

ハイスループット HPLC を用いた 工業原料中のビスフェノールの プロセスモニタリング アプリケーション

プロセス制御

著者

John W. Henderson, Jr. and William J. Long
Agilent Technologies
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1610
USA

Stephen Fetsko
Badger Licensing, LLC
1 Main Street
Cambridge, MA 02142
USA

要旨

クロマトグラフ手法によるビスフェノール-A の製造プロセスモニタを、Agilent RRHT Eclipse XDB-C18 カラムを使用して改良しました。これらのカラムでは、従来の 3.5- μm または 5- μm 粒子に代えて、1.8- μm 粒子を使用しています。改良された方法では、7 倍の高速分析が可能になり、分離が改良され感度が高くなりました。

はじめに

ビスフェノール-A (図 1) は汎用性の高い原料で、現代の多くの製品を製造する際に使用されます。これは、

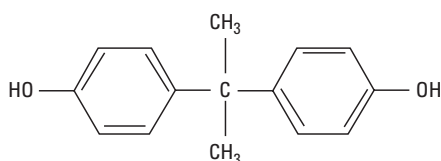


図 1. ビスフェノール-A

4,4'-イソプロピリデンジフェノール、4,4'-(1-メチルエチリデン)ビスフェノール、または単に BPA としても知られています。

毎年、280 万トンの BPA が生産されます。BPA は、ポリカーボネート樹脂とエポキシ樹脂の構造単位です。ポリカーボネート樹脂は、その耐擦傷性、光学的透明度、耐熱性、および電気絶縁性をその特長としています。これらの特性のため、めがね類、CD/DVD ディスク、電子機器、食品容器、飲料容器などに使われています。エポキシ樹脂は、化学的不活性、耐薬品性、および接着性、成形性の良さといった性質を併せ持つため、保護コーティングに使用されています。例えば、金属製の食品用缶詰は、風味を保つために内部をコーティングされています。エポキシ樹脂は、歯科用シーラントおよび歯科用複合材料の成分としても、表面仕上げ剤や充てん物に水銀アマルガムの代替材料として使用されています。その他の用途としては、殺菌剤、ポリマーの酸化防止剤、自動車の部材、電気機器の部材などがあります。

BPA は、フェノールとアセトンを経過酸媒で縮合させて合成されます。縮合反応中に、多数のフェノール性副産物も発生します。HPLC は、商用 BPA プラントでプロセス中に生成する多くの化合物の定量に使用されています。

ここでは、商用 BPA プラントで使用される HPLC メソッドの 1 つを改善するための新しい HPLC カラムテクノロジーについて解説します。



Agilent Technologies

メソッドの最適化と拡張性

既存の HPLC メソッドは十分に検証されで頑健でしたが、複雑でした。そこで元のメソッドをベースにし、もっと簡単なメソッドパラメータで類似のクロマトグラムが得られるメソッドを探しました。多数のクロマトグラフのパラメータを変更するという難題のため、メソッドを本質的に再開発し、分析時間を短縮するため、これらの実験に $4.6 \times 50\text{-mm}$ 、 $1.8\text{-}\mu\text{m}$ の Eclipse XDB-C18 カラムを選びました。粒子径の小さい充填剤を充填した短いカラムは分析を高速化し、しかも粒子径の大きい充填剤を充填した長いカラムと同等の分離能を維持できるカラム効率を持っています。数回の試行の後、オリジナルのメソッドと同等のクロマトグラムが得られるメソッドを開発しました。短い分析時間は、ラピッドレゾリューションハイスループット (RRHT) テクノロジーの持つ主要な利点です。10 回程度の試行的な分析をするだけで、通常分析サイズのカラムを使用すると丸 1 日分の作業時間 (1 分析あたり 50 分) がかかってしまいましたが、RRHT カラムを使用すると一連の分析を約 1 時間 (1 分析あたり 7.5 分) で終わることができます。

段階的にカラムのサイズを $4.6 \times 250\text{-mm}$ まで大きくしました。図 2 には、内径 4.6-mm で異なるカラム長と粒子径の 3 つのカラムでサンプルを分析したクロマトグラムを上下に並べて示します。注入量はカラム長さに比例して変化させました。ZORBAX の粒子径が小さくなるほど、分析速度が上がっていますが、分離能はそのまま保たれています。事実、RRHT カラムでは、カラム長さが短いにもかかわらず分離能は向上しています。

このメソッドが容易にスケールアップまたはスケールダウンできる 1 つの理由は、均一な球状の Eclipse XDB-C18 充填剤にあります。つまり知財技術による粒度分布コントロールであり、これは表面状態と孔径が制御された ZORBAX シリカを基にしています。独自の技術で製造される堅牢な充填剤と実績のあるカラム製造技術によって、同じクロマトグラム性能の再現性のあるカラムが、カラムの大小に拘らず一貫した高い歩留まりで製造されます。

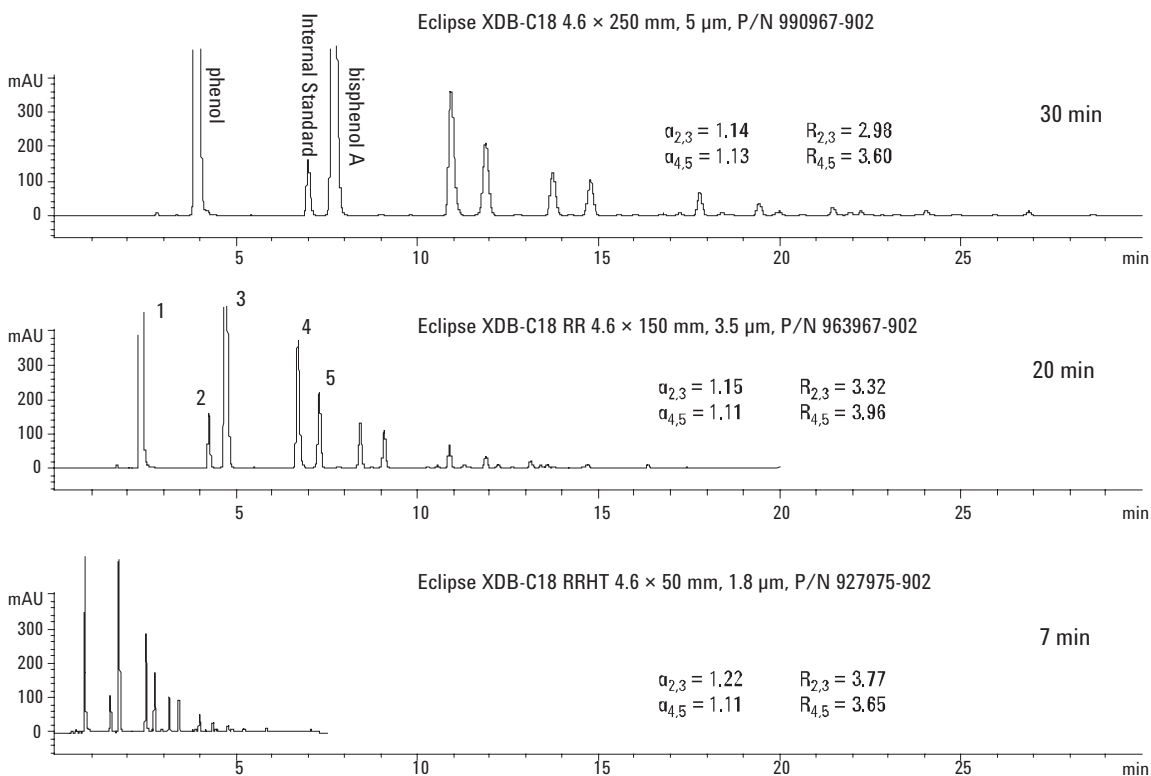


図 2. RRHT カラムでは、分析スピードと分離能の両方が向上している

粒子サイズは分離能に影響を及ぼします。これは、同じ寸法のカラムを3種類の異なる粒子径の充てん剤で比較すれば分かります。図3には、異なる粒子径のEclipse XDB-C18 カラムを使用することにより、高速化したビスフェノール-Aの分析を示します。分離度(Rs)は、次式のように、選択性(α)、カラム効率(N)、および保持比(k')の関数です。

$$R_s = (1/4)(\alpha - 1) \sqrt{N [k' / (1 + k')]}$$

選択性の項に影響を与える係数(固定相、移動相)と保持比の項に影響を与える係数(移動相、温度)は、3つ

のクロマトグラムについては同一です。カラム効率の項は、カラム長、移動相の線速度(両方とも同一)、および粒子サイズ(図3では異なっている)の影響を受けます。粒子径が小さくなるほどNの値が大きくなります。図3で、選択係数(α)と保持比はほぼ同じですが、分離能は実際に増加しています。この粒子径を小さくすることによる分離能の向上は、粒子径の小さい充てん剤を使用するメリットです。選択性と保持比がほぼ同じであることは、メソッドのスケール変更にZORBAX Eclipse XDB-C18 カラムが適していることを示し、特により迅速でハイスループットなメソッドへの移行が可能になります。

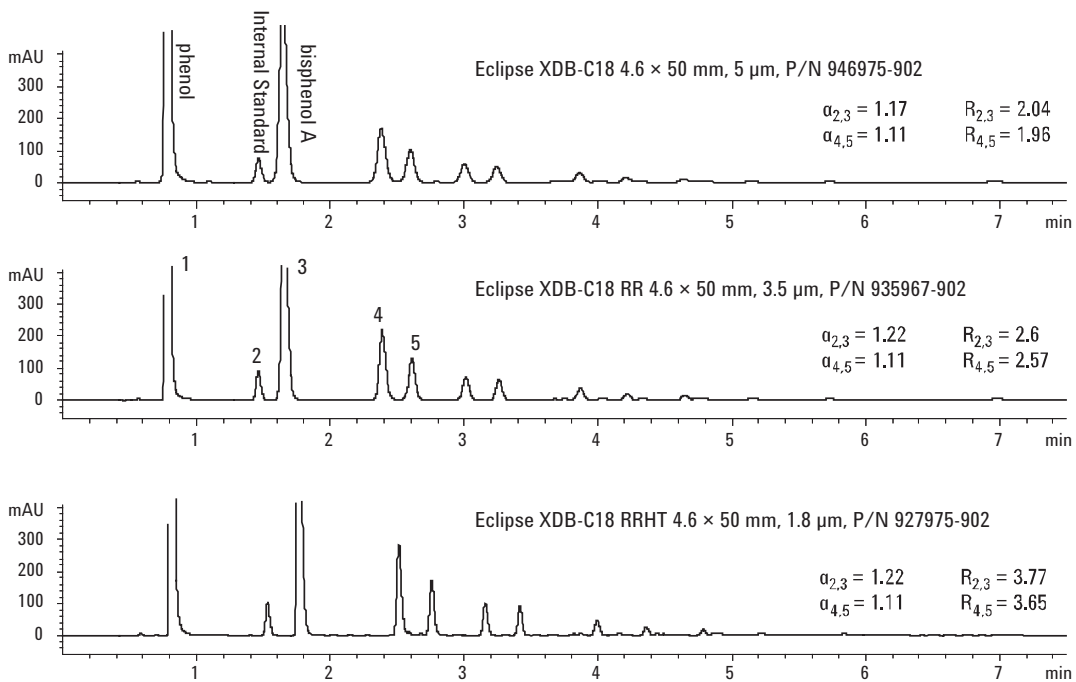


図3. 粒子サイズが分離能と選択性に及ぼす影響

既存のメソッドと RRHT メソッドの比較

図 4 では、BPA の分離をオリジナルメソッドと RRHT によるメソッドとで比較しています。上のクロマトグラムは、オリジナルメソッドの分析例、下は RRHT メソッドの分析例です。新しいカラム技術で開発されたメソッドは、明らかに生産性が向上しています。

分析時間は少なくとも 1/6 に短縮され、溶媒消費量は

約 1/12.5 に削減されました（1 分析あたり 100-mL から 7.5-m L に減少）。興味深いことに、ビスフェノール-A のピーク形状は、オリジナルメソッドで使用している C18 カラムに比べて、Eclipse XDB-C18 では対称性がより優れています。Eclipse XDB-C18 カラムから溶出するピークの端正なガウスピーク形状は、ピークを正確に定量する上で重要です。グラジエントの単純化や 2 液の移動相など、他のメソッドの改良点を表 1 に記載しました。

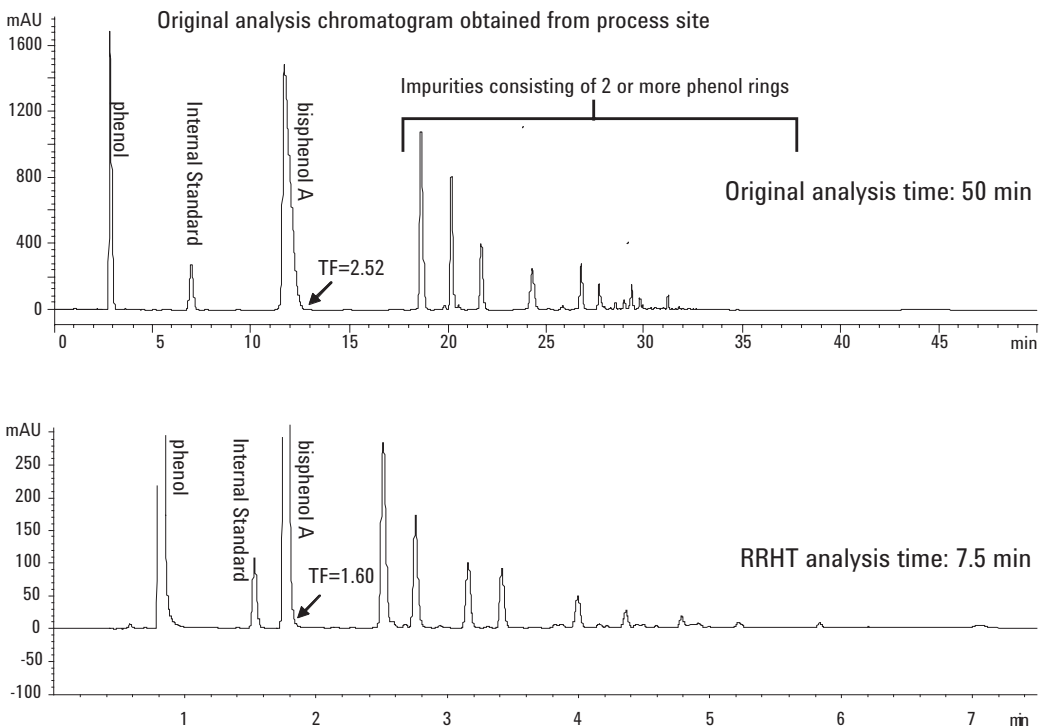


図 4. オリジナルメソッドと RRHT メソッドとの比較

表1. 既存のメソッドと改良されたメソッドのパラメータ比較

オリジナル		RRHT	
<ul style="list-style-type: none"> ・ カラム: Supelco LC-18, 4.6 × 250 mm, 5 μm ・ 移動相: A: 0.025% H₃PO₄, B: ACN, C: MeOH ・ 流量: 2 mL/min ・ 温度: 35 °C ・ 試料注入量: 20 μL ・ グラジエント: セグメント、アイソクラティックホールドを含む 		<ul style="list-style-type: none"> ・ カラム: ZORBAX XDB-C18, 4.6 × 50 mm, 1.8 μm ・ 移動相: A: 0.1% formic acid, B: ACN, MeOH (200:800) ・ 流量: 1 mL/min ・ 温度: 25 °C ・ 試料注入量: 2 μL ・ グラジエント: リニア、アイソクラティックホールド無し 	
Time	% A:B:C	Time	% B
0	65:25:10	0	60
13	65:25:10	6	95
18	50:40:10	6.01	60
23	50:40:10	8	60
27	30:50:20		
32	0:70:30		
35	0:70:30		
36	0:60:40		
40	0:50:50		
43	0:20:80		
48	65:25:10		

結論

既存のメソッドをハイスループットメソッドに変換するのは、ラボの生産性を向上させるひとつの方法です。また、メソッド開発の初期に RRHT カラムを使用すると、メソッド開発の効率が向上します。Eclipse XDB-C18 RRHT カラムは、C18 による既存のメソッドをハイスループットメソッドに変換する場合に適した選択です。粒子径の小さい充填剤を充填した短いカラムは、粒子径の大きい充填剤を充填した長いカラムと同等以上の分離能が得られ、分析時間も数分の一に短縮できます。RRHT カラムは、グラジエントメソッド開発にも有利です。グラジエントの再平衡化に要する時間は、トータル分析時間の中でかなりの時間を占めているにも拘らず、しばしば見落とされています。Agilent RRHT カラムで開発されるメソッドは、極めて均質な粒子、化学結合相を持つ充填剤、およびカラム製造技術のため、スケールアップ、スケールダウンが容易です。「従来の分析サイズ」のカラムで開発された既存のメソッドは、Eclipse XDB-C18 RRHT カラムを使用したハイスループットメソッドに簡単に変換できます。RRHT カラムのメソッドは分析サイズのカラムまで段階的にスケールアップして、各種カラムの寸法と粒子径で予測どおりの結果が得られました。結果を予測できることは、Eclipse XDB-C18 RRHT カラムの特長であり、アプリケーションを改良して、ハイスループットで高分離能なアプリケーションへの移行を容易にしています。

詳細情報

弊社の製品とサービスに関する詳細情報は、弊社のホームページ、www.agilent.com/chem をご覧ください。

Agilent は、万一この資料に誤りが発見されたとしても、また、本資料の使用により付随的または間接的に損害が発生する事態が発生したとしても一切免責とさせていただきます。

本資料に記載の情報、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。

© Agilent Technologies, Inc. 2006

Printed in Japan
July 26, 2006
5989-5231JAJP