

GC キャピラリーカラムの溶媒洗浄効果

山本敬男 小泉美樹 小林浩

The Solvent Washing Effect on the GC Capillary Column

Takao YAMAMOTO, Miki KOIZUMI and Hiroshi KOBAYASHI

キーワード：キャピラリーカラム、溶媒洗浄

GC キャピラリーカラムは、1970 年代後半に実用化された¹⁾。それまでガスクロマトグラフィー（以降 GC）で用いられてきたバックドカラムと異なり、溶融シリカチューブの内面に液相を塗布または化学結合し、チューブ外面をポリイミド樹脂でコーティングした構造となっており、分離が良く、シャープなピークが得られるとともに、高い耐久性を有している。このため、現在実施している多成分一斉分析には必要不可欠なカラムである。

当所では、残留農薬の多成分一斉分析を行っているが、GC で分析する項目は 200 項目以上ある。GC/MS/MS の選択性とキャピラリーカラムの高い分離能によって測定が可能となっている。しかし、食品中の残留農薬分析はクリーンアップ処理を含めた前処理を行っても試料溶液中に夾雑物が入ることは避けられず、多数の検体の分析により、試料溶液中の揮発しにくい夾雑物が GC の注入口やカラム内に残留し、目的物質を吸着することによりピークのテーリングや感度低下などを引き起こし、分析精度に悪影響を及ぼす。

これまでは、前述のような状態になった場合は、注入口の清掃、カラム先端の切除等のメンテナンスを実施してきた。しかし、一度ピーク形状が悪化した項目は、これらのメンテナンスを実施してもピーク形状や分離能の完全な回復は得られず、2~3 ヶ月に一度新しいカラムに交換する必要があった。このことは、分析コストを押し上げる要因となっていた。

そこで、キャピラリーカラム洗浄キットを用いてカラム内にたまった夾雑物を洗い流し、カラムの性能を回復してカラムの交換頻度を下げることが出来れば経費節減の一助となるのではないかと考え、洗浄に用いる溶媒、洗浄回数などの諸条件について検討したので報告する。

方 法

1 分析に供した試料

分析に供した試料は、通常の残留農薬試験用試料、妥当

性評価のための繰り返し試験用試料を用いた。これらの試料は、残留農薬試験用に収去された野菜・果実類を告示法に準じて前処理²⁾したものである。

2 分析条件

(1) 使用した装置及び分析カラム

GC/MS/MS のガスクロマトグラフはアジレント社製 6890N を、質量分析装置はウォータース社製の Quattro MicroTM GC を使用した。

カラム洗浄キットは、アジレント社製キャピラリーカラム洗浄キット（部品番号 430-3000）を使用した。

分析カラムはジーエルサイエンス社 InertCap5MS/Sil ProG2M（長さ 30+2m×内径 0.25mm，膜厚 0.25 μ m）を使用した。

(2) GC/MS/MS 条件

カラム昇温条件

50°C (1min) → 15°C/min → 125°C (0min) → 5°C/min → 300°C (9min) → 30°C/min → 310°C (5min)

注入口温度：280°C

カラムインターフェース温度：290°C

イオン源温度：300°C

注入方法：スプリットレス

キャリアガス：ヘリウム (1mL/min)

試料注入量：1 μ L

スキャンタイプ：MRM

3 カラムの洗浄方法

(1) 溶媒等

洗浄溶媒は、メタノール、アセトン、アセトン/ヘキサン=1:1、ヘキサン、トルエンの組み合わせを検討した。

メタノールは和光純薬製 LC/MS 用、アセトン、ヘキサン、トルエンは関東化学製残留農薬試験用 5000 倍濃縮を使用した。

(2) 洗浄方法

図 1 に示したように、カラムの検出器側を洗浄キットに接続し、注入口側には廃液受けのビーカーを置いた。

キット中のバイアルに溶媒を約 10ml 入れ、高純度窒素ガスで 2.5 kg/cm^2 に加圧した。溶媒を流しきる前に次の溶媒に交換し、すべての溶媒を流した後、10 分ほど窒素ガスを流しカラム内を乾燥した。

洗浄が終わったカラムを再び使用する際は、注入口側を 10cm 程度切除した後、装置に注入口側のみ取り付け、キャリアガスをしばらく流したあと、 35°C (1min) $\rightarrow 3^\circ\text{C/min} \rightarrow 310^\circ\text{C}$ (10min) の条件で昇温しカラムのコンディショニングを行った。その後、検出器側を装置に取り付けて分析に供した。

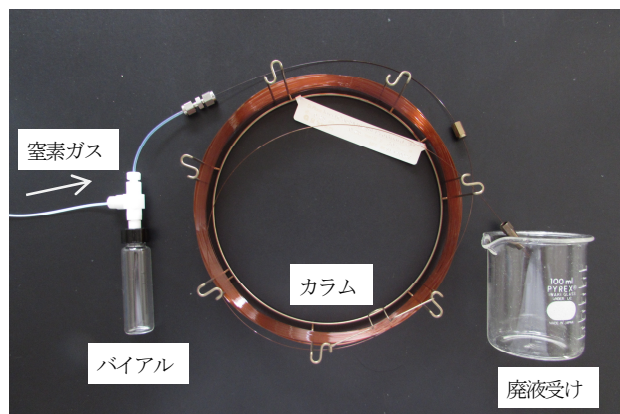


図1 カラム洗浄キットとカラムの接続

結果と考察

1 洗浄に用いる溶媒と洗浄効果

(1) 溶媒の組み合わせ

カラム洗浄キットの取扱説明書によれば、溶媒による洗浄が行えるのは、液相が化学結合かつ架橋された固定相のカラムに限られる。これ以外のカラムに溶媒を流すと液相が洗い流されてしまい、カラムが回復不能のダメージを受けるので注意が必要である。

カラムに流す溶媒は、高極性のものから流し順次極性を下げていくこととあり、例として、メタノール $\rightarrow$ ジクロロメタン $\rightarrow$ ヘキサンの組み合わせが挙げられていた。しかし、ジクロロメタンは環境汚染物質であり可能な限り使用を控える方向であること、また、試料の抽出に用いた溶媒を使用した方が良い結果が得られる等の記載があったため、メタノール $\rightarrow$ アセトン $\rightarrow$ アセトン:ヘキサン=1:1 $\rightarrow$ ヘキサン $\rightarrow$ トルエンの組み合わせで検討した。

キャピラリーカラム洗浄キットは、溶媒の入ったバイアルを窒素ガスで加圧して溶媒を押し出し、カラム内を通す構造になっている。そのため、カラムと洗浄キットとの接続にはグラフィートフェラル等を用いて、気密が保たれるようにしなければならない。また、検討した溶

媒の中ではメタノールの粘度が他の溶媒よりも高い³⁾ため、メタノールの流速は他の溶媒よりも遅くなった。

(2) 指標とした物質と洗浄効果

分析している 222 項目すべての物質がカラム汚染の影響を受けるわけではないため、汚染の影響を受けやすかった、オメトエート、ジクロラン、フルジオキシニル、トリシクラゾール、アセタミプリド、ジフェノコナゾール、イミベンコナゾールを指標とした。また、高濃度ではカラム汚染の影響がわかりにくいいため、濃度 10ppb の標準溶液のピークを指標として洗浄効果を確認した。図 2 に、カラムが新品時のピークと、通常のルーチン分析に使用して約 300 件体（標準液も含む）を分析後のカラムによるピーク、及び、このカラムにメタノール $\rightarrow$ アセトン $\rightarrow$ アセトン/ヘキサン=1:1 $\rightarrow$ ヘキサン $\rightarrow$ トルエンの順で溶媒を流し洗浄後のピークを示した。オメトエート、ジクロラン、フルジオキシニル、ジフェノコナゾールは、カラムが汚れるとピーク形状が非常に悪化し、自動波形処理ではピークとして認識しなくなった。トリシクラゾール、アセタミプリド、イミベンコナゾールは、濃度 10ppb ではピークが検出できなくなった。指標とした物質以外にも、ピークが太くなったりテーリングが生じるなど、カラムの汚れによる影響を受けてピーク形状が乱れるものが複数認められた。

カラム洗浄後は、オメトエート、フルジオキシニル、ジフェノコナゾール、イミベンコナゾールについては、ほぼ新品時のピーク形状に回復した。ジクロランについても、多少のテーリングは認められるものの、洗浄前と比較すると劇的にピーク形状が改善した。洗浄前はピークが認められなくなったトリシクラゾールとアセタミプリドについても、ピークとして確実に確認できるまでに回復した。この結果から、カラムの溶媒洗浄は、カラムの性能の回復に大きな効果があることが確認できた。

2 洗浄回数による影響

溶媒洗浄を行ったカラムを再び通常のルーチン分析に使用し、約 200~250 検体分析後に再び溶媒洗浄を行い、洗浄後に標準品を測定した。2 回目の洗浄後から 4 回目の洗浄後のピークを図 3 に示した。オメトエート、ジフェノコナゾールは、4 回洗浄後も新品時とほぼ変わらないピークが得られた。イミベンコナゾールは、3 回洗浄までは新品時とほぼ変わらないピークが得られたが、4 回洗浄後は弱いテーリングが生じ、ピーク形状の乱れを認めた。フルジオキシニルは洗浄回数が進むにつれ、若干ピークのシャープさが失われ弱くテーリングするようになった。4 回洗浄後はテーリングが強くなり、ピーク形状の乱れが大きくなった。ジクロランもフルジオキシニルと同様に、洗浄回数が進むにつれて、ピークがテーリングするようになった。しかし、カラムを洗浄するこ

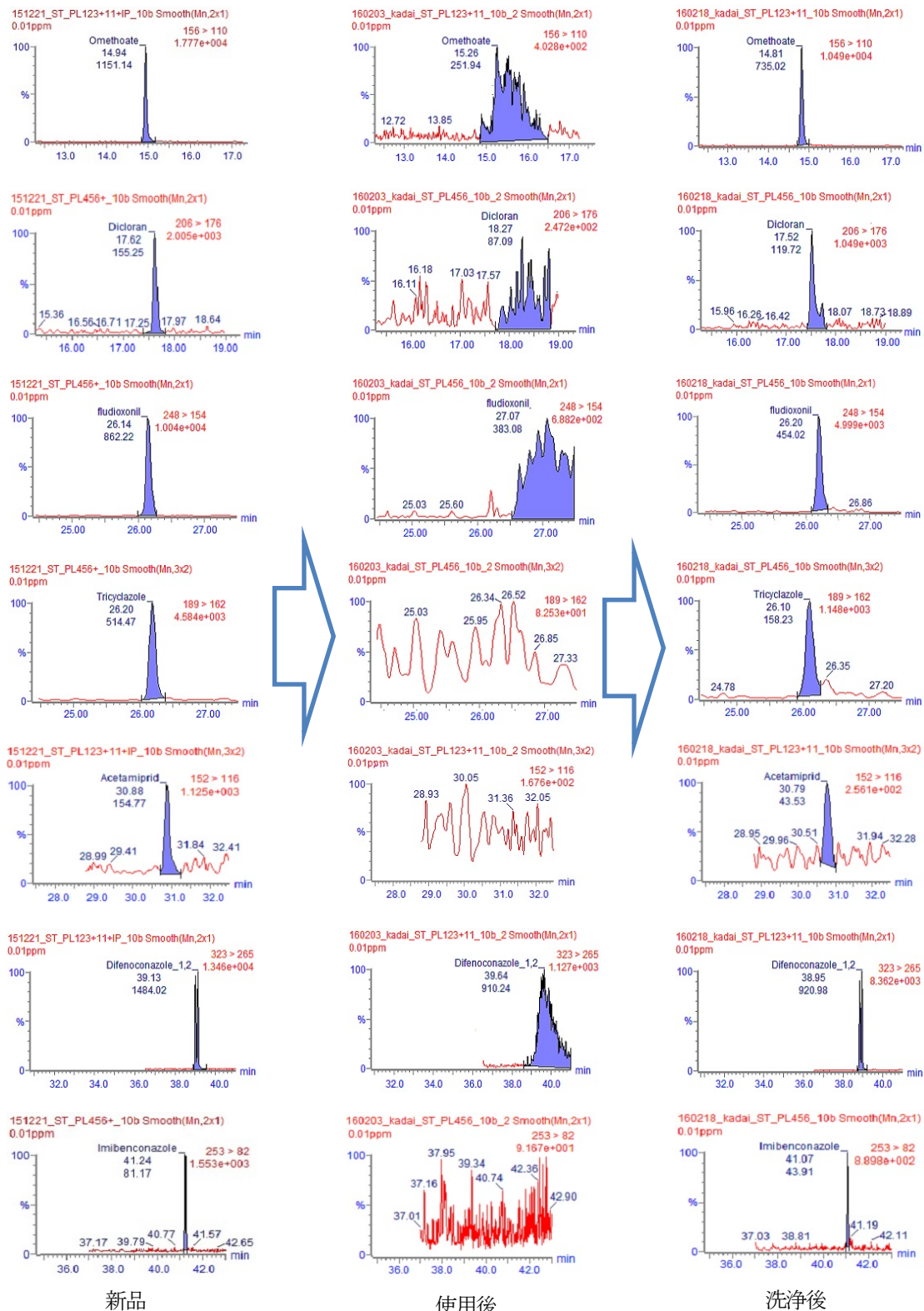


図2 カラムの状態によるピーク形状の比較

とによってカラム新品時のようなシャープなピークではないものの、ピーク形状を回復することが出来た。しかし、4 回洗浄後はピーク形状が大きく乱れ、自動波形処理

では認識しなくなった。

トリシクラゾールは、1 回洗浄後は比較的良好なピーク形状に回復したが、2 回洗浄以降は強くテーリングしたブ

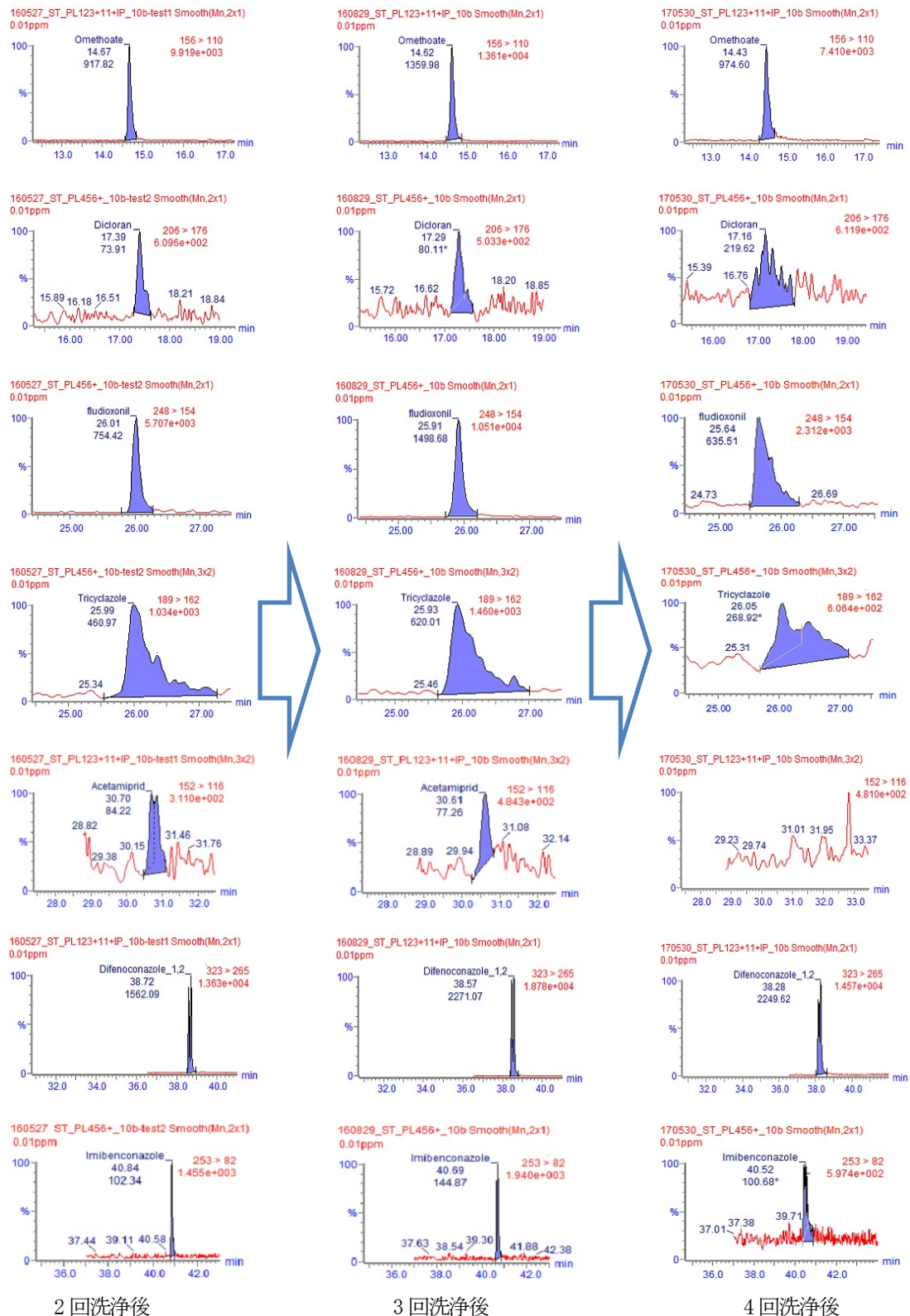


図3 洗浄を繰り返したときのピーク形状

ロードなピーク形状しか得られず、4回洗浄後はピーク強度も低下した。アセタミプリドも同様に洗浄回数が進むにつれてテーリングが強くなり、ピーク形状が回復しにくくなる傾向が認められ、4回洗浄後はピークが全く検出

できなくなった。

洗浄を繰り返すとピーク形状が回復できなくなる原因として、今回用いた溶媒ではカラム内にたまった汚染を完全に除去しきれず、使用→洗浄の繰り返しにより汚

染物質がカラム内に蓄積していくためではないかと考えられた。

また、洗浄を重ねると各ピークの保持時間が徐々に早くなることが確認された。カラム洗浄後はカラムの注入口側を 10cm 程切除するが、使用しているカラムは注入口側先端から 2m までは液相がコーティングされていないブランクカラムとなっているため、カラム切除による保持時間への影響はほとんどないと考えられる。このため、カラムに流した溶媒によってカラム内の液相が少しずつ溶出してしまい、保持が弱くなるものと考えられた。保持時間が早まると、隣接しているピークの分離が不十分になる可能性が考えられる。図 4 に示したように、洗浄回数を重ねると隣接ピークの分離が悪くなっていくことが確認された。

以上のことから、カラムの溶媒洗浄はカラムの性能回復に大きな効果があるが、洗浄を繰り返すとピーク形状の回復が悪くなり、ピークの検出が出来なくなる項目が生じるとともに、保持時間が徐々に短くなるので、分離が悪化または分離出来なくなる項目も生じることが確認された。このため、分析項目によってはカラムの洗浄回数に限界があることが予測できた。

今回得られた結果から、当所で行っている残留農薬分析では、分析対象項目の確実なピーク検出が可能な性能に回復できる洗浄回数は 3 回以内であることが確認された。

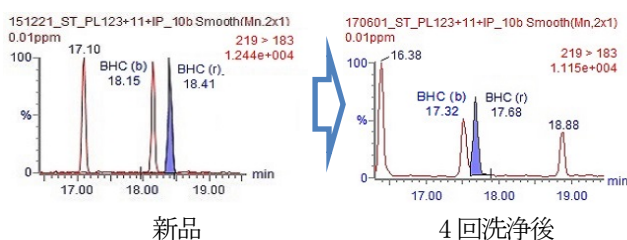


図 4 隣接ピークの分離状態の変化

まとめ

キャピラリーカラムの溶媒洗浄を試みたところ、カラムの性能回復に大きな効果が得られた。しかし、洗浄回数を重ねると、ピーク形状の回復が悪くなる項目や、保持時間が徐々に短くなり、分離が悪くなる項目も認められた。分析対象項目に応じて洗浄回数には限界があったが、カラムの新規購入を減らすことが出来た。

今後の課題

今回は、残留農薬分析の前処理で用いている溶媒で洗浄を試みたが、異なった溶媒の組み合わせについての洗浄効果も確認する必要がある。また、洗浄を行ったキャピラリーカラムは、食品中の残留農薬分析専用としており、常に同じ前処理を施した試料を分析している。このため、他の全く異なった試料を分析した場合のカラムについては、改めて洗浄条件や効果を確認する必要があると考えられる。

参考文献

- 1) K. J. Hyver ら：キャピラリーガスクロマトグラフィー 第 3 版, ix, 横河アナリティカルシステムズ(1990)
- 2) 山本敬男ら：農産物残留農薬一斉分析法の妥当性評価結果とその課題について, 山梨衛環研年報, **58**, 42-55 (2014)
- 3) 日本化学会編：化学便覧基礎編Ⅱ, p. 505-508, 丸善 (1966)