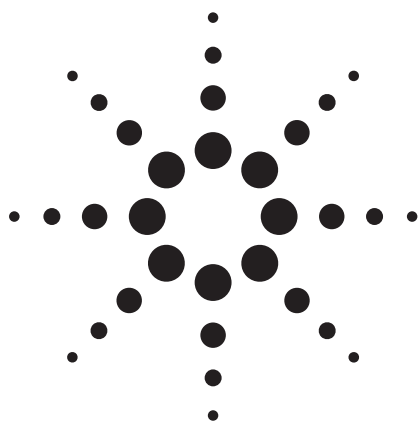


多環芳香族炭化水素のHPLC分析における Eclipse PAHカラムの堅牢性



アプリケーション

環境/食品

著者

John W Henderson Jr. and Cliff Woodward
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA

要旨

Eclipse PAH (多環芳香族炭化水素) カラムは、各種のPAH分析に適した堅牢な固定相を備えています。本研究では、その寿命の長さ、再現性、拡張性を証明しました。多彩なカラムラインナップを持つEclipse PAHカラムは、PAHのクロマトグラフ分析に求められる要件を満たすカラムです。

はじめに

多環芳香族炭化水素 (PAH) 分析専用のカラムがさまざまなカラムメーカーから提供されています。しかし、種類が多く (100種類以上の化合物)、マトリックスも多様 (空気、水、食品など) なPAHには、個別のHPLCメソッドが必要とされるため、1つや2つ程度のPAHカラムではそのすべてに対応することはできません。使用できるカラム長や直径の種類が多くなるほど、最適化された堅牢な手法を多く開発できます。

また、粒子径もカラム選択において重要な要素です。さまざまな粒子径があれば、メソッドのカスタマイズの幅が大きく広がり、特定のPAHアプリケーションでより多くのメソッドを開発し、最適化することができます。異なる粒子径で均一の化学的特性が保たれていれば、結果を予測しながら、メソッドのスケールアップやスケールダウンが可能になります。さらに、カラムの可能性が広がるということは、サンプルのサイズ、サンプルのマトリックス、検出器の選択肢、分析速度、分離、溶液の使用などの要件に広く対応できることにつながります。

特殊カラム (結合相) を多数の類似メソッドで利用するには、異なる粒子径での再現性が求められます。再現性が高ければ、結果を予測しながらメソッドを直接移行して、メソッド再開発の手間を最小にできます。理想的なカラムに求められる要素は、寿命が長く、製造ロット間の再現性が高いことです。

本研究では、Eclipse PAHカラムの堅牢性を実証しています。Eclipse PAHカラムは長い寿命、再現性、拡張性を備えています。



Agilent Technologies

実験

Eclipse PAHの堅牢性を、以下の構成のAgilent Rapid Resolution 1200シリーズLC (RRLC) システムで評価しました。

- G1379デガッサ
- G1312BバイナリポンプSL
 - 移動相A:水、B:アセトニトリル。グラジエント条件については図を参照してください。
 - 内径2.1mmカラムの使用時には、ポンプを待ち状態の溶媒低のモードに設定し、スタティックミキサと脈動防止器をバイパスしました。低ボリュームおよび標準ボリュームバイナリポンプ構成の使用の詳細については、参考文献1を参照してください。
- G1367C HiP-ALS SLオートサンブラ
- G1316B TCC SL温度制御カラム恒温槽
 - 25°Cに設定。内径2.1mmカラムの使用時には、内蔵の3 μ L熱交換器ではなく、低容量 (1.6 μ L) の熱交換器 (G1316-8002) を使用しました
- G1315Cダイオードアレイ検出器SL
 - 220および4nmに設定、リファレンスなし、G1315-60025フローセル (容量5 μ L) を使用、応答時間を0.5秒に設定。

Eclipse PAHカラム 製品一覧

部品番号	説明
959764-918	Eclipse PAH, 2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8 μ m
959793-918	Eclipse PAH, 2.1 mm $\times$ 100 mm, 3.5 μ m
959763-918	Eclipse PAH, 2.1 mm $\times$ 150 mm, 3.5 μ m
959701-918	Eclipse PAH, 2.1 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m
959790-918	Eclipse PAH, 2.1 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m
959741-918	Eclipse PAH, 2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.8 μ m
959990-318	Eclipse PAH, 3.0 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m
959964-918	Eclipse PAH, 4.6 mm $\times$ 100 mm, 1.8 μ m
959961-918	Eclipse PAH, 4.6 mm $\times$ 100 mm, 3.5 μ m
959996-918	Eclipse PAH, 4.6 mm $\times$ 100 mm, 5 μ m
959963-918	Eclipse PAH, 4.6 mm $\times$ 150 mm, 3.5 μ m
959993-918	Eclipse PAH, 4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m
959990-918	Eclipse PAH, 4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m
959931-918	Eclipse PAH, 4.6 mm $\times$ 30 mm, 1.8 μ m
959941-918	Eclipse PAH, 4.6 mm $\times$ 50 mm, 1.8 μ m
959943-918	Eclipse PAH, 4.6 mm $\times$ 50 mm, 3.5 μ m

使用したカラムについては各図を参照してください。

PAH混合溶液は、アジレントの標準物質 (PN 8500-6035) を使用し、アセトニトリルで希釈しました。全物質の溶出順序は次のとおりです。

- 1 トルエン (溶媒成分)
- 2 ナフタレン
- 3 アセナフチレン
- 4 アセナフテン
- 5 フルオレン
- 6 フェナントレン
- 7 アントラセン
- 8 フルオランテン
- 9 ピレン
- 10 ベンゾ[a]アントラセン
- 11 クリセン
- 12 ベンゾ[b]アントラセン
- 13 ベンゾ[k]アントラセン
- 14 ベンゾ[a]ピレン
- 15 ジベンゾ[a,h]アントラセン
- 16 ベンゾ[g,h,i]ペリレン
- 17 インデノ[1,2,3-c,d]ピレン

結果および考察

都市下水および産業廃水用のEPAメソッド610で規定された多環芳香族炭化水素の標準混合溶液を用いて、Eclipse PAHカラムの堅牢性を評価しました。EPAメソッド610では、寸法2.6mm $\times$ 250mm、5 μ mのODSカラムと、水/アセトニトリルグラジエントを用いることが定められています。特定の条件を満たす場合には、別のカラムの使用も認められています[2]。興味深いことに、参考文献2のセクション1.3では、規定のカラムを用いたLCメソッドでは、16種類すべてのPAHを分離できないと述べられています。

Eclipse PAHカラムでは、5 μ m、長さ250mmのカラムでも、16種類すべてのPAHを分離できます (図1)。近接した2つのピーク (ピーク4と5) が良好に分離されています ($R_s > 2$)。本研究では、この2つの近接ピークの最小分離能を用いて、効果的で堅牢なメソッドを定義しました。すべてのEclipse PAHカラム構成で、この分離能が得られるように移動相を調整しました。これにより、異なる寸法のカラムについて分離メソッドを開発する場合でも、低流速と高流速におけるグラジエント遅延時間差の大きさは問題になりません。図1の分析では、長さ250mmのカラムで約26分かかりました。粒子径1.8 μ m、長さ50mmのカラムを使用した場合には、分析時間は4分の1以下に短縮されました (図2)。近接する2ピークの分離能が2以上に保たれ、分析時間は6.8分に短縮されました。

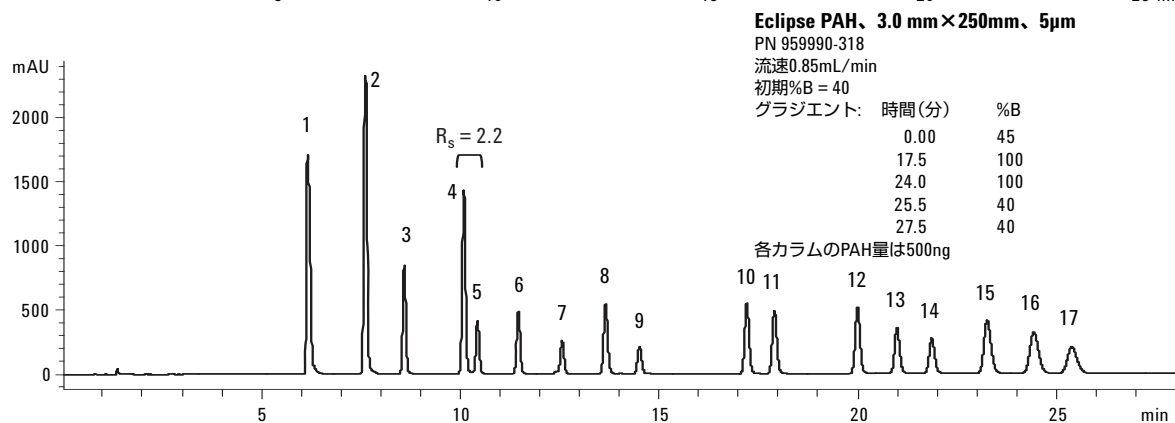
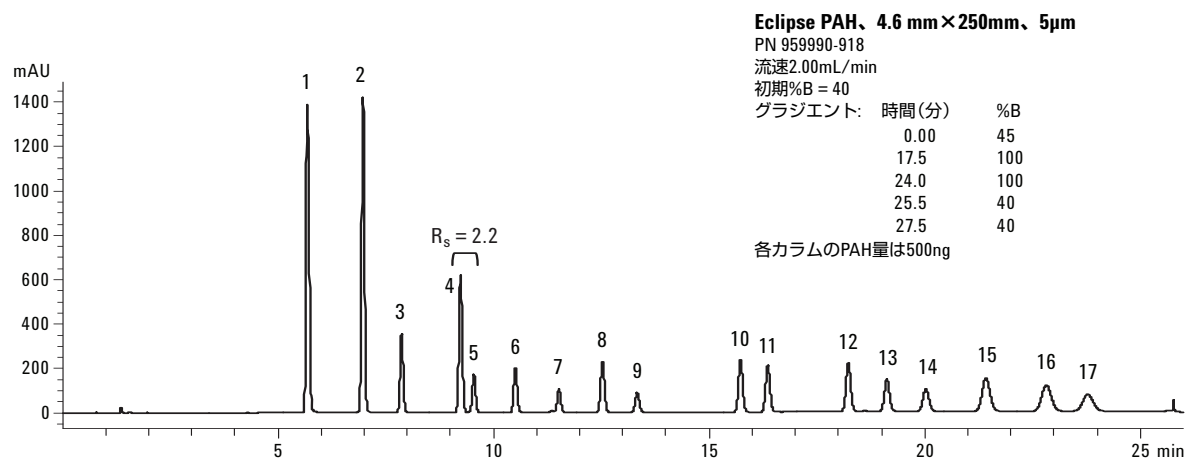


図1. Eclipse PAH 250mmカラムによるPAH分析では、高い分離能が示されています。

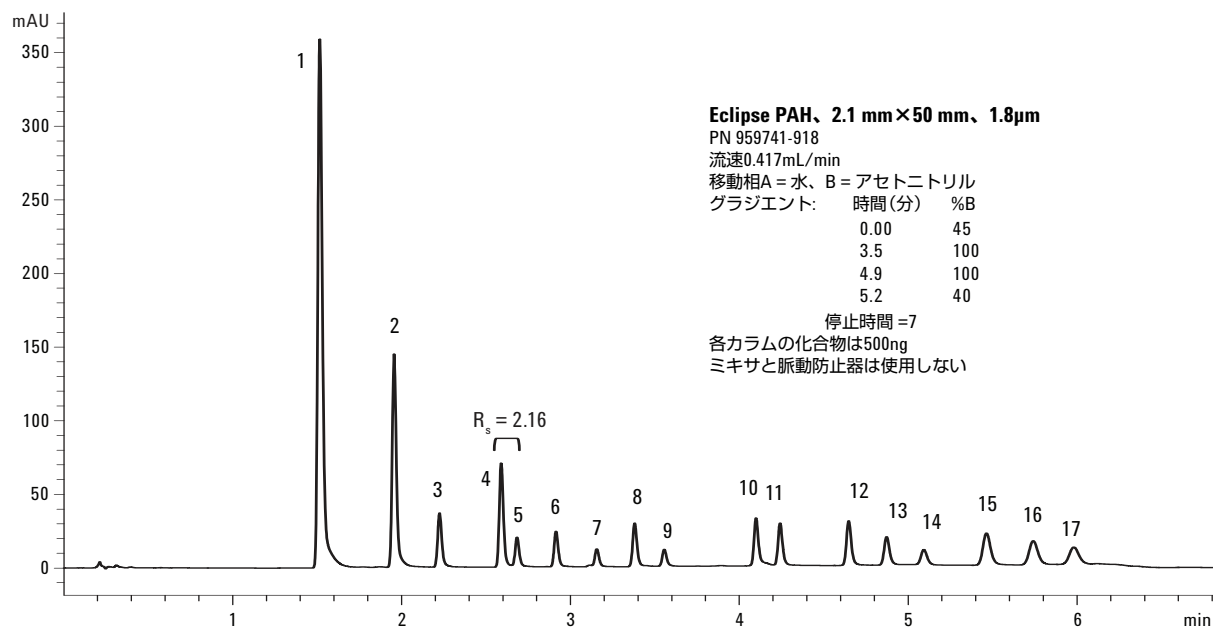


図2. RRHT Eclipse PAH 2.1mm×50mm、1.8μmカラムを用いたPAH分析でも、より短い分析時間で高い分離能が示されています。

長寿命と再現性

図2で使用したEclipse PAH 2.1×50mmカラムなどのRapid Resolution High Throughput (RRHT) カラムでは、溶媒の消費量が少なくスループットが高いため、RRHTカラムはカラム寿命のテストに最適です。本研究では、図2のメソッドを用いて、Eclipse PAHカラムの寿命をテストしました。5000回の注入後も、カラム性能の低下はごくわずかでした。図3に、寿命テストの初期、中期、終了時のクロマトグラムを重ねて示します。選択性、保持時間、効率、そして分離能は、3000回までの分析ではほぼ一定しており、3000回以降5000回までの2000回の結果も満足の得られるものになりました。図3の表に、近接する2ピークと、それよりも間隔の広い2ピークの分離能に関する数値を示します。この数値は、メソッドとカラムの堅牢性を裏付けるものです。テストの所要日数は25日(24時間稼動)で、約14.6Lの廃溶媒が生じました。4.6×250mmのカラムを使用した場合、テストの所要日数は24時間稼動で122日、溶媒の消費量は約350 Lに達します。

バッチ間の再現性

寿命の長さはEclipse PAHの重要な特長です。もう1つの必要不可欠な要素が、バッチ間の再現性です。5 µmと1.8 µmの粒子径のほかに、Eclipse PAHでは3.5 µmの粒子径も用意され

ています。図4に、別々に分析を行った3.5 µm Eclipse PAH粒子の2つのバッチの比較を示します。2つのバッチの選択性がまったく同じである点に注目してください。この結果は、Eclipse PAH粒子が均一に製造されていることを示します。5 µmおよび1.8 µm粒子でも、同様の結果が得られました(データは図示せず)。各粒子バッチは、予想される分析条件下で再現性が最大になるように、PAH専用でテストされています。

異なる粒子径への拡張性

バッチ間の再現性を粒子径間の再現性、すなわち拡張性にまで広げてテストすることで、カラムの堅牢性をさらに評価することができます。図5に、粒子径の異なる3種類のカラム(3種類の異なるバッチ)のデータを重ねて示します。使用したカラムの長さは3種類、内径は2種類です。しかし、3種類すべてのカラムで同一の選択性が示されています。これは、選択性がカラムの長さや内径ではなく、粒子表面の性質に関係するためです。粒子径間での選択性が均一で、拡張性が高いという特長は、Eclipse PAHの堅牢性に寄与しています。

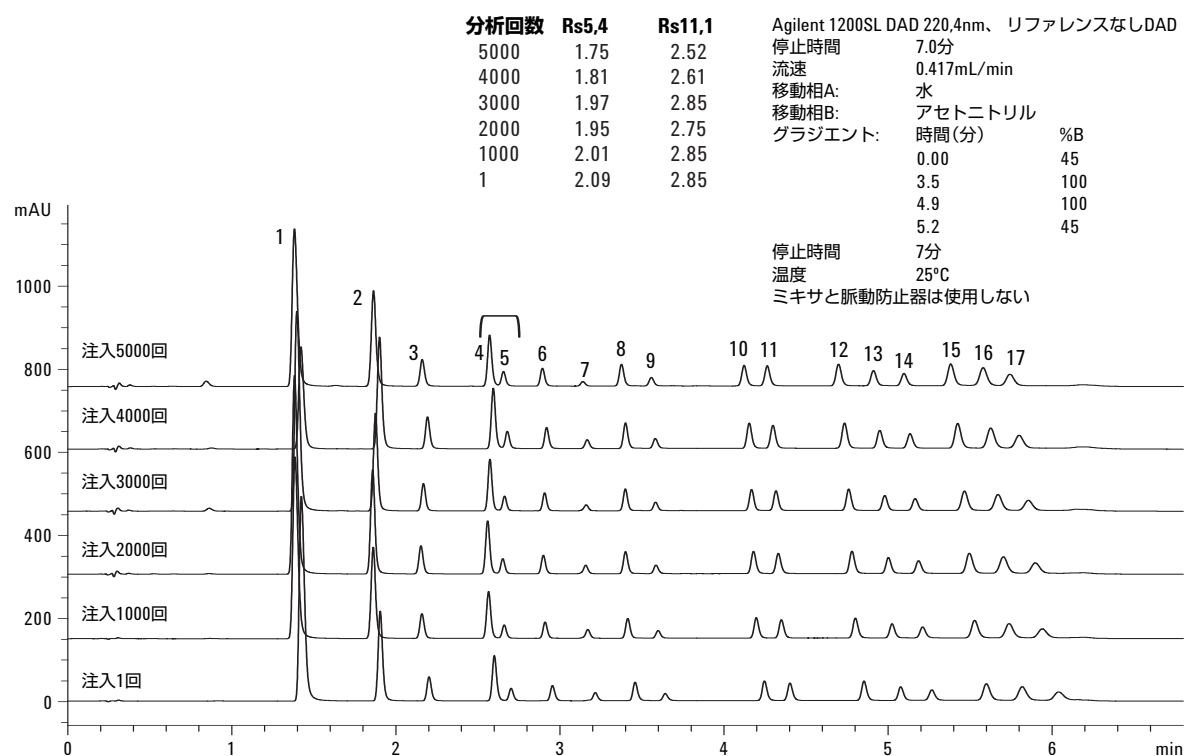


図3. Eclipse PAH 2.1 x 5 mm、1.8µmの寿命テスト。ピークの説明については、実験のセクションを参照。

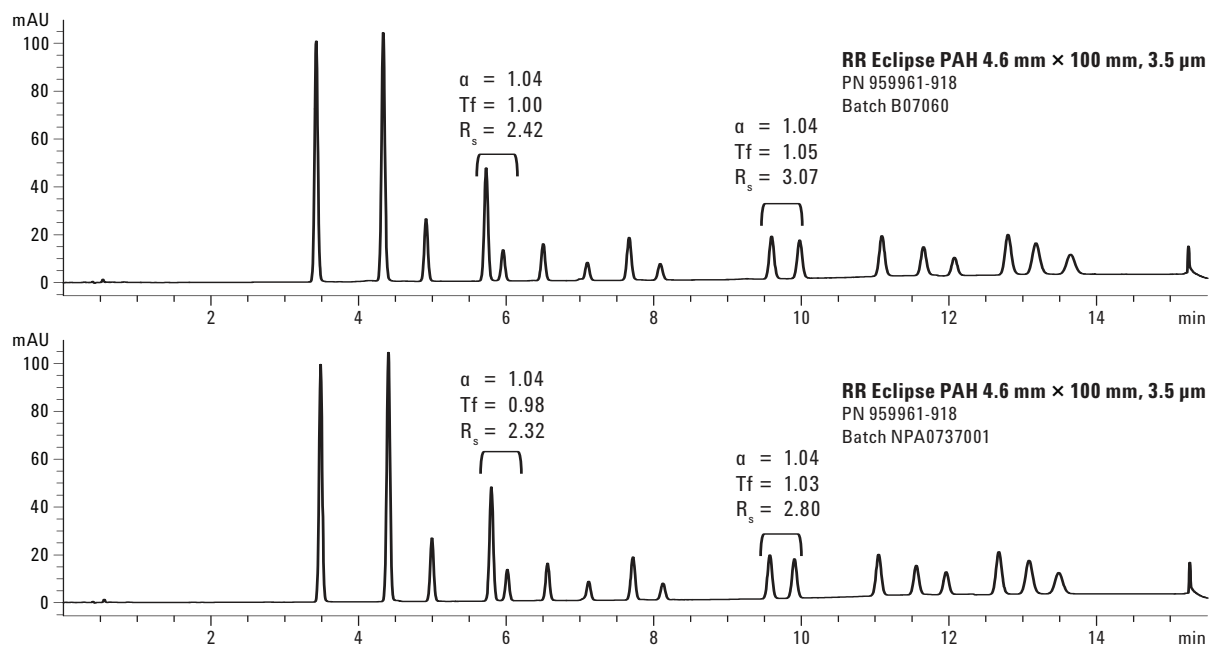


図4. Eclipse PAH 3.5μm粒子のバッチ間再現性

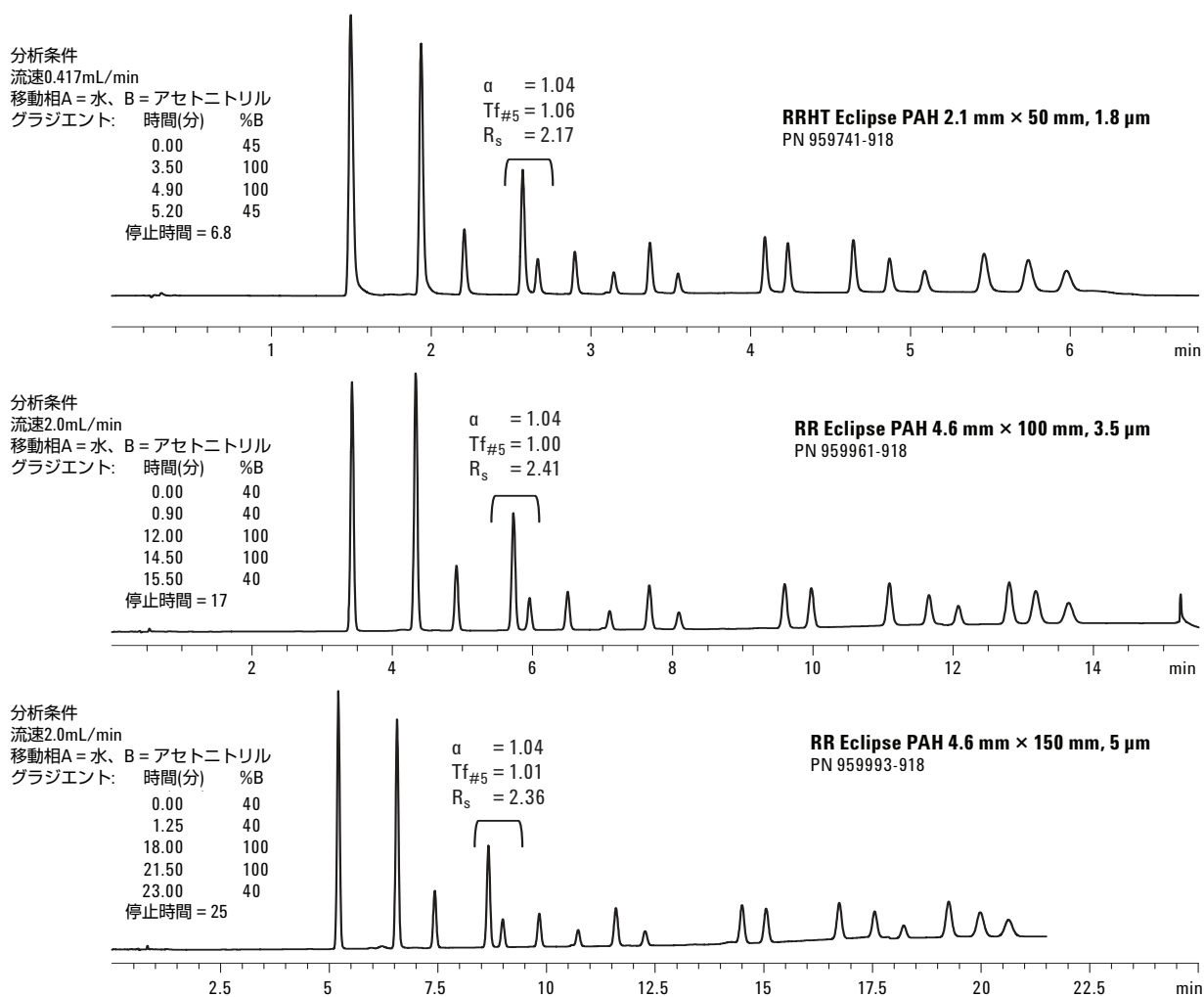


図5. 粒子径およびカラム寸法の異なるPAHカラムの拡張性

結論

Eclipse PAHは、さまざまなPAH分析に適した堅牢なカラムです。本研究で、その寿命の長さ、再現性、拡張性が証明されました。多彩なカラム構成のEclipse PAHカラムは、メソッドの最適化にもっとも適したカラムです。Eclipse PAHの豊富なカラム寸法により、サンプルのサイズ、マトリックス、検出器の種類、分析速度、分離能の要件、溶媒の消費量などに応じて、メソッドをカスタマイズすることが可能です。

参考文献

1. “ディレイボリウム低減によるハイスループットグラジェントの最適化” Agilent Publication 5989-6665JAJP (2007)
2. Appendix A to Part 136, Methods for Organic Chemical Analysis of Municipal and Industrial Wastewater, Method 610 Polynuclear Aromatic Hydrocarbons, United States Environmental Protection Agency

詳細情報

当社の製品およびサービスの詳細情報については、当社のホームページwww.agilent.com/chem/jpをご覧ください。

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

また、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。本書に記載されている情報、説明、および仕様は予告なく変更されることがあります。

© Agilent Technologies, Inc. 2008

Printed in Japan
January 18, 2008
5989-7828JAJP



Agilent Technologies