

GC 誘導体化注入法を用いたペンタクロロフェノール分析の基礎的検討

(財) 雑賀技術研究所 佐々野僚一、佐藤元昭、中西豊

【目的】ペンタクロロフェノールは外因性内分泌攪乱物質のリストに挙げられており、免疫系、内分泌系、脳神経系への影響が懸念されている物質である。そのペンタクロロフェノールの分析法には誘導体化して定量する方法が報告されているがその分析操作は複雑であり、技術を要する。そこで、本研究では、ペンタクロロフェノールの簡易で迅速な高感度分析法の開発を目的とし、演者らが開発したキャピラリー-GC 試料注入口装置を用いて、GC 注入口(ライナー)中での誘導体化および大量注入の基礎的検討を行った。

【装置】開発した注入口装置の概略図を Fig.1 に示す。本注入口のライナーは非直線型の形状で胃袋状の滞留室を有し、ライナー内で試料が一旦滞留するようになっている。ライナーは、直接、加熱空気によって低温から高温まで迅速に温度制御した。そのため、ライナーの上部と下部の両方を O-リングでシールする構造とした。今回製作したライナーの容積は約 0.5mL であった。注入には 50 μ L のシリンジを備えたオートサンプラーを用いて、サンドイッチ注入法を応用して注入した。

【誘導体化注入法】注入口および GC 条件の概念を Fig.2 に示す。1st stage; シリンジ中に誘導体化試薬、試料の順に吸入して、これらを一度にライナーへ注入した。注入口温度は予め溶媒沸点より低めに設定し、試料および試薬を混液状態でライナー中に保持させた。2nd stage; スプリットモードで揮発してくる溶媒蒸気を排出し、ライナー中で濃縮させながら誘導体化を行った。3rd stage; スプリットレスモードにして、注入口温度を上げながら、生成された誘導体を気化させて、分離カラムへ導入し、分析した。

【実験】試料には、ペンタクロロフェノールを 20%アセトン/ヘキサンで希釈したものをを用いた。誘導体化試薬には、1%濃度の BSTFA(N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide) 20%アセトン/ヘキサン溶液を用いた。注入量は、試料を 20 μ L、誘導体化試薬を 5 μ L とした。本法の GC 条件を Table 1 に示す。

【結果と考察】誘導体化注入法を用いて得られた SCAN クロマトグラムとスペクトルを Fig.3 に示した。この結果から、ライナー中で確実に誘導体化が行われていることがわかった。次に、注入量(5, 10, 15, 20 μ L)とピーク面積の関係を調べた(Fig.4)。注入量とピーク面積は直線関係が得られ、注入量に比例して感度が向上することがわかった。濃度 0.01ng/ μ L の混合標準溶液の分析を 7 回繰り返して、その誘導体化注入法における再現性を調べたところ、その相対標準偏差は 1.53%であり、再現性も高いことがわかった。この誘導体化注入法を用いて作成した検量線を Fig.5 に示す。濃度範囲 0.001~0.1ng/ μ L で良好な直線性が得られ、どの試料濃度においても安定した誘導体化がなされていると推測できた。本注入口はライナー中に複数の試料を液体状態で滞留させておくことができるため、ライナー中での誘導体化および大量注入が容易に可能となった。

この誘導体化注入法を用いれば、予め誘導体化させるための前処理操作を省くことができ、また、人体に悪影響を与える誘導体化試薬に触れることなく誘導体化させることができた。

更に、大量注入により、多量の試料を必要とする分析での試料量の少量化が可能となるだろう。

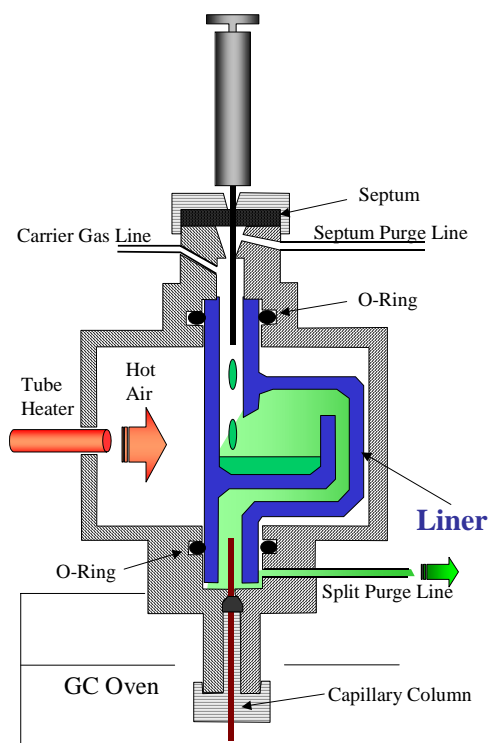


Fig. 1 注入口装置の概略図

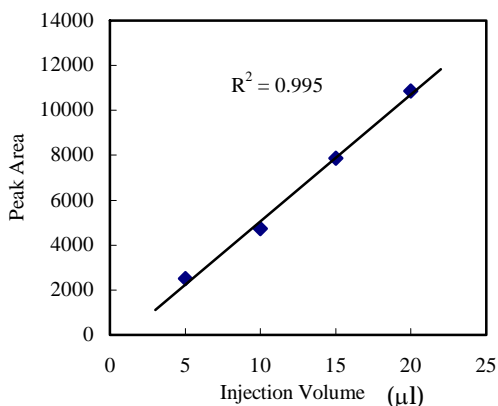


Fig. 4 注入量とピーク面積の関係
(0.01ng/μl PCP; 5, 10, 15, 20μl 注入)

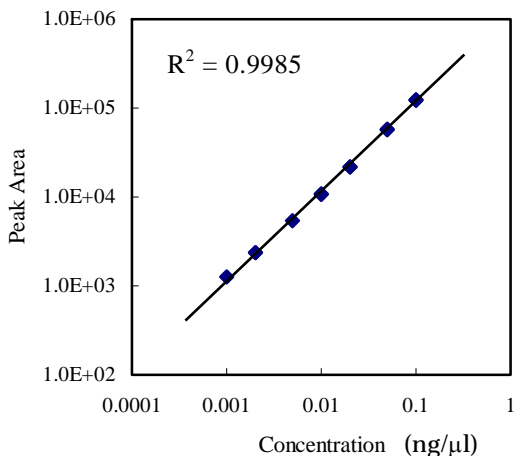


Fig. 5 検量線 (0.001-0.1 ng/μl)

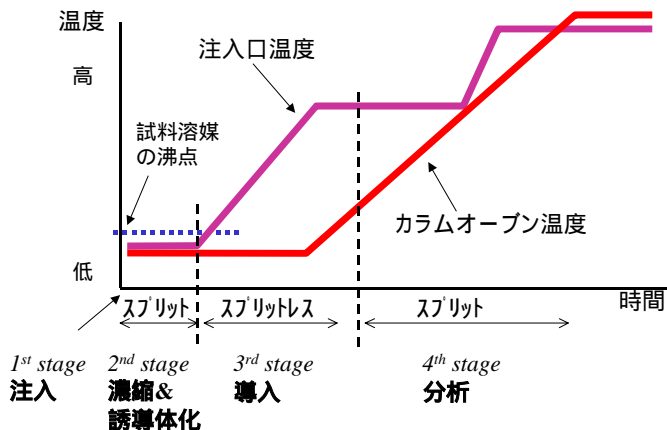


Fig. 2 注入口および GC 条件の概念

Table 1 GC/MS 条件

GC/MS	QP5050A (Shimadzu)
Pre-column	Deactivated silica capillary tube 0.53mm × 0.3m
Column	DB-5MS 0.25mm × 30m, 0.25μm
Injector Oven Temp.	60 -80 /min-240 (4min)-80 /min-260 (2min)
Column Oven Temp.	60 (5min)-15 /min-280 (2min)
Detector Temp	280
MS Method	SIM; 323, 338, SCAN;50-500
Carrier Gas Press	25kPa-150kPa(5min)-70kPa-7kPa/min-170kPa
Splitpurge Flow	50 ml/min
Splitless Time	5 min

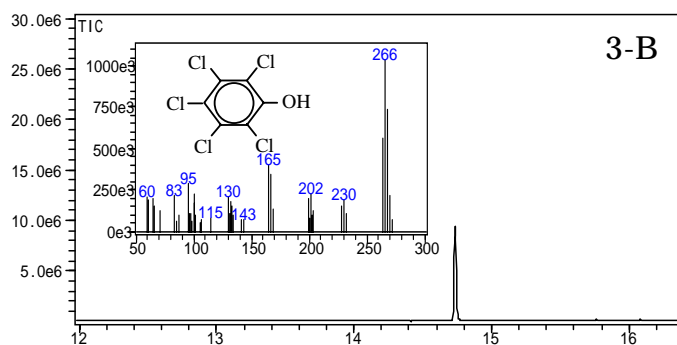
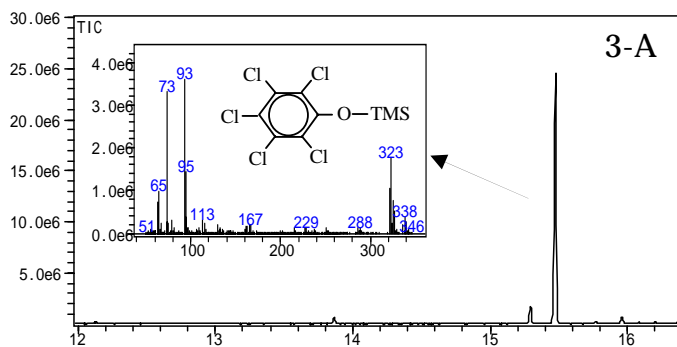


Fig. 3 SCAN クロマトグラムとスペクトル
A; 誘導体化注入法を用いた場合 (PCP+BSTFA)
B; 誘導体試薬を注入しなかった場合 (PCP のみ)