µL注入
MSD	スキャン = 35 – 700u サンプル = 2^2 ソース = 300°C 四重極 = 150°C トランスファライン = 320°C

このアプリケーションでは、スプリッタ（パージ付き）3-way（部品番号G3183B）キャピラリ・フロー・テクノロジーデバイスの柔軟性を示します。このデバイスにはパージと4つの接続があります（図1）。ここでは2つのポートのみ使用し、一方はカラム出口（ポート3）に、もう一方はMSDのリストリクタ（ポート4）に使用しました。他の2つのポート（1と2）は、カラム接続ではなくソリッドワイヤにプラグ接続されていました。キャピラリ・フロー・テクノロジーデバイスは、軟質金属製フェラルを使用しているため、漏れのない信頼性の高い接続が可能です。これらの接続を行うときには注意が必要ですが、プロセスは非常に単純で、簡単に覚えることができます。さまざまなキャピラリ・フロー・テクノロジーデバイスのマニュアルに、明確な手順が記載されています。

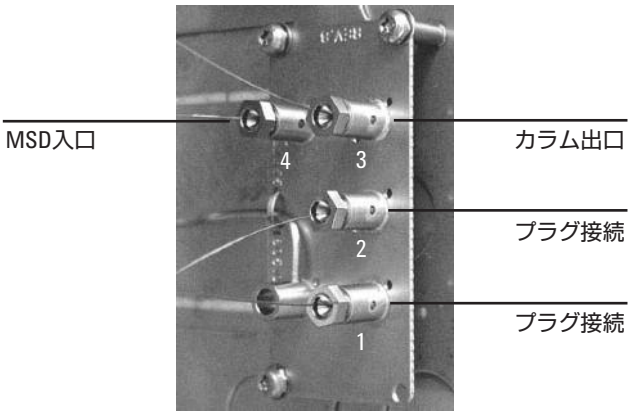


図1.　スプリッタ（パージ付き）3-way。カラム出口はポート3に接続され、MSDリストリクタはポート4に接続しています。ポート1と2はプラグ接続しています。

バックフラッシュアプリケーションのリストリクタの内径（ID）と長さを選択する前に、慎重な検討が必要です。検出器タイプ（大気圧と真空）、真空ポンプ容量（たとえば、拡散ポンプ、標準、および高性能ターボ分子ポンプ）、キャピラリフローデバイスの圧力および目的のスプリット比（複数の検出器にスプリットする場合）などのパラメータをすべて考慮する必要があります。このような検討事項については以前のアプリケーションで詳細に説明しました[1]。

5975A MSDを使用するこの例では、1m × 0.18mm idの不活性処理したリストリクタ（アジレント部品番号160-2615-1など）が、このアプリケーションに適合していました。

表2に、このバックフラッシュアプリケーションで使用した分析条件を示し、図2～7に、MSD ChemStationリビジョンE.01.00ソフトウェアを搭載した7890A/5975A GC/MSシステムのソフトウェア設定画面を示します。

表2. バックフラッシュ分析メソッド条件

カラム	HP5-MS 30m × 0.25µm × 0.25µm 部品番号19091S-433
キャリアガス	ヘリウム、コンスタントフローモード; 1.2mL/min
スプリット/ スプリットレス インレット	340°C、30:1のスプリット
オーブン	50°C (2分) →5°C/minで205°C、 ホールドなし
バックフラッシュ リストリクタ	1m × 0.18mmの不活性処理した キャピラリカラムチューブ
Aux 3圧力	1psi
バックフラッシュ 圧力	75psi
分析時間	205°Cで31分 + 5.47分ポストラン 合計時間 = 36.47分
サンプル	CS_2中の原油、1-µL注入
MSD	スキャン = 45 – 700µ サンプル = 2^2 ソース = 300°C 四重極 = 150°C トランスファライン = 320°C

必要な分析カラムとリストリクタを適切な注入口および出口で設定すると(図2～4)、ソフトウェアは分析カラムフローを維持する注入口圧力を自動的に計算します。[evaluate]ボタン(図5)を選択すると、定義したカラム“sweeps”または“void volumes”に必要なバックフラッシュ圧力を計算し、確認のために表示され、GCオーブンホールド時間と共に分析メソッドにアップロードされます(図6～8)。一般的なガイドとして、ほとんどのアプリケーションでは10という値のvoid volumesが効果的です。ある条件下(たとえば、バックフラッシュ前のオーブン昇温速度が高い場合)では、2という少ないボイド時間でもキャピラリカラムを効果的にバックフラッシュできます。ただし、一部のアプリケーションでは、すべてをバックフラッシュするために10以上のvoid volumesが必要な場合があるため、ユーザーがアプリケーションに適したバックフラッシュ時間を検証しなくてはなりません。バックフラッシュを使用したサンプル分析後のブランクラン(つまり、純粋な溶媒の分析)は、メソッドバリデーション中に、選択したバックフラッシュ条件によってすべての成分が分析カラムから効果的に除去されたことを確認するのに役立ちます。

このアプリケーションでは、75psiのバックフラッシュ圧力で、キャピラリカラムへは約6mL/min、高性能ターボ分子ポンプへは75 mL/minのバックフラッシュフローが実現しました。後で示す図で、これらのバックフラッシュ条件が効果的であったことを示します。

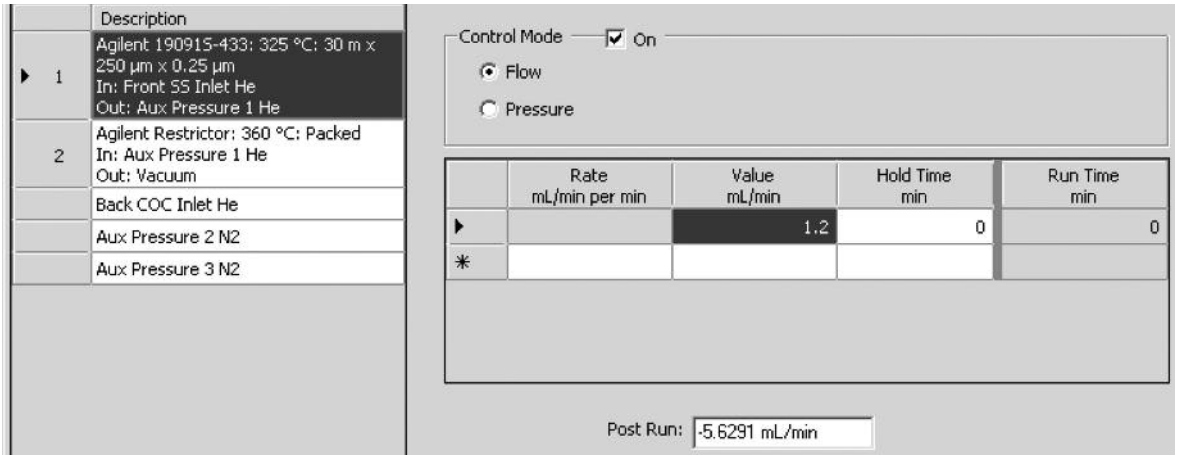


図2. 分析カラムのソフトウェア設定値

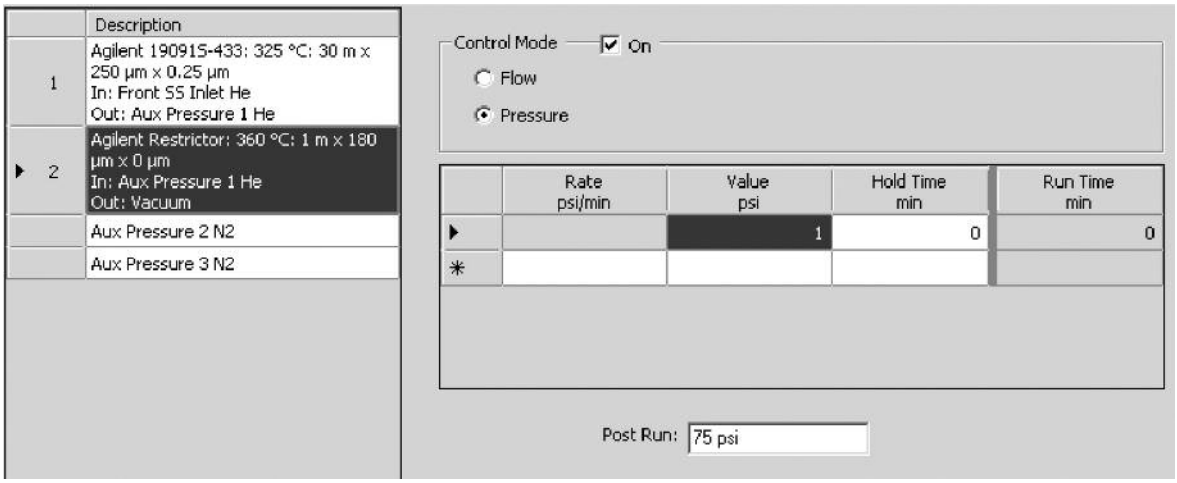


図3. MSDへのリストリクタのソフトウェア設定値

	Description
▶ 1	Agilent 19091S-433: 325 °C: 30 m x 250 µm x 0.25 µm In: Front SS Inlet He Out: Aux Pressure 1 He
2	Agilent Restrictor: 360 °C: 1 m x 180 µm x 0 µm In: Aux Pressure 1 He Out: Vacuum

図4.　カラム注入口および出口の条件

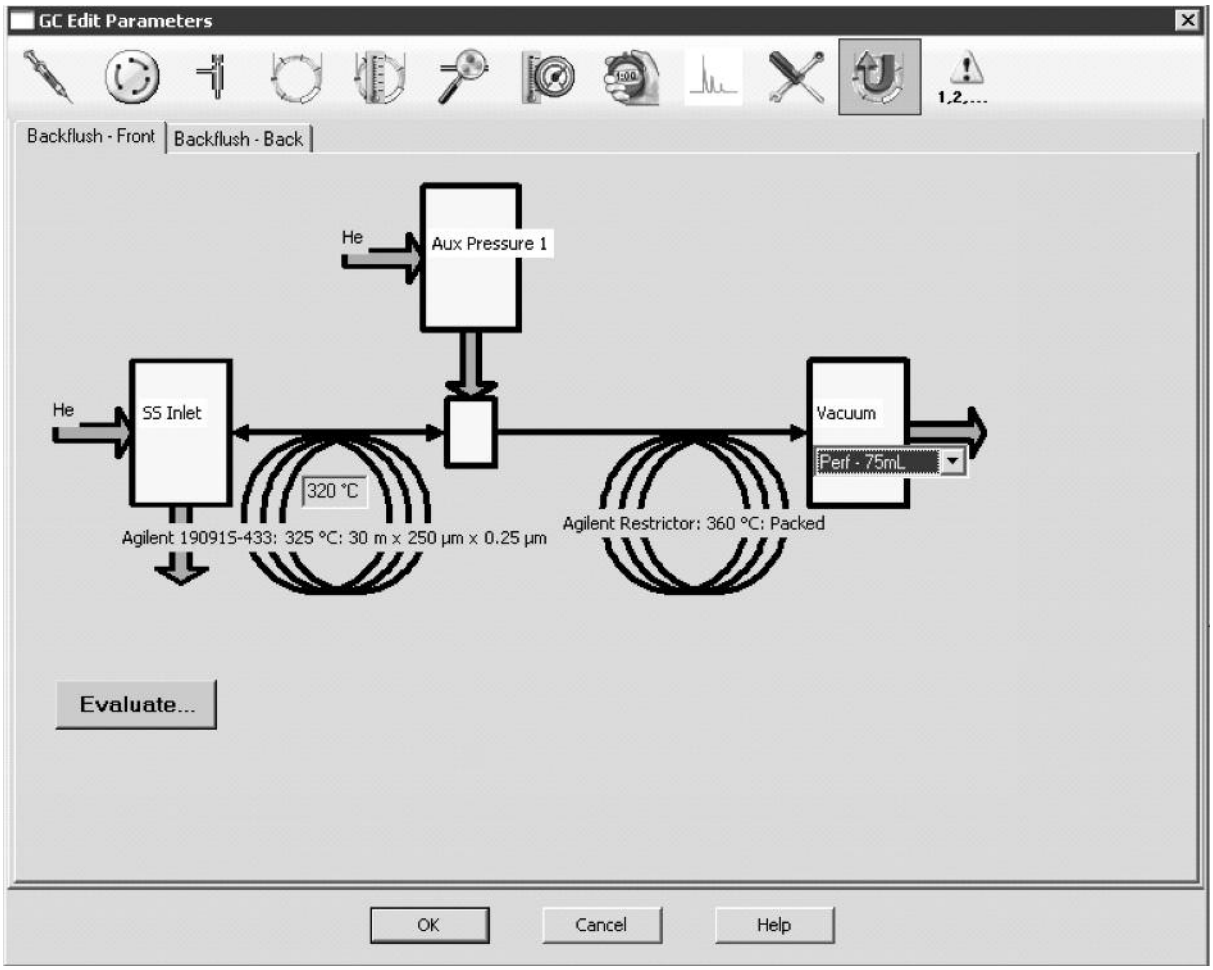


図5.　ケミステーションのバックフラッシュ条件のインタラクティブ設定

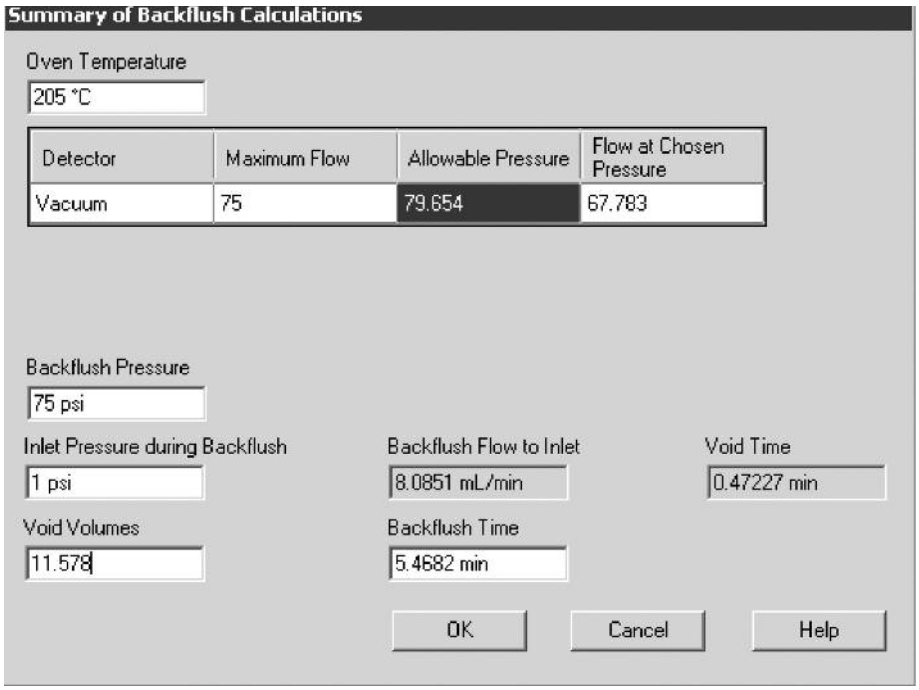


図6.　メソッド設定値にアップロードされた条件

結果と考察

図9に示すプロファイルは、幅広い沸点範囲の混合物で多数の未分離成分を含んだ原油の典型的なクロマトグラムです。もう1つの特徴として、対象成分の溶出した後に高沸点成分によりテーリングしています。図10に、3つの対象成分を示します。これらは、m/z 198の抽出イオンクロマトグラム（EIC）で3本のメチルベンゾチオフェンピークが検出されています。

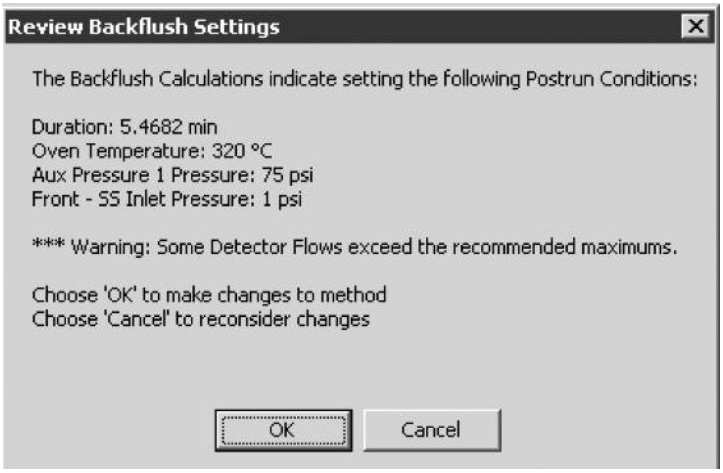


図7.　メソッド設定値にアップロードされた条件

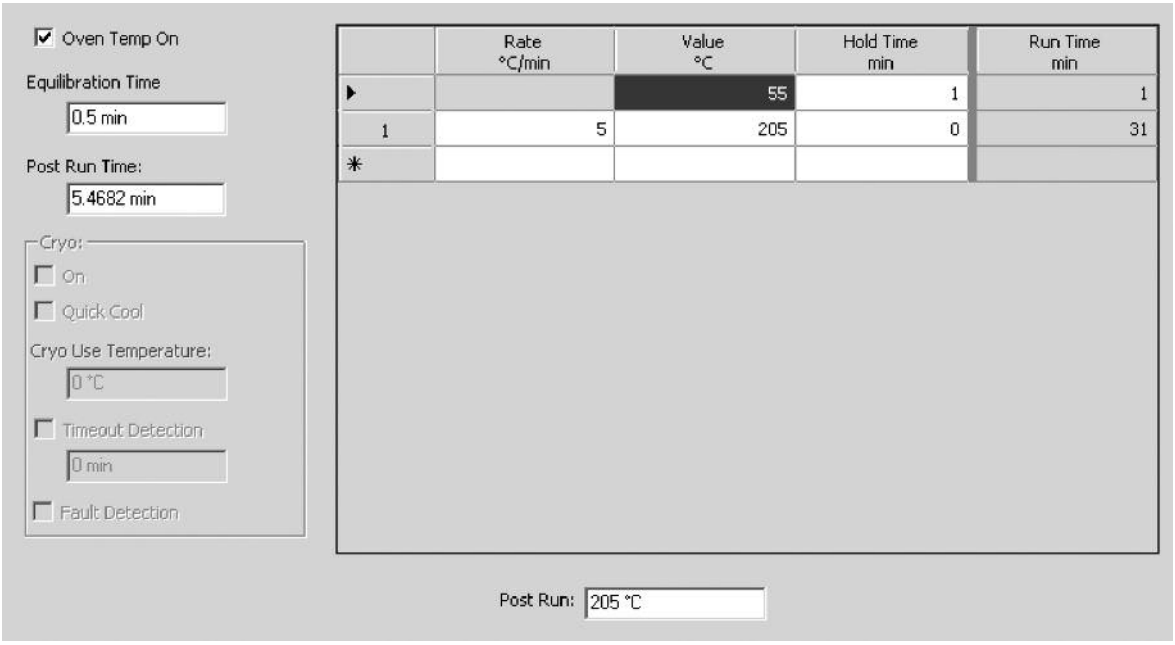


図8.　自動的に更新されるポストラン時間

図11は、ベンゾチオフェンが溶出された直後にバックフラッシュした分析のクロマトグラムです。バックフラッシュの効率を検証するために、バックフラッシュ分析直後に純粋な溶媒でブランクランが実行されました。図12から、このブランクランからバックフラッシュした後に、高沸点の残渣成分がキャピラリカラムに残っていないことがわかります。また、

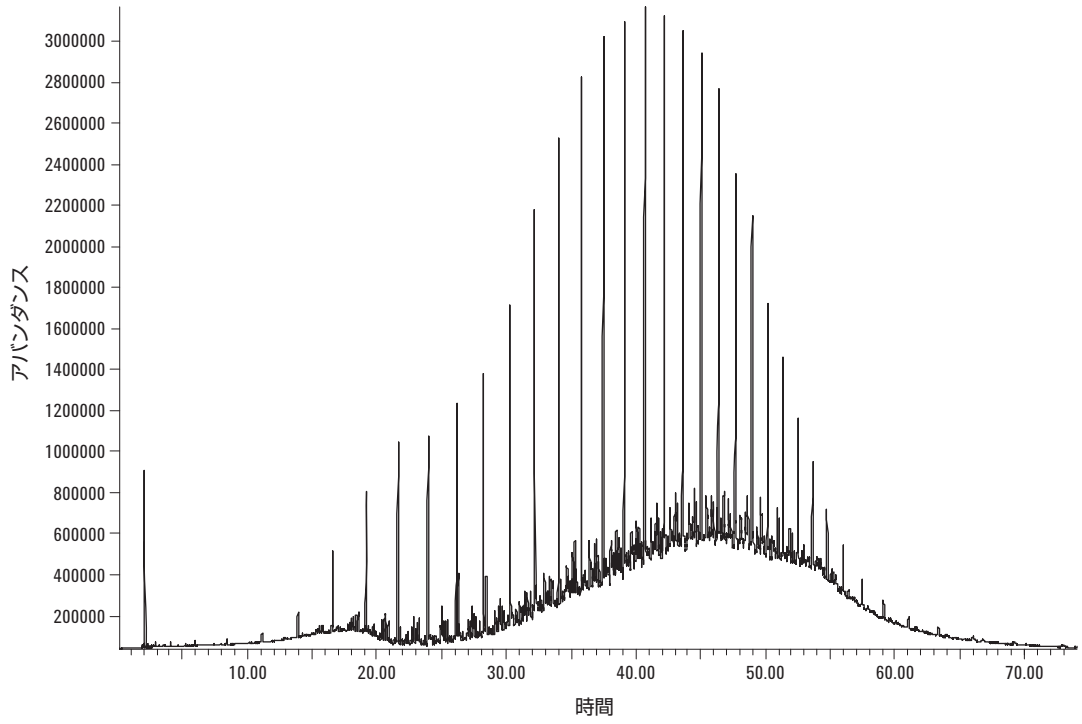


図9.　通常の分析のトータルイオンクロマトグラム（TIC）。対象（ベンゾチオフェン）のピークは、高濃度の炭化水素によって隠れています。

m/z 198の残渣バイオマーカーもありません。31分後に溶出するすべての物質（カラムに導入されたサンプルの50%以上）は、効果的にバックフラッシュされました。

図13は、通常の分析とバックフラッシュ分析の両方におけるEIC（*m/z* = 198）です。この図からバックフラッシュで失われた物質はなく、リテンションタイムも同じであることがわかります。

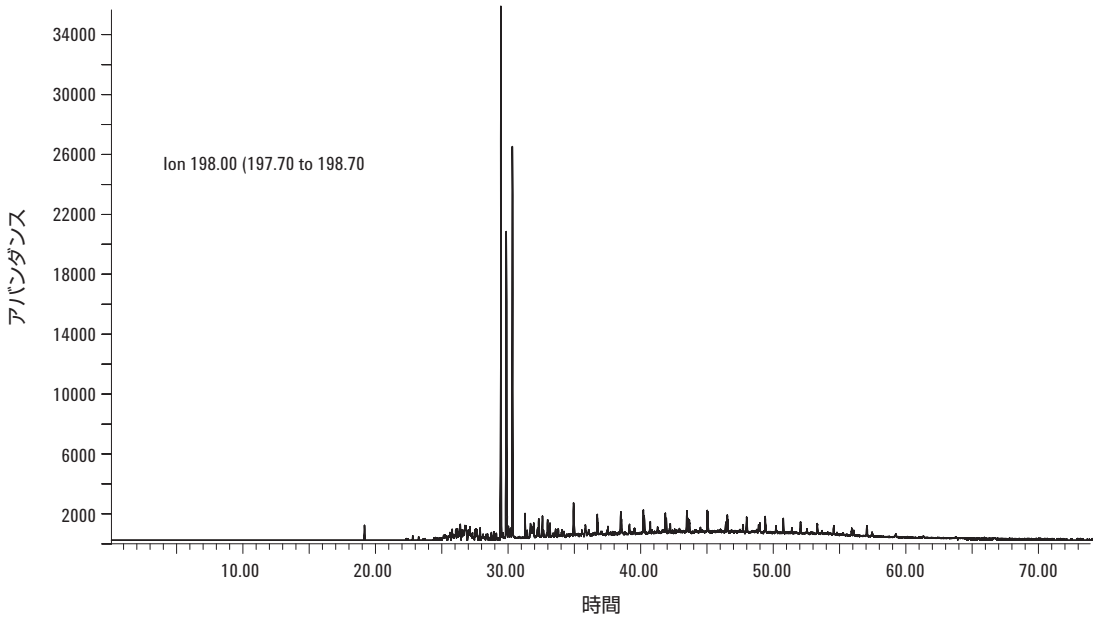


図10.　m/z198イオンのEIC。約30分で対象物の3つのメチルベンゾチオフェンのピークが簡単に判別できます。

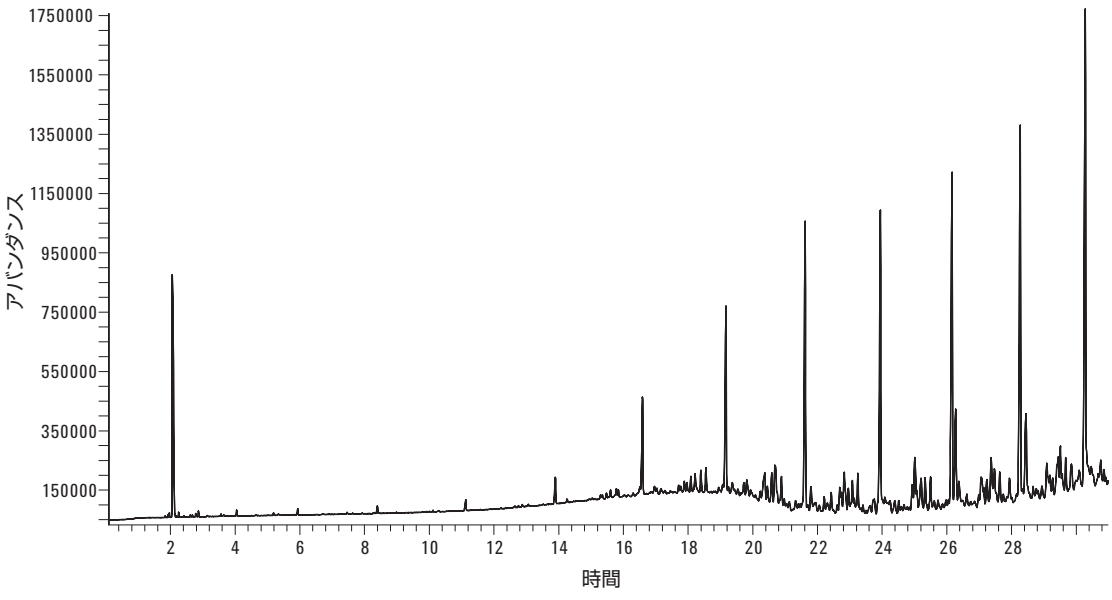


図11.　バックフラッシュ分析のTIC ; 分析は31分でバックフラッシュモードに切り替えられています。

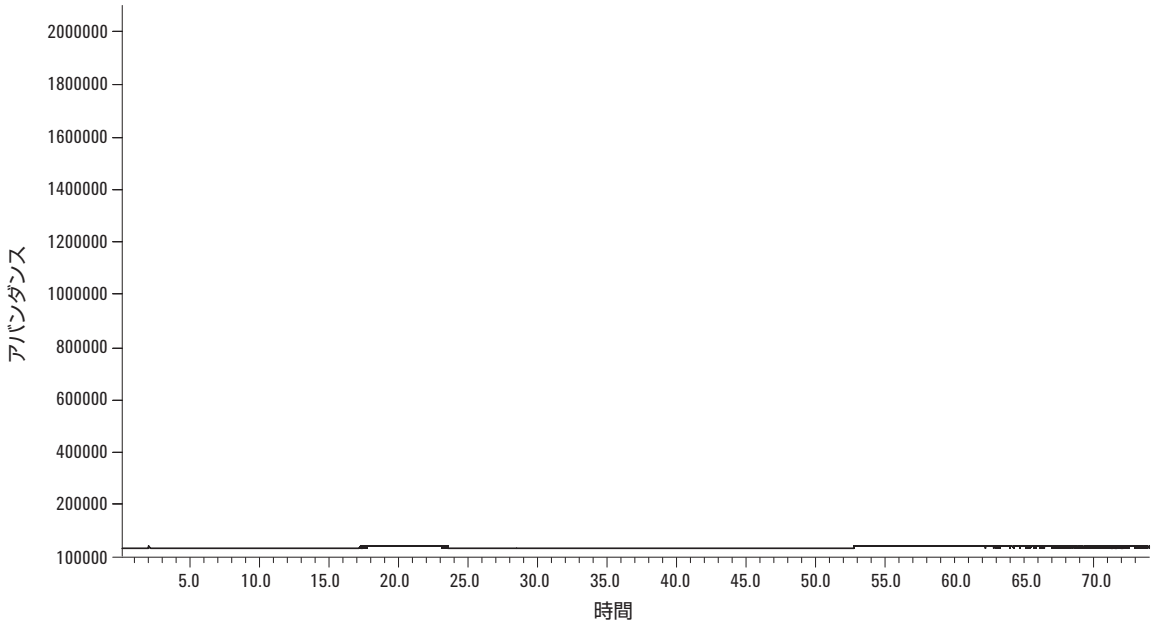


図12.　バックフラッシュ後のブランクラン分析のTIC

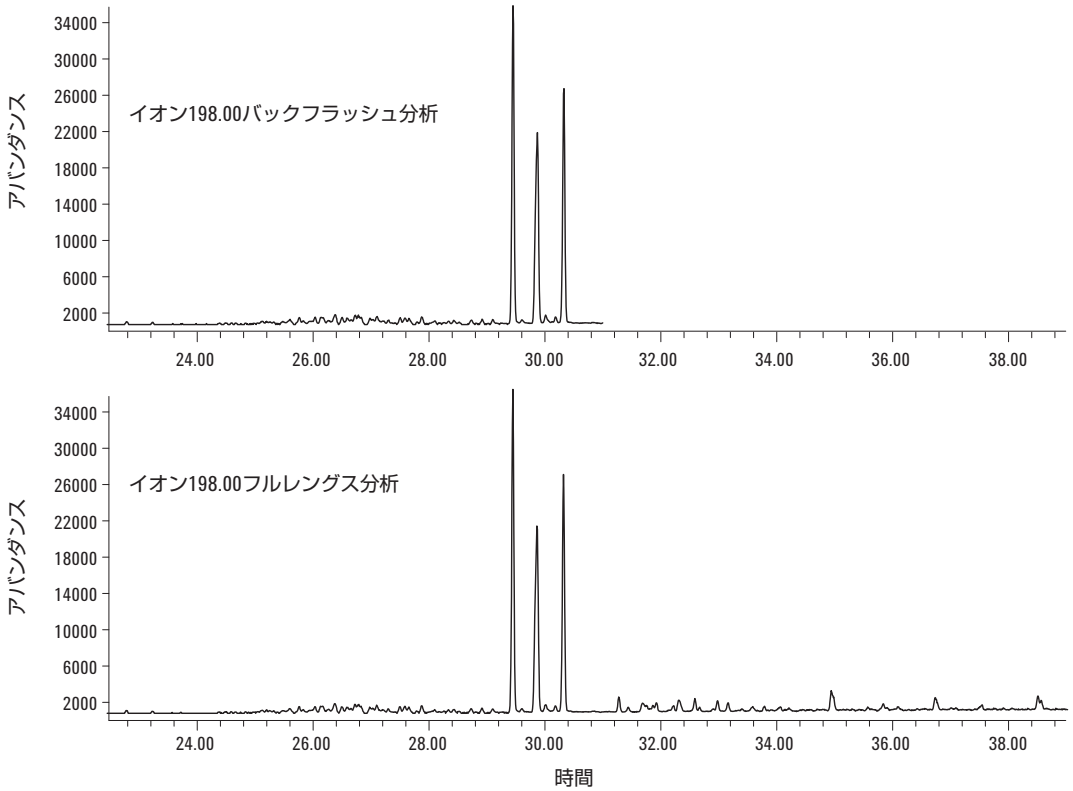


図13.　通常の分析とバックフラッシュ分析のm/z198のEIC。3つのメチルベンゾチオフェンのピークが正確に一致しています。

結論

このアプリケーションでは、ソフトウェアにEA 01.00 MSD ChemStationを用いた7890A/5975A GC/MSシステムがバックフラッシュを簡単に設定・実行できることを実証しました。この例では、合計37.5分の分析時間が節約され、事実上、元の分析時間の半分になり、一方で分析カラムでサンプルキャリーオーバーが発生しないことが確認されました。バックフラッシュ後の確認ブランクランによって、バックフラッシュの効果が確認され、残ったサンプル成分がすべて除去されたことを確認しています。

参考文献

1. Russell Kinghorn、Courtney Milner、Matthew S. Klee、「Agilent 6890 GCポストランコマンドを使用したシンプルなバックフラッシュ（Simplified Backflush Using Agilent 6890 GC）」、資料番号5989-5111JAJP
2. Chin Kai Meng、「バックフラッシュによる生産性の向上とカラム寿命の延長(Improving Productivity and Extending Column Life with Backflush）」、資料番号5989-6018JAJP
3. Frank David、Matthew Klee「GC/MS Analysis of PCBs in Waste Oil Using the Back-flush Capability of the Agilent QuickSwap Accessory」
Agilent Technologies Literature、5989-7601EN
4. Frank David、Matthew Klee「7890A GCおよびキャピラリカラムバックフラッシュを使用した化粧品中香料アレルゲンの分析（Analysis of Suspected Flavor and Fragrance Allergens in Cosmetics Using the 7890A GC and Capillary Column Backflush）」、資料番号5989-6460JAJP
5. James McCurry、「Enhancements in the Operation and Precision of an ASTM D4815 Analyzer for the Determination of Oxygenates in Gasoline」、Agilent Technologies Literature、5988-4475EN
6. Mike Szelewski「Agilent 7890A/5975C GC/MSDを使用したEPAメソッド8270分析のサイクルタイムの短縮（Significant Cycle Time Reduction Using the Agilent 7890A/5975A GC/MSD for EPA Method 8270）」、資料番号5989-6026JAJP

詳細情報

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト 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. 2008
Printed in Japan July 11, 2008 5989-8588JAJP



Agilent Technologies