

リテンションタイムロッキング(RTL) 機能のご紹介



Authors

橋北 直人

中井 隆志

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

リテンションタイムは GC の最も重要な定性情報ですが、使用環境や装置構成の変化により容易にシフトしてしまいます。これによりデータの信頼性が失われ、同定ができなくなるだけでなく、手動による積分条件、SIM や MRM 条件の補正が必要となるなど、分析条件設定や結果に悪影響を及ぼします。Agilent GC は精密な圧力制御および温度制御機能により、リテンションタイムロッキング(RTL)を行うことができます。RTL により、装置構成やカラム長さの違いおよび設置環境・場所によらず目的のリテンションタイムを精密に再現することが可能となります。これにより、リテンションタイムがシフトするという問題を根本的に解決し、ピーク同定・定量の信頼性が向上します。

リテンションタイムシフトと問題点

リテンションタイムのシフトについて

リテンションタイムのズレにお困りではないでしょうか？ガスクロマトグラフィー(GC)において、リテンションタイムは最も重要な定性情報です。そのため、リテンションタイムは使用環境の違いによらず常に一定であることが理想です。しかしながら、下記に示すようなさまざまな要因によりリテンションタイムはシフトしてしまいます。

- ・装置構成（検出器の出口圧力）の違い
- ・カラムの違い（主として長さ）
- ・使用環境の違い（温度、大気圧の変化）
- ・装置の違い
- ・試料の状態（マトリックスや濃度）

図1は作業環境有機溶媒を強極性カラムのHP-WAXで分析した際のクロマトグラムです。今まで使用していたカラムから新しいカラムに変更した時、リテンションタイムが0.876 min 遅くなりました。また注入口側の汚れなどによりカラムカットを行うため、使用に伴い同一装置内でもリテンションタイムは必ずシフトしていきます。

異なる装置を使用する場合、試料の状態によってもズレが生じます。図2ではマトリックスの高い試料を10台の装置で測定しましたが、最大で約 0.05 min のズレが生じました。

このように、リテンションタイムのシフトはどのような条件下でも起こりうる、避けられない現象です。

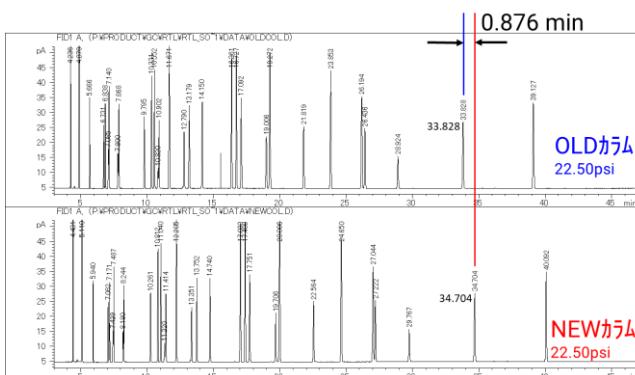


図1. カラム交換前後のクロマトグラムの比較(圧力：22.50 psi)

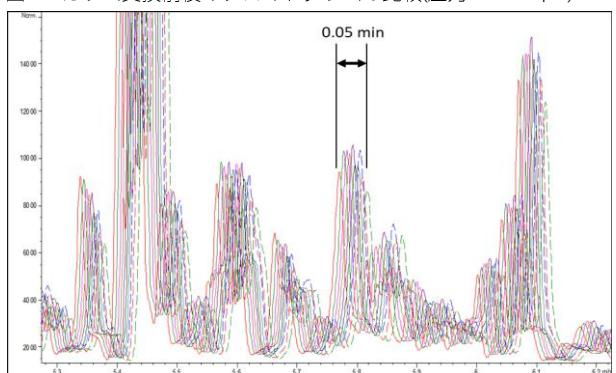


図2. 不純物の多い試料を10台の装置で測定した際のクロマトグラム

リテンションタイムのシフトがもたらす影響

リテンションタイムがシフトするとさまざまな問題が生じます。リテンションタイムはガスクロマトグラフィーにおける唯一の定性情報です。そのシフトによりデータの比較ができなくなるだけに留まらず、データそのものの信頼性が損なわれます。

リテンションタイムがシフトしても同一試料ならばデータ解析者は簡単に同定できますが、GCやソフトウェア自身はシフトしたこと認識できません。そのため、解析者が化合物ごとに手動でリテンションタイムを補正し、シフトのたびに標準試料を測定する必要があります。

装置にGCを使用し、ピークの同定にキャリブレーションウインドウを用いていた場合、リテンションタイムがシフトすると、本来あるピークが検出できなかったり、逆に実際に無い化合物をあると判断してしまったりするような致命的なエラーを引き起します。（図3）

GC/MSを使用していた場合、事態はより深刻です。化合物ごとに測定イオンを設定するSIM測定やMRM測定では、タイムイベントでモニターするイオンを設定しているため、シフトによりイオンを観測できなくなります。多成分一斉分析には、リテンションタイムが収録されている市販のライブラリやアジレントのデータベースを用います。シフトが起きた場合、図4に示すタイムイベントをすべて設定しなおす必要があり、大きな時間のロスが生じます。

リテンションタイムのシフトにより、分析結果に対してさまざまな悪影響を与えます。

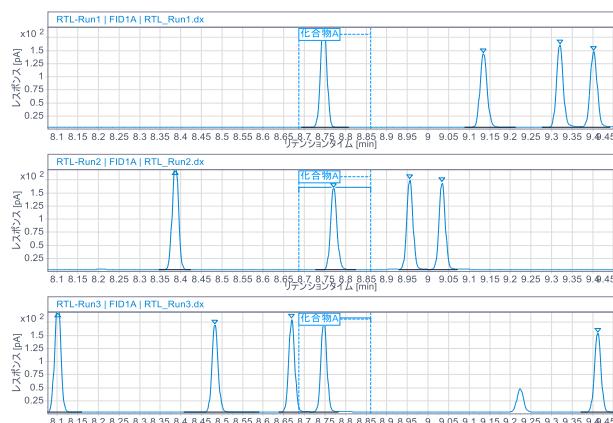


図3. リテンションタイムのシフトにより誤同定が起きる様子



図4. 質量分析用ソフトウェア(MassHunter)のMRM条件の設定画面

リテンションタイムロッキングとは

リテンションタイムロッキング(RTL)とは

リテンションタイムロッキング（以下、RTLと表記）とは、カラム入口圧力をコントロールすることでリテンションタイムを千分の数分というレベルで再現するというアジャレント独自の手法です。これにより、装置構成やカラム長さの違いによらず目的のリテンションタイムを精密に再現することが可能となりました。ソフトウェア上でクロマトグラムを補正するのではなく、直接リテンションタイムを合わせていくことで、リテンションタイムがシフトするという問題を根本的に解決しました。

RTLによる利点は以下のとおりです。

- ・異なるサイト間・装置間のデータ比較や共同研究者間でのデータの共有が容易となる。
- ・GC/FIDとGC/MSといった検出器部の圧力が異なる場合のデータ比較が可能となる。
- ・カラムメンテナンスや新品のカラムに交換する際、積分イベントや検量線の化合物テーブルのリテンションタイム、MSのSIM、MRMのセグメント切替時間を変更する必要がない。
- ・リテンションタイムが収録されている各種データベース（RTLデータベース、MRMデータベース等）を使用することができ、より精度の高い同定ができる。
- ・異なるソフトウェア（OpenLab CDS ChemStationとOpenLab CDS 2.x 等）間のデータ移行機能と組み合わせることで、装置やソフトウェアの更新時にもデータをそのまま使用できる。
- ・他社製品で測定したデータをAgilent GCでそのまま再現することができる。

図 1のクロマトグラムにRTLを適用した結果を図 5に示します。ロック前は0.876 min ずれていたピークがロック後にはわずか0.003 min のずれとなり、高い精度でリテンションタイムを一致させることができます。

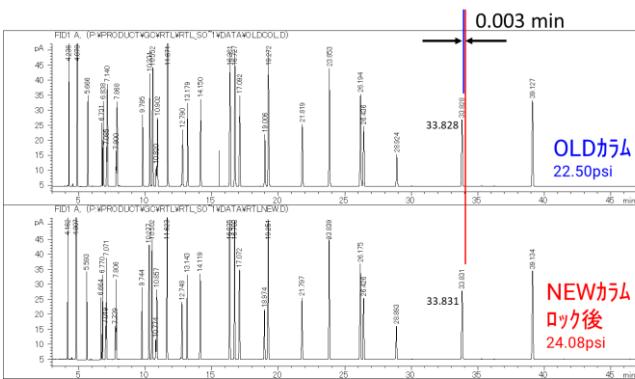


図 5. 図1のRTL後のクロマトグラム

図 6に医薬品中の残留溶媒をFIDとMSDでそれぞれ検出を行った際のRTL前後の結果を示します。FIDとMSDでは検出器圧力が大きく異なる（FIDは大気圧、MSDは真空中）ため、ターゲットピークのリテンションタイムが1.883 min もシフトしてしまっています。RTLを適用することで、ターゲットピークのリテンションタイムのズレはわずか0.004 minと、精度良く一致した結果を得ることができます。

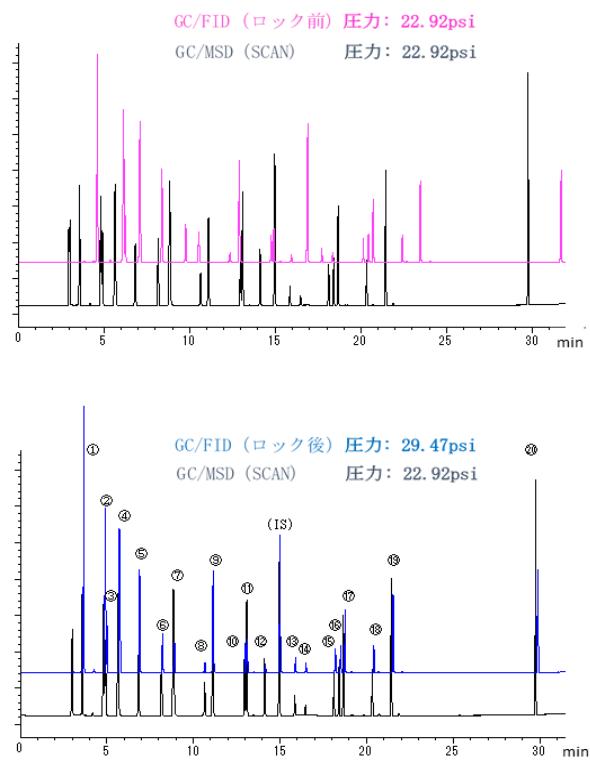


図 6. RTL前後のGC/FIDとGC/MSDのクロマトグラムの比較
(上段：ロック前、下段：ロック後)

表 1. RTL前後のGC/FIDとGC/MSDのリテンションタイム

成分名	リテンションタイム(min)				
	オリジナル	ロック前	ロック後		
	FID	FID	FID	MSDとの差	
① メチオノ	3.588	4.625	1.037	3.669	0.081
② シクロキサン	4.821	6.136	1.315	4.901	0.080
③ 1,1-ジクロロエチレン	4.934	6.259	1.325	5.010	0.076
④ メチルヘキサン	5.664	7.103	1.439	5.735	0.071
⑤ アセトン	6.852	8.383	1.931	6.891	0.039
⑥ trans-1,2-ジクロロエチレン	8.174	9.783	1.609	8.204	0.030
⑦ 1,1,1-トリクロロエタン + 四塩化炭素	8.862	10.542	1.680	8.897	0.035
⑧ ジクロロメタ	10.669	12.366	1.697	10.685	0.016
⑨ ベンゼン	11.124	12.902	1.778	11.136	0.012
⑩ cis-1,2-ジクロロエチレン	12.990	14.763	1.773	13.000	0.010
⑪ ドロロエチレン	13.115	14.908	1.793	13.123	0.008
⑫ クロロルム	14.153	15.938	1.785	14.158	0.005
(IS) ドロソ (RTLターゲットピーク)	14.997	16.880	1.883	15.001	0.004
⑬ 1,4-オキサン + 1,2-ジクロロエタン	15.893	17.715	1.822	15.896	0.003
⑭ メチルオキシタン	16.511	18.346	1.835	16.508	-0.003
⑮ メチルベンゼン	18.153	20.146	1.993	18.207	0.054
⑯ ペキシレン	18.445	20.448	2.003	18.501	0.056
⑰ メキシレン	18.701	20.709	2.008	18.755	0.054
⑱ ニキシレン	20.371	22.415	2.044	20.431	0.060
⑲ クロロベンゼン	21.489	23.468	1.979	21.538	0.049
⑳ ナフチリン	29.809	31.669	1.860	29.902	0.093

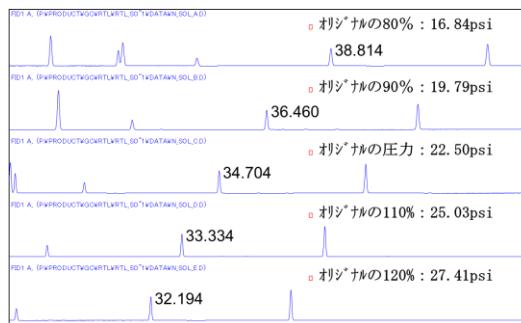
RTL の使用方法

RTLを使用するには

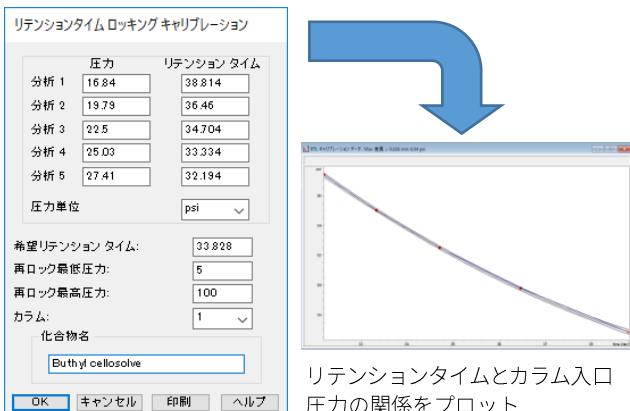
RTLは非常に簡単に設定できます。ここでは、図 1のカラム交換後のターゲットピークのリテンションタイム(34.704 min)に対しRTLを適用することで、交換前の33.828 minに合わせてみます。

(ソフトウェア：OpenLab CDS ChemStation)

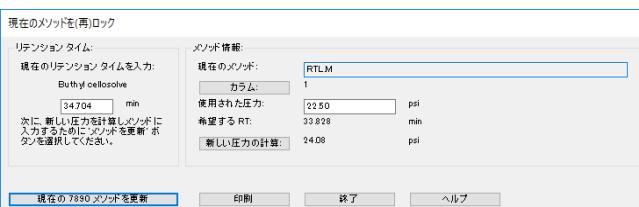
- オリジナルの分析条件のカラム入口圧力(22.50 psi)を基準とし、約±10 %, 20 %の圧力を5回のスカウティング分析を行います。



- 5回分析の終了後、得られたリテンションタイムと測定時の圧力をソフトウェア上に入力します。この作業によりキャリブレーションカーブが作成されます。



- シフトしたリテンションタイム(34.704 min)とその時の圧力(22.50 psi)を入力すると、希望のリテンションタイム(33.828 min)を得るために推奨圧力(24.08 psi)が自動で計算されその値が分析メソッドに反映されます。



- 更新メソッドで再び測定すると、リテンションタイムは33.831 minとなり、カラム交換前の33.828 minと0.003 minのわずかな差で一致します。(図 5)
- 再びRTLを行う場合は、1回測定した後に手順 3. の操作を行います。

Q & A

- Q. カラムカットやメンテナンスの度にキャリブレーションカーブを作成し直さなければならないのですか。
- A. その必要はありません。キャリブレーションカーブはメソッドで一度作成するだけで良く、カラムやシステムを変更しても同一のカーブを使用できます。
- Q. カラム長さや検出器が異なった場合、カラム入口圧力とリテンションタイムの関係は変わってしまうのではないかでしょうか。
- A. 厳密には関係が変わってしまうため、全く同じキャリブレーションカーブを描くことはできません。しかし、アジレントのソフトウェア上で自動的にカーブの補正を行うため、1つのカーブを使用してRTLを行うことができます。この補正機能を応用し、カラム長さだけでなく異なるGCを使用した場合も1つのRTLメソッドを適用できます。
- Q. どのようなカラムにもRTLは適用できますか。
- A. キャピラリカラムであれば液相の種類によらず使用できます。ただし、RTLを適用するカラムの品番は同じである必要があります。
- Q. どのようなピークにもRTLは適用できますか。
- A. 基本的にはロックできないピークや化合物はありません。ただしGCの型番が異なる場合は、リテンションタイムが極端に早い物質は液相よりも流路長に依存するため、RTLの精度が悪くなります。またターゲットピークはクロマトグラムの中央付近にあるものを選択することを推奨します。
- Q. RTLができるシステムを教えてください。
- A. 以下のシステムで利用できます。
- <GC>
9000, 7890, 7820, 6890, 6850
- <検出器>
TCD, FID, μECD, NPD, FPD, PDHID, SCD, NCD
- <GC/MS システム>
シングル四重極: 5977, 5975, 5973
トリプル四重極: 7010, 7000
- Q-TOF: 7250, 7200
- <データシステム>
OpenLab CDS 2.x^(※), ChemStation, EZChrom, MassHunter
^(※)OpenLab CDS 2.xはRTLウィザードにより3回のスカウティング分析を自動で実施します。

RTLを可能にするアジレントの技術

リテンションタイムの再現性とは

現在の技術では、連続分析で同じリテンションタイムを再現するのは容易です。しかし、先に述べた測定環境の違いによりリテンションタイムはシフトしてしまいます。つまり、連続分析の再現性だけでなく、条件に関わらず目的のリテンションタイムを「再現」できる機能がGCにとって最も重要です。

Agilent GCがリテンションタイムを「再現」できる理由

リテンションタイムはキャピラリカラムの移動相を流れるキャリアガスの線速度や、固定相に物質が保持される強さによって決まります。これらの要素は圧力と温度により決定されます。つまり、圧力と温度を精密に制御することにより、目的のリテンションタイムを再現することができます。

① EPCによる優れた圧力制御

キャリアガスの平均線速度はカラムの入口圧力と出口圧力に依存します。出口圧力は検出器の種類により決定されるため、入口圧力の制御が非常に重要となります。

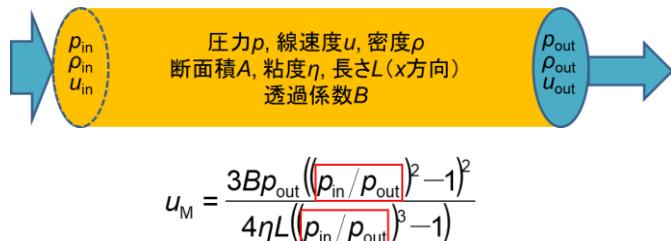


図 7. 平均線速度と圧力の関係

入口圧力は実際の圧力から大気圧を減算しており、オーブン昇温時の正確な圧力制御が望まれます。Agilent GCではエレクトロニックニューマティックスコントロール (EPC)による精密な圧力制御とリアルタイム大気圧・温度測定で正確な流量を実現しています。

② 高性能オーブンによる優れた温度制御

固定相に保持される時間はカラムの温度に依存します。Agilent GCでは従来より継続するオーブン形状を採用しており、空間全体のムラの無い正確な温度制御が可能です。



図 8. 7890B 第5世代EPC



図 9. オーブン内観(7890,7820,6890)

RTLへの応用

アジレントではこれらの技術をRTLに活用しています。カラム長さや出口圧力が異なっていても、入口圧力を制御して線速度を調整し、さらに正確な温度制御によりカラム内の温度・時間プロファイルを同一にします。これによりカラム内の物質移動を一致させ、リテンションタイムを合わせることができます。

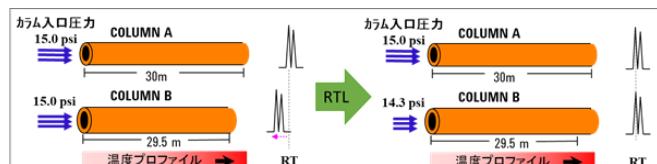


図 10. 温度・時間プロファイルの制御によりRTLを実現する様子

まとめ

リテンションタイムは重要な定性情報ですが、カラム長さや検出器の違いにより容易にシフトし、分析に悪影響を及ぼします。アジレント独自のリテンションタイムロックング機能により、常に高精度でリテンションタイムを再現することができます。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カストマーコンタクトセンタ

0120-477-111

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おりません。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. 2018

Printed in Japan, July 6, 2018

5994-0080JAJP

