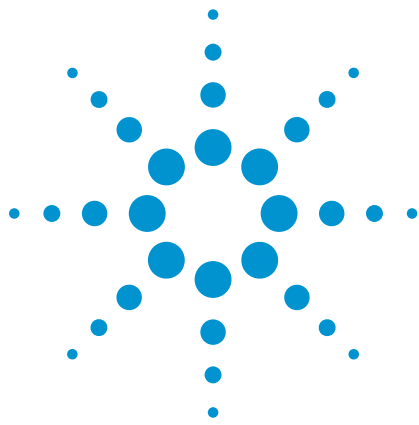
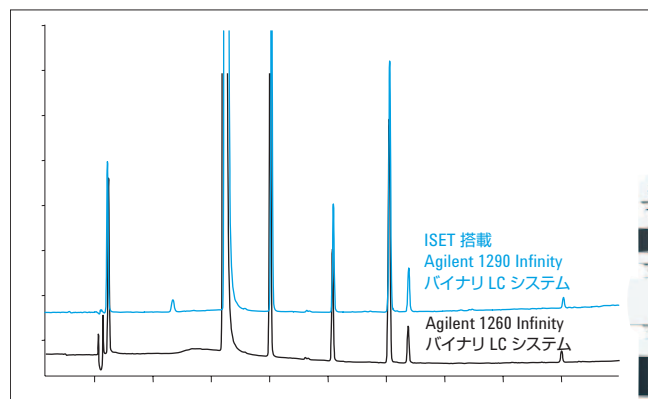




インテリジェントシステム エミュレーション技術 (ISET) による Agilent 1290 Infinity LC システムへの メソッド移管

パラセタモールとその不純物の分析

技術概要



著者

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

概要

アジレントのインテリジェントシステムエミュレーション技術 (ISET) を使えば、Agilent 1100 シリーズクォータナリ LC システムなどの従来の LC システムから、最新機種である Agilent 1290 Infinity LC システムにシームレスにメソッドを移管することができます。1290 Infinity LC システムで ISET 機能を有効化することにより、オリジナルメソッドとほぼ同じリテンションタイムと分離能が得られます。この技術概要では、Agilent 1260 Infinity バイナリ LC システムから 1290 Infinity LC システムへ従来の HPLC メソッドを移管する方法を説明します。今回の検討では 1290 Infinity LC システムを用いて、パラセタモールとその不純物を分析しました。各分析のリテンションタイムと分離能を評価し、1260 Infinity バイナリ LC システムで得られたオリジナルデータと比較しました。



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により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あります。しかしアジレントでは、Agilent インテリジェントシステムエミュレーション技術 (ISET)¹ を用いて、Agilent 1100/1200 シリーズ LC システムや Agilent 1220/1260 Infinity LC システムから Agilent 1290 Infinity LC システムにシームレスにメソッドを移管することができます。ISET は、ポンプのメソッド画面で設定します。この画面では、ISET をオンにして従来メソッドを変更せずに実行できるようにしたり、ISET をオフにして高速高分離能の UHPLC メソッドを実行できるようにしたりすることができます。この ISET により、システムのディレイボリウムを補正するだけでなく、機種間のミキシング挙動の違いなども補正します。ISET を適用することにより、1290 Infinity LC システムにメソッドを移管しても、ほぼ同じリテンションタイムと分離能を得ることができます。

この技術概要では、1260 Infinity バイナリ LC システムで開発したメソッドを 1290 Infinity LC システムに移管しました。使用した化合物は、パラセタモールと 6 種類の不純物です。1290 Infinity LC システムでは ISET を用いた場合と用いなかった場合の両方を検討しました。パラセタモールと 6 種類の不純物のリテンションタイムと分離能を評価し、1260 Infinity バイナリ LC システムのデータと比較しました。

実験手法

機器とソフトウェア

以下のモジュールで構成される Agilent 1290 Infinity LC システムを使用しました。

- Agilent 1290 Infinity バイナリポンプ (G4220A)
- Agilent 1290 Infinity オートサンブラ、サーモスタット搭載 (G4226A、G1330B)
- Agilent 1290 Infinity カラムコンパートメント (G1316C)
- Agilent 1260 Infinity ダイオードアレイ検出器 (G4212A)

以下のモジュールで構成される Agilent 1260 Infinity バイナリ LC システムを使用しました。

- Agilent 1260 Infinity バイナリポンプ (G1312A)
- Agilent 1260 Infinity オートサンブラ、サーモスタット搭載 (G1329B、G1330B)
- Agilent 1260 Infinity カラムコンパートメント (G1316C)
- Agilent 1260 Infinity ダイオードアレイ検出器 (G4212B)

Agilent ChemStation リビジョン C.01.03 と ISET リビジョン 1.0 を使用しました。すべての LC モジュールは、ファームウェアリビジョン A.06.32 または B.06.32 または B.06.41 以上を搭載し、すべてのモジュールは RC.Net ドライバを搭載しています。

サンプル

以下の化合物を混合させて使用しました。

- 主成分： パラセタモール
不純物 A： 2-アセトアミドフェノール
不純物 B： N-(4-ヒドロキシフェニル) プロパンアミド
不純物 F： ニトロフェノール
不純物 H： 4-(アセチルアミノ) 酢酸フェニル (N,O-ジアセチル-4-アミノフェノール)
不純物 J： 4-クロロアセトアニリド
不純物 K： 4-アミノフェノール

クロマトグラフィー条件

- カラム： Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18、100 x 4.6 mm、3.5 µm
移動相： 水 + 0.1 % TFA、アセトニトリル + 0.09 % TFA
流速： 1.2 mL/min
グラジエント： 0 分で 5 % ACN、0.5 分で 5 % ACN、10 分で 90 % ACN
分析時間： 10 分
ポストタイム： 5 分
注入量： 5 µL (ニードル洗浄 6 秒)
カラム温度： 30 °C
検出： 220、254、270、310/10 nm、Ref. 400/60 nm、10 Hz、スリット 4 nm

結果と考察

分析時間 10 分の従来メソッドを採用し、1260 Infinity バイナリ LC システムを用いてパラセタモールと不純物のクロマトグラフィーメソッドを開発しました。

パラセタモールと 6 種類の不純物の分析では、全てのピークを最大の吸光度で定量するためには、異なる波長設定が必要となります (図 1)。また、不純物 K の溶出を遅らせるために、分析の初期には有機溶媒濃度が低い状態でアイソクラティック状態にする必要があります。不純物 A を適切な時間に溶出させるために、有機溶媒の濃度を 10 分で 90 % まで上昇させました。

化合物	検出波長
不純物 K	270 nm
パラセタモール	270 nm (直線)
不純物 B	254 nm
不純物 H	254 nm
不純物 F	310 nm
不純物 J	254 nm
不純物 A	220 nm

パラメータをいっさい変更せず、オリジナルメソッドを単純に 1290 Infinity LC に移管しました。1290 Infinity LC ではディレイボリュームが小さくミキシング挙動が異なるため、予想したとおり、クロマトグラムはリテンションタイムが全体的に早くなるほうへ移動しました (図 2)。

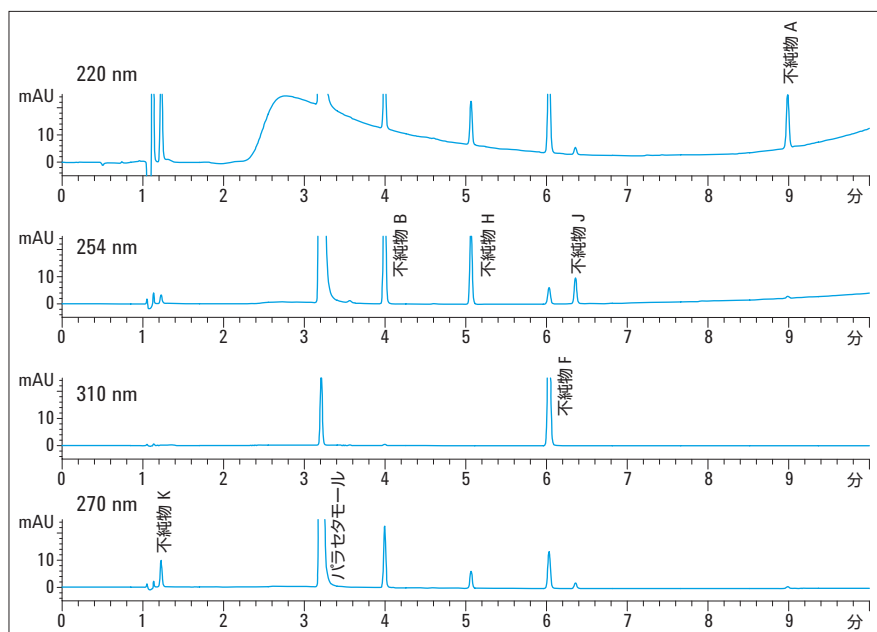


図 1
各波長におけるパラセタモールと 6 種類の不純物の分析

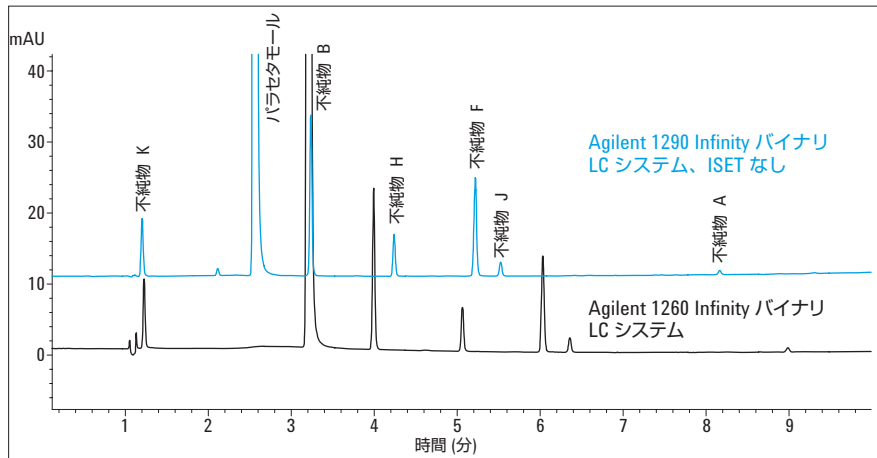


図 2
Agilent 1260 Infinity バイナリ LC システムと ISET を有効化していない Agilent 1290 Infinity LC システムを用いて得られた 270 nm におけるクロマトグラムの重ね表示

次の実験では、ソフトウェアのポンプメソッド画面で ISET 機能を有効化しました (図 3)。この画面の Module Parameter (モジュールパラメータ) では、もともと使用していたポンプとオートサンプラを指定します。今回の場合では、1260 Infinity バイナリ LC システムの構成には、ポンプ (G1312B) とオートサンプラ (G1329B) が含まれています。検出器、カラムサーモスタットなど他のパラメータは変更していません。その後、新しいメソッドを新しい名前で保存し、以後の分析で使用しました。

新しいメソッドを 1290 Infinity LC システムに移管し、得られたリテンションタイムと分離能を評価しました。図 4 では、オリジナルのクロマトグラムと、ISET 有効化時の 1290 Infinity LC システムを用いて得られたクロマトグラムを重ねて表示しています。

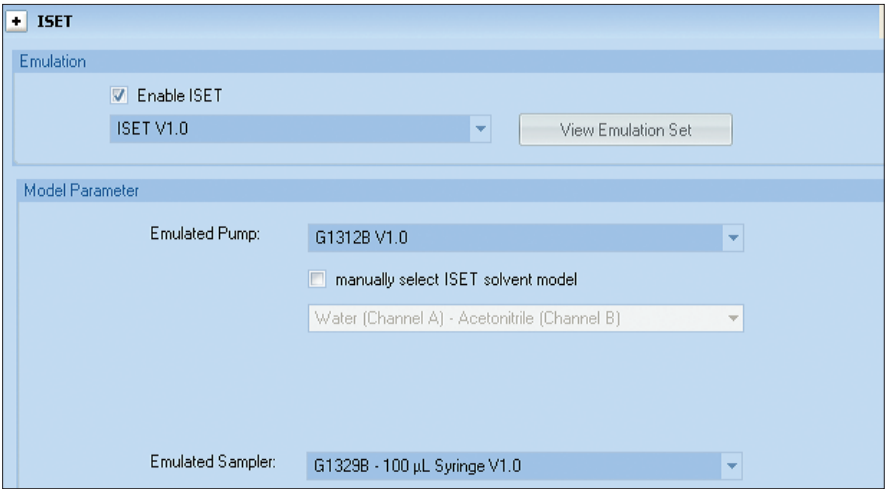


図 3
ISET 機能を有効化するソフトウェア画面

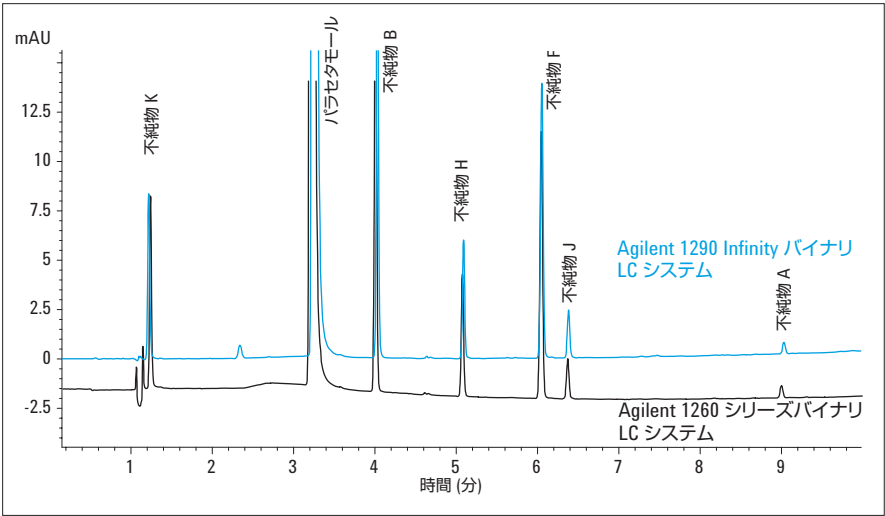


図 4
Agilent 1260 Infinity バイナリ LC システムと ISET を有効化した Agilent 1290 Infinity LC システムを用いて得られた 270 nm におけるクロマトグラムの重ね表示

ISET を有効化すると、リテンションタイムと分離能がオリジナルのクロマトグラムに大幅に一致しました。図 5 は、ISET を有効化した場合としなかった場合のリテンションタイム結果を示しています。

ISET を有効化しない場合のリテンションタイムの変動は、最大で -20 % でした。ISET を有効化した 1290 Infinity LC でのリテンションタイムの変動は、1.3 % 未満でした。図 6 に、分離能のデータをまとめています。ISET なしの分離能の変動は、最大 -65 % でした。ISET ありの 1290 Infinity LC システムでの分離能の変動は、2.3 % 未満でした。

結論

Agilent インテリジェントシステムエミュレーション技術 (ISET) は、LC システムや別の UHPLC システムから Agilent 1290 Infinity LC システムへ従来のメソッドをシームレスに移管します。オリジナルのポンプとオートサンプラを指定すれば、1290 Infinity LC システムがオリジナルシステムと同じように挙動し、同じリテンションタイムと分離能が得られます。ここで挙げた実験では、パラセタモールと 6 種類の不純物を分析する従来メソッドを、Agilent 1260 Infinity バイナリ LC システムから、ISET を有効化した 1290 Infinity LC システムに移管しました。ISET を使用すると、オリジナルデータからのリテンションタイムの変動は、1.3 % 未満に抑えられました。分離能の変動は 2.3 % 未満でした。

参考文献

1. 「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

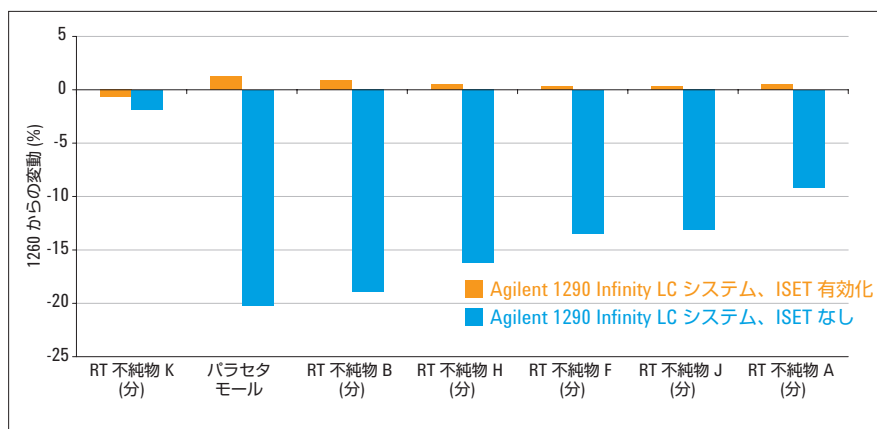


図 5
ISET を有効化した場合としない場合における Agilent 1290 Infinity LC システムのリテンションタイムの変動

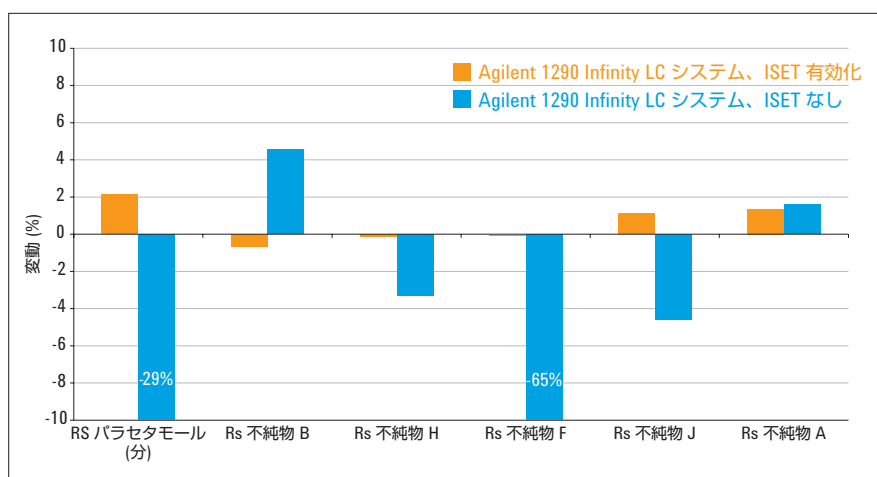


図 6
ISET を有効化した場合としない場合における Agilent 1290 Infinity LC システムの分離能の変動

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いません。

www.agilent.com/chem/jp

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc., 2012

Published in Japan, January 1, 2012

5990-9703JAJP



Agilent Technologies