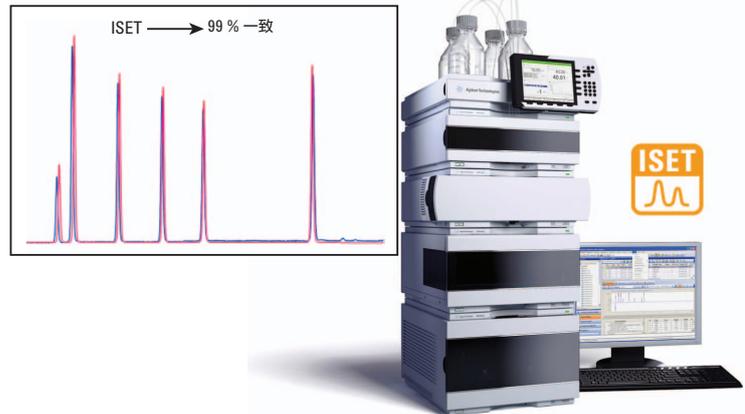


# インテリジェントシステム エミュレーション技術 (ISET) による Agilent 1100/1200 シリーズ LC から Agilent 1290 Infinity LC への シームレスなメソッド移管

## 技術概要

### 著者

A.G.Huesgen  
Agilent Technologies, Inc.  
Waldbronn, Germany



### 概要

インテリジェントシステムエミュレーション技術 (ISET) は、他の LC 装置で検討を行った分析条件を、最新の Agilent 1290 Infinity LC でもメソッド変更を行うことなくそのまま適用させることができる画期的な技術です。この技術を備えた Agilent 1290 Infinity LC は、オリジナルメソッドに変更を加えずに従来の HPLC メソッドと同じクロマトグラフィー分析結果を提供するとともに、新規の案件に対しては最新の UHPLC で条件検討を行うことができる、汎用性の高い世界初の LC システムです。

この技術概要では、Agilent 1100 シリーズクォータナリ LC システムのメソッドを、Agilent 1290 Infinity LC に簡単に移管できることを実証します。オリジナルメソッドに変更を加える必要はありません。ISET 機能を実行するだけで、同じリテンションタイムと分離結果が得られます。



**Agilent Technologies**

## はじめに

分析メソッドやカラムが全く同じであっても、機器の機種が変わることでリテンションタイムや分離能が変わることがあります。このような場合、分析の条件検討を再度行う必要がありますが、分析法の規制が厳しくてメソッドを変更できないという問題に直面することも多々あります。しかしアジレントでは、シームレスなメソッド移管が実現しています。例えば、Agilent 1100 シリーズ、Agilent 1200 シリーズ、Agilent 1220/1260 Infinity LC から Agilent 1290 Infinity LC への移管が可能です。Agilent 1290 Infinity LC の ISET 機能を使えば、オリジナルメソッドに変更を加えずに、シームレスに LC メソッドを移管することができます<sup>1</sup>。新たにバリデーションされたメソッドを他の部署に移行した場合も、元のメソッドを変更せずに Agilent 1290 Infinity LC の持つスピード、分離能、感度を最大限に活用することが可能です。メソッドを開発する際には、UHPLC の性能を最大限に発揮した迅速分析法を開発できるほか、目的の機器をエミュレーションすることで新メソッドを微調整し、メソッドが意図したとおりに機能していることを確認することができます。

この技術概要では、以下のことを説明しています。

- ISET の設定方法
- ISET による Agilent 1100 クォータナリ LC システムから Agilent 1290 Infinity システムへのメソッド変換
- リテンションタイム、分離能、精度などの比較結果

## 実験手法

表 1 に、使用した機器を掲載します。

## クロマトグラフィー条件

化合物: ウラシル、フェノール、メチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベン、ブチルパラベン、ヘプチルパラベン (シグマ社製 HPLC グラジエントシステム診断用ミックス (p/n 48271))

カラム: Agilent ZORBAX SB C18、4.6 x 150 mm、5 μm (p/n 7995218-595)

移動相: 水/アセトニトリル

グラジエント: 10 分で 20 % から 95 %

流速: 1 mL/min

分析時間: 12 分

ポストタイム: 5 分

カラム温度: 30 °C

注入量: 5 μL

DAD: 250/10 nm  
Ref. 360/100 nm、10 Hz

## 結果と考察

### ISET のパラメータ画面

図 1 に、ISET 搭載 Agilent 1290 Infinity ポンプのメソッド画面を示しています。ISET を起動させるには、*Enable ISET* (ISET の有効化) を選択します。この画面では、Agilent 1290 Infinity LC でエミュレーションする、オリジナルのポンプとオートサンブラの正しい製品番号を入力する必要があります。その後、流速やグラジエントのタイムテーブルなど、他のすべてのオリジナルメソッドのパラメータを入力します。微調整オプションを使えば、

モジュール	Agilent 1100 LC 製品番号	ISET 搭載 Agilent 1290 LC 製品番号
ポンプ	G1311A、2003 年製造	G4220A
オートサンブラ	G1313A	G4226A
オートサンブラ用 サーモスタット		G1330B
カラムコンパートメント	G1316A	G1316C
検出器	G1315B	G4212A
Chemstation	バージョン C 01.03 (26) および ISET バージョン 1.0 が必要	

表 1  
使用機器

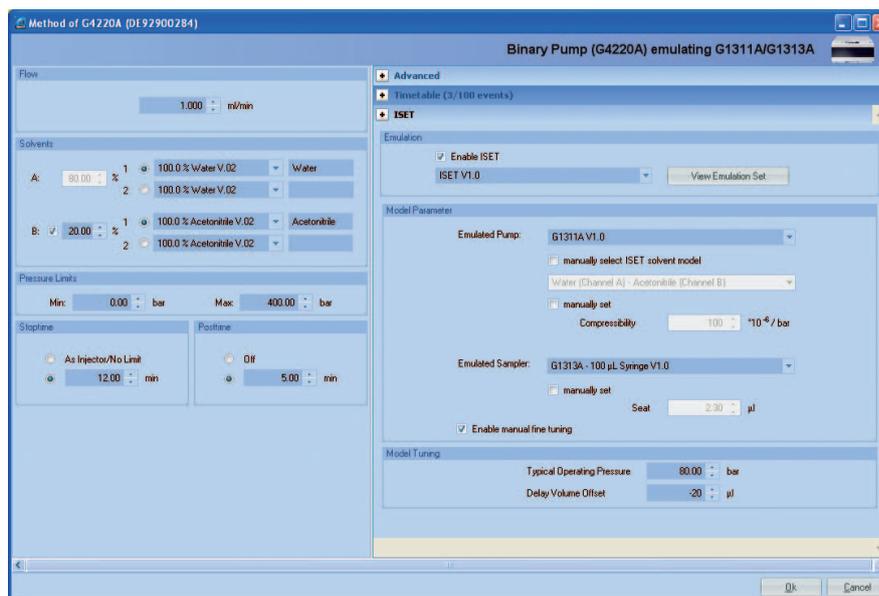


図 1  
ISET を有効化した時のポンプメソッド画面

オリジナルクロマトグラムと、ISET を有効化した Agilent 1290 Infinity LC で得られたクロマトグラムの一致度をさらに最適化することができます。

UHPLC システムではディレイボリュームとトランジションボリュームが大幅に小さくなることから、従来の機器から UHPLC システムへ単純にメソッドを移管すると、図 2 のように異なるクロマトグラムが示されます。

このような問題を解消するためには、通常 2 つの解決策が用いられます。1 つはグラジエントの前に一定時間のアイソクラティック状態を追加する方法、もう 1 つはチューブを長くしてディレイボリュームを大きくする方法です。しかし、どちらの方法も補正できるのはディレイボリュームだけで、全体のグラジエントや分析時間などの全体的な挙動 (トランジションボリューム、ミキシング性能など) は補正されません。補正を行わなければ、リテンションタイムの変動は 9 % 以上になり、メチルパラベンの分離能は、どの UHPLC システムを用いても 70 % 以下になります (図 3)。

### Agilent 1100 クォータナリ LC システムからのメソッド移管

Agilent 1100 シリーズクォータナリ LC は 2003 年に製造され、充てん剤の粒子径が 5  $\mu\text{m}$  の 4.6 x 150 mm カラムを用いたメソッドにも適用されています。

今回の検討で用いたグラジエント条件は有機溶媒濃度 20 % で開始し、10 分で 95 % になります。総分析時間は 12 分で、ポストタイムは 5 分です。

このメソッドを、Agilent 1100 シリーズクォータナリ LC、ISET を有効化していない Agilent 1290 Infinity LC、ISET を有効化した Agilent 1290 Infinity LC、ISET を有効化に加えて微調整パラメータを用いた Agilent 1290 Infinity LC に適用しました (図 4 参照)。

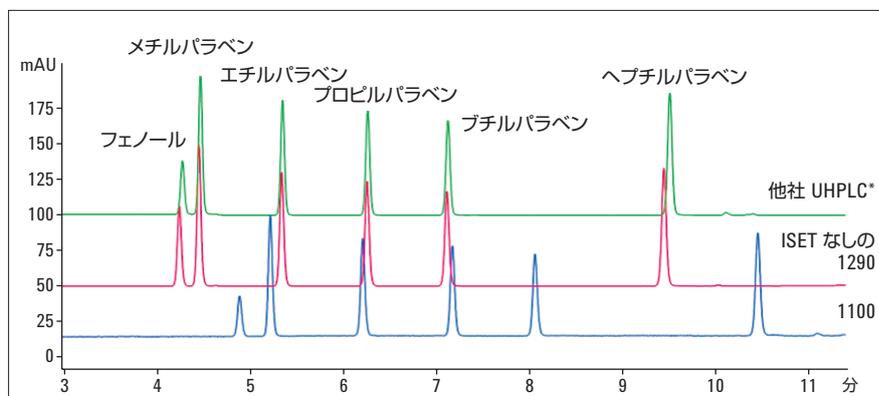


図 2 2 種類の UHPLC システムを用いた従来メソッドの変換  
\*カラムコンパートメントが小さすぎるためカラムがフィットせず、弱洗浄と強洗浄を慎重に行う必要がありました

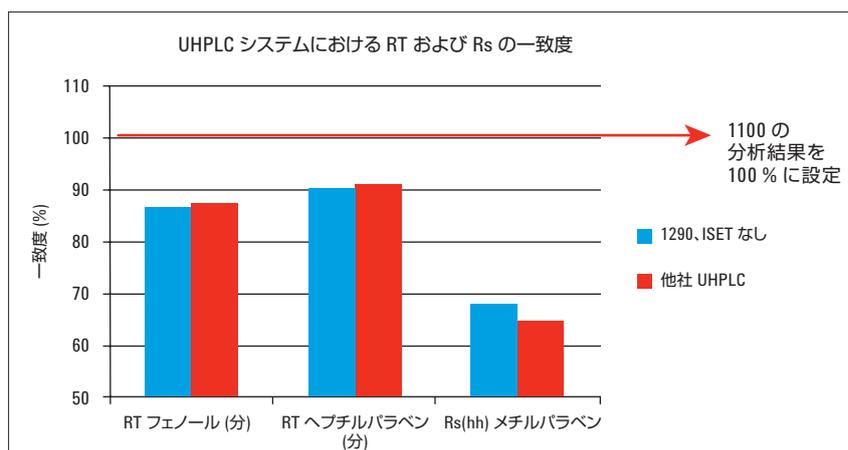


図 3 UHPLC システムにおけるリテンションタイムおよび分離能の一致度

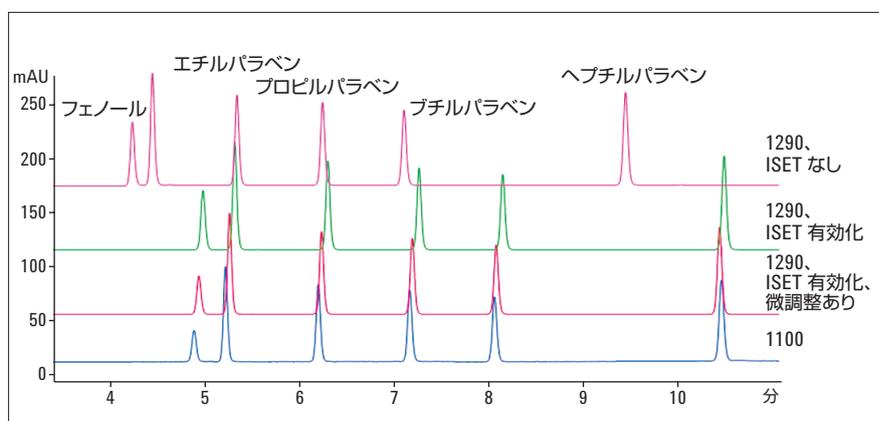


図 4 Agilent 1100 シリーズクォータナリ LC、ISET を有効化していない Agilent 1290 Infinity LC、ISET を有効化した Agilent 1290 Infinity LC、ISET を有効化して微調整を加えた Agilent 1290 Infinity LC に従来メソッドを適用した際のクロマトグラムの重ね表示

ISET を有効化しなかった場合には、全てのピークのリテンションタイムが早くなり、分離能も変化しています。ISET を有効化すると、リテンションタイムはきわめて良好になり、オリジナルのクロマトグラムに一致します。Enable manual fine tuning (手動での微調整を有効化する) オプションを使えば、一致度をさらに高めることができます。Agilent 1100 シリーズ LC で得られた分析結果の平均圧力を入力し、ディレイボリュームを 20  $\mu$ L 減らすことにより、オリジナルのクロマトグラムと最も一致した結果が得られます。図 5 では、Agilent 1100 シリーズ LC とのリテンションタイムと分離能の一致度を比較しています。

この図では、Agilent 1100 シリーズ LC で得られた結果を 100 % に設定しています。微調整オプションを使うことにより、フェノール (最初のピーク) の RT 変動は 1.1 % 未満、ヘプチルパラベン (最後のピーク) の RT 変動は 0.3 % 未満、メチルパラベン (2 番目のピーク) の分離能変動は 0.26 % 未満となります。

ISET を有効化した Agilent 1290 Infinity LC システムで得られるリテンションタイムおよび面積の精度は、Agilent 1100 シリーズクォータナリ LC システムを大きく上回っています (表 2)。

## 結論

インテリジェントシステムエミュレーション技術 (ISET) 搭載 Agilent 1290 Infinity LC では、以下のことが可能になります。

- マウスクリック 1 回だけで他の (U) HPLC 機器をエミュレーション
- メソッドやシステムを修正せずに、既存の (U)HPLC メソッドを実行
- リテンションタイムとピーク分離能を同一に保ち、「限りなく」優れたメソッドの移管を実現

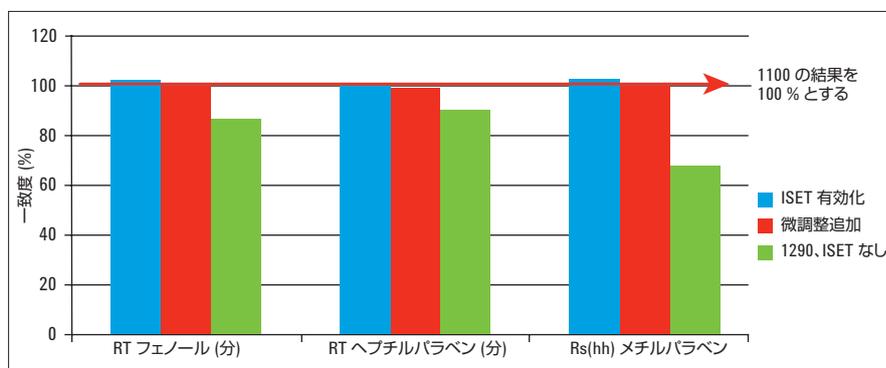


図 5 ISET の有無および微調整を加えた場合の Agilent 1100 シリーズ LC の結果とのリテンションタイムと分離能の一致度

パラメータ	Agilent 1100 シリーズ LC	ISET を有効化した Agilent 1290 Infinity LC
RSD RT (%)	<0.027	0.009
RSD 面積 (%)	<0.65	0.27

表 2 データ精度

Agilent 1100 シリーズクォータナリ LC で開発した従来の LC メソッドを、Agilent 1290 Infinity LC でもそのまま適用できるよう ISET 機能を用いて移管しました。両システムで得られたクロマトグラムは、ほぼ 100 % 一致しました。また、リテンションタイムと面積の精度も大幅に向上しました。

## 参考文献

- 「インテリジェントシステムエミュレーション技術 ISET 搭載 Agilent 1290 Infinity LC」アジレント 資料番号 5990-8670JAJP, 2011

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。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。

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

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc., 2011  
Published in Japan, November 1, 2011  
5990-9113JAJP