

## 試料準備(液体) および注入法の基礎

株式会社 島津製作所 分析計測事業部  
グローバルアプリケーション開発センター  
和田豊仁  
2017/05/26

LAAN-E-GC0095

## 試料調製時の注意点(液体試料)

LAAN-E-GC0095

2

## 試料調製時の注意点(液体試料)

GCで分析するためには、試料をGCで分析できる状態にしなければなりません。

ここでは固体試料を溶解して分析、もしくは液体試料をそのまま分析する場合について述べたいと思います。(エビデンスのない経験的な意見もあります。一例と考えてください)

### 1 試料調製の準備

- ・試料の物性、沸点、溶解度等の情報をなるべく入手します。(SDSも入手)
- ・標準品を入手します。
- ・溶解性が高く、目的成分の測定に不都合のない溶媒(不純物も含めて)を選択します。
- ・通常は、目的成分より早くに溶出する成分を選択します。
- ・アセトン、ヘキサンはよく使われます。試料が完全溶解するものを選択します。

備考 640+27化合物のリスクアセスメント、特定化学物質使用時は使用記録簿作成(30年保管)も忘れずに!

## 試料調製時の注意点

・溶媒のグレードとしてよく使われるのは特級です。目的化合物の分析に妨害する成分が含まれていない(含まれていても定量に影響がない)溶媒を使います。(目的に応じてグレードは変える場合があります。作業環境測定用、残留農薬分析用など、専用の試薬があります。)

### 2 秤量時の注意

- ・精密天秤は、定期点検済みのものを使用します。
- ・最低単位は0.01mgの精密天秤を使用することが多いです。
- ・10mg以上を秤量することが多いです。
- ・薬さじ(スパチュラー)、メスフラスコ等は清浄なものを使います。
- ・秤量後は速やかにメスアップし、速やかに分析に供します。(メスフラスコの密閉性は高いとは言えません)

## 試料調製時の失敗事例

- ・ 試料の物性、溶解度等の情報が少なく、溶解する溶媒をトライ＆エラーで探していたら試料がなくなってしまった。  
→溶解する溶媒情報を収集し直す、少量の試料で溶解実験する。
- ・ 標準品の入手が遅れて分析着手が遅れた。  
→分析が決まったら早めに発注するしかない。
- ・ 想定していた目的秤量重量に試料量が足りなかった。（低濃度になってしまった）  
→試料量は測定に十分な量を用意する。（分析出来そうならそのまま測定する）
- ・ 試料の比重が高くて想定していた目的秤量重量を超えてしまった。（高濃度になった）  
→最初の一さじの採取は多くしない。ペレットなどは一粒の重量をあらかじめ測定しておく。  
（分析出来そうならそのまま測定する）

## 試料調製時の失敗事例

- ・ 試料を溶解させた溶媒が測定成分と重複してしまった。  
→溶媒を変更する。溶媒の溶出順序のデータを参考に溶媒を再考する。
- ・ 長期保管していた開封済みの溶媒を使用したところ、妨害物質が多く検出された。  
→blankを測定してから使用する、長期保存していた溶媒は使わない。
- ・ メスフラスコ、ピペット等の器具洗浄が不十分で、妨害ピークが多く検出された。  
→使用溶媒でよく洗浄する。（超純水の洗浄では除去できるのは極性成分のみ）

## オートインジェクター用バイアルの使用上の注意点

GC分析ではオートインジェクターが多用されます。オートインジェクターで分析するには試料をオートインジェクター用バイアルに移し替えなければなりません。ここではオートインジェクター用バイアル使用時の注意点についてお話しします。

### 注意点

- ・オートインジェクター用標準バイアルの容量は1.5~2mLが一般的
- ・容量の80%程度まで試料を入れることが多いです。バイアル内の空間体積が大きいと低沸点化合物が揮散することがあります。
- ・セプタムは使い捨てです。再使用はできません。
- ・一度オートインジェクターで分析した試料は再分析出来ないことが多いです。穴の開いたセプタムは密封性が低下し、セプタムからの汚染があります。(時間が長いと試料の濃度変化、汚染が著しくなります) どうしても保管、再分析したいときは、分析後、速やかにセプタムを新品に交換します。

## オートインジェクター用バイアルの使用上の注意点

・オートインジェクター用のバイアル内に、小容量インサートをいれて少量試料を分析する場合があります。

・試料を入れた後の小容量インサート入りバイアルは倒さないでください。こぼれることがあります。

・小容量インサートをいれて分析した場合、穴が開いた後の試料の濃度変化、汚染は、標準バイアル使用時のそれらより著しくなります)

・セプタムにはいくつかの種類があります。通常、溶媒と接する面にPTFEが貼られているものを使用します。シリコン/PTFE、ブチルゴム/PTFE、PTFE/シリコン/PTFE、PTFEのみ など、があり、メーカー、種類により硬さと、注入後の汚染の度合いが違います。いろんなセプタムを持っていると、いざという時に安心です。

## 試料バイアルセプタムの種類

### セプタムについて

セプタムの選択はオートサンプラー分析を最適に行うための重要な要素です。



セプタム素材	概要	適合する溶媒	不適合な溶媒
PTFE/ゴム	・一般的で経済的なセプタム ・シリンジ針の通りやすい柔らかさで化学的にも安定性は高い ・複数回の注入や注入間隔の空くような用途には適さない	アセトン、アセトニトリル、メタノール、メチルエチルケトン	ベンゼン、塩素系溶剤シクロヘキサン、二硫化炭素ヘキサン、トルエン
PTFE/シリコン・ PTFE/シリコン/ PTFE	・シリコン層の厚みや溶着したPTFEの厚さでシリンジ針の通りやすさが変わる	アセトン、アセトニトリル、アルコール、二硫化炭素、メチルエチルケトン、ジメチルスルホオキシド針等での開口前であればほとんどの有機溶媒に使用可能。	ベンゼン、トルエン、塩素系溶剤ジオキサン、ヘキサン
PTFE/シリコン (スリット入)	・シリンジ針を通りやすくするためにPTFE(およびシリコン)に切り込みを入れたセプタム ・揮発性試料、複数回の注入には適さない ・多量採取の場合にバイアル内が陰圧になることを防ぐ	アセトニトリル、(C1-C4)アルコール、DMF	ベンゼン、トルエン、塩素系溶剤、ジオキサン、ヘキサジエチルエーテル、酢酸エチル、アセトン、メチルエチルケトン、炭化水素類
PTFE	・化学的に安定、注入は1回限り ・揮発性試料には適さない	ほとんどの溶剤に使用可能	フッ素系溶剤、強アルカリ
ポリエチレン	・キャップと一体になったセプタム ・耐溶媒性に注意、1回限りの使用	アセトン、メチルエチルケトン、アルコール類、酢酸エチル、植物油、動物油	ベンゼン、トルエン、塩素系溶剤、ジエチルエーテル、酢酸エチル、アセトン、メチルエチルケトン、炭化水素類
バイトン	・塩素系溶媒に適するが、再シール性は高くない ・硬めのためシリンジ針のゲージに注意する	ベンゼン、塩素系溶剤シクロヘキサン、二硫化炭素	アセトン、ジオキサンメタノール、メチルエチルケトン

注) 素材の耐薬品性を考慮して分別しています。温度や放置時間、バイアルの充填量によって状況が異なります。

LAAN-E-GC0095

<http://www.gls.co.jp/product/vials/00003.html> より引用

9

## 試料バイアルセプタムの種類

### 1.5mL試料バイアル用 純正



**セプタム：シリコン/フッ素樹脂 二層**

色の濃い薄茶色がフッ素樹脂層

島津製作所 セプタム

100個入り  
P/N 221-41239-91



### 1.5mL試料バイアル用

**セプタム：フッ素樹脂 注入は1回のみ**

密閉性向上のためのガスケットも有 (シリカ製。溶媒に触れないように！)

セプタム：島津GLC

白TFE、10mil (0.25mm厚)  
100個入り P/N 98094

ガスケット：島津製作所  
ガスケット試料瓶用 100個入り  
P/N 228-15654-91



### 1.5mL 試料バイアル用

**セプタム：ブチルゴム/フッ素樹脂 二層**

より光沢のある面がフッ素樹脂層

(株)島津ジーエルシー

TFE/ブチルゴム、  
5/40mil (1.1mm厚)  
100個入り P/N 98190



### 1.5mL試料バイアル用

**キャップ-セプタム一体型 樹脂製 注入は1回のみ**

(株)島津ジーエルシー

トップシールクローゼージャー、白  
ポリライナー成形、10mil (0.25mm厚)  
100個入り P/N 98060

LAAN-E-GC0095

10

## 試料バイアルの種類



### 1.5mLターゲットバイアル (広口)

ビン全体のサイズは標準サイズそのまま、  
口径だけを従来比40%大きくした試料ビン  
試料の出し入れ容易で洗浄し易い

#### ㈱島津ジーエルシー

ターゲットバイアル1.5mL (セブタム・キャップ付 100組入)

透明 P/N GLC4010-17

アンバー P/N GLC4010-17A

ラベル付透明 P/N GLC4010-17W

ラベル付アンバー P/N GLC4010-17AW



## 小容量インサート (広口用)



### 小容量インサート (ポリスプリング付) 2mLターゲットバイアル (広口) 専用

容量は300 $\mu$ L。 試料量が少量の時に便利。

インサートを中央部に安定させるポリスプリング付。

**注：島津の1.5mL純正バイアルには使用できません。2mLターゲットバイアル (広口) 専用です。**

#### ㈱島津ジーエルシー

ターゲットバイアル1.5mL (セブタム・キャップ付 100組入) 透明

P/N GLC4010-17

脚付インサート300 $\mu$ L 100個入り (ターゲットバイアル専用)

P/N C4010-630



### 微量インサート (平底) 2mLターゲットバイアル (広口) 専用

容量は400 $\mu$ L。 試料量が比較的少量の時に便利。安価。

**注：島津の1.5mL純正バイアルには使用できません。2mLターゲットバイアル (広口) 専用です。**

#### ㈱島津ジーエルシー

ターゲットバイアル1.5mL (セブタム・キャップ付 100組入) 透明

P/N GLC4010-17

#### ㈱島津ジーエルシー

インサート400 $\mu$ L平底 100個入り (広口バイアル専用) P/N 981391

SHIMADZU

## バイアルインサート（標準口径）



## 小容量インサート（ポリスプリング付）標準口径バイアルC4013-58用

注：の島津純正バイアルには使用できません。

2mL標準口径バイアル C4013-58用です。

(株)島津ジーエルシー

2mL標準口径バイアル（セブタム・キャップ付 透明 100個入り）

P/N C4013-58

150 $\mu$ Lインサート（ポリスプリング付） P/N GLC4012-530

注：オートインジェクタ使用の際は注意してください。

試料ピンホルダーに遊びがあります。インサートの外壁に針が当たり針曲がりや試料未注入がおきる場合があります。



## 小容量インサート（平底）標準口径バイアルC4013-58用

注：2mLの島津純正バイアルには使用できません。

2mL標準口径バイアル C4013-58用です。

(株)島津ジーエルシー

2mL標準口径バイアル（セブタム・キャップ付 透明 100個入り）

P/N C4013-58

250 $\mu$ Lインサート平底 P/N 98028

注：オートインジェクタ使用の際は注意してください。

試料ピンホルダーに遊びがあります。インサートの外壁に針が当たり針曲がりや試料注ミスがおきる場合があります。

LAAN-E-GC0095

13

SHIMADZU

## 4mL洗浄用バイアルセブタムの種類



## 4mLバイアル用

セブタム：シリコン/フッ素樹脂  
二層洗浄回数多いとシリコンの碎片が落ちやすく、Blankが増大の可能性あり。  
まめにセブタム交換。

島津製作所

セブタム50個入り P/N 221-34266-92



## 4mLバイアル用

セブタム：フッ素樹脂

洗浄回数多くてもBlankは増加しない。（穴は大きくなる場合あり）

溶媒は若干気化しやすいが、普通の分析にはほとんど支障なし。

安価

(株)島津ジーエルシー

TFE、10mil（0.25mm厚）100個入り

P/N 73094



## 4mLシェルバイアル

セブタム：樹脂製

4mLの洗浄用バイアル、廃液バイアルとして使用。

洗浄回数多くてもBlankは増加しない。

安価 お勧め

(株)島津ジーエルシー

シェルバイアル 15x45（星状スリット  
キャップ付）100個入り

P/N 98853

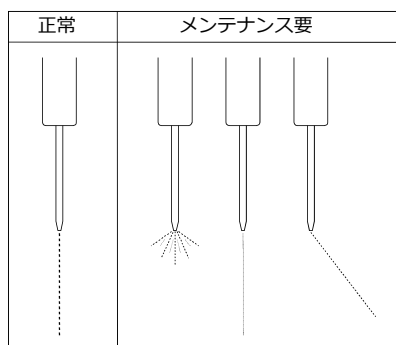
LAAN-E-GC0095

14



## AOC-20iマイクロシリンジのメンテナンス

### ■ 再現性不良の原因と対策



使用後は必ず溶媒等で洗浄すること  
プランジャーがスムーズに動作すること  
ニードルからの試料が真直ぐに吐出すること

## AOC-20i用マイクロシリンジ



### AOC-20i用シリンジ (純正) AOC-20i、17、14共通

島津製作所

上：標準シリンジ (ニードル外径0.63mm) P/N 221-34618

下：OCIシリンジ (ニードル外径0.47/0.63mm)

P/N 221-37282-02



### AOC-20i用シリンジ (スーパーエラスティックシリンジ：イトー) AOC-20i、17、14共通

プランジャーがチタン製。金属由来の摩耗くずが出にくいのでプランジャーが固まりにくい。含水試料に最適。

島津製作所

標準シリンジ (ニードル外径0.63mm)

エラスティックシリンジAOC P/N 221-49548

(株)島津ジーエルシー

OCIシリンジ (ニードル外径0.47/0.63mm) P/N MS-E10-AOC23G/26G



### ニードル掃除用ワイヤー

シリンジニードルを掃除するためのワイヤー。

(株)島津ジーエルシー

スタイレットワイヤー (0.1mmX150mm 5本入り) P/N 031745<sub>16</sub>



SHIMADZU

## オートインジェクター（バイアル含む） に関する失敗事例

- ・バイアルに入れる試料量が少なくてピークが出なかった。  
→試料量は底から5mm以上の高さまでないと試料採取できません。試料量を増や  
すか、少量インサートバイアルの使用を検討します。
- ・一度分析した試料を時間をおいて再分析したら未知ピークが増加した。  
→セプタム由来のシリコンが原因のことが多いです。再分析したいときは、分析後、  
速やかにセプタムを新品に交換します。
- ・シリコンblankがたくさん出た。  
→セプタムの裏表を間違えていました。シリコン面が試料と接し、シリコンが抽出されてい  
ました。
- ・1本のバイアルで繰り返し再現性を調べたら、徐々に面積が低下した。  
→揮発性の高い成分の場合、時間経過とともに成分が揮発することがあります。  
試料洗浄回数を少なくする、同一試料を複数バイアルに分ける

LAAN-E-GC0095

17

SHIMADZU

## 同一バイアルからのサンプリング時に おける面積値と再現性の変化

### MeOH 1000ppm、Heptane溶液の分析

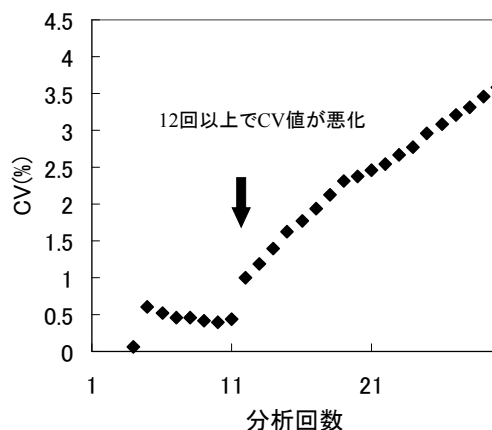
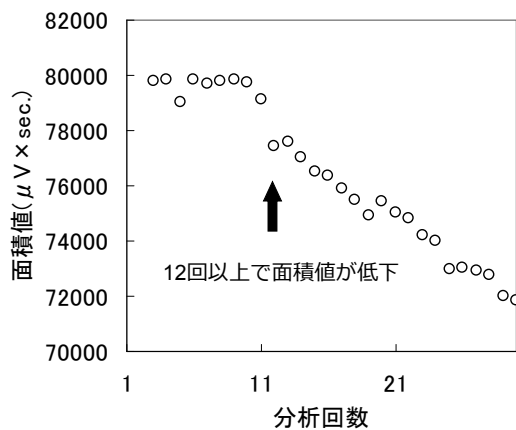
機種：GC2010FID+AOC-20i

カラム：Rtx-1 0.25mm×30m、0.25μm、INJ温度：250℃、DET温度：250℃、カラム温度：80℃

カラム流量：1.41mL/min、カラム線速度：35cm/sec、スプリット比：1:30、注入量：1μL、

注入前試料洗浄なし、注入後溶媒洗浄5回

試料バイアル：1.5mL標準口径バイアル、セプタム：シリコン/テフロン2層セプタム、シリンジ：10μLスーパーエラストリックシリンジ



LAAN-E-GC0095

18

## 注入法の基礎

## ガスクロマトグラフで分析対象となる化合物

- 400～450℃程度までで気化する化合物
- 気化した時、分離しているときの温度で分解しない化合物
- 気化した時に分解しても定量的に分解物が発生する化合物（熱分解GCなど）

上記の条件が満たされていても分析が難しい化合物もあります

GCでは分析が不可能、もしくは難しい化合物の例

- 無機金属、イオン類、塩類
- 反応性の高い化合物や非常に不安定な化合物
- 吸着性の高い化合物
- 標準品が入手困難な化合物

## キャピラリ分析の試料導入法

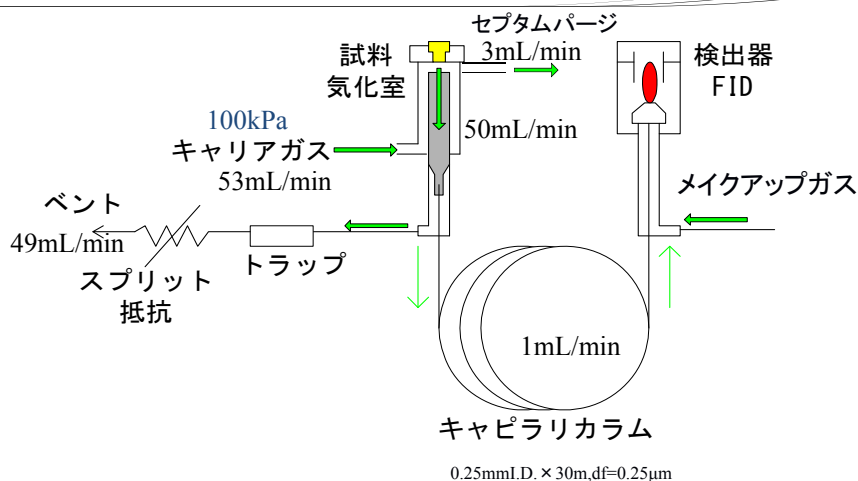
### ホットインジェクション

- スプリット
- スプリットレス
- 全量注入 (Direct)

### コールドインジェクション

- クールオンカラム (OCI)
- PTV

## スプリット注入法の流路図



メイクアップガスは、カラム流量が少ない場合、検出器部分に供給する補助ガスのことで、一般的に30~50mL/min程度供給（カラム流量が20mL/min以上であれば、不要な場合もあり。）

メイクアップガスの種類は、検出器や目的により異なる。

## スプリット注入法

- スプリット比 (Split Ratio)  
 カラム流量を1とした時のスプリット流量の比  
 カラム流量1mL/min、スプリット流量49mL/minの場合  
 →スプリット比 = 1 : 49 (1/50)
- ミキシング  
 注入した試料の一部しかカラムに導入されないため、  
 スプリットポイントで試料を均一にする必要がある  
 →必ずガラスインサート内にシリカウール等をセットする

- ・ 分離に最適なカラム流量 (平均線速度) に設定可能なため、カラムの分離能力を最大限にいかせる (高分離な分析が可能)
- ・ 試料の一部しかカラムに導入されないため微量分析には不向き

## 試料注入時に注入口で何が起きている?

下記の文献を参考、引用させていただきました。

- \* 1 スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか?  
 - CGCにおける試料導入技術ガイドブック  
 GC研究懇談会訳 丸善 (2004)  
 著者 Konrad.Grob  
 1999年1月10日 丸善出版より発行 約400ページ

翻訳協力者(GC研究懇談会 運営委員)  
 臼倉浩一、金子弘行、倉野光弘、栗田信二、斉藤 壽、代島茂樹、竹内正博、  
 竹田一郎、古野正浩、保母敏行、前田恒之、山上 仰、山上順子、渡辺征夫、  
 渡辺忠一 (50音順、敬称略)

- \* 2 2009/02/27 GC懇総会・講演会 講演資料

## A6 注入部での試料気化

- 未充填インサートで液体試料を注入した時の気化状態を検討
- 気化状態を視覚化した実験系で検討  
(ペリレン溶液注入：溶液は強い蛍光を発する。気化した溶液は体積膨張して蛍光強度が下がる)

<出典> スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか？  
 -CGCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸善 (2004)  
 著者 Konrad.Grob

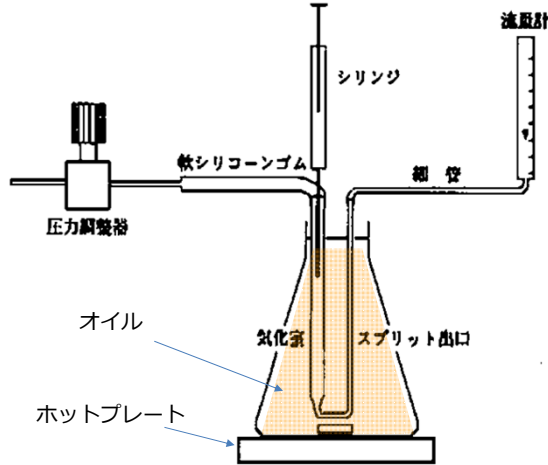


図 A14 試料気化中、目視観察を可能とする透明“試料注入部”

ペリレン溶液の調整にはベンタン、シクロヘキサン、シクロメタン、アセトン、エタノール、トルエン、ジメチルホルムアミドを溶媒として検討した。これら溶媒の重要な物性を表 A2 に列挙した。水中では蛍光を示さないため、水溶液は検討しなかった。

25

LAAN-E-GC0095

### A6.8.2 シリンジ針を離れる試料液体

#### A6.8.2 シリンジ針を離れる試料液体

溶媒を針から空気中に注入すると、液体は蛇口から水が離れるときのように離れる。この液体のバンドは 50~100 km/h の高速で動く。

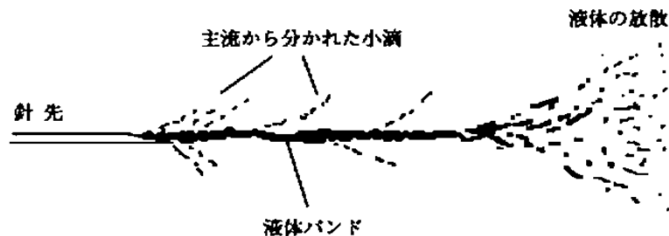


図 A15 室温でシリンジ針を離れる液体  
 寸法通りではない。バンドは容易に 50 cm にわたり、広がりゾーンは 10~20 cm に及ぶ。

さらにその先で、流れは短い距離で分裂し、空気の抵抗が小滴をゆっくり進ませるようになる。約 10~20 cm で小滴は見えなくなる。小滴に分れる前の液体バンドは注入速度、針出口の形による。

<出典> スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか？  
 -CGCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸善 (2004) 著者 Konrad.Grob

LAAN-E-GC0095

SHIMADZU

### A6.8.3 空の気化室での試料気化に関する3つのシナリオ (その1)

b. シナリオ1：瞬間気化（フラッシュ気化）

ペンタンが最も容易に気化する。針を離れて1~2cmのところで霧状になり、イン

● **シナリオ1 瞬間気化**  
**ペンタン：**  
 針を離れて1~2cmで霧状になり、インサートに広がる。  
 小滴は減速され、気化の時間的余裕ができる

図 A16 シナリオ1：瞬間気化（フラッシュ気化）、すなわち噴霧後の迅速試料気化

<出典>スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか？  
 -CGCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸番（2004） 著者 Konrad.Grob 27

LAAN-E-GC0095

SHIMADZU

### A6.8.3 空の気化室での試料気化に関する3つのシナリオ (その2)

● **シナリオ2 細い液流**  
**多くの溶媒：**  
 アセトン、  
 シクロロメタン、  
 シクロヘキサン、  
 トルエン、  
 エタノール等

図 A17 シナリオ2：試料液体は細い液体バンドとして高速で気化室を通りすぎる。気化に利用できる時間は極度に短いので、無視できる溶媒量が気化し、溶媒は気化しない。

<出典>スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか？  
 -CGCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸番（2004） 著者 Konrad.Grob 28

LAAN-E-GC0095

SHIMADZU

### A6.8.3 空の気化室での試料気化に関する3つのシナリオ (その3)

**シナリオ3 壁面への付着、気化 DMF等**

表面に付着した液体  
表面からの速い気化  
蒸気だけがカラム入口に達する

スプリット出口

カラム

インサート

図 A18 シナリオ3: 試料液体はインサート壁に移動し、そこからなめらかに気化する。

<出典>スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか？  
-CGCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸冊 (2004) 著者 Konrad.Grob

LAAN-E-GC0095

SHIMADZU

### A7.1.2 カラム中への直接的な“打ち込み”に対する障害物

セプタム  
シリンジ針  
インサート  
カラム入口  
バブル  
反転カップ  
漏斗  
シクロスプリッター  
層状スプリッター  
中央管  
気化が起こる最初の箇所  
気化が起こる主な箇所

図 A23 試料気化と混合を促進する工夫をしたライナー

バブルをもつインサート  
反転カップをもつインサート

思ったほど気化を促進しない 1μLまではOK 効果あまりない 注入量多くてもGood

<出典>スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか？  
-CGCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸冊 (2004) 著者 Konrad.Grob

LAAN-E-GC0095



### A7.1.3 ガラスウール表面からの気化

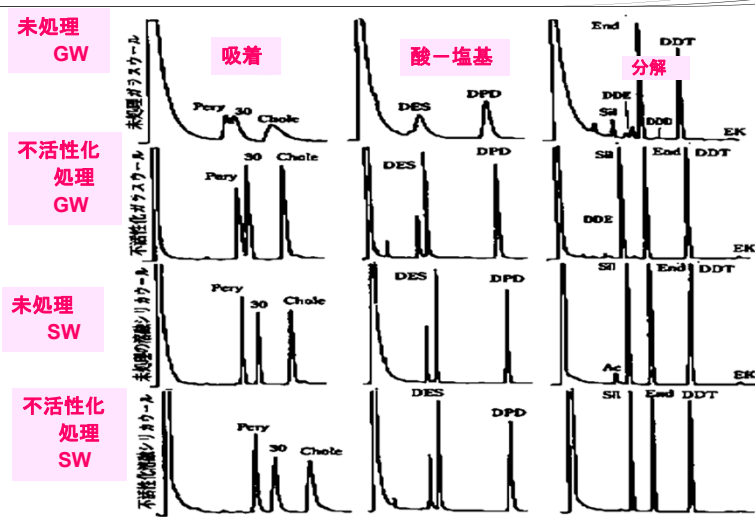
「1977年Schomburgら[7]は効果的な手段としてガラスウールをインサートに詰めることを提唱した。1991年にペリレンを用いた実験が、その効果を証明できた。それは基本的に気化過程を変えるには少量のガラスウールで十分であることを示し、・・・液体の打ち込みは、溶媒の種類にかかわらず、ウール全体に広がらず、たった1,2mmの長さの間近のガラスウールによって受け止められることがわかった。

そこで少量のガラスウールを詰めれば十分であり、ガラス繊維の間に大きな隙間がなければ、5mmの長さのゆるいガラスウールの栓で目的を達する（内径5mmのインサートで2~3mg）」

「・・・最高の揮発性を持つペンタン、および最も弱い冷却効果を持つジクロロメタンでさえ近接した繊維を溶媒の沸点以下の温度に直ちに冷却し、液体と繊維の接触を可能とする。小さな熱容量のためゆるい充填が好ましいように思われる。ガラスウールからの気化は“瞬間気化を除けばかなりの秒数を要する。”

<出典>スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか？ 31  
 -CGCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸善（2004） 著者 Konrad.Grob

### A7.6 インサートの不活性化および充填物



「ガラスウールのような低熱量の物質をインサートに充填することについて多くの議論がある。実際、多くの例で、明らかに定量結果を改善しているが、一方で多くの問題も生じさせる」

- 吸着性  
未処理のウールは吸着性高い
- 酸-塩基  
ウールの種類で個性有
- 分解性  
未処理のガラスウールで分解が多い

（現在はインサート、ウールの不活性化処理技術は非常に進歩しているので上記のことは当てはまりにくい）

図 A28 新しい不活性化ホウケイ酸ガラスおよび溶融シリカウールの不活性化テスト  
 各クロマトグラムは2.5分間続いた。吸着性テスト：ペリレン (Pery),  $\alpha$ -トリアコンタン (30), コレステリン (Chole)；酸-塩基テスト：ジエチルステルベスチロール (DES), シス体とトランス体の混合物), *N,N*-ジフェニル-1,4-フェニレンジアミン (DPD)；分解テスト：ヘプタデカン酸トリメチルシリル (SiI), エンドリン (End), DDT, 分解生成物；エンドリントン (EK), DDD, DDE, 遊離  $C_{17}$  酸 (Ac), スプリット注入温度 200°C, 30 mg ウール充填。詳細は文献 [38]

<出典>スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか？ 32  
 -CGCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸善（2004） 著者 Konrad.Grob

SHIMADZU

## シリカウールのセッティング

例. スプリット用インサート

15~25mm

シリカウール

5~10mm(約3~10mg)

グラファイトフェルール  
からカラム先端までの長さ34mm

・標準的には、注入した時のシリンジ針先端位置の直下付近に、少量（5~10mg程度）のウールを軽くつめる。

・試料によっては、ウールの量や位置を変えたり、シリカウールの他に石英粉末、ガラスパッキン等にもすることもある。

LAAN-E-GC0095

33

SHIMADZU

## A2 スプリット比

- スプリット比の定義  
「カラム流量に対するスプリット流量の割合のこと」  
大きなスプリット流量→**大きなスプリット比**  
→カラムに入る試料量が小さい→**感度が低い**  
小さなスプリット流量→**小さなスプリット比**  
→カラムに入る試料量が多い→**感度が高い**
- スプリット比は実測または計算で算出するが・・・  
「カラム出口とスプリット出口で実測された流量の和は、試料注入部の実際の流量と異なる・・・」  
→試料注入部のガス圧と温度が、出口と異なるから。  
**流量比は出口で実測したものと同じ**

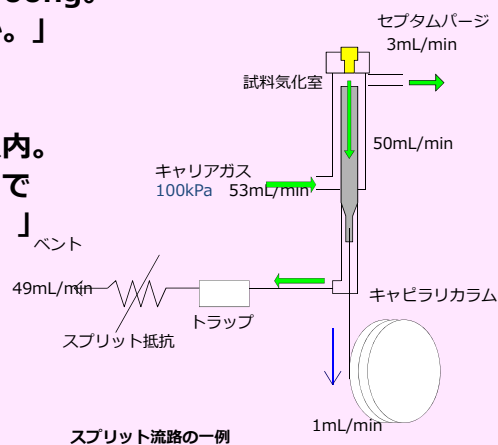
カラム温度でカラム流量は変わる場合があるので、注入時のスプリット比（カラムの初期温度）を測定する

LAAN-E-GC0095

34  
<出典>スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか？  
～GCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸番（2004） 著者 Konrad.Grob

## A1.2 試料をスプリットする目的

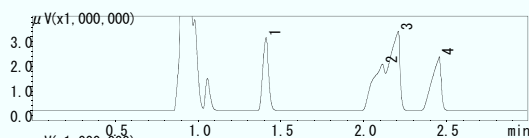
- **カラムの過負荷を防ぐ**  
→「小径カラムの負荷量は20~500ng。  
希釈かスプリットするかどちらか。」
- **幅の狭い初期バンドを作るため**  
→「注入口内の移行速度は数秒以内。  
スプリット流量を増加させることで  
移動速度増加を実現(感度を犠牲)」



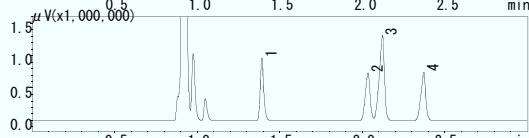
LAAN-E-GC0095

35

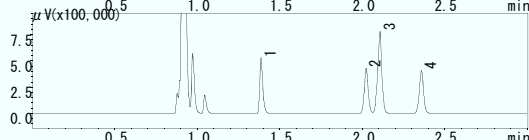
## スプリット比とクロマトグラム



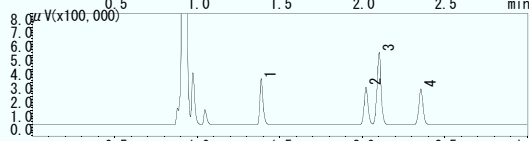
**スプリット比 1:30**  
1ピークあたり330ng  
(3のみ660ng)  
ピーク2と3の  
分離度0.77



**スプリット比 1:150**  
1ピークあたり67ng  
(3のみ134ng)  
ピーク2と3の  
分離度1.62



**スプリット比 1:300**  
1ピークあたり33ng  
(3のみ66ng)  
ピーク2と3の  
分離度1.75



**スプリット比 1:500**  
1ピークあたり20ng  
(3のみ40ng)  
ピーク2と3の  
分離度1.80

1:トルエン、2:エチルベンゼン、3:m,p-キシレン、4:o-キシレン

### 分析条件

装置:  
GC-2010AF+GC-SOLUTION  
カラム:  
Ultra Alloy-5 0.15mm x 15m,  
df=0.25 $\mu$ m、  
キャリアーガス:He 0.6mL/min、  
線速度40cm/s  
注入口温度:250 $^{\circ}$ C、  
スプリット法  
スプリット比1:30~1:500、  
検出器:FID、  
検出器温度250 $^{\circ}$ C  
注入量:1 $\mu$ L

LAAN-E-GC0095

36

#### A4 最高感度が望まれる分析 (高感度スプリット分析)

**「スプリットベントから多量の試料を失う注入法で高感度を要求するのはおかしい」**

- 「スプリット注入で感度が必要になったとき、まずスプリット流量を減らす(スプリット比を小さくする)と感度が向上する」
- 「上記の感度改善は、あるスプリット流量まで続く。あるスプリット流量以下まで流量を下げると、ピーク高が高くなり(感度改善せず)、ピークが太る」  
(注入口内での試料移動速度が遅くなり、ピークが広がる)

<出典>スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか？  
-GCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸善 (2004) 著者 Konrad.Grob 37

LAAN-E-GC0095

#### GCへの試料導入量

- ・ 液体試料の場合  
注入量は1 $\mu$ L程度
- ・ 気体試料の場合  
注入量は最大1mL程度

カラムへ導入する段階では液体試料も必ず気体となっているため、両者はほぼ同じ量

**液体 1 $\mu$ L - (気化) → 気体 100~1000 $\mu$ L**  
→キャピラリ分析の場合、試料をいかに効率良くカラムに導入できるかが重要

38

LAAN-E-GC0095

## 各種溶媒の気化体積

溶媒	1UL	2UL
イソオクタン	110	220
n-ヘキサン	140	280
トルエン	170	340
酢酸エチル	185	370
アセトン	245	490
ジクロロメタン	285	570
二硫化炭素	300	600
アセトニトリル	350	700
メタノール	450	900
水	1010	2020

気化室温度250℃  
圧力140kPa

注入量が多すぎると  
インサート内に気化  
試料が保持できない  
場合もある！

## A4.5 まとめ：スプリット注入法で得られる最大感度

1. 「N2をキャリアーガスに使わない（キャリアーガス線速度を高線速度にしたい）」
2. 「高流量域で内径0.25mmの短いカラム、または0.32mmで長いカラムを使う」
3. 「揮発性の成分の分析では高流量で、十分な保持を得るため膜厚がやや厚め(1 $\mu$ m)、やや長め(25m~30m)」
4. 「内径3~4mmのインサートを使う」
5. 「注入口温度を低くする」 (ガス試料の場合?)
6. 「300~500 $\mu$ Lの試料を注入」 (ガス試料の場合)
7. 「長いシリンジ針を使うこと」 (たぶんガスの場合)
8. 「最初に溶出するピークが広がり始めるぎりぎりまでスプリット流量を減らす」

## A5 試料量を減らすための高スプリット比

### 高濃度試料の注入を要求する分析

#### 主題に入る前の警告

「高沸点試料はしばしば溶媒で希釈される。・・・溶媒が気化室内での気化を容易にする。・・・高粘性試料は希釈せずに正確に注入することはできない」

(針から試料が正確に飛ばない)

#### A5.2 小さな注入量

##### a プランジャーインニードルシリンジ(1 uL)

針先内部にプランジャーが入っているシリンジ

「針とプランジャーの狭い隙間にある0.1~0.2uLの液体試料が、簡単に気化。

正確な量の試料注入は困難(絶対検量線法は不可、内標法は可)」

##### b 標準の10uL(5uL)シリンジ

「手動注入には限界。(再現性が悪い)・・・オートサンプラーはかなり良い」

(絶対検量線も可)

##### c ウエットニードル注入

「試料で洗浄し、針先のみを試料を満たし、注入直前にプランジャーを戻して針先の試料をガラスバレルに戻し、試料の液体膜を針内面に残す。針を注入口に刺し、プランジャーは押さずに(試料注入はしない)2~3秒後、針を抜く。」

(注入量は30~60nL、面積再現性は悪い。内標法は可かもしれない)

<出典>スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか?  
-GCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸善(2004) 著者 Konrad.Grob 41

## スプリット注入法のまとめ

- ・分離に最適な線速度に設定可能
- ・微量分析には不向き
- ・カラムへの試料移行速度を考慮し、  
カラム流量+スプリット流量 > 約30mL/min
- ・ガラスインサートはスプリット用を使用
- ・シリカウールは必ずセットする
- ・溶媒ピークのテーリングを低減させるためセプタムパーズラインが必要
- ・カラム温度条件に制約は無い(恒温・昇温分析どちらも可能)
- ・成分や溶媒に制約は無い

# スプリットレス注入法

## B スプリットレス分析

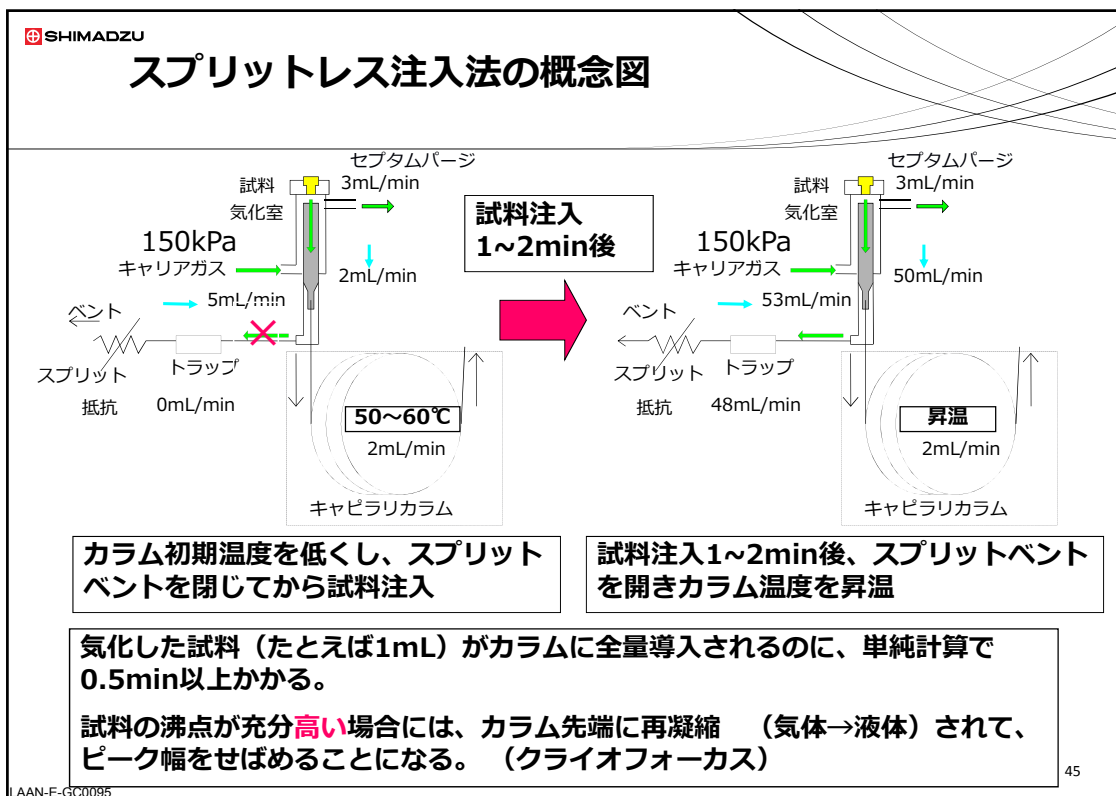
### ◆ B1.1 概念

「スプリットレスとは注入過程で流れを分割しない注入のことで、試料を分割して大半をスプリット出口から逃がすスプリット注入とは異なる。……………」

スプリットレス注入での適切な溶質濃度は**0.1~50ng/μL**の範囲である。ちなみに0.1ng/μLは1~3μL注入したときのFIDの検出限界濃度である。

試料を導入する前にスプリット出口を閉じると、カラムが気化室からの唯一の出口になるのでキャリアガスは試料蒸気のほとんど全量をカラムに運ぶ。」





SHIMADZU

## B3 スプリットレス注入に適した試料量

表 B1 注入口 250°C およびキャリアガス入口圧 0.3 bar の場合に溶媒 1 $\mu$ l から生成する非希釈蒸気量の計算値

溶媒	蒸気量 [ $\mu$ l]	溶媒	蒸気量 [ $\mu$ l]
ペンタン	300	ジクロロメタン	450
ヘプタン	210	クロロホルム	320
トルエン	260	メタノール	750
ジエチルエーテル	300	水	1500

- 「普通の溶媒1 $\mu$ Lは250~450 $\mu$ Lの蒸気となる。」
- 「水1 $\mu$ Lからできる蒸気は、キャリアガスによる希釈を差し引いても、現在使われているほとんどのスプリットレス注入部からあふれてしまう。」

<出典> スプリット・スプリットレス注入は正しく使われているか？  
-CGCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸番 (2004) 著者 Konrad.Grob

LAAN-E-GC0095 46

SHIMADZU

### B3.4 損失の気化室容量依存性

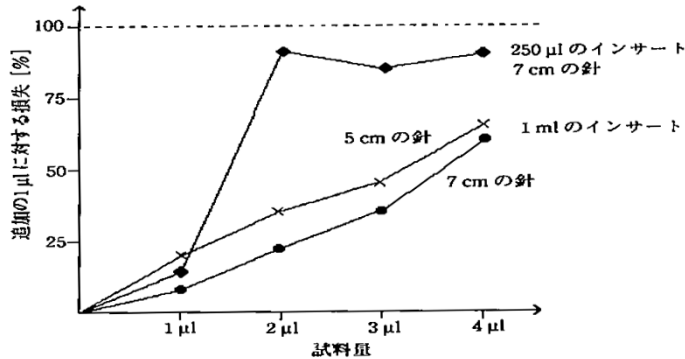


図 B11 インサート直径およびシリンジ針の長さに依存する気化室からの逆流による溶媒(およびそれに伴う試料物質)の損失 [11]  
直前の注入量に追加した 1 μl 量に対する割合として示された損失。ヘキサン；0.5 bar 入口圧；注入口温度 250°C；カラム温度 80°C。

- セプタムパージにFIDを接続して注入口のオーバーフローを確認

<出典>スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか? 47  
-GCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸善 (2004) 著者 Konrad.Grob

LAAN-E-GC0095

SHIMADZU

### B5.5 液状で放出された液滴の阻止

1986年の実験ではインサートの下部に5mm長のグラスウールプラグを詰めると、非常に高沸点の物質を取り除き、マトリックス効果を持つ複雑な化合物の定量結果に劇的な改善が見られることがわかった。(23)  
カラム入口に液滴のまま直接試料が到達するのをウールが防いでいるのである。・・・しかしA7.5の中で述べたように吸着と、ある種の成分の熱分解を伴う危険もある。

- インサート根元のくびれはもう一つの方法で試料液体の侵入を阻止する。口径は1mm未満なので気化しなかった試料が通過しにくい。液体はくびれの表面を十分冷却することができないため、液体はそこに沈着できない。気化は主に気相で起こるが、試料液体が気化室を通して不規則に動くので再現性は悪くなる。

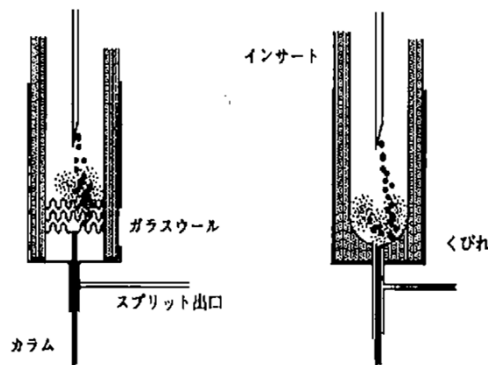


図 B24 試料が注入部の底部へ放出されたとき、それらを阻止できる可能性  
グラスウールのプラグを設置(左)か底部のくびれ(右)

LAAN-E-GC0095

SHIMADZU

## B6 カラムへの試料移送

「試料注入部からカラムへ試料蒸気を完全に送り込むのに必要な条件について述べる。スプリットレスの持続時間と適当なカラム流量が関与する。・・・」

- **B6.1 移送の過程**  
「気化室からカラムへの試料蒸気の移送には多くの問題点がある。キャリアガスがピストンのように試料蒸気雲をカラムに押し込むのが理想的である。・・・」
- 3mL/minのカラム流量で、1mL相当のインサート分を送り込むには20秒必要である。しかしキャリアガス流量が高い場合だけこのモデルは成立する。
- **拡散と、乱流が試料蒸気にキャリアガスを混ぜてしまうので、蒸気雲は試料移送の間成長する。」**

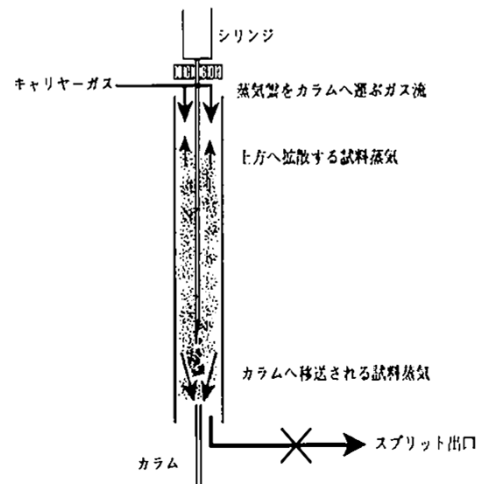


図 B26 スプリットレス注入期間中の試料移送  
蒸気雲の上方への成長とカラム方向への移動

<出典>スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか？ 49  
-CGCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸善 (2004) 著者 Konrad.Grob

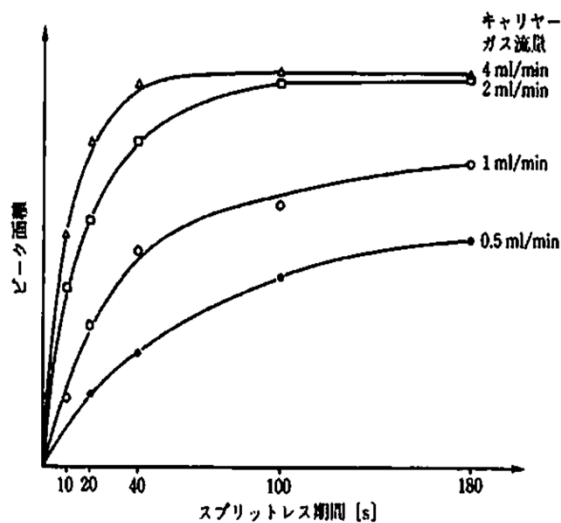
LAAN-E-GC0095

SHIMADZU

## B6.2 スプリットレスの時間

80mm x 4mm i.d.のインサートでカラムはインサート内へ5mm挿入、注入針71mmを使用。カラムは22m x 0.29mm i.d.で、入口温度とも160°C、n-C22まで含むアルカンのヘキサン溶液を分析

- 「4mL/minでは40秒で事実上完全な移行ができた。2mL/minでは約100秒必要とした。しかしn-C22のピーク面積は、高い流量で得られた面積に達しなかった。2mL/min以下では試料移送は不十分であった。」



B27 カラム入口での溶媒再凝縮のない状態でのスプリットレス注入における試料移送 [24]  
スプリットレス期間に対するピーク面積の依存性。キャリアーガス流量は記載のとおり。

<出典>スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか？  
-CGCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸善 (2004) 著者 Konrad.Grob

LAAN-E-GC0095

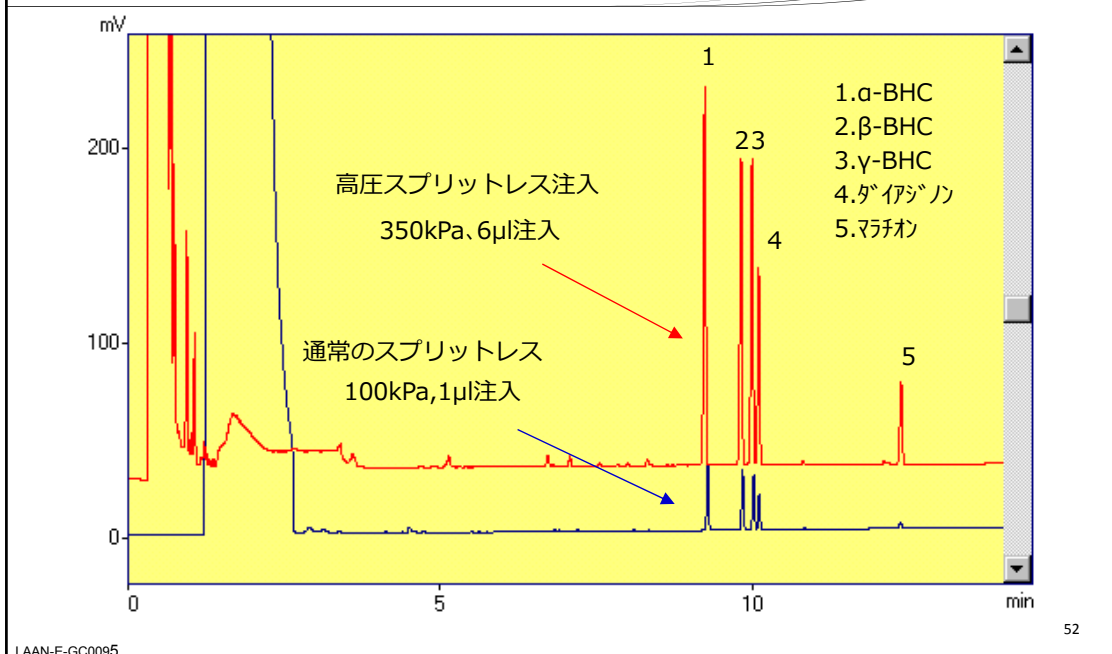
## 高圧注入(High Pressure Injection)

試料注入時の一定時間、カラム入口圧を、分析時より高く設定することで試料の気化体積を小さくし、カラムへの移行速度を速くする方法

250℃の気化室におけるアセトン 1  $\mu$ Lの気化体積

カラム入口圧 (kPa)	気化体積 ( $\mu$ L)
100	294
200	196
300	148
400	118

## 高圧スプリットレス注入 分析例 (溶媒ヘキサン)



## 高圧注入(High Pressure Injection)

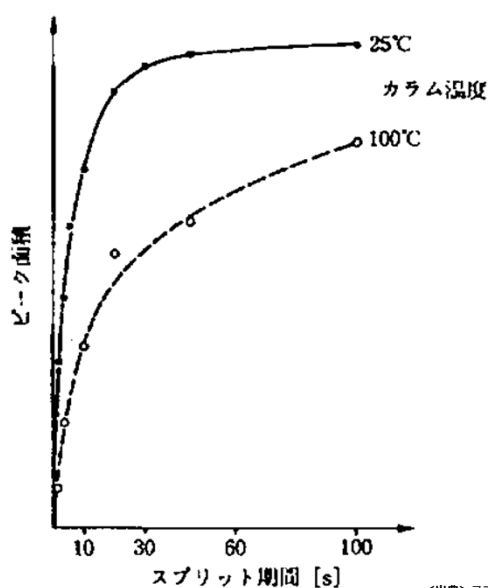
### 利点

- 試料注入量が増加できる  
(およそ 5  $\mu$ L 程度まで、溶媒により異なる)
- イサート内の試料滞留時間が短くなるので試料の分解が減少する
- 高沸点成分の移行効率が良くなり感度が向上する
- 試料のカラムへの移行効率が良くなるのでサンプリグタイムを短くできる

### 欠点

- 検出器によってはベースラインが大きく変動する場合がある

## B6.4 溶媒再凝集により加速される試料移送



- 「試料溶媒がカラム入口で再凝集することにより試料移送は加速される。・・・蒸気の大部分が移送されると、カラム流量は正常に戻る。」
- 「再凝集の効力は、気化室の構造、針の長さ、および試料が気化する間その蒸気がどれくらいキャリアーガスで希釈されるかによる。・・・」

図 B28 カラム入口で溶媒の再凝集のある場合の加速された試料移送 [24]  
実験条件は図 B27 と同じであるが、カラム温度 25°C (n-ヘキサンは強く再凝集) と 100°C (再凝集なし) との両者を表示。

SHIMADZU

## B10.4 ピーク幅広がりや歪みの程度

**B10.4.a 固定相表面をあまりぬらさないか、まったくぬらさない試料**

ポリジメチルシロキサン固定相は、部分的にアセトンでぬれるだけ（フラッデッドゾーンは約2倍）

メタノールは無極性固定相をぬらさないで、その再凝縮液体1μLは数mにわたり、カラムを流れてしまわう・・・」

Figure B43 shows two chromatograms. The top one, labeled 'A) アセトン', shows several sharp peaks with retention times 18, 15, 14, 12, 10, 8, and 6. The bottom one, labeled 'B) メタノール', shows broader peaks. The x-axis is labeled '7°C/min' and '25°C 40°C'.

図 B43 スプリットレス注入で空間的バンド広がりから起こるピークの歪み【41】  
アセトンは、ポリジメチルシロキサン固定相をあまりぬらさず、メタノールはまったくぬらさない。試料、カラムと条件は図 B42B に同じ。

<出典> スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか？  
- CGCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸善 (2004) 著者 Konrad.Grob

LAAN-E-GC0095

SHIMADZU

## B10.5 歪みのないピークを得る方法

**B10.5.1 溶媒の再凝縮を伴わない冷却補足**  
「溶媒の再凝縮を伴わない冷却補足なら、時間的に広がったバンドを圧縮でき、空間的広がり起こらない。」  
(カラム初期温度を高めにする)

**B10.5.1.a 水溶液試料**  
「水溶液試料の注入にはバンドが広がることも含め、いくつかの厳しい問題がある」(水溶液のスプリットレスは難しい!)

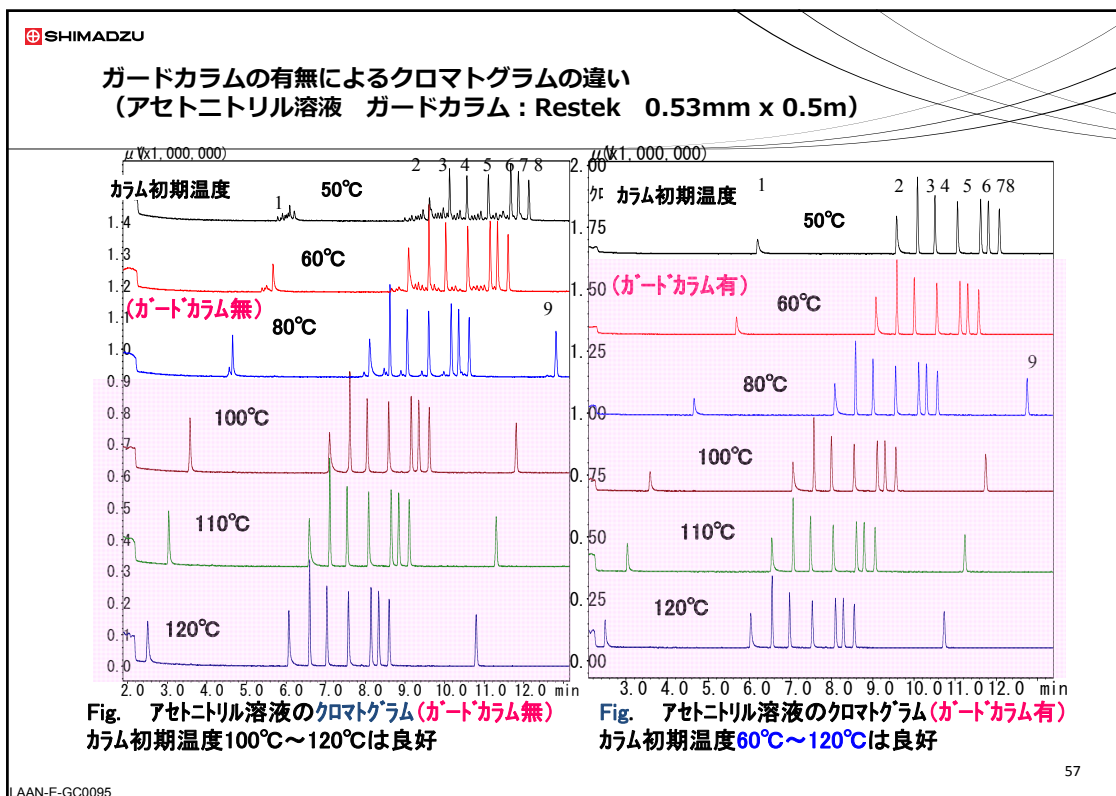
**B10.5.2 リテンションギャップ法**  
「無塗布カラム(プレカラム) 入口で再凝縮した試料液体が溶質を広げると溶質は塗布カラムの先端部に再濃縮される」

Figure B44 is a schematic diagram of the retention gap method. It shows four stages: A: Sample injection into a retention gap above a coated column. B: The sample band expands in the gap. C: The solvent evaporates, and the sample band moves down. D: The sample band is re-concentrated at the tip of the coated column.

図 B44 無塗布カラム入口(リテンションギャップ)を使用。(オンカラム注入の後)フラッディングが起こり、溶質帯は再濃縮される。昇温測定【49】  
A: 試料液体は最初プラグの状態、その後はカラム内壁の上を粒状になって、カラム中へ流れ込む。  
B: 溶媒が気化し、溶質のフラッデッドゾーンに広がる。  
C: 入口においた低い保持力のリテンションギャップはカラムより低い温度で、溶質を移動させる。  
D: 溶質は、カラム温度が分離に必要な温度になるまで、カラム入口部分で待機する。

<出典> スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか？  
- CGCにおける試料導入技術ガイドブック GC研究懇談会誌 丸善 (2004) 著者 Konrad.Grob

LAAN-E-GC0095



SHIMADZU

## スプリットレス注入法のまとめ

- 主に微量分析（数十 ppm以下）で使用
- 自動試料導入装置の使用で、より良好な再現性
- 試料気化室内に留まる時間が長く、急激な気化は必要ない  
 [試料気化室温度] ≤ [カラム昇温の最終温度] でも良い  
 →分解を防ぐ効果あり
- ガラスインサートはスプリットレス用を使用
- 試料の残留やセプタム由来の低沸点化合物の影響を低減 させるためセプタムパーズラインが必要
- 昇温分析が必須
- 気体試料や低沸点溶媒試料、溶媒近傍に溶出する成分には不向き

LAAN-E-GC0095

58



ご清聴ありがとうございました。

#### 引用文献

スプリット・スプリットレス導入は正しく使われているか？  
-CGCにおける試料導入技術ガイドブック  
GC研究懇談会誌 丸善（2004） 著者 Konrad.Grob

GC-2014



GC-2010



**Nexis** GC-2030