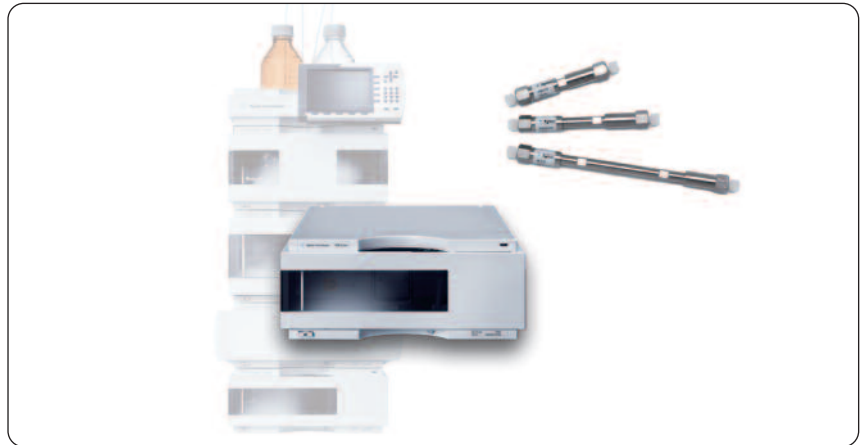


Agilent 1200 シリーズ LC システムの クロマトグラフィ性能の強化

Agilent 1200 シリーズ可変波長 UV-Vis 検出器
VWD SL Plusと ZORBAX RRHT 1.8 μm カラムによる
高速分析と感度の向上と溶媒の節約効果

テクニカルノート



はじめに

Agilent 1200 シリーズ LC システムは、HPLC 技術をリードしてきた信頼性の高い装置であり、世界中の化学/環境/食品/製剤分析ラボに導入され、ルーチン分析から新製品の研究開発 (R&D) にいたるまで、多種多様な用途に利用されているシステムです。既存の Agilent 1200 シリーズ LC システムに、新型の可変波長 UV-Vis 検出器 Agilent 1200 シリーズ VWD SL Plus を組み合わせ、粒径 2 μm ミクロン未満の Agilent ZORBAX RRHT 1.8 μm カラムを用いることにより、検出限界、分析スピード、および溶媒節約性の点で大幅に性能を向上させることができます。

- 分析時間/サイクルタイムが 5 分の 1 に短縮されることによる生産性の向上
- 新型の Agilent 1200 シリーズ VWD SL Plus の使用による分離能の向上 (S/N 比で 3 倍向上) と粒径 2 μm 未満のカラムの使用による分析時間の短縮
- 溶媒消費量を 50 パーセント削減



Agilent Technologies

概要

従来の可変波長 UV-Vis 検出器のハードウェアが大きく改良された Agilent 1200 シリーズ VWD SL Plus ではベースラインのノイズやドリフトが最小限に抑制されています。したがって、検出感度を最大限に高め、検出下限を可能な限り引き下げることができます。

- 160 Hz というデータ取り込み速度は、超高速 LC システムの分離能を最大 2 倍に引き上げ、将来にわたって 1200 シリーズ VWD SL Plus の最速性を保証するものです。
- 電子式温度制御 (ETC) 機能は、環境温度/湿度条件の変動に対応して最高のベースライン安定性と感度を維持します。
- 最新式の電子機器は、LAN 機能を標準搭載し、システムの稼働率を最大限に高め、費用対効果を高めます。
- データリカバリーカード (DRC) と無線による個別識別 (RFID) タグは、フローセルやランプのデータセキュリティやトレーサビリティをこれまでにないレベルに引き上げます。
- 幅広いリニアリティレンジ (直線性) は、主要化合物/副生成物/不純物について信頼性の高い同時定量を可能にします。
- プログラム方式の波長切り替え機能により、個々の分析対象物の溶出時間に合わせて感度や選択性を最適化できます。
- Agilent 1200 シリーズインスタントパイロットまたは Agilent ケミステーションソフトウェアを介した診断/エラー検出/表示機能により、VWD SL Plus の操作やメンテナンスを簡単に行えます。
- 波長精度のベリフィケーション機能により、GLP への準拠が容易です。ホルミウムオキサイドフィルタをプログラムしておけば、波長を分析開始時に自動的にチェックできます。
- Early Maintenance Feedback (EMF) 機能は、ランプ点灯時間など、機器の使用状況を継続的に追跡します。ユーザに使用状況をすることでメンテナンスの問題の発生を未然に回避します。この機能で設定するリミット値やフィードバックメッセージはユーザによる設定が可能です。

Agilent 1200 シリーズ VWD SL Plus に加えて、粒径 2 μm 未満の ZORBAX RRHT 1.8 μm カラムを使用すれば、性能は一段と向上します。たとえば、充てん剤粒径 1.8 μm 、長さ 50 mm のカラムは、充てん剤粒径 5 μm 、長さ 150 mm のカラムと同

じ分離能が得られ、なおかつ分析時間は大幅に短縮されます。表 1 は、微小粒径の短いカラムで大粒径の長いカラムと同じクロマトグラフィ効率が得られることを示したものです。

実験手法

機器

初期構成:

- Agilent 1200 シリーズ LC システム (クォータナリポンプと標準オートサンブラを装備)
- Agilent 1200 シリーズ VWD (「G1314B」モデル) + 14 μL フローセル
- Agilent ZORBAX SB-C18 カラム、150 x 4.6 mm、5 μm (部品番号 883975-902)

検出器をアップグレードした構成:

- Agilent 1200 シリーズ LC システム (クォータナリポンプと標準オートサンブラを装備)
- Agilent 1200 シリーズ VWD SL Plus

(「G1314E」モデル)

- Agilent ZORBAX SB-C18 カラム、150 x 4.6 mm、5 μm (部品番号 883975-902)

さらに 2 μm 未満の粒径カラム技術も導入した第 3 段階の構成:

- Agilent 1200 シリーズ LC システム (クォータナリポンプおよび標準オートサンブラを装備)
- Agilent 1200 シリーズ VWD SL Plus (「G1314E」モデル)
- Agilent ZORBAX SB-C18 カラム、50 x 4.6 mm、1.8 μm (部品番号 827975-902)

クロマトグラフ条件

- サンプル: 4 種類の不純物が 0.7~1.25 % の濃度で含まれるトラマドール。
- 移動相: 0.1 % の TFA 水溶液と 0.650 % の TFA アセトニトリル溶液

カラムの長さ [mm]	カラム効率 [N]			分析時間短縮率 [%]
	粒径 5 μm	粒径 3.5 μm	粒径 1.8 μm	
150	12.500	21.000	35.000	
100	8.500	14.000	23.250	33 %
75	6.000	10.500	17.500	50 %
50	4.200	7.000	12.000	67 %
30	n.a.	4.200	6.500	80 %
15	n.a.	2.100	2.500	90 %

表 1
長さとは粒径の異なるカラムの比較。分析時間が短くなるのがわかります (カラムの内径は 4.6 mm で一定)

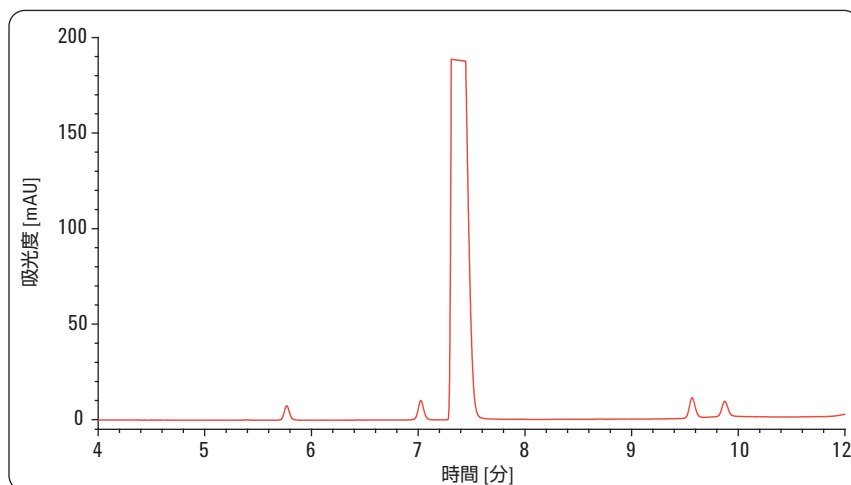


図 1
VWD 「G1314B」モデルと粒径 5 μm のカラムを使用したときの分析結果を示すクロマトグラム

クロマトグラフ条件

流量: 1 mL/min
グラジエント: 0 分で 10 %B; 8 分で 45 %B; 10.5 分で 45 %B; 11 分で 10 %B; 15 分で 10 %B
カラム温度: 30 $^{\circ}\text{C}$
注入量: 5 μL
検出: 波長 270 nm、レスポンスタイム 0.25 s (14 Hz 相当)

結果と考察

新型の検出器「G1314E」モデルと粒径 2 μm 未満のカラム技術の導入による性能の向上は、次の 3 段階に分けて評価しました。

第 1 段階では、Agilent 1200 シリーズ LC システムに普及型の VWD 「G1314B」モデルと充填剤粒径 5 μm、長さ 150 mm の ZORBAX カラムを取り付けました。図 1 は、トラマドール不純物混合液の分析結果を示すクロマトグラムです。

第 2 段階では、普及型の VWD 「G1314B」モデルを新型の VWD SL Plus 「G1314E」モデルに交換しました。図 2 は、トラマドール不純物混合液の分析結果を示すクロマトグラムです。VWD SL Plus 「G1314E」モデルのノイズレベルが低いことと、S/N 比が 2 倍に増加していることがはっきりと分かります (表 2)。図 3 は、両方の検出器のノイズレベルを比較したものです。データ取り込み速度を 40 Hz に上げてても、VWD SL Plus 「G1314E」モデルのノイズレベルは 1/1.8 です。

最終段階では、充填剤粒径 5 μm、長さ 150 mm のカラムを、粒径 1.8 μm、長さ 50 mm のカラムに代えました。図 4 は、トラマドール不純物混合液の分析結果を示したクロマトグラムです。S/N 比は 3 倍に増加しました。分析時間は 15 分から 3 分に短縮されました。5 倍の分析スピードということになります。3 段階すべてのクロマトグラムを比較すると、新型の VWD SL Plus 「G1314E」モデルと粒径 2 μm 未満の ZORBAX RRHT 1.8 μm カラムへの同時アップグレードによって、クロマトグラフィ性能が、S/N 比、分析スピード、および溶媒消費量の点で向上したことが分かります。この結果をまとめると表 2 のようになります。

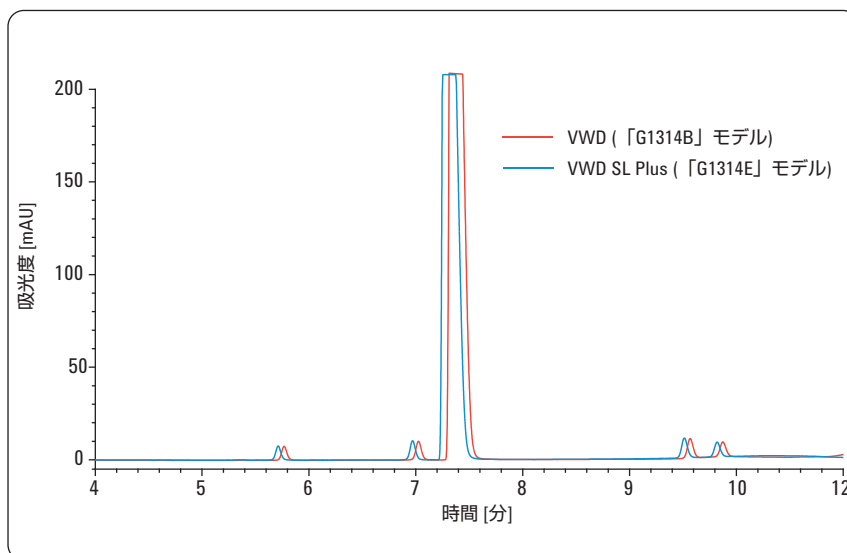


図 2 同じ粒径 5 μm のカラムを使用して VWD 「G1314B」モデルで分析したときと新型の VWD SL Plus 「G1314E」モデルで分析したときのクロマトグラムの比較。

クロマトグラフ条件

流量: 1 mL/min
 グラジエント: 0 分で 10 %B; 8 分で 45 %B; 10.5 分で 45 %B; 11 分で 10 %B; 15 分で 10 %B
 カラム温度: 30 °C
 注入量: 5 μL
 検出: 波長 270 nm、レスポンスタイム 0.25 s (40 Hz 相当)

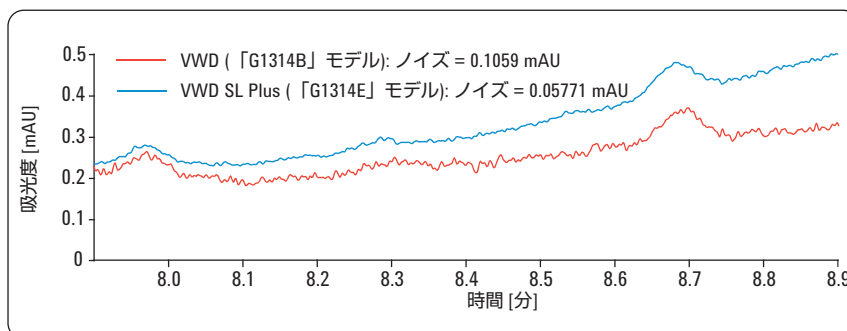


図 3 普及型の VWD 「G1314B」モデルと新型の VWD SL Plus 「G1314E」モデルのノイズレベルの比較。

パラメータ	VWD SL Plus 「G1314E」モデル + 50 x 4.6 mm、1.8 μm ZORBAX カラム	VWD SL Plus 「G1314E」モデル + 150 x 4.6 mm、5 μm カラム	VWD 「G1314B」モデル + 150 x 4.6 mm、5 μm カラム
S/N 不純物 1	275.8	149.8	63.0
S/N 不純物 1	314.2	203.4	84.9
S/N 不純物 1	337.7	210.9	89.5
S/N 不純物 1	254.0	157.3	71.2
ノイズレベル	0.03063 mAU	0.05771 mAU	0.1059 mAU
分析時間	3 分 (平衡化の時間を含む)	15 分 (平衡化の時間を含む)	15 分 (平衡化の時間を含む)
(分析と平衡化の時間を含む)	~8 mL	~16 mL	~16 mL
分析時間あたりの溶媒消費量			

表 2 クロマトグラフィ性能の比較。

結論

標準的な Agilent 1200 シリーズ LC システムのクロマトグラフィ性能は、新型の Agilent 1200 シリーズ可変波長 UV-Vis 検出器 SL Plus「G1314E」モデルの増設と、充填剤粒径 2 μm 未満の Agilent ZORBAX RRHT 1.8 μm カラムの採用によって大幅に向上させることができます。S/N 比は 3 倍、分析スピードは 5 倍に引き上げることができます。さらなる利点として、溶媒使用量を 50 % 削減することが可能です。

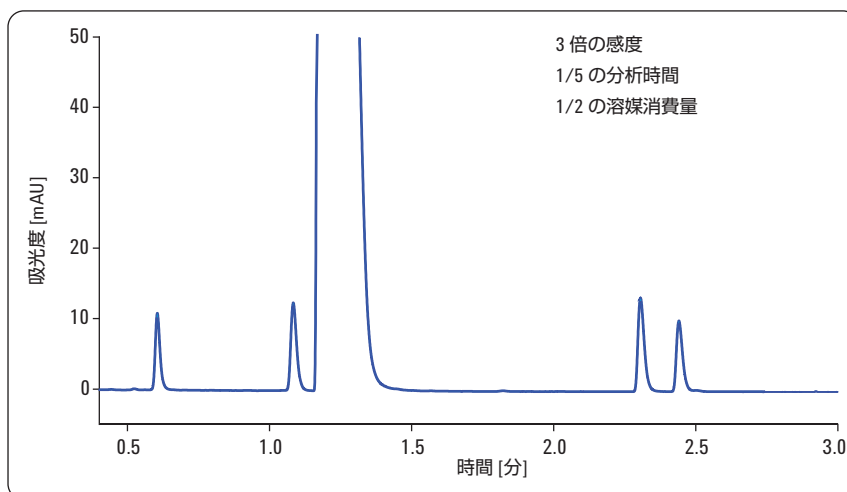


図 4
Agilent 1200 シリーズ VWD SL Plus「G1314E」モデルと粒径 2 μm 未満の ZORBAX RRHT 1.8 μm カラムを使用してトラマドール不純物混合液を分析した最終的なクロマトグラム

クロマトグラフ条件

流量: 2 mL/min
グラジエント: 0 分で 20 %B; 2.7 分で 45 %B; 3 分で 45 %B; 3.1 分で 20 %B; 4.2 分で 20 %B
カラム温度: 30 °C
注入量: 5 μL
検出: 波長 270 nm、レスポンスタイム 0.25 s (40 Hz 相当)

Agilent UV-Vis検出器(VWD) 性能仕様

モデル	普及型「G1314B」	SL型「G1314C」	標準型「G1314D」	最高級 SL Plus「G1314E」	
ノイズ	測定波長 254 nm ASTM	$\pm 0.75 \times 10^{-5}$ AU	$\pm 0.75 \times 10^{-5}$ AU	$\pm 0.25 \times 10^{-5}$ AU	$\pm 0.25 \times 10^{-5}$ AU
	測定波長 230 nm	-	-	$\pm 0.15 \times 10^{-5}$ AU	$\pm 0.15 \times 10^{-5}$ AU
ドリフト	3×10^{-4} AU/hr (測定波長 254 nm)	3×10^{-4} AU/hr (測定波長 254 nm)	1×10^{-4} AU/hr、 (測定波長 230 nm)	1×10^{-4} AU/hr、 (測定波長 230 nm)	
直線性	> 2 AU (5%) 上限	> 2 AU (5%) 上限	> 2.5 AU (5%) 上限	> 2.5 AU (5%) 上限	
最高サンプリングスピード	13.74 Hz	55 Hz	20 Hz	160 Hz	

ASTM: “Standard Practice for Variable Wavelength Photometric Detectors Used in Liquid Chromatography” で測定。

条件: セル光路長 10 mm、レスポンスタイム 2 秒、流量 1 mL/min、LC グレードメタノール。直線性は、カフェインで 265 nm にて測定

各機種の詳細仕様については、カスタムコンタクトセンタ (0120-477-111) までお問い合わせください。

www.agilent.com/chem/jp

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。本文書掲載の機器類は薬事法に基づく登録を行っておりません。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2009
Published February 1, 2009
Publication Number 5990-3471JAJP



Agilent Technologies