

# OpenLAB CDS による効率的なデータ確認

## テクニカルノート

### はじめに

分離技術は大きく進歩しており、クロマトグラフィーの分析時間は大幅に短縮されています。超高速液体クロマトグラフィー (UHPLC)、2  $\mu\text{m}$  未満の粒子サイズに対応する LC カラム、およびデュアルカラムガスクロマトグラフィー (GC) システムを採用することにより、大量のクロマトグラフィーデータを収集することが可能になります。その結果としてラボでは、非常に大量のクロマトグラフィーデータセットを処理して確認する必要が生じています。このデータセットには、何千ものピークが含まれている場合もあります。一般的なデータ確認作業では、クロマトグラム、ベースライン作成とピーク積分、検量線、および計算結果をマニュアルで判定して、データが仕様内に収まっていることを確認します。また、生産工程に悪影響を与えるようなインシデントや異常が発生した場合には、問題を短時間で解決するためにこれらのデータを即座に調査する必要があります。同時にこれらの要素は、データの確認と視覚化の効率を高めるために欠かせないものです。

OpenLAB CDS のデータ解析機能の 1 つであるピークエクスプローラでは、ピークの傾向、ピークの欠落または付加、リテンションタイムのシフト、異常な積分、外れ値、不自然な結果を検出するための新しい手法を用いて大量のデータセットを調査および視覚化することにより、複雑なサンプルデータを短時間で確認できます。またピークエクスプローラによって、メソッド開発時にデータを迅速に評価できます。



## 視覚化機能

人間の目には高度な機能が備わっており、データセットが大量であっても適切に表示されてさえいれば、その中から異常値を識別することができます。ピークエクスプローラは、クロマトグラフィーデータを人間の目で識別できるように形式で最適化して表示するように設計されています。

図1に示すように、ピークエクスプローラにはすべてのピークが複雑なクロマトグラフィーデータセット形式(左側)およびバブルチャート形式(右側)で表示されるため、異常値を簡単に見つけることができます。X軸はリテンションタイム、Y軸はロードされたデータセットの注入データを示しています。表示されているバブルの大きさは、ピークサイズに関連してユーザーが選択した固有の値を表しています。この値としては、面積、高さ、面積%、高さ%、幅、容量、濃度を選択することができます。図2に、表示する値としてピーク面積を選択した場合のバブルチャートを示します。

ピークエクスプローラのデータ視覚化機能は高度にカスタマイズ可能で、表示する項目とその表示方法を選択できます。デフォルトでは、表示されているすべてのピークの最小値から最大値までが線形補間されて表示されます。ただし、この設定は有効または無効にすることができます。特定のバブルをクリックするとツールチップが表示され、特定のピークまたは選択した注入に関する詳細な情報を確認できます(図2に青色の線で表示)。同定されたピークはオレンジ色、同定されていないピークは青色で表示されます。



図1. クロマトグラム表示(左側)とピークエクスプローラ表示(右側)の比較



図2. ピークエクスプローラによる詳細なデータ表示。X軸はリテンションタイム、Y軸はロードされたデータセットの注入データを示しています。バブルの大きさはピーク面積を示しています。

図3に示すように、付加したピーク(緑色のボックス)、欠落したピーク(赤色のボックス)、正しく同定されていないピーク(青色のボックス)が非常に簡単に検出されます。この際、すべての注入にわたって数秒以内に、クロマトグラムのフィンガープリントが比較されます。データセット内に何千ものピーク、「隙間」、パターンが存在する場合でも容易に検出できます。

また図4に示すように、濃度対リテンションタイムの関係によりバブルチャートの結果を表示する際には、検出器による応答と特定の化合物を簡単に視覚化して比較します。この例では、電子捕獲型検出器(ECD)により3.5分周辺で化合物が検出されていますが、窒素リン検出器(NPD)では検出されていません。このことから、2つの検出器には選択性が存在し、分析にはその両方が必要であると言えます。

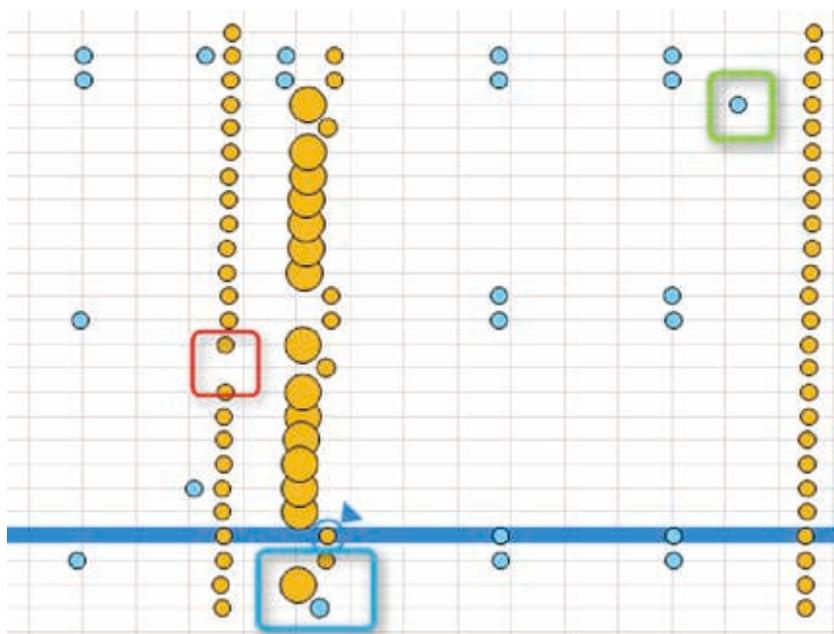


図3.ピークエクスプローラの表示により、付加したピーク(緑色のボックス)、同定されていないピーク(青色のボックス)、および欠落したピーク(赤色のボックス)を即座に検出することができます。

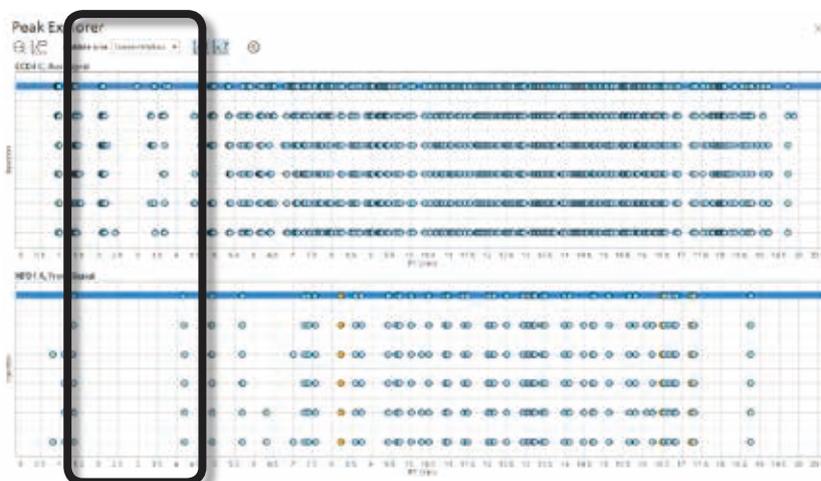


図4.ピークエクスプローラの表示により、検出器の応答を簡単に視覚化できます。上: ECDの応答。下: NPDの応答。

## リテンションタイムのシフト - 問題はポンプにあるのかカラムにあるのか

正確で再現性の高い結果を得るには、LC または GC システムの安定性が重要になります。リテンションタイムは化合物のクロマトグラフィー特性を示す基本的な定量測定値であり、リテンションタイムの安定性はシステムの再現性を測る 1 つの重要なパラメータです。リテンションタイムのシフトは、カラムの取り扱いに関わるルーチン作業が原因で発生します。複数の機器を用いてメソッドを繰り返し実行しているラボにおいては、外見上同一の条件下で分析を実行している場合でも、機器ごとのリテンションタイムは互いに異なっています。リテンションタイムが異なっていると、機器間および経過時間によるデータの比較も複雑になります。

リテンションタイムの再現性を判別する方法はいくつかあります。1 つは、一連の注入における化合物のリテンションタイムの相対標準偏差 (RSD) を計算する方法です。もう 1 つは、図 5 に示すように、クロマトグラムの重ね書きにより視覚的に比較する方法です。

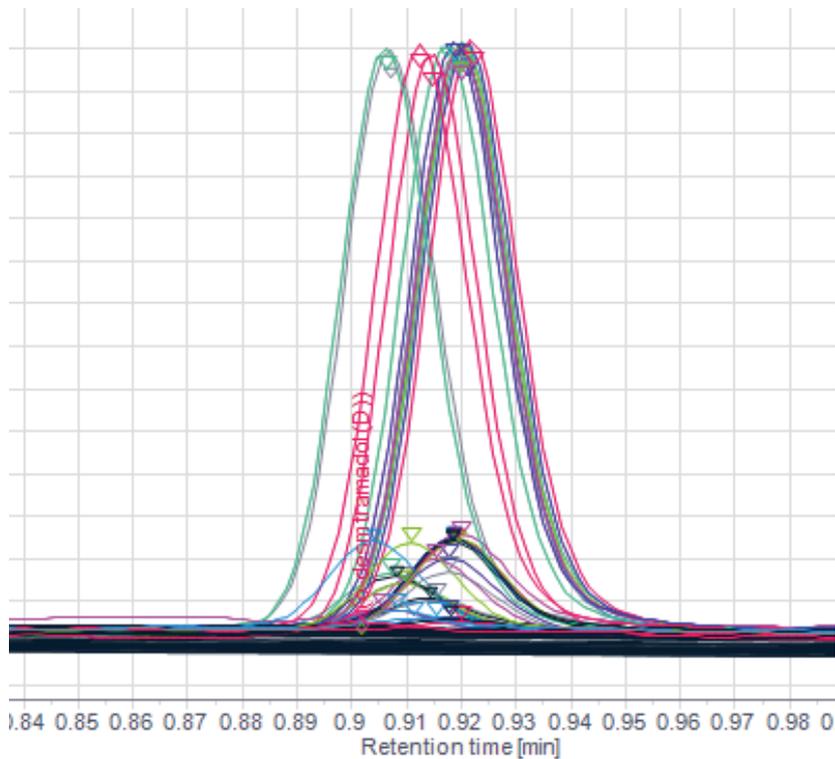


図 5. クロマトグラフィーの重ね書きにより、リテンションタイムの再現性を視覚的に確認することができます。

いずれの手法でもシステムの安定性を示すことはできますが、いずれの場合も不安定性の原因に関する手がかりは得られません。LCのリテンションタイムが不安定になる原因として考えられるのは、ポンプ内の空気、溶媒の混合上の問題、カラムの状態です。ピークエクスプローラではリテンションタイムの安定性が独自の手法で表示されるため、不安定性の原因を短時間で特定することができます。

図6では、一連の注入において化合物の溶出が徐々に早くなっているように見えます。特定のピークを拡大することにより、化合物のリテンションタイムが不安定であることが明確に示されます。溶出が早くなるということは、カラムまたは溶媒の混合に問題があることを示しています。一般的に、ポンプ内の空気が原因でリテンションタイムが不安定になる場合には、溶出が早くなったり遅くなったりする傾向は見られません。ピークを重ね書きするか、またはRSDを計算する場合、この傾向が見逃されてしまう可能性があります。カラムおよび溶媒の混合の修正に注目することによりトラブルシューティングが短時間で実行できるため、クロマトグラフィーシステムを即座に稼働状態にしてサンプルを再度分析できるようになります。

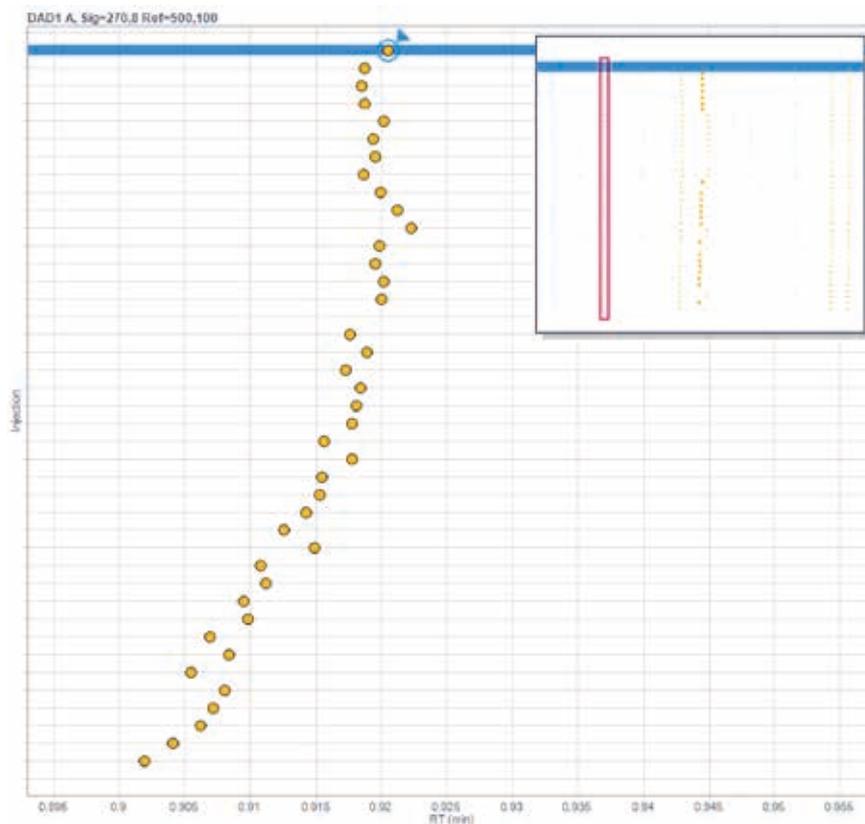


図6.1つの化合物のピークを拡大すると、一連の分析におけるリテンションタイムの変化が明確に表示されます。

## 正確なピーク積分を短時間で容易に実行

すべてのピークが正確に積分されているかを確認するというのは、煩雑なデータ確認作業です。一般的に「正確に積分されている」とは、ピークが標準メソッドの規定どおりに積分されているという意味です。さらに、ノイズやドリフトにより注入間でベースラインが変化している場合でも、ピークは一貫して積分されている必要があります。ピークエクスプローラを使用しない場合は、時間のかかる手作業によって積分を確認する必要があります。

ピークエクスプローラを使用すると、この手作業が必要なくなります。図7に示した例では、バブルの大きさを定義する値は最初ベース幅に設定されており、表示されているすべての注入でピークのベースラインの割り当てが同じであるかどうかを簡単に確認できます。外れ値のいずれかを選択すると、自動的に「ピーク詳細」に拡大されたピークが表示されます(図8)。積分の問題については、解析メソッド内で積分パラメータを変更するか、またはマニュアル積分ツールを用いてベースラインを修正することにより簡単に解決できます。

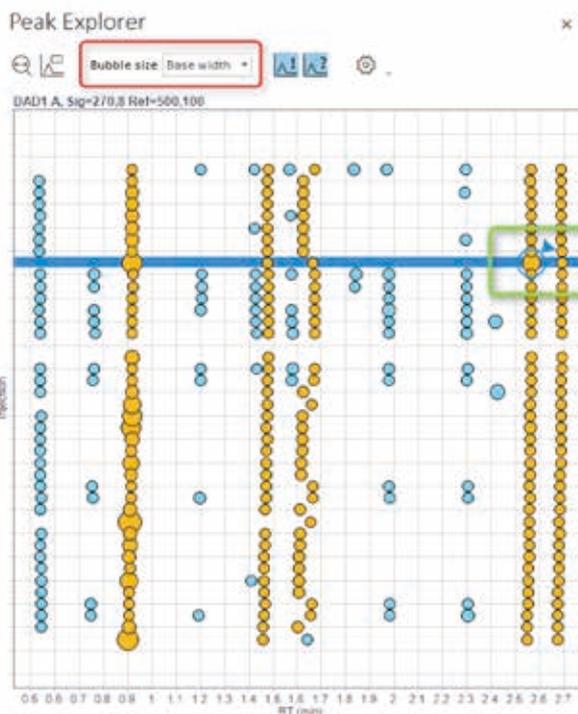


図7. ピークエクスプローラにより、適切に積分されていないピークを即座に同定することができます。バブルの大きさはピークのベース幅を反映するように設定されています(赤色のボックス)。外れ値を選択して詳細を確認することもできます(緑色のボックス)。

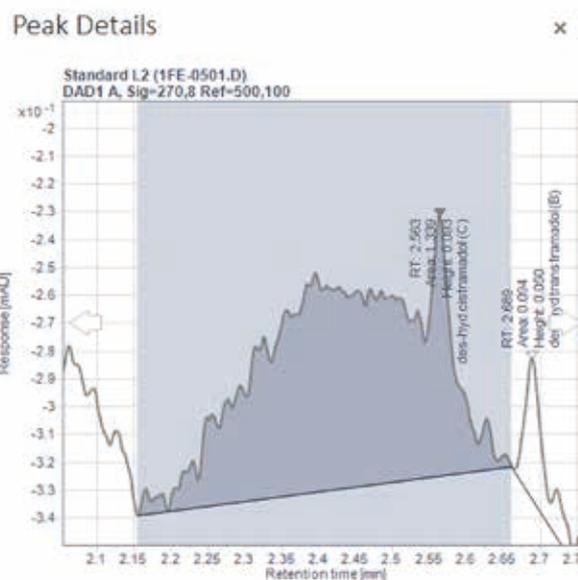


図8. 「ピーク詳細」ウィンドウに、選択した外れ値の積分が表示されます。進むまたは戻る矢印を用いて、次のピークまたは前のピークを確認して比較することができます。

## メソッド最適化データを短時間で確認

クロマトグラフィーを最適化する場合、大量のデータセットが生成されている何百もの注入が必要になることがあります。ピークエクスプローラと LC メソッドスカウティングウィザード (OpenLAB CDS ChemStation Edition のアドオン) を組み合わせて使用すると、化合物を最適に分離するために適した溶媒、pH、およびカラムを簡単に見つけることができ、分析時間も最短になります。ピークエクスプローラには図 9 のように、分離の概要が表示されます。特定の注入から 1 つのピークを選択すると、LC メソッドスカウティングウィザードの設定に従って、「サンプル情報」ウィンドウに分析条件が表示されます (図 10 を参照)。非常に大きなバブルはピーク面積が大きいことを示しています。メソッド最適化実験の結果は、OpenLAB CDS で事前に定義されたレポートテンプレートを用いて要約できます。

## 結論

ピークエクスプローラは OpenLAB CDS が提供するすべての機能と組み合わせることにより、複雑なサンプルを大量に処理するラボにおいてサンプルのスループット向上を実現できるように設計されています。ピークエクスプローラによって、複雑なデータセットをより効率的に確認できます。クロマトグラフィーのデータと結果を同時に表示することにより、不自然な結果、外れ値、パターンを短時間で容易に検出できます。異常値が検出された場合でも、ピークエクスプローラではデータを詳細に分析して問題の原因を判別する作業が簡単に実行できるため、修正も即座に行えます。

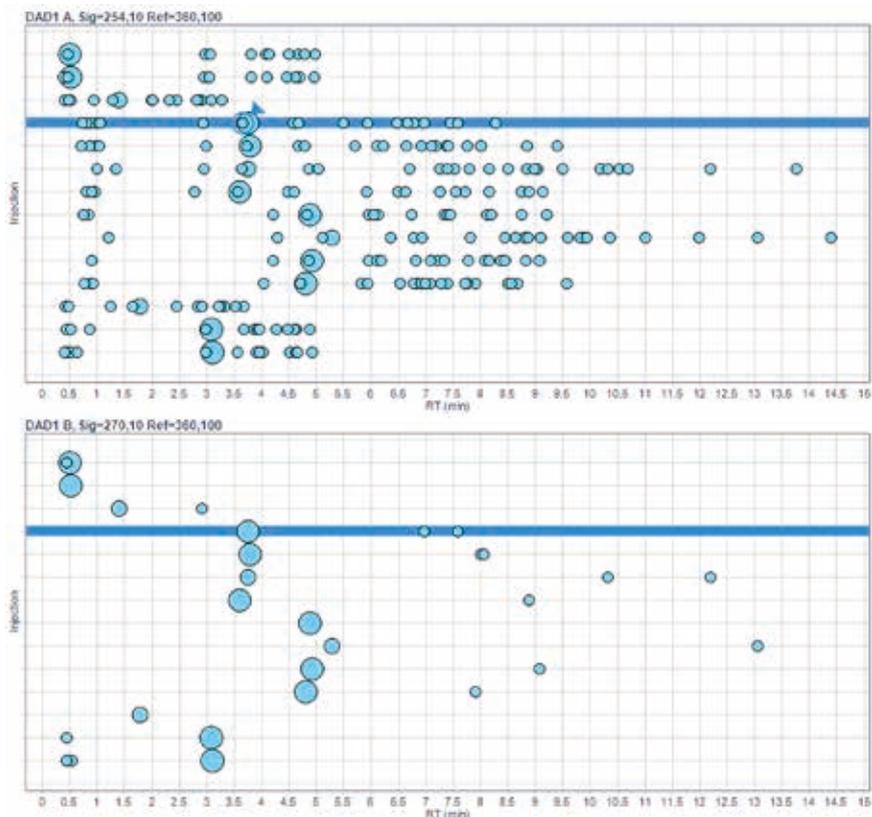


図 9. ピークエクスプローラと LC メソッドスカウティングウィザードを組み合わせることにより、複数の信号が取り込まれている場合でも最適化実験の結果を即座に確認できます。

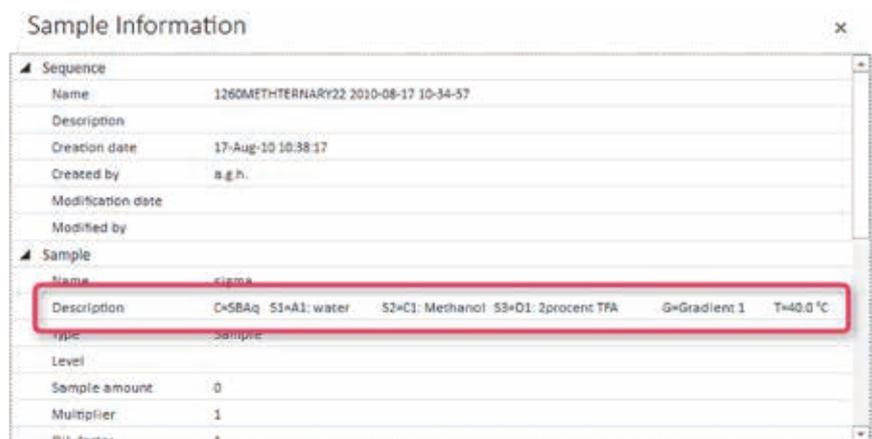


図 10. 図 9 に示す特定の注入から 1 つのピークを選択すると、「サンプル情報」ウィンドウに分析条件が表示されます。

ホームページ

**[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)**

カスタムコンタクトセンター

**0120-477-111**

**[email\\_japan@agilent.com](mailto:email_japan@agilent.com)**

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。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。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2016

Printed in Japan, June 16, 2016

5991-7058JAJP



**Agilent Technologies**