

ガスクロマトグラフ用超微量インジェクター

ガスクロマトグラフィー (GC) では、分離部 (キャピラリーカラム) および検出部の進歩により、高感度・高選択的分析が可能となってきたが、液体試料導入については長年、マイクロシリンジが使用されてきている。一方、最近ではインクジェット技術を利用した極微量 (ナノ・ピコリットル) 液体のハンドリングが行われている。本稿では、インクジェット技術を GC の試料導入に応用した事例を紹介する。

中 釜 達 朗

1 はじめに

ガスクロマトグラフィー (GC) は、高分離能、高感度分離分析法として長年使用されてきている。特に近年、キャピラリーカラム製造技術の発達に伴ってその分離能は飛躍的に向上し、高感度・高選択的検出器との結合による高感度分析も可能となっている。GC では試料の気化過程を伴うため、液体試料を分析する場合には微量の試料溶液を高精度で定量的に GC 装置に導入することが必要となる。最近、インクジェットマイクロチップを用いた極微量液体のハンドリングと分析化学的応用が報告されている^{1)~7)}。本稿では、インクジェットマイクロチップを GC 用インジェクターとして検討した報告例³⁾⁴⁾⁶⁾⁷⁾をご紹介します。

2 マイクロシリンジを用いた液体試料導入

GC における液体試料導入では、一般的にマイクロシリンジが用いられている。汎用されているマイクロシリンジで定量的に直接秤取可能な量は、おおむね $0.1 \mu\text{L}$ 以上である。充填カラムにおいて良好に分離できる試料量 (カラム負荷量) は数 μL 程度である。したがって、マイクロシリンジを用いてカラム負荷量を超えない全量導入は可能である (図 1)。一方、高い分離能が達成できるキャピラリーカラムの負荷量は、充填カラムと比較して非常に小さい。標準的なキャピラリーカラムの負荷量は単一成分として約 $20 \sim 500 \text{ ng}^8)$ である。また、負荷量を超えた溶媒導入は分離に好ましくない影響を与えることが多い。したがって、良好な分離を得るには試料気化室において試料溶媒や測定対象物質を定量的、かつ再現性よく分割する必要がある。

マイクロシリンジを用いてキャピラリーカラムへ液体試料を導入する方法としては、スプリット注入法やスプ

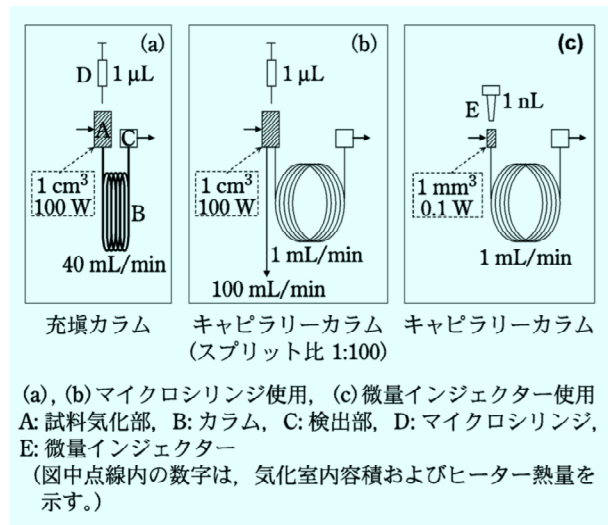


図 1 GC システムの比較

リットレス注入法がよく用いられる。スプリット法では、気化室で気化した溶媒や測定対象物質の一部をカラムに導入して残りを系外に排出する。一方、スプリットレス注入法は試料気化時にスプリット出口を閉じておき、気化した測定対象物質がカラムに移行した段階でスプリット出口を開き、気化室に残存する気体 (主に溶媒) を排出させる方法である。いずれの方法についても試料気化室内で複雑な気化過程を伴うため、特に沸点の異なる成分を定量的に分割してキャピラリーカラムに導入することは困難である。また、不均一な気化は定量分析における誤差の大きな要因となる⁸⁾。装置としても複雑な流路系やその制御系が必要となる。さらに、これらの注入法では充填カラムを用いたときと比べて、多量のキャリアーガスを使用していることがある。例えば、カラム内を通過させるキャリアーガス流量が 1 mL/min であったとしても、スプリット比を $1:100$ に設定したときには、総量 101 mL/min のキャリアーガスが必要となる (図 1(b))。また、試料はスプリット弁から「そのままの状態」でほとんど「マイクロシリンジで導入した量」

が排出されるため、特に毒性の高い定量用標準試料を導入したときには、大気にそのまま放出されないような措置も必要である。

3 GCにおける超微量インジェクターの利点

図1(c)のように、1 nLの液体試料を定量的にGCに導入できる場合を考えてみる。この量は、溶媒でさえもキャピラリーカラムの負荷量付近であることから、キャピラリーカラムへの全量導入が可能となる。したがって、充填カラムを用いたとき{図1(a)}と同じ単一の流路系でのシステム構築が可能となり、制御系が最小限で済む。また、キャリアガス量が非常に少ないGCシステムの構築が可能である。カラム流量を1 mL/minとすれば、プッシュ缶入りガス(充填量7 L)で120時間近く使用できることになる。さらに、1 μ Lの試料導入時{図1(a)および(b)}と比較して、試料気化室容積および気化熱量を計算上では1/1000にすることができる。通常のスプリットおよびスプリットレス注入法における気化室体積は、1 μ Lの試料導入時では1 cm³ (1 mL)あれば充分とされている⁸⁾が、薄層クロマトグラフィーで使用するような定容キャピラリー(内容積1 μ L)を気化室のインナー(インサート)として使用できる。試料気化に100 Wのヒーターを使用していたとすれば、乾電池で充分まかなえる程度の熱量で済んでしまうことになる。マイクロシリンジ1回の測定量で1000回の測定が可能となり、1回の測定あたりで系外に放出される試料量は逆に1/1000となる。すなわち、「低ガス消費量・省電力・小型・少試料必要量・高精度でかつ安全性の高いキャピラリーGCシステム」が構築可能ということになる。

4 インクジェットマイクロチップの特徴と構造

近年、家庭用あるいは工業用印刷技術として、インクジェットマイクロチップは非常に身近なものとなった。最近では、1滴あたり数十pLの吐出能力を有するインクジェットプリンターが比較的安価に入手できるようになり、この方面の技術革新が急速に進んでいることは容易に想像できる。

これらのインクジェットチップにおける液滴の吐出方法としては、圧電(ピエゾ)素子に電圧を印加することにより素子を変形させ、液だめ(キャビティー、図2)を圧縮することによって液滴を吐出する方式(ピエゾ方式)、吐出口付近に設置したマイクロヒーターによりインクを加熱、発泡させ、その圧力で液滴を吐出させる方式(バブルジェットTM方式)などがある。最近、マイクロディスペンサーとして分析化学的に応用されてきた例^{1)~7)}の多くはピエゾ方式である。GC用インジェクターとしても、試料の加熱安定性や溶媒の沸点が吐出量に与える影響などを考慮するとピエゾ方式のほうが有利

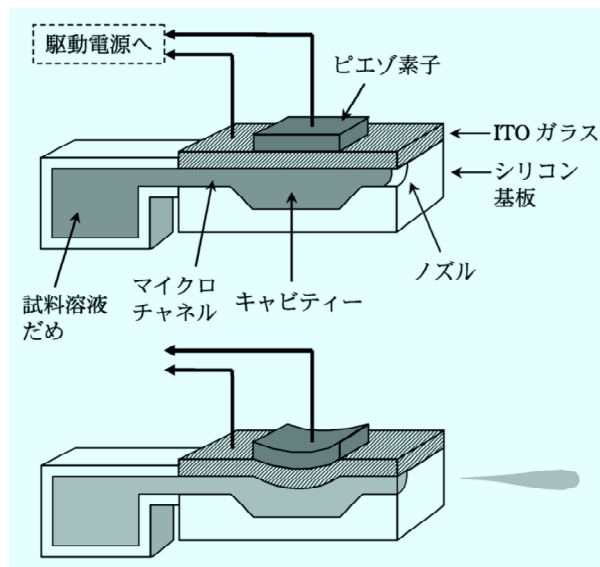


図2 インクジェットインジェクターの吐出原理

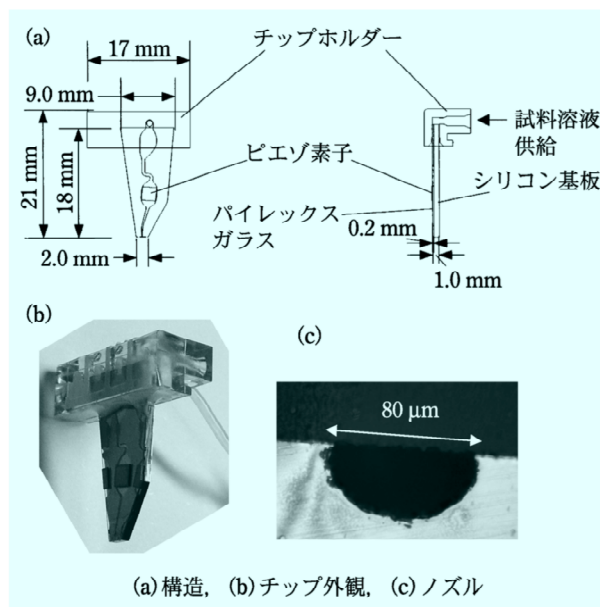


図3 インクジェットインジェクター³⁾⁵⁾⁷⁾

であると考えられる。

図3に、筆者らが実際に使用しているインクジェットインジェクターの一例を示す。このチップは工業用記録計に使用されているインクジェットチップを加工し、GCの試料導入部に設置可能としたものである。シリコン基板表面にドライプラズマエッチングにより溝(マイクロチャンネル)を形成し、パイレックスガラスを陽極接合することにより微細流路を形成している。ガラス表面にはITO(酸化インジウムスズ)を成膜させており、チャンバー上のITO膜上にピエゾ素子を設置してある。ピエゾ素子上面とITO膜間に電圧を印加すると、素子は変形し、チャンバー内の液体を押し出す。押し出された液体はチップ先端のノズル(半径40 μ mの半円状)から液滴となって吐出する(図2)。マイクロチップ

上部には試料溶液供給用ポリエチレン製チューブを接続するためのホルダーを取り付けてあり、チューブのもう一端はポリスチレン製バッグに接続して試料溶液を供給できるようにした。

5 インクジェットマイクロチップによる微量液体試料導入

まず、図4のようにGCの試料気化部に直接設置し、熱電導度検出器(TCD)に直結して吐出液滴数や吐出間隔、キャリアガス流量や気化室内圧力などがTCD応答に与える影響を検討した³⁾⁷⁾。試料として水を用いたときのTCD応答例を図5に示す。1滴あたりの吐出容量は64000滴を吐出したときの重量を精密電子天秤で秤量することにより推算した。その結果、総吐出重量が 66.5 ± 0.4 mg ($n=5$)であったことから、1滴あたりの平均容量は 1.04 ± 0.01 nL (20°C)となった。TCD応答の再現性も相対標準偏差として約1.0% ($n=5$)であった。以上の結果から、nLレベルの液体を再現性良く導入できることが示唆された。試料導入量1~5 nLの範囲で導入量に応じたTCD応答が得られたことか

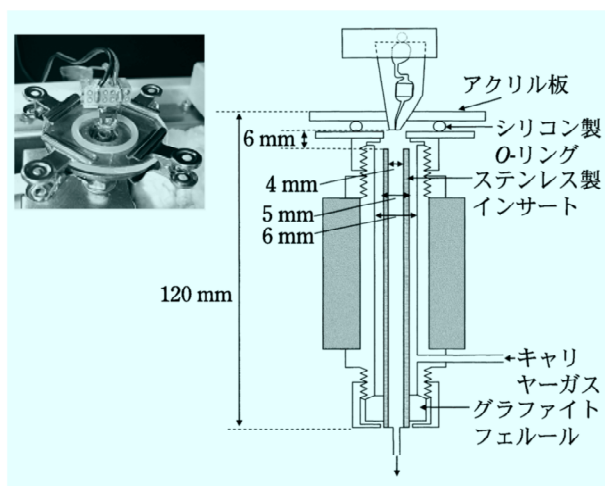


図4 インクジェットインジェクターの試料気化室への設置³⁾⁷⁾

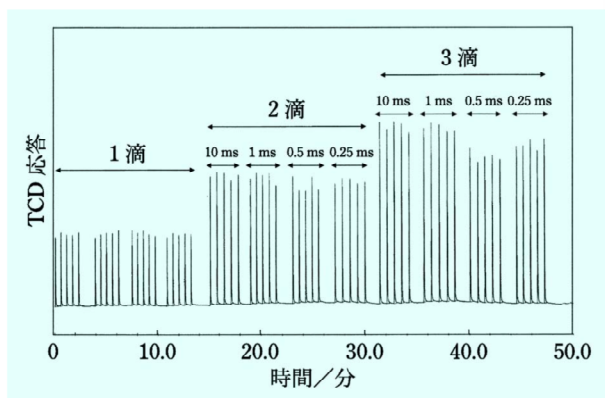


図5 インクジェットインジェクターを用いて水を導入したときのTCD応答³⁾⁷⁾ (図内数字は液滴の吐出間隔を示す)

ら、液滴数を変えることにより導入量を制御できることを確認した。

選択的検出器に接続すると、分離部を介さなくても選択的測定システムの構築が可能である。図6は、検出器としてヘリウムラジオ波プラズマを使用した原子発光検出デバイスを接続し、試料溶液として1,1,1-トリクロロ-2-メチル-2-プロパノール(クロレトン)の2-プロパノール溶液を用いたときの塩素選択的原子発光プロフィール(測定波長: 837.6 nm)である⁴⁾。2-プロパノール溶液のみでは応答は検出されず、クロレトンの導入量に対応した応答が得られることを確認した。揮発性の試料溶媒を用いたときには吐出総重量を秤量することは困難であることから、チップの上流に内径既知の石英キャピラリーを接続してあらかじめ空気プラグを挿入しておき、吐出時の空気プラグの移動距離から液体の吐出量を推算した。その結果、5100滴を吐出したときの総吐出容量は 2.36 ± 0.04 μ L ($n=5$)であったことから、1滴あたりの容積は 463 ± 8 pLとなった。2.5 mg/mLクロレトン溶液を1滴吐出したときのクロレトン由来の応答(ピーク高さ)は相対標準偏差として7.1% ($n=6$)であった。また、クロレトンの検出限界は184 pg ($S/N=3$)であった。

6 インクジェットインジェクターを用いた試料導入によるキャピラリーGC

使用したインクジェットチップは大気圧下に液滴を吐出するのに最適な構造であり、高圧下の試料気化部への液体試料の吐出は比較的困難であった。しかし、ワイドポアショートキャピラリーカラム(内径0.53 mm)を接続した場合、液滴を導入することが可能であった。図7は、インクジェットチップをオンカラム注入用試料気化室に設置し、3種類の炭化水素を含むエタノール溶液を9滴(15 nL)導入したときのガスクロマトグラムで

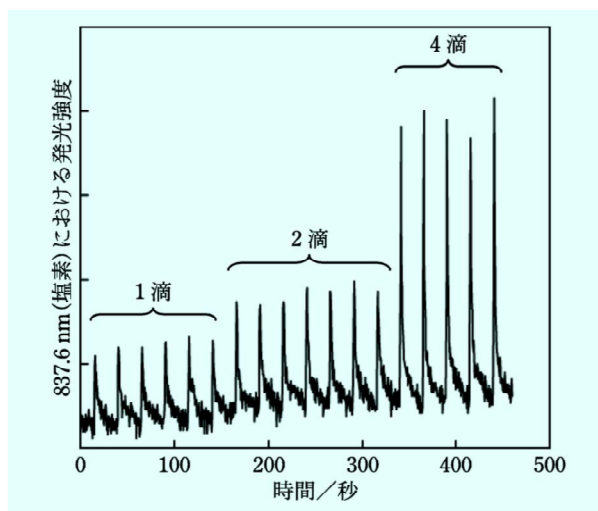


図6 インクジェットインジェクターを用いてクロレトン溶液を導入したときの原子発光応答⁴⁾

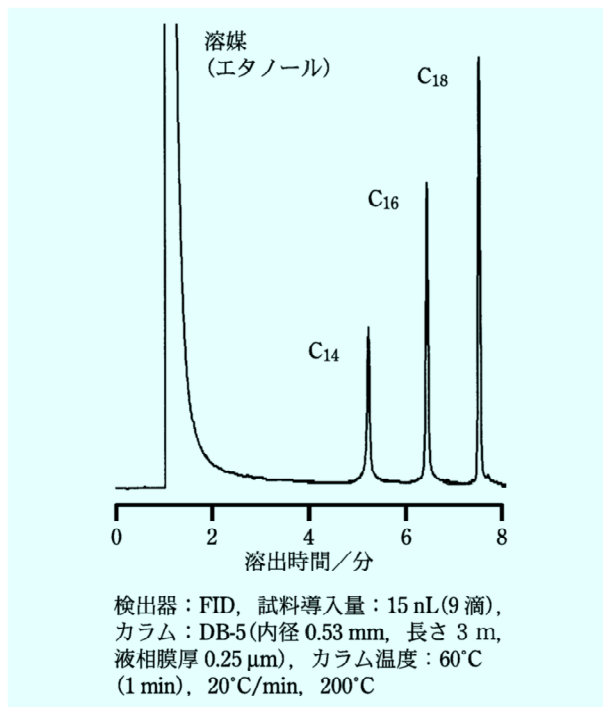


図7 ワイドボアショートキャピラリーカラムを用いたインクジェット導入による炭化水素のガスクロマトグラム

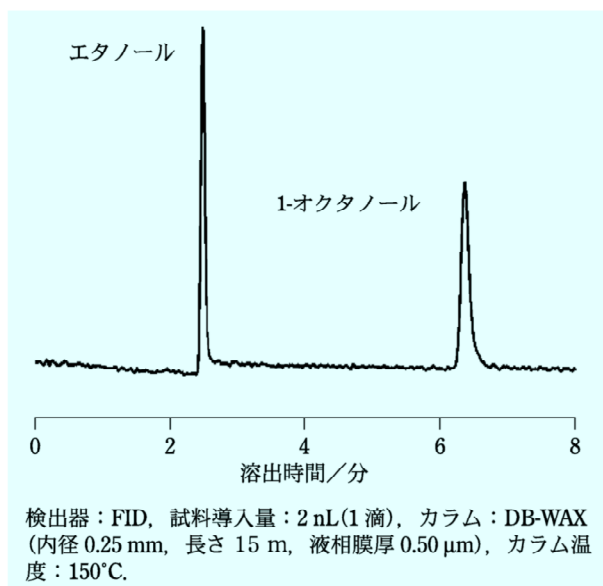


図8 通常のキャピラリーカラムを用いたインクジェット導入によるアルコールのガスクロマトグラム

ある。カラム長さが短くても (3 m)，昇温分析により比較的容易に分離可能であった。

さらに、マイクロチップに供給される試料溶液に適当な背圧を印加した場合、通常サイズのキャピラリーカラムを接続しても試料溶液を導入することができる。図8は、試料気化室内圧 (24 kPa) よりも少し大きい背圧 (25 kPa) を印加して液体試料を1滴 (2 nL) 導入したときのガスクロマトグラムである。このとき、内径 0.25 mm、長さ 15 m のキャピラリーカラムを接続して

いるが、定量的に試料溶液を導入し、分離分析を行うことが可能であった。

7 おわりに

以上、市販のインクジェットマイクロチップを改良してGC用インjekターとして用いたときの試料導入特性および分離特性について概説した。インクジェットマイクロチップによる試料導入は、nLレベルの液体を吐出液滴数あるいはピエゾ素子への印加電圧で比較的容易に制御することが可能である。しかし、多くのインクジェットチップは、「水溶液の大気圧下への液滴吐出」を前提に設計されているため、特に「揮発性液体の加圧・加熱下への吐出」が必要なGC用インjekターとして用いる場合にはいくつかの工夫が必要であると考えられる。また、これからマイクロシリンジを用いた試料導入とは異なった問題点も出てくるかもしれない。しかし、pL~nLレベルの液体試料をGCに定量的に導入できる手法はこれまでに例がなく、マイクロシリンジでは不可能な新たなGCシステムの創製が期待できる。

文 献

- 1) N. Leopold, M. Haberkorn, T. Laurell, J. Nilsson, J. R. Baena, J. Frank, B. Lendl: *Anal. Chem.*, **75**, 2166 (2003).
- 2) W. T. Berggren, M. S. Westphall, L. M. Smith: *Anal. Chem.*, **74**, 3443 (2002).
- 3) 西山尚秀, 遠藤史宏, 江口裕子, 中釜達朗, 清野信子, 篠田正紀, 下坂琢哉, 保母敏行, 内山一美: *分析化学*, **54**, 533 (2005).
- 4) 江口裕子, 中村香織, 遠藤史宏, 西山尚秀, 中釜達朗, 清野信子, 篠田正紀, 内山一美: *分析化学*, **54**, 869 (2005).
- 5) T. Nishiyama, F. Endo, H. Eguchi, J. Tsunokawa, T. Nakagama, N. Seino, M. Shinoda, T. Shimosaka, T. Hobo, K. Uchiyama: *Chem. Lett.*, **35**, 272 (2006).
- 6) Y. Kudo, T. Nakahara, T. Nakagama, N. Seino, M. Shinoda, K. Uchiyama: *Anal. Sci.*, **23**, 91 (2007).
- 7) T. Nishiyama, F. Endo, H. Eguchi, T. Nakagama, N. Seino, M. Shinoda, T. Shimosaka, T. Hobo, K. Uchiyama: *Anal. Sci.*, **23**, 389 (2007).
- 8) 日本分析化学会ガスクロマトグラフィー研究懇談会訳: “CGCにおける試料導入技術ガイドブック” (1999), (丸善); {K. Grob: “Einspritztechniken in der Kapillar-Gaschromatographie”, (1995), (Huthig Verlag, Heidelberg)}.



中釜達朗 (Tatsuro NAKAGAMA)

首都大学東京大学院都市環境科学研究科 (〒192-0397 東京都八王子市南大沢1-1)。東京都立大学大学院工学研究科修士課程修了。博士(工学)。<現在の研究テーマ>マイクロプラズマ・インクジェット技術を利用した分析要素技術の開発。<主な著書> “若手研究者のための機器分析ラボガイド” (分担執筆) (講談社)。<趣味> 装置いじり, 装置づくり。
E-mail: nakagama-tatsuro@tmu.ac.jp