

フィンガーサイズ原子発光検出器と液体クロマトグラフとの結合と元素選択的検出特性

日大生産工(院) ○前多 正明

日大生産工 齊藤 和憲, 中釜 達朗

【緒言】

液体クロマトグラフィー(LC)は、移動相に液体を用い、固定相と溶質との相互作用の差により混合物の分離を行う方法である。その有用性から無機化合物、生体高分子、医薬品、食品などのきわめて広範囲な領域で多用されている。LC 用検出器としては紫外・可視吸光光度(UV-Vis)検出器、蛍光検出器あるいは示差屈折検出器(RI)などがある。これらの検出器は汎用性が高い半面、選択性に乏しく、測定物質の同定には同一の化合物を分析する必要がある。一方、近年フォトダイオードアレイ検出器(PDD)や質量分析計(MS)などスペクトル情報が得られる検出器が使用されるようになってきている。これら「スペクトル型検出器」では、スペクトル情報が同定の有効な情報になるだけでなく、分離が不十分でも吸収波長(PDD)や質量/電荷比(MS)を測定対象物質に合わせて固定することで定量が可能となる。

一方、発表者らはラジオ波放電によるヘリウムプラズマ(RFP)生成を利用し、従来の原子発光検出(AED)装置では困難であった GC 搭載型高感度 AED デバイスの開発に成功している¹⁻⁵⁾。ヘリウムシースフローを用いたプラズマ保護による外部雰囲気の影響の遮断および断熱効果により、プラズマの安定化、高感度化および汎用性の向上を実現している¹⁻³⁾。さらに、電極を同軸上に配置したマイクロプラズマトーチを開発し、従来報告されている RFP-AED 装置より

1 桁以上少ない印加電力とプラズマガス流量での高感度測定を可能としている⁴⁾。開発した AED システムは、ハロゲン¹⁻³⁾、水素^{1,2)}、炭素¹⁾、窒素¹⁾、硫黄⁴⁾およびリン⁴⁾などの元素選択的検出が可能であり、従来の GC 用 AED に匹敵する感度(pg/sec)を有する。本 AED デバイスを用いて GC 本体内に検出部、分光部およびボード状電源をすべて搭載したポータブル GC-AED システムの構築、インクジェット試料液滴の導入による小型元素分析システム⁵⁾を開発している。

本研究では、小型 AED デバイスを LC と結合させ、原子発光スペクトルによる構成元素および元素比の測定が可能となる LC システムの構築を目的とした。

【実験】

AED デバイスの試作: 試作した AED デバイスを Fig. 1 に示す。石英製放電管両端にステンレス製ユニオンを接続している。放電管はプラズマへの大気の流れこみを防ぐために二重構造としている。デバイス下部から供給されるプラズマ(ヘリウム)ガスは、プラズマ生成後にプラズマを取り囲むように下降し(シースフロー)、デバイス下部から系外に放出される。放電用電極には2本の白金管(内外径 1.8 mm および 2.0 mm)を使用し、それぞれのユニオン内で固定した。下部電極には補助電極として内外径 0.8 mm および 1.0 mm の白金管を同軸上に設置し、

Combination of finger-sized atomic emission detector and
liquid chromatograph and the characteristics of elemental selective detection

Masaaki MAEDA, Kazunori SAITOH and Taturo NAKAGAMA

プラズマの安定性向上を図った。上部電極の上には平凸レンズを設置し、プラズマ内の発光を集光して光ファイバーにより小型 CCD マルチチャンネル分光器(USB4000,Ocean Optics)に導いた。AED デバイス下部にステンレス管を接続し、プラズマガスを供給した。LC から溶出液を AED デバイスに供給するためにステンレス管内にキャピラリー管を挿入した。

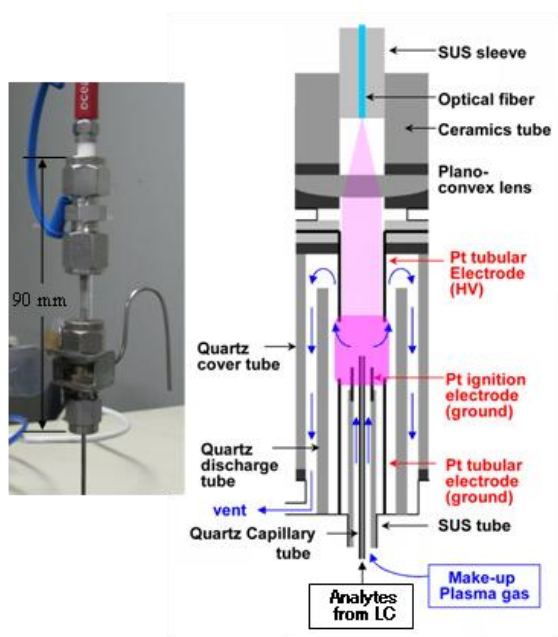


Fig.1 AED device

LC/AED システムの構築: ブロック図を Fig. 2 に示す。本研究では UV-VIS 検出器、RI 検出器も並列に接続し、UV-VIS 検出器と RI 検出器による非選択的検出と AED による選択的検出を行うこととした。カラム出口に 3 方ユニオンを接続し、溶離液を AED デバイス側と UV-VIS 検出器、RI 検出器側に分岐した。移動相には超純水を用い、流量 250 $\mu\text{L}/\text{min}$ でカラムに通液した。カラムを通過した移動相は AED デバイス側に流量 1.8 $\mu\text{L}/\text{min}$ で、UV-VIS 検出器、RI 検出器側に流量 248.2 $\mu\text{L}/\text{min}$ でそれぞれ通液した。カラムは CAPCELL PAK C18 UG12(2.1 mm I.D. \times 50 mm)を用い、モデル試

料として 1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール(HFIP)を用いた。

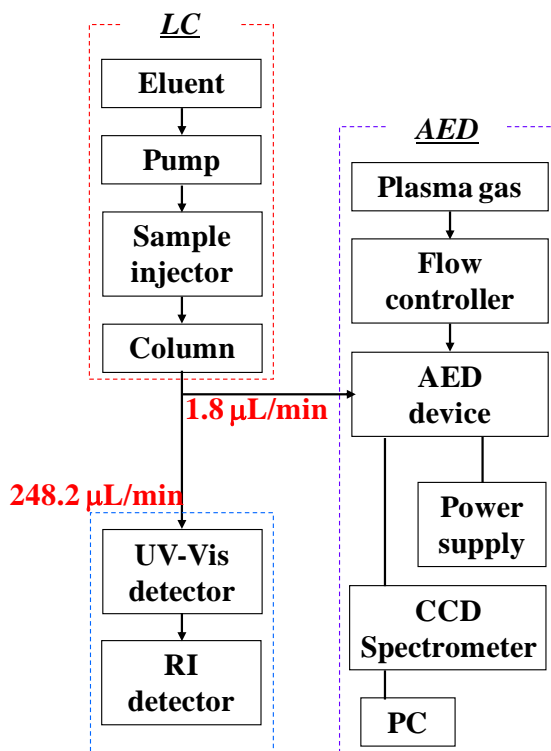


Fig.2 BrocK diagram

【結果】

AED の動作確認: 試作した AED を用いて、プラズマ生成条件をヘリウムガス流量 230 mL/min、印加周波数 250 kHz、印加電力 20 W としたとき、プラズマ発光を確認した。そのときの発光スペクトルを Fig.3 に示す。AED デバイスに流量 1.8 $\mu\text{L}/\text{min}$ の水の導入に対してプラズマが安定に生成することを確認し、移動相として使用した水の構成元素である水素 (656.3 nm)および酸素(777.2 nm)の原子発光強度が増加することを確認した。そのときの発光スペクトルを Fig.4 に示す。水の導入量が多すぎるとプラズマは不安定となった。

HFIP の検出特性: モデル試料に HFIP を用いて LC 測定を行った。試料が溶出したときに得られた発光スペクトルからバックグラウンド発

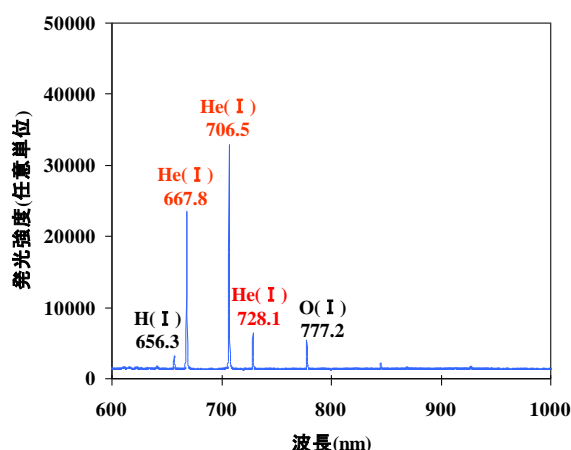


Fig.3 Emission spectrum of helium plasma

He flow-rate: 230 mL min⁻¹, applied frequency: 250 kHz, applied power: 230 W.

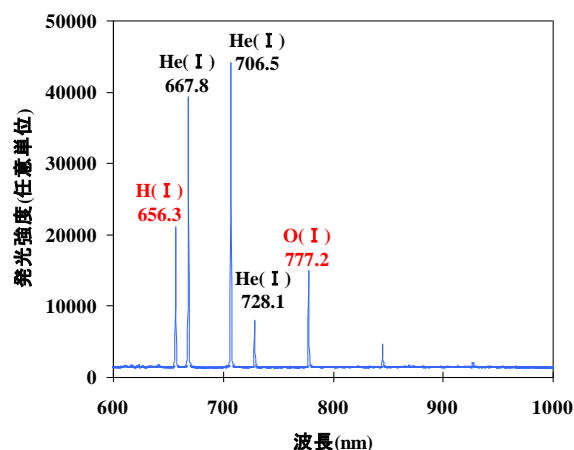


Fig.4 Emission spectrum of helium plasma on the introduction of water

The set flow rate of water: 1.8 μ L min⁻¹, He flow-rate: 230 mL min⁻¹, applied frequency: 250 kHz, applied power: 230 W.

光スペクトルを差し引いたスペクトルを Fig.5 (a)に示す。構成元素であるフッ素の原子発光波長である 685.6 nm に発光が検出された。また、HFIP の溶出時のフッ素の原子発光波長の 685.6 nm のクロマトグラムを Fig.5(b)に示す。しかし HFIP の違う構成元素である炭素は検出できなかった。これは炭素の原子化が不完全であったと考えられる。

AED 条件の最適化：印加電力と印加周波数あるいはヘリウムガス流量がフッ素のピーク面

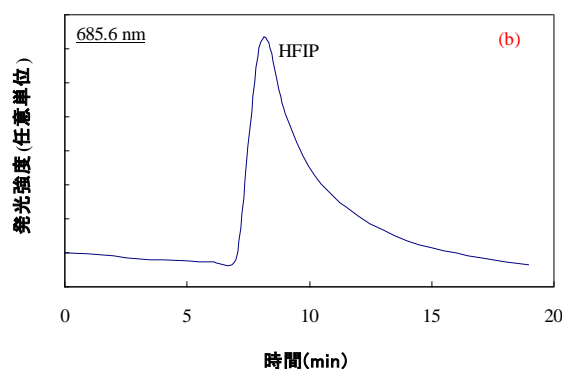
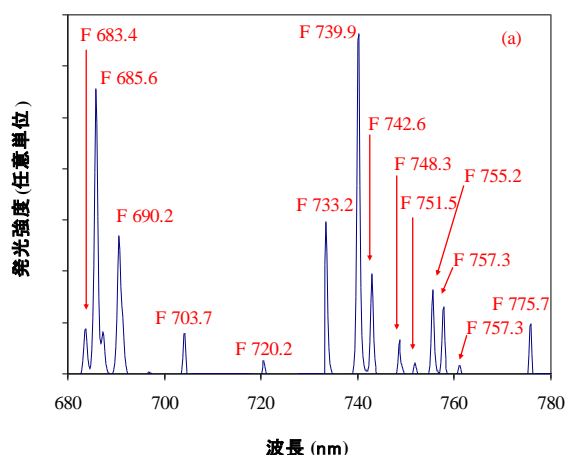


Fig.5 Emission spectrum of HFIP (a) and Fluorine-selective chromatogram of HFIP (b)

Sample :HFIP (the amount of Fluorine detected:16.4 μ g), The set flow rate of water: 1.8 μ L min⁻¹, He flow-rate: 230 mL min⁻¹, applied frequency: 250 kHz, applied power: 230 W.

積に及ばず検討をした。Fig6(a)に印加電力についての検討結果を示す。印加電力を大きくすると観測されるピーク面積は大きくなり、印加電力とピーク面積は直線関係になった。電極の磨耗などを考慮して 30 W を測定条件とした。Fig6(b)に印加周波数についての検討結果を示す。検討した測定範囲内ではそれほどピーク面積にそれほど影響しなかった。検討を行った印加周波数範囲内である 250 kHz を測定条件とした。Fig6(c)にヘリウムガス流量についての検討結果を示す。検討した測定範囲内ではピーク面積にそれほど影響しなかった。

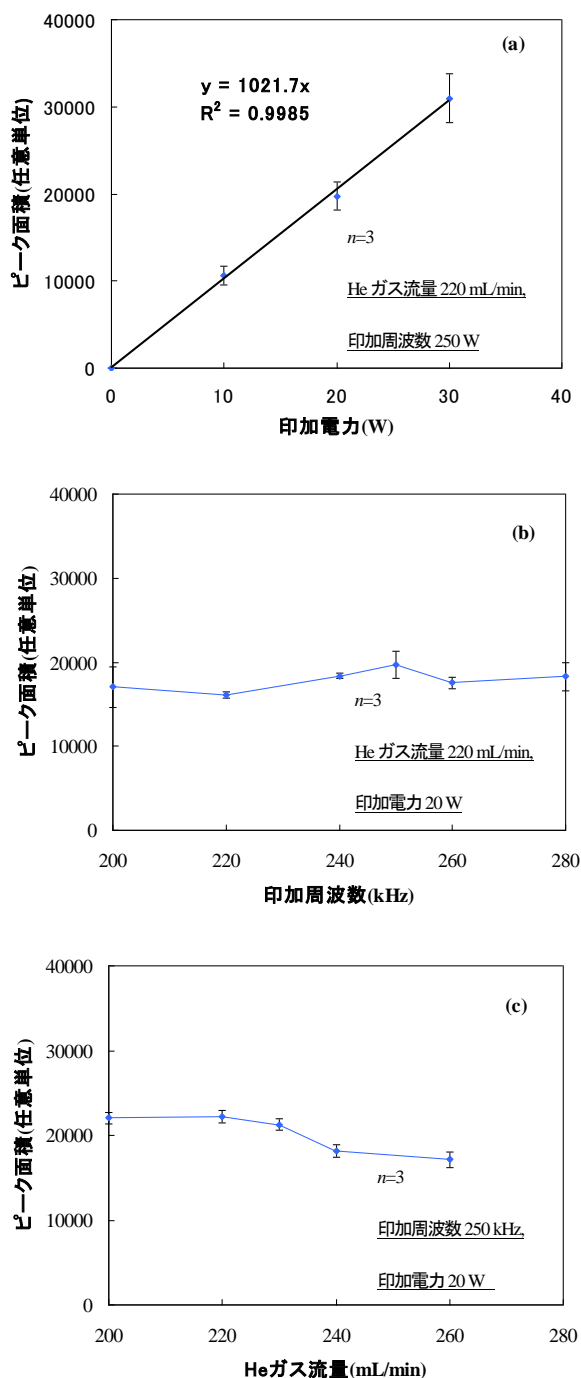


Fig.6 Effect of applied power (a), applied frequency (b), and He flow-rate (c) on the emission intensity

Sample :HFIP (the amount of Fluorine detected:16.4 μg)

220 mL/min 以上では流量が大きくなるほどピーク面積が低下する傾向にあった。発光種がプラズマ内に滞在する時間が短くなることにより測定できる発光量が少なくなるためであると考えられる。

フッ素の定量性：AED の最終フッ素到達量が 1.40 μg 、2.93 μg 及び 5.54 μg となるように異なる濃度の HFIP 溶液を調製し、LC-AED 測定により応答の直線性を検討した。各濃度について 3 回ずつ測定したところ、フッ素量(x)と HFIP のピーク面積(平均値,y)との間に良好な直線関係($y=1750.4x$, $R^2=0.997$)を得られた(Fig7)。検出限界は、0.67 ng/s ($\sigma=3$)となった。

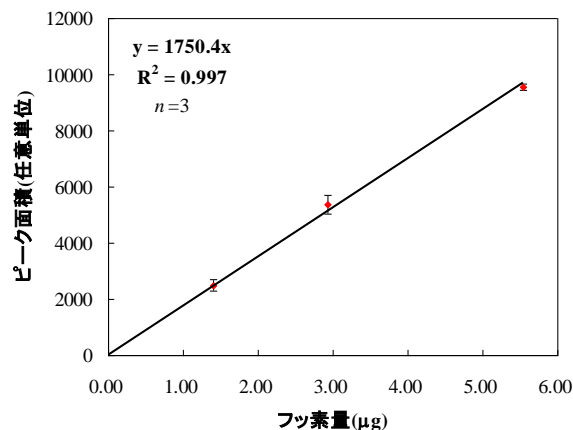


Fig.7 Calibration curve for fluorine in HFIP

The set flow rate of water: 1.8 $\mu\text{L min}^{-1}$, He flow-rate: 220 mL min^{-1} , applied frequency: 250 kHz, applied power: 230 W.

【参考文献】

- 1) T. Nakagama, T. Morita, T. Maeda, K. Uchiyama and T. Hobo, *Anal. Sci.*, 17(suppl), i851-i852 (2001).
- 2) 中釜, 森田, 前田, 内山, 保母, 分析化学, 51, 993-1000 (2002).
- 3) T. Maeda, T. Nakagama, T. Morita, K. Uchiyama and T. Hobo, *Environ. Chem. (China)*, 22, 275-277 (2003).
- 4) 斉藤, 角川, 中釜, 内山, 分析化学, 56, 729-735 (2007).
- 5) 江口, 中村, 遠藤, 西山, 中釜, 清野, 篠田, 内山, 分析化学, 54, 869-876 (2005)