

Volume 16 | Number 2 | 2003

Agilent Separation Times

ラボを最高の状態で運用する高度な技術的
ソリューションをお届けします

世界のどこにも、エキスパートによる
技術サポートを

Agilent Technologies

拡大する地球規模のサポート

Agilent はお客様の生産性向上、問題の迅速な解決、およびラボの機能拡大のお役に立つため、地球規模でのサポートにますます力を注いでいます。

表紙を飾っている女性は最近中国地区担当の Agilent カラム・消耗品アプリケーションケミストになった Sun Min です。彼女はアプリケーションと技術サポート、トラブルシューティングのアドバイス、Agilent カラムを使用したデモ、アプリケーションに最適なカラムの選択などでお客様をサポートします。お客様の質問や関心事に関してお客様と Agilent のフィールド/アプリケーション技術者の接点となるのも彼女の役割です。雲南大学から有機化学修士号を授けられた Sun Min は分析化学の分野で6年の経験を持っています。

Agilent は欧州でさらに多くの化学者を投入して HPLC テクニカルサポートを強化しました。さらに米国でも2名を増員しました。これらの化学者は薬学、環境、化学、プロテオミクス、さらには急速に発展するライフサイエンス分野をカバーできる幅広い経験を備えた人達です。

「Separation Times」はこの他にも実用的なクロマトグラフィーの最新情報を盛りだくさん収録しています。

...その一例は硫黄分析で問題となる炭化水素干渉の問題を解決した Agilent のデュアルチャンネル GC システムです。また、プラスチック中の酸化防止剤を迅速同定する HPLC システムについても説明します。Agilent の Rapid Resolution HT カラムを用いてハイスループット (高速、高分離、高生産性) の HPLC を実現する方法についても説明します。

これらの解説へのご質問、あるいは追加情報を希望されるお客様はメール(直接オンラインで問い合わせる方法が p.18 に説明されています) お問い合わせください。お客様の仕事をより快適にするのが我々の仕事です。



Phil Stremple

Phil Stremple, Ph.D.
Separation Times 編集担当
phil_stremple@agilent.com

目次

硫黄化合物の高感度検出—

デュアルチャンネル GC システム

3

驚異の分解能を持つ高速 HPLC 分析—

ZORBAX Rapid Resolution HT HPLC カラムのご紹介

6

プラスチック中の酸化防止剤に

HPLC を利用する強力なアプローチ

9

GC の性能を向上させる— GC 注入口のメンテナンス

12

HPLC メソッド開発を簡単に：比較的簡単な

分取メソッドへの移行方法

14



Agilent の装置、カラム、用品、サービスの購入が非常に簡単になります(米国内の例)

17

GC カラムの仕様は本当に分析結果に影響するのですか？

18

HPLC 分解能を最適化する

正しい配管の選択方法

19

ページアンドトラップ

GC/MS での低濃度

含酸素化合物の高感度検出

22



炭化水素ガス中の微量硫黄分析に優れた方法が開発されました



By Roger L. Firor, Ph.D.
シニアアプリケーションケミスト、
および

Bruce D. Quimby, Ph.D.
シニアアプリケーションケミスト

- 20 ppb の硫黄化合物を検出できるデュアルチャンネル GC システム
- 特異な選択性を持つ高価な検出器は必要ありません
- 重要なキーはカラムの選択にあります

石油化学や特殊な化学薬品に係わる産業分野では硫黄選択性検出器を持つガスクロマトグラフが大きな役割を果たしています。低レベルの硫黄を検出できる検出器への需要は、環境規制の強化に伴ってますます増大しています。

硫黄化合物は炭化水素 (HC) の改質に係わる多種多様な触媒プロセスに強い被毒作用を示すことがあります。硫黄を始めとする燃料中の汚染物質は天然ガスや他の化石燃料を使用する燃料電池システムや他の燃料装置の性能に悪影響を及ぼします。硫黄化合物のモニタリングは収率の向上や触媒寿命の延長、さらに製品の品質を向上します。

測定上の問題点

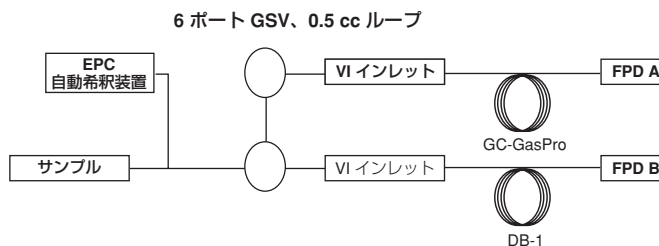
多くの GC 用硫黄選択性検出器は、特に共溶出物からの HC 変換による干渉を受けます。エチレンやプロピレン中の不純物、あるいは天然ガスベースの燃料などでは干渉性の HC が殆どのサンプル分析に影響を与えるため、このようなサンプルでの測定上の問題は深刻です。硫黄に高度の選択性を持つ検出器を使用しても、硫黄化合物を正確に定量するのは殆ど不可能と言ってもよいほどです。

解決策

それぞれが独自の選択性を持つカラムを 2 本用いるデュアルチャンネルシステム (図 1 参照) を使用することによって干渉の問題を殆ど解決することができます。

図 1. 硫黄分離システム

カラム1: GS-GasPro
30 m × 0.32 mm I.D.
部品番号: 113-4332
カラム2: DB-1
60 m × 0.53 mm I.D., 5.0 μm
部品番号: 125-1065
システム: Agilent 6890N GC
バルブ: Hastelloy C
配管: SilcoSteel、または
Sulfinert 処理
検出器: FPD



一方のカラムでは同時に溶出して干渉の影響を受ける硫黄化合物が、別のカラムでは干渉成分から分かれて溶出されます。目的とする硫黄化合物が少なくとも一方のカラムで単独に分離できれば、信頼性が高く安定性に優れ、しかも比較的安価な炎光光度検出器 (FPD) でシステムを運用することができます。炭化水素を目的の硫黄化合物から分離できるのであれば、高性能 FPD を用いて硫黄を 20ppb 以下のレベルで定量可能です。

重要なのはカラムの選択です

分析を成功させるキーとなるのは適切なカラムの選択です。ここに説明するシステムでは 4 本のカラムを使用し、実際の分析には表 1 にあるようにその中から 2 本を選択して使用します。

それぞれのバルブは専用の化学的に不活性 (SilcoSteel® 処理) なインターフェイスに接続されており、サンプルをキャピラリーカラムに正確に導入します。有機硫黄化合物 (特に硫化水素) は金属表面に吸着し易いため、サンプル導入システムの選択と組み立てには細心の注意が必要です。ここに説明するシステムはサンプルループ、配管、およびインレットを Sulfinit® または SilcoSteel で不活性処理を行いました。

この研究では 8 成分の校正用硫黄化合物ミックス (表 2 に組成を示す) を異なるサンプルに添加し分析しました。得られた結果を図 2、および図 3 に示します。

表2. 校正用硫黄化合物ミックス
濃度: 各 5 ppm

- 硫化水素 (H_2S)
- 硫化カルボニル (COS)
- メチルメルカプタン (MeSH)
- エチルメルカプタン (EtSH)
- 硫化ジメチル (DMS)
- 二硫化炭素 (CS_2)
- t-ブチルメルカプタン (t-BuSH)
- テトラヒドロチオフェン (THT)



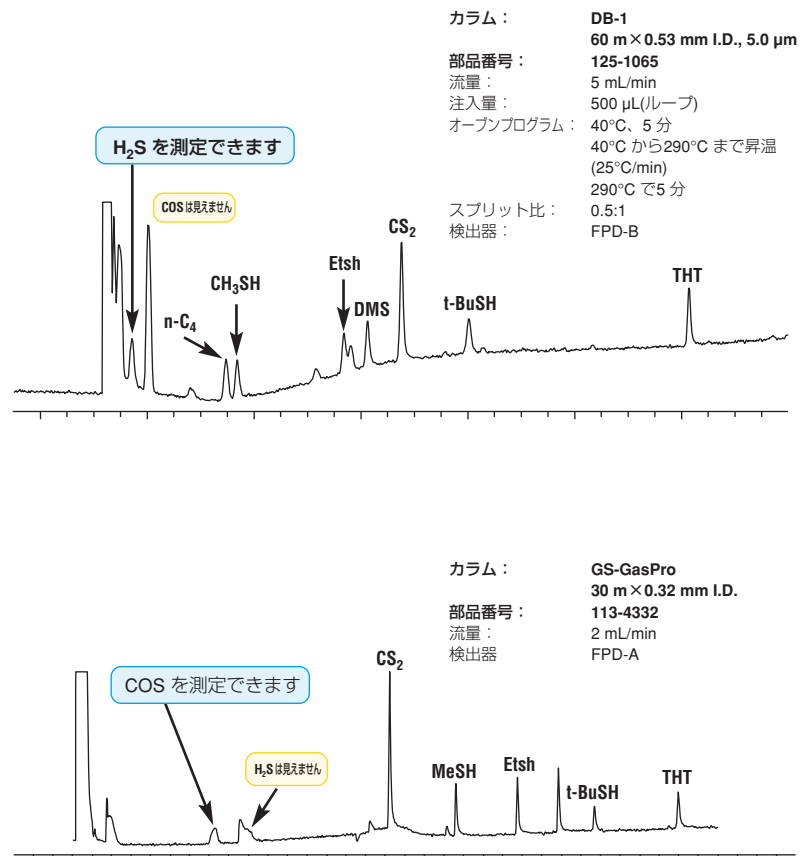
さらに
詳しくは..

弊社 Web サイト (www.agilent.com/chem) に入り、"Library" をクリックしてからキーワード欄に資料番号 **5988-8904EN** をタイプしてください。または、最寄りの Agilent 販売代理店に追加資料をご請求ください。

表 1. アプリケーションごとに推奨するカラムの組み合わせ

アプリケーション	カラムセット	部品番号
天然ガス、燃料電池ガス	DB-1 60 m × 0.53 mm I.D. × 5.0 μm	125-1065
	GS-GasPro 30 m × 0.32 mm I.D.	113-4332
エチレン、プロピレン、C4 ストリーム	DB-1 105 m × 0.53 mm I.D. × 5.0 μm	125-10B5
	GS-GasPro 60 m × 0.32 mm I.D.	113-4362
SPI システム	長いカラム 2本	2310-0148
	短いカラム 2本	2310-0167

図2. 天然ガスブレンドのデュアルカラム分析
8 種類の硫黄化合物 45 ppb (v/v)。



選択性の異なる 2 本のカラムを使用することにより、炭化水素からの干渉を受けることなく 8 種類全部の硫黄化合物を分析できます。

炭化水素ガス中の微量硫黄分析に優れた方法が開発されました
ページ 4 より続く

もう一つの難関： プロピレンモノマー

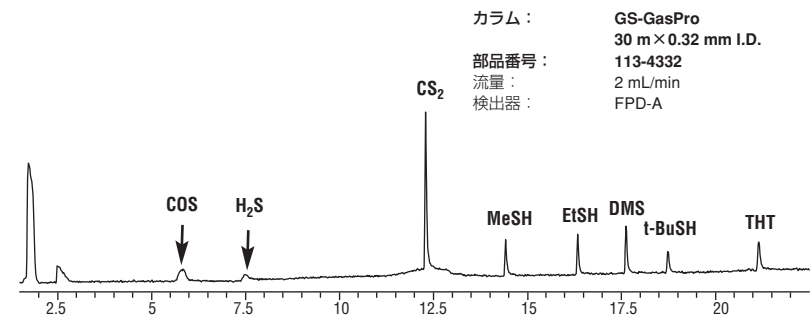
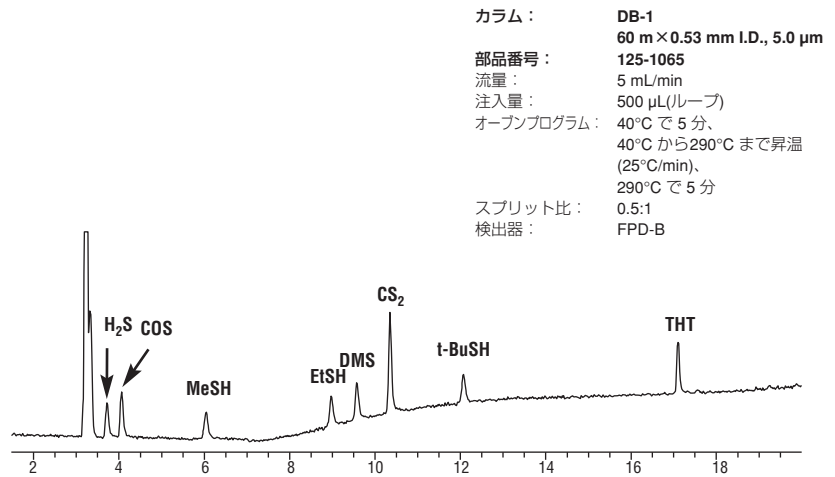
この研究では両方のカラムとも C₃ の巨大なピークが現われて H₂S と COS に干渉しました。この問題を解決するにはさらに長いカラム、DB-1 と GS-GasPro カラム (それぞれ 105 m と 60 m) を使い、オープン温度とスプリット比も変更する必要があります (オープン温度: 35°C で 7 分、20°C/min 昇温後 290°C で 5 分、スプリット比: 2:1)。これらの対策によってプロピレンピークからの H₂S と COS の分離が改善され、検出限界についても図に示す条件で 35 ppb となり若干の変化ですみます。

デュアルチャンネル FPD システムの問い合わせ方法

カラムを含めたデュアルチャンネル FPD システムは Agilent 6890N GC の特殊オプションとなりますので、弊社カスタマーコンタクトセンター (0120-477-111)、若しくは弊社代理店へお問い合わせください。

図 3. 燃料電池混合ガスのデュアルカラム分析例

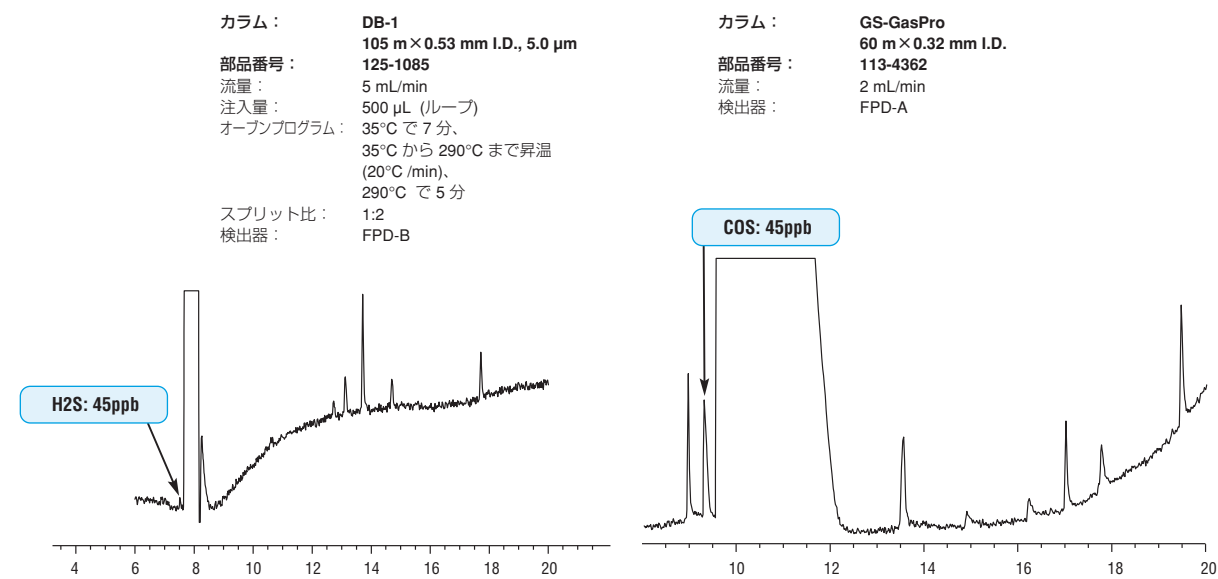
ガス混合物: 50% H₂, 10% CO₂, および 5% CH₄, 8 種類の硫黄化合物をそれぞれ 45 ppb (v/v) の濃度で含みます。



燃料電池に有害な硫黄不純物を1回で分析できます。

図 4. ポリマーグレードのプロピレンブレンドをデュアルカラムで分析

8 種類の硫黄化合物をそれぞれ 45 ppb (v/v) 含みます。



H₂S と COS の両方をプロピレンからの干渉なしに定量できます。

Sulfinert と SilcoSteel は
Restek Corporation の
米国内における登録商標です。

短いカラムと新しい 2 μ m以下の充てん剤を使用するハイスループット HPLC

- ・ハイスループット用のショートカラムでも非常に複雑なサンプルを高分離能分離できます
- ・標準的なカラムと比較して最大 95% の分析時間短縮を実現



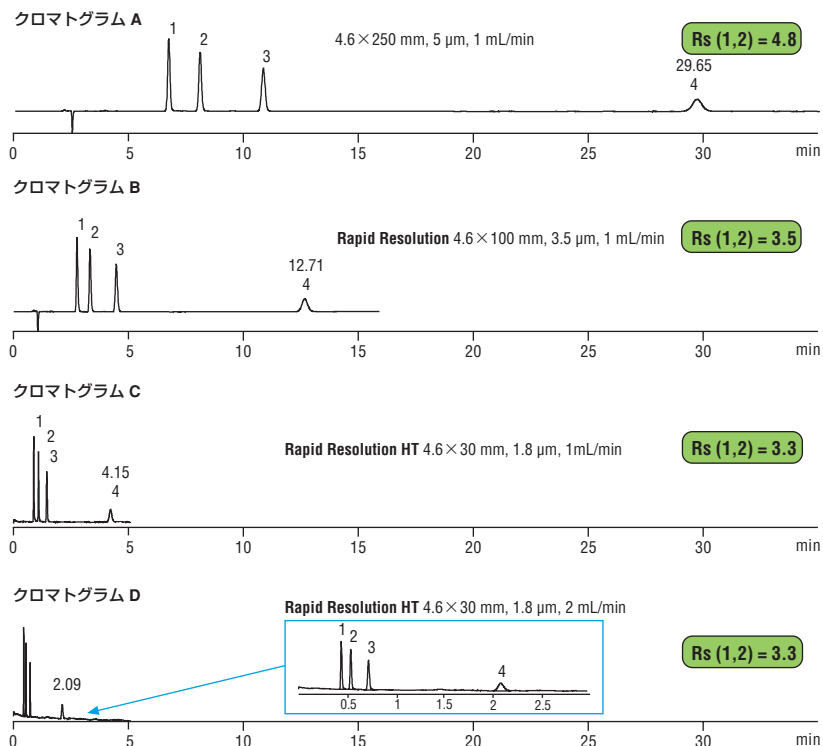
Maureen Joseph, Ph.D.
テクニカルサポートケミスト

HPLC カラム充てん剤の標準的な粒径は 5 μ m ですが、スループット(生産性)の向上のためにはより小さな粒径と短いカラムが必要となり、実際にこのようなカラムはよく使用されています。短いカラムで優れた効率を実現するために現在までは 3.0 ~ 3.5 μ m の粒子が使用されてきました。このように粒径の小さい Rapid Resolution 充てん剤は標準的な 5 μ m 粒子を使用した場合よりも短いカラムでより優れた分解能を提供します。非常に短いカラムを使用して一段と優れた分解能と効率を実現するために、さらに粒径の小さな粒子が使用できるようになりました。新しい Rapid Resolution HT カラムには 1.8 μ m 粒子が充てんされています。

短い分析時間とハイスループットでアイソクラティック/グラジエント分析を行うには、50 mm 以下の短いカラム、または 30 mm 以下の非常に短いカラムが理想的です。このようなカラム長を提供できる Rapid Resolution HT (RRHT) カラムは真の意味での高分離能、ハイスループット分析を実現します。長さが僅か 50 mm の新製品 Rapid Resolution HT (RRHT) は 150 mm-5 μ m カラムと同等の効率(理論段数)を実現しながらカラム長と分析時間を 67% も節約します。

図 1 に示すように、高分離能アイソクラティック分離用として特に選択したカラム (4.6 \times 250 mm、5 μ m カラム、流量 1 mL/min、クロマトグラム

図 1. Rapid Resolution HT カラムを使用すれば 95% もの分析時間短縮が可能です



カラム: ZORBAX SB-C18
部品番号: A) 880975-902
B) 861953-902
C&D) 823975-902

移動相: 50% 20 mM Na₂HPO₄, pH 2.8
50% ACN

流量: 1 mL/min

温度: 室温

検出方法: UV 230 nm

ピークの成分名

1. エストラジオール
2. エチニルエストラジオール
3. ジエネストロール
4. ノルエチンドロン

カラム長	粒子サイズ	効率 (理論段数)	分析時間の短縮 (%)
150 mm	5 μ m	12,500	-
	3.5 μ m	21,000	-
	1.8 μ m	N.A.	-
50 mm	5 μ m	4,200	67
	3.5 μ m	7,000	67
	1.8 μ m	12,000	67
30 mm	5 μ m	N.A.	80
	3.5 μ m	4,200	80
	1.8 μ m	6,500	80
15 mm	5 μ m	N.A.	90
	3.5 μ m	2,100	90
	1.8 μ m	2,500	90

短いカラムと新しい 2 μ m以下の粒子を使用するハイスループット HPLC
ページ 6 より続く

A) との比較のために 4.6 \times 30 mm Rapid Resolution HT カラムを 1 mL/min の流量で使用すると (クロマトグラム C) 実に 86% もの分析時間短縮を実現できます。これらの 1.8 μ m 粒子では流量も大きくできるため、さらに分析時間を短縮できます。流量を 2 mL/min (クロマトグラム D) にすることにより、4.6 \times 250 mm - 5 μ m カラムと比較して分析時間を実に 95%短縮することが可能であり、しかも分析対象ピークの間に十分な分解能 (Rs) を維持することができます。

新型 Rapid Resolution HT (RRHT) カラムは、短い分析時間で非常に優れた分解能が得られます。同じ分離を ZORBAX Rapid Resolution 4.6 \times 100 mm、3.5 μ m SB-C18 カラムで行った例をクロマトグラム B に示します。このカラムは 4.6 \times 250 mm、5 μ m カラムと比較して分析時間を 57% 短縮できますが、4.6 \times 30 mm の Rapid Resolution HT (RRHT) カラムを流量 2 mL/min で使用すればさらに 84% の時間短縮が可能であり、しかも分解能は殆ど同じです。1.8 μ m 粒子を使用する新型カラムは高分離能アイソクラティック分離の理想的な選択肢です。

ZORBAX SB-C18 の 2 種類のカラム (Rapid Resolution、4.6 \times 50 mm、3.5 μ m と Rapid Resolution HT、4.6 \times 30 mm) を使用した別なアイソクラティック分離例を図 2 に示します。新型カラムは 50 mm カラムと比較して分析時間が 35~40% 短く、しかも効率 (N) は同等もしくは若干優れています。この分析自体がすでにかなり迅速ですが、グラジエント分離を使用すればさらに分析時間を短縮することができます。グラジエント分析では短い分析時間と短い平衡化時間があるため初めて全体の分析時間短縮が実現できます。長さ 30mm の同じ Rapid Resolution HT を用いて非常に短い全分析時間で高分離能グラジエント分離を行えます。図 3 に示すのは同じ分離を Rapid Resolution HT カラム (4.6 \times 30 mm) を用いて 2 分間のグラジエントと 1 分間の平衡化時間、合計 3 分間で分析を行った例です。この方法により、真のハイスループット分析を実現できます。

Rapid Resolution HT (RRHT) カラムは、同じ長さのカラムに 5 μ m または 3.5 μ m 粒子を充てんした場合と比較して効率(理論段数)が向上し、従ってより優れた分解能が得られます。今や、ハイスループット(高効率、高速分析)を目指した最も短いカラムを使用し

て極めて複雑なサンプルでも高分離能分離が可能になりました。

Rapid Resolution HT (RRHT) の部品番号については 8 ページをご覧ください。

図 2. 1.8 μ m の Rapid Resolution HT (RRHT) カラムで効率の向上と分析時間の短縮を実現できます

30 mm、1.8 μ m カラムを使用することにより、分析時間を 35~40% 短縮ながら Rapid Resolution を上回る効率(理論段数)を達成できます。

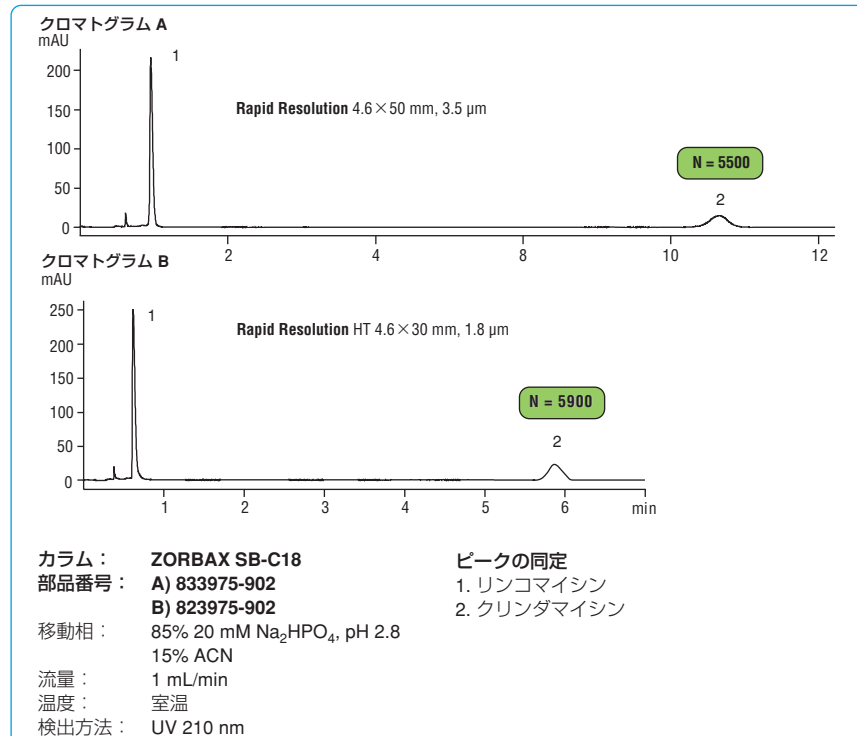
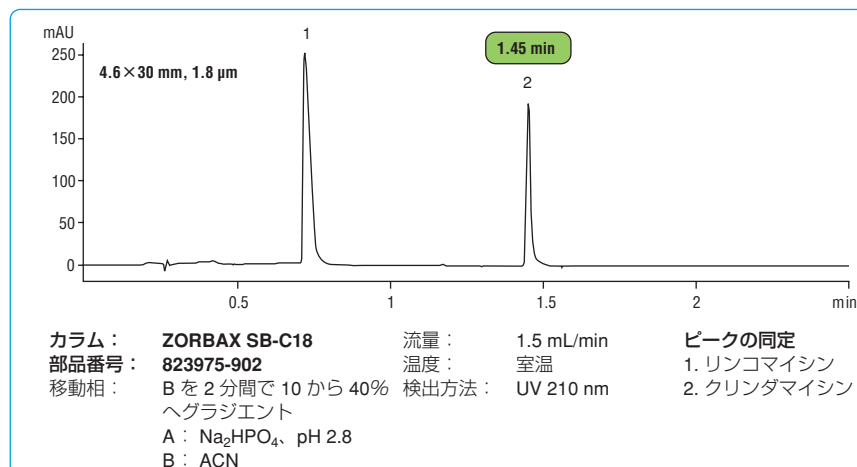


図 3. Rapid Resolution HT カラムによる高スループットグラジエント分析
迅速グラジエント分析は非常に高いサンプルスループットを実現します



短いカラムと新しい 2 μ m以下の粒子を
使用するハイスループット HPLC
ページ 7 より続く

サービス/
サポート
システム
最新情報

ご注文ガイド

NEW!

Rapid Resolution HT (RRHT) カラム			
寸法	購入単位	StableBond SB-C18 部品番号	Eclipse XDB-C18 部品番号
4.6 x 50 mm	標準カラム×1本	822975-902	922975-902
4.6 x 50 mm	標準カラム3 本入	822975-932	922975-932
4.6 x 50 mm	カートリッジカラム×1本	825975-902	925975-902
4.6 x 50 mm	3 本入/カートリッジカラム	825975-932	925975-932
4.6 x 30 mm	カートリッジカラム×1本	823975-902	923975-902
4.6 x 30 mm	3 本入/カートリッジカラム	823975-932	923975-932
4.6 x 15 mm	カートリッジカラム×1本	821975-902	921975-902
4.6 x 15 mm	3 本入/カートリッジカラム	821975-932	921975-932
2.1 x 50 mm	標準カラム×1本	822700-902	922700-902
2.1 x 50 mm	標準カラム3 本入	822700-932	922700-932
2.1 x 50 mm	カートリッジカラム×1本	825700-902	925700-902
2.1 x 50 mm	3 本入/カートリッジカラム	825700-932	925700-932
2.1 x 30 mm	カートリッジカラム×1本	823700-902	923700-902
2.1 x 30 mm	3 本入/カートリッジカラム	823700-932	923700-932
2.1 x 15 mm	カートリッジカラム×1本	821700-902	921700-902
2.1 x 15 mm	3 本入/カートリッジカラム	821700-932	921700-932
説明		部品番号	
カートリッジハードウェアキット 1式		820555-901	

* すべてのカートリッジカラムにはカートリッジハードウェアキット (部品番号 820555-901) が必要です。

弊社システムを最新の状態に保つ継続的プログラムの一環として、Agilent Technologies は新しいサービスとサポート体制を導入しました。新体制導入に伴う変化はお客様もすでにお気付きと思います。切換え期間中のお客様の忍耐と支援に御礼申し上げます。重要問題の解決へむけて大きな進展があり、我々は通常のビジネス環境に戻るために力強く前進しつつありますこの変革を可及的速やかに成し遂げ、お客様の満足度をさらに高めるために残された問題の解決へ向けてまい進する所存です。

Agilent は常にお客様の満足を第一に考えています。新システムの実施はお客様と弊社のビジネスをさらに改善する枠組みを提供します。

国土安全保障

迅速な検出と迅速な対応

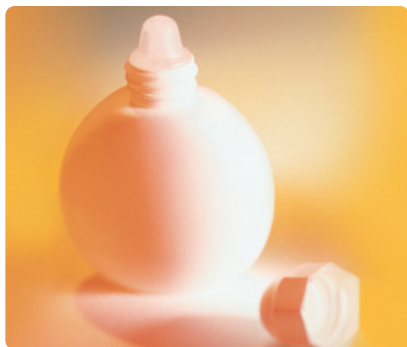
Agilent の最新モバイルラボは空気や水、土壌、食物に含まれる生物、化学物質をその現場で見つけ出してくれます。

ラボの分析結果をまさに事件の現場で迅速で正確、しかも安全に取得できます。素早い分析は迅速な対応に不可欠です。これがあってこそ人命が助かり、公衆衛生が保たれるのです。

さらに詳しい情報をご希望のお客様は..

この重要なサービスに関する情報をご希望のお客様は、弊社カスタマーコンタクトセンター(0120-477-111)、若しくは弊社代理店へ資料 (5988-8341EN または 5988-8350EN (CD-ROM) をご請求ください。





ポリマー中の酸化防止剤 – どうすれば同定できるでしょうか？ Agilent 1100 LC/MSD システムが解決します。

- 酸化防止剤の分析と同定を実現する強力な方法
- ZORBAX XDB-C8 による迅速分析



解説： Michael Woodman
市場開拓スペシャリスト：
LC、LC/MS 担当

プラスチック製品はあらゆる場所で使用され、我々の生活はこれ無しには考えられません。さらに優れたポリマーやブレンドを新しく研究するには、ポリマーの性能を高める添加剤を正しく選択するという課題をとまいます。これらの添加剤がポリマーに色や密度、透明度、剛性、柔軟性、難燃性などの特性を与えます。さらに加工特性も改善されます。

酸化防止剤 (AO) の添加は特に熱や光、空気による劣化を遅らせるのに役立ちます。AO の解析へ向けて、ここで説明する分析的アプローチは成分の調合、品質管理、競合製品の解析に役立つばかりでなく、特許その他の知的所有権が適切に保護するためのデータ採取にも有用です。

小さなヒンダードフェノールや大きな疎水性ヒンダードフェノール、あるいはリン酸塩やホスホン酸塩が導

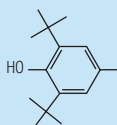
入された芳香族化合物など幅広い化合物が酸化防止剤として利用されています。

多くの低分子分子の解析には、標準的な検出器を備えたガスクロマトグラフや質量分析計 (MS) が適しています。しかし、AO の分子量 (MW) が大きくなり、揮発性が低下するにつれてガスクロマトグラフは一般に分析手段として適さなくなります。液体クロマトグラフならば広い分子量範囲と様々な溶解性を持つ材料を分析できるため、このような場合には液体クロマトグラフが選択肢となります。通常、AO は芳香環を含むことが多く、このような化合物の検出/測定には UV/VIS 検出が適しています。

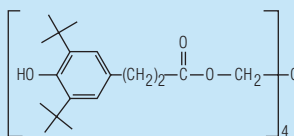
多くの AO には官能性を持つ芳香族、酸素、窒素、リン、硫黄が含まれることから、大気圧イオン化質量分析計 (API-MS) もこれらの化合物を分析

研究対象となった酸化防止剤

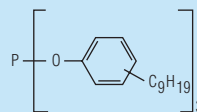
1. BHT, MWt = 220.2



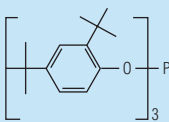
2. Irganox 1010 (CibaGeigy), MWt = 1177.67



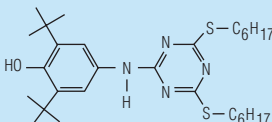
3. Naugard P (Uniroyal), MWt = 688.5



4. Irgafos 168, MWt = 646.5



5. Irganox 565, (CibaGeigy), MWt = 588.6



6. BHA, 2- および 3-t-ブチルヒドロキシ
アニソール混合物, MWt = 180.1

7. t-BHQ, MWt = 166.1

8. Cyanox 1790, MWt = 699.5

9. Ethanox 330, MWt = 772.6

10. Irganox 1076, MWt = 530.5

11. Sandostab P-EPQ, MWt = 1035

するのに適しています。化合物の同定は、保持時間データやUV/VIS スペクトル、質量分析計の場合には分子イオン（本質的にその化合物の質量を表す）の一致をもとに行われます。イオン化方法と質量分析計のタイプをうまく選択すれば、高エネルギーでイオン化することによって生じるフラグメントイオン情報をもとに構造情報を得ることも可能です。

装置とメソッド

今回は クォータナリポンプ、ダイオードアレイ検出器 (DAD)、バイナリポンプ (ポストカラム反応試薬用)、オートサンプラー、および 6 ポート 2 ポジションバルブを装着したカラムコンパートメントから構成される Agilent 1100 シリーズ HPLC システムを用いました。分離条件として水/アセトニトリル (ACN) 系、水/メタノール (MeOH) 系、または水/メタノール/テトラヒドロフラン (THF) 系によるグラジエント溶出を検討しました。DAD により 200~400 nm の範囲を 1 nm 分解能で UV-VIS スペクトルを取り込みました。すべての装置は Agilent ケミステーションからコントロールしました。使用した質量分析計は大気圧化学イオン化 (APCI) インターフェイスを備えた Agilent 1100 MSD SL シングル四重極質量分析計です。分離の対象となる化合物グループの特性を考慮し、分離カラムとしては ZORBAX XDB-C8 (4.6 mm × 50 mm、粒径 3.5 μm) を選択しました。長鎖フタル酸塩や分子量の大きな酸化防止剤のような非常に疎水性の強い化合物を溶出し易くするため、C18 よりも C8 カラムを選択しました。今回は 5 μm ではなく Rapid Resolution 3.5 μm を使用しました。その理由は、より短いカラム (通常の 150、250 mm ではなく 50 mm カラム) にしても高い効率を持ち、限られた分析時間で幅広いグラジエントプロフィールに対応できるためです。

実験結果

図 1 に示すのは、9 種類の AO を水/メタノール/THF 系 溶媒でグラジエント分離したクロマトグラムを重ね書きしたものです。

BHA、BHQ、BHT のような低分子の分解能については全く問題がありません。しかし、より大きな分子の場合には 10~12 分の領域で分解能の低下が見られます。これらの分子はそれぞれ固有の分子量を持っていますから、選択的な MS 検出が可能です。

未知物質の同定

検体に関する十分な予備知識なしに UV/VIS スペクトルを使用した場合には、それだけで物質を同定できるほど十分な定性情報を得られないことがあります。これに対して、MS データは構造の詳細を推定できるほどの定性情報を持ち、実際に化合物の同定を行うことができます。含まれている成分が BHA または BHT という単純な試料の場合には、UV スペクトル (図に示されていません) だけ

図 1 から 3 の分析条件

Agilent 1100 MSD 質量選択検出器 (MSD) SL シングル四重極 APCI インターフェイス付 MS

カラム: ZORBAX XDB-C8, 4.6 × 50 mm, 3.5 μm

部品番号: 935967-906

フラグメンター: 100V、ポジティブおよびネガティブイオン化

ネブライザ: 50 psi 窒素

気化温度: 400°C

乾燥ガス温度: 325°C

乾燥ガス流量: 6 L/min

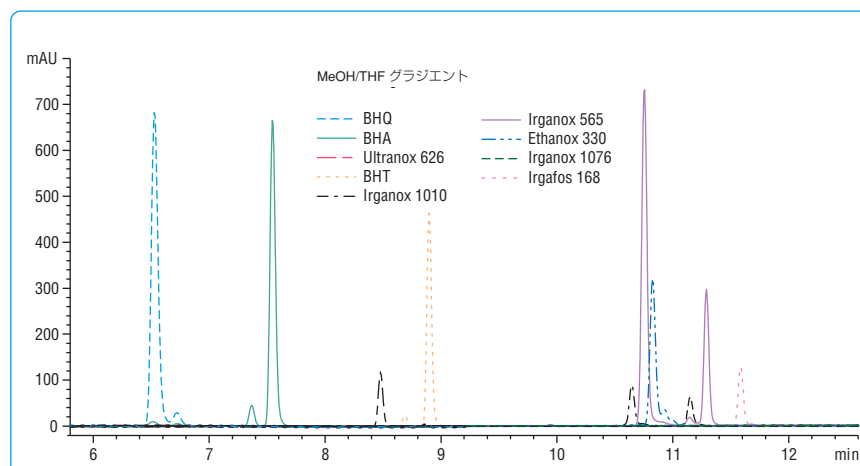
メソッド 1 "MeOH/THF", カラム温度 30°C, サイクル時間 25 分

グラジエント:

流量	時間	% 水	% MeOH	% ACN	% THF
1	0	40	50	0	10
1	15	0	90	0	10
1	20	0	90	0	10
1	21	40	50	0	10



図 1. 酸化防止剤の分離 — MeOH/THF グラジエント



でも基準となる保持時間と比較して物質を同定することができます。ネガティブイオン MS データ (図 2) を使用すれば、同じサンプルから (結果としては似ていますが) はるかに決定的で確実な結論を導くことができます。

これとは別に、UV/VIS と MS データを利用して未知添加剤を含んだ溶液を既知添加剤溶液と比較しました。ネガティブイオンのスペクトルの比較を図 3 にしています。ここでは、Naugard P (上段のスクリーン) を 2 つの未知検体と比較しています。中段のスクリーンは Naugard P とうまく一致していますが、下段のスクリーンはマッチしていません。観測されたフラグメントイオンから、下段の未知物質は関連生成物と考えられ、化学構造を推定しました。

総合的に考えて、UV/VIS と MSD 検出器を備えた LC は AO 化合物の分析と同定に役立つ強力なツールです。

図 2. BHA と BHT のネガティブイオン抽出 MS スペクトル

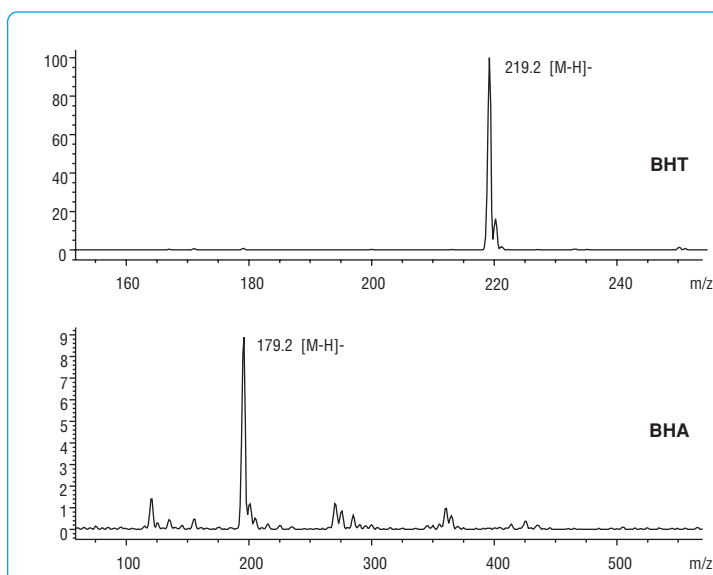
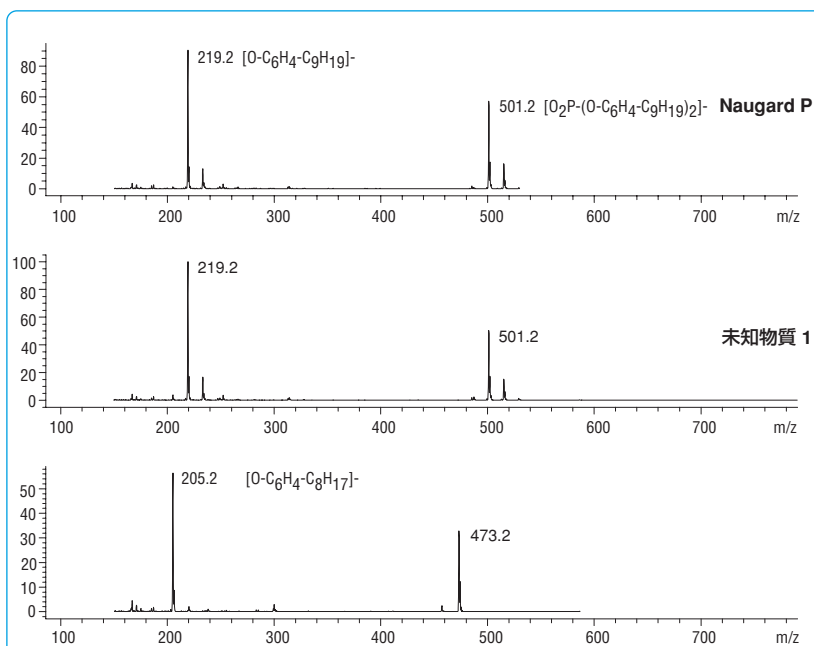


図 3. Naugard P と 2 種類の未知物質のネガティブイオン MS スペクトル



さらに
調べるには..

弊社 Web サイト
(www.agilent.com/chem) に入り、
"Library" をクリックしてから
キーワード欄に資料番号 **5988-8610EN**
をタイプしてください。
または、弊社カスタマーコンタクト
センター(0120-477-111)、
若しくは弊社代理店へ
お問い合わせください。

オーダーガイド

説明	I.D. (mm)	長さ (mm)	粒径 (μm)	部品番号
ZORBAX Eclipse XDB	4.6	50	3.5	935967-906

メンテナンスが必要になるまで待つてはいけません

GC注入システムを正しくメンテナンスして最高の性能で運用しましょう

Agilent の PerfectFit 交換部品と用品

現在ご使用の分析機器から最高の性能を引き出すには定期的な装置メンテナンスばかりでなく、必ず PerfectFit 部品 (純正部品) を使用してください。仕様に記載された、最高の性能を発揮させるために Agilent のケミストやエンジニアが推奨しているのは Agilent の純正用品だけです。ご使用のクロマトグラフシステムを正しくメンテナンスすることによって得られる結果に完全な自信を持つことが可能になります。

このような例を見たことはありませんか？



使い過ぎたセプタム



汚れた、あるいは腐食した
金メッキ注入口シール



汚れた注入口ライナー

それは交換の時期です

問題点

- 再現性の問題
- 短いカラム寿命 (酸化による劣化)
- ベースラインの問題 (ゴーストピークとキャリーオーバー)
- 溶媒ピークのテーリング

解決策: 最高の性能を維持するには アプリケーションにもよりますが通常50 回から 100 回の注入でセプタムを交換してください。高温アプリケーションではそれに適したセプタムを使用してください。

セプタム

説明	部品番号
BT0セプタム、50個/パック、400°C	
• スプリットスプリットレス用 11 mm	5183-4757
• オンカラム注入用 5 mm	5183-4758
長寿命セプタム、50個/パック、350°C	
• スプリットスプリットレス用 11 mm	5183-4761
• オンカラム注入用 5 mm	5183-4762
高性能グリーンセプタム、50個/パック、350°C	
• スプリットスプリットレス用 11 mm	5183-4759
• オンカラム注入用 5 mm	5183-4760



PerfectFit セプタム

問題点

- 活性を持つ化合物の吸着 (フェノール、アミンなど)
- ゴーストピーク
- サンプルの分解
- バックグラウンドノイズの増加

解決策: 金メッキシールは外観に惑わされず定期的に交換してください。金メッキシールは再使用しないでください。

注入口シール

説明	部品番号
金メッキシール	18740-20885



Agilent 純正金
メッキシール

問題点

- ピーク形状の劣化
- 不安定な化合物の分解
- ゴーストピーク
- 活性を持つ化合物の吸着 (ピークが現れない、ピークのテーリング、再現性不良)

解決策: 活性を持つ化合物の分析には最適に不活性化処理されたライナーを使用してください。少しでも汚れの徴候が現れたら必ずすぐに注入口ライナーを交換してください。

注入口ライナー

説明 (すべて 5 本/パック)	部品番号
スプリットライナー 低圧力降下ナブ、先端部にガラスウール、 底にテーパーのかかった構造、不活性化処理	5183-4701



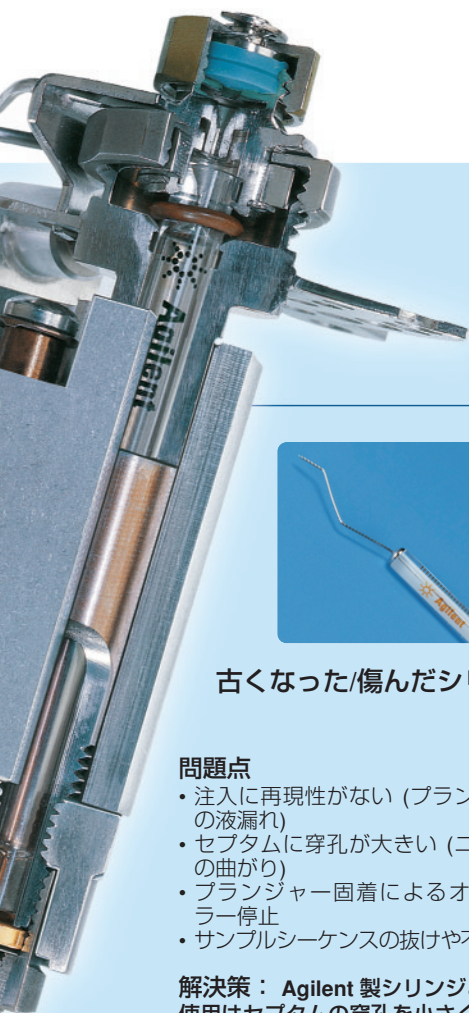
一般分析用スプリットスプリットレスライナー 5183-4712
ガラスウール、テーパー付、不活性化処理



スプリットレスライナー 5183-4693
底部にガラスウール、底にテーパーのかかった構造、不活性化処理



ご使用の GC システムを最適化するように開発、試験されています。



ただうまく
取り付けられる..
これだけではPerfectFit
とは言えません

Agilent GC から最高の
性能引き出すには必ず
Agilent の純正部品と用品を
ご使用ください。



古くなった/傷んだシリンジ



使いすぎの注入口 O-リング



古くなった/傷んだフェラル

問題点

- 注入に再現性がない (プランジャーからの液漏れ)
- セプタムに穿孔が大きい (ニードル先端の曲がり)
- プランジャー固着によるオートサンプリング停止
- サンプルシーケンスの抜けや不完全な注入

解決策: Agilent 製シリンジと HP用の使用はセプタムの穿孔を小さくし寿命を延ばします。ニードルの曲がりの問題を起き難くするには 23 ゲージニードルを使用してください。シリンジ本体が退色したりサンプル引き抜き中に気泡が観測されるようになったらシリンジを交換してください。

Agilent GC 用 Agilent オートサンプリングシリンジ			
説明	単位	部品番号	
10 µL、テーパー付、固定ニードル	6本/パック	5181-3360	
23-26s/42/HP Point	各1本	5181-1267	
10 µL、ストレート、固定ニードル、	6本/パック	9301-0725	
23s/42/HP Point	各1本	9301-0713	
10 µL、テーパー付き、固定ニードル、	6本/パック	5181-3361	
テフロン先端プランジャー、	各1本	5181-3354	
23-26s/42/HP Point			
5 µL、テーパー付き、固定ニードル、	6本/パック	5181-8810	
23-26s/42/HP Point	各1本	5181-1273	
5 µL、ストレート、固定ニードル、	6本/パック	5182-0875	
23s/42/HP Point	各1本	9301-0892	
5 µL、ストレート、固定ニードル、	6本/パック	5183-4728	
26s/42/HP Point	各1本	9301-0891	



広い選択肢

問題点

- バックグラウンドノイズの増加
- リテンションタイムのバラツキ
- 危険なリークの発生と高価なカラムインターフェイスの修理が必要となる可能性あり
- 大きなカラムブリード
- MSD イオンソースの酸化
- GC システム内への空気漏れ、その他の汚染
- サンプル損失

解決策: 使用中のカラムにピッタリ適合した設計のフェラルでなければ最高の結果は得られません。カラム交換時、メンテナンス実行時にフェラルを交換してください。使用する配管専用設計されたフェラルとカラムナットを使用してください。

フェラル			
説明	I.D. (mm)	カラム I.D. (mm)	部品番号
グラファイト短フェラル (一般用)	0.5	0.1 to 0.32	5080-8853
	1.0	0.45 and 0.53	5080-8773
85% Vespel, 15% グラファイト短フェラル (一般用)	0.4	0.1 to 0.25	5181-3323
	0.5	0.32	5062-3514
	0.8	0.45 and 0.53	5062-3512
前処理済み 85% Vespel, 15% グラファイト長フェラル (GC/MS 用)	0.4	0.1 to 0.25	5062-3508
	0.5	0.32	5062-3506
汎用カラムナット (2 個/パック)			5181-8830
MS インターフェイスカラムナット			05988-20066



Agilent のカラム、注入口、検出器に
ピッタリとフィットします

問題点

- EPC が設定圧に到達できない
- 酸素による劣化によりカラム寿命が短くなる

解決策: 注入口ライナー交換時に O-リングも交換してください。フルオロカーボン O-リングはグラファイト系のような変形や剥離を起こしませんから交換作業が容易です。グラファイトシールは注入口温度が 350°C を超える場合に使用してください。

ライナー O-リング

説明	部品番号
フルオロカーボン O-リング、12個/パック	5180-4182
スプリットレスライナー用グラファイト O-リング、10個/パック	5180-4173
スプリットライナー用グラファイト O-リング、10個/パック	5180-4168



長寿命で信頼できます

スケールアップ：分析用 HPLC から スタートして分取用 HPLC 分離を開発

- フルスケールの分取用 HPLC を素早く簡単に得るためのステップ
- ZORBAX カラムを利用して分析メソッドを効率よくスケールアップ



By William Long, Ph.D.
テクニカルサポートケミスト



分析用 HPLC と分取用 HPLC の最も大きな差はその目的にあります。分析用 HPLC の目的が情報を得ることであるのに対して、分取用 HPLC の目的は化合物を分離、精製して次の用途に供することです。分取用 HPLC のメソッド開発は分析用の場合と同様であり、クロマトグラフが最高の性能を発揮するように条件を調節することです。分取用メソッドの開発にはより規模の小さい分析カラム用メソッドの分析条件をスケールアップして分取用分離を行うのが簡単でコスト効率の良い方法です。

精製後の必要量が 1mg 以下の場合には標準分析カラム (4.6 mm I.D.) を使用することも可能です。それより大きな分量が必要であっても注入を繰り返してフラクションを溜めることで目的を達成できます。もう一つの方法はカラムを過負荷条件—ピークが歪み分離能が低下するほどの大量

の試料を注入する—で使用することで不純物の混じった出発物質から精製された物質を回収する最も簡便な方法は、その物質を含む分析に使用されていたのと同じ分析メソッドからスタートすることです。

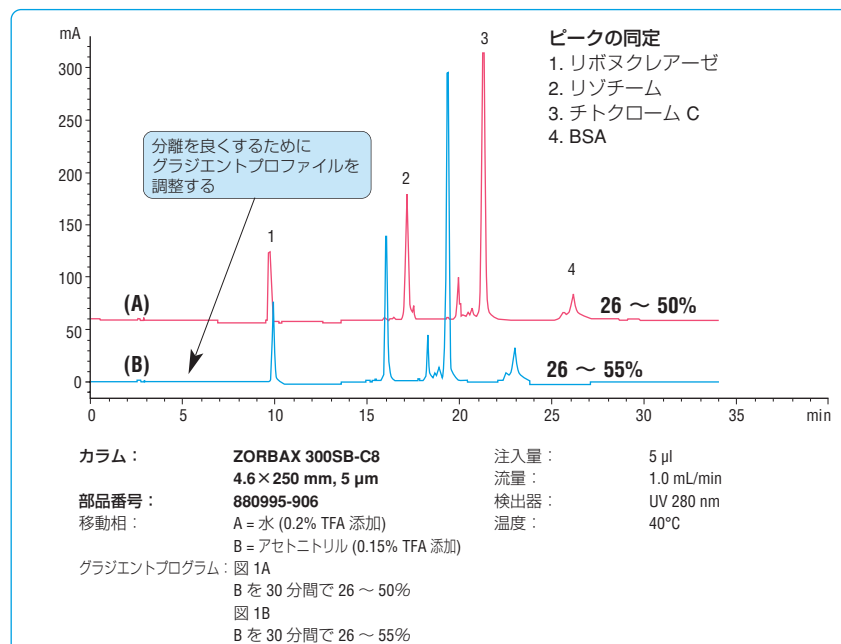
ラボスケールの分取操作で望ましいのは、一回の注入から得られる精製物質の量をできるだけ大きくすることです。したがって、やや過負荷な条件や「隣接ピークが重なり合う」ような条件を使用することになります。このような条件を使用する利点としては、高純度 (99%+) で目的物質を回収できること、比較的純度の高い目的物質を高回収率 (95%+) で回収

できること、プーリングやフラクションの再分析の必要がないこと、さらに分離条件の開発が簡単であることがあげられます。精製の対象となる物質がサンプル中の他の不純物よりも先に溶出するのであれば、実際には相当多量の試料を注入することが可能です。当然ながら、保持時間のシフトと分離能の低下が起こりますから、クロマトグラフとしてどの程度まで許容できるかを評価しておく必要があります。

分取の条件検討で考慮すべき事項

分取 HPLC では溶媒をフラクションから除去/分離する必要があります。一般的には順相用の有機溶媒の方が逆相

図 1. 300SB-C8 を用いたタンパク質分離



用の溶媒よりも除去が容易です。緩衝液を使用する場合には揮発性のあるものを選択し、イオンペア試薬の使用は避けてください。この目的に適した緩衝液は酢酸、ギ酸、炭酸アンモニウム、ギ酸アンモニウム、または酢酸アンモニウムなどです。

分取 HPLC のサンプリングで重要なことは、高濃度の溶質を比較少量の移動相に完全に溶解させられるかどうかです。使用可能な最大量の移動相でも溶解度が不十分で、隣接ピークが重なり合うようであれば、次に検討することは移動相以外の溶媒の選択です。イオン化する試料であれば、pH やイオン強度検討してみてください。順相または逆相での試料の場合は、移動相と同程度の溶媒強度で種類の異なる移動相を考えてみましょう。時によっては、ジメチルスルホキシド (DMSO) などの強い溶媒の使用もあり得ます。使用する溶媒について考えるときは、試料用と移動相用のどちらの場合も、溶質に対する保持係数 (k) が大きい溶媒は精製された物質 1 g を溶出するのにより多くの量が必要であることに留意しなければなりません。溶媒の消費量は経済性ばかりでなく環境保護の面からも重要な問題ですから、k の値を小さくできる方が有利です。

最後に考慮しなければならないのはカラムの理論段数 (N) と分離係数 (α) の重要性です。サンプル量が増大してカラムが過負荷の傾向を示すと、ピークが広がり始めて N はカラム条件というよりは試料量に依存するようになります。分取 HPLC では大きな理論段数は必要とはされませんから、むしろ α の値が大きい方が有利です。 α の値の増加は 1 回の試料注入で分離可能な化合物の量を増大させるばかりでなく、それに必要な理論段数を小さくしてくれます。定量分析が目標である場合には、勿論サンプル中の全てのピークがベースライン分離できることが望ましい訳ですが、分取が目的であるならば精製、回収したい化合物のみがベースライン分離できれば良いのです。希望する成分の回収率を上げられるのであれば、それ以外の成分ピークの重なったとしても問題ではありません。

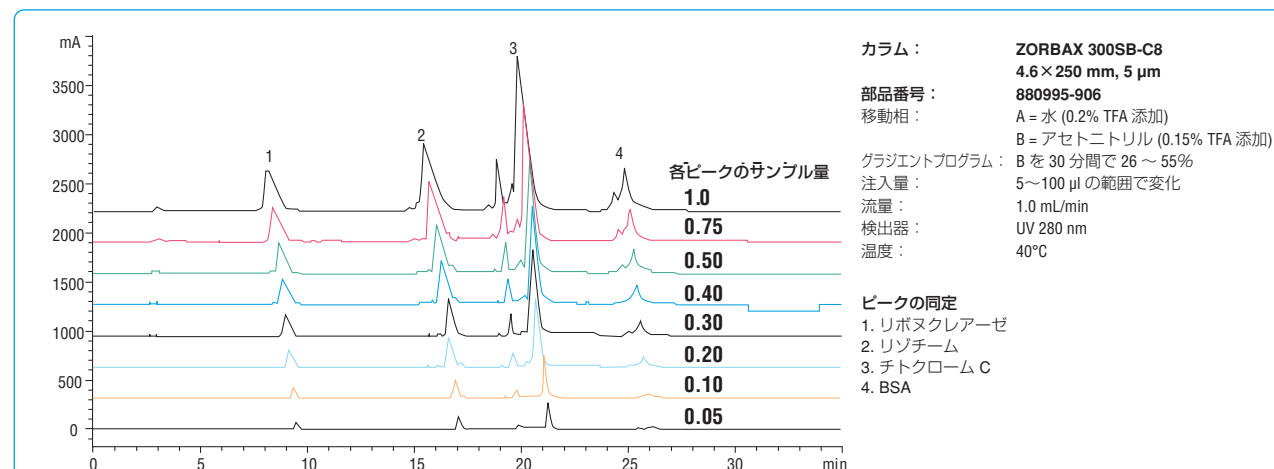
メソッド開発の方法は分析用分離メソッド開発と基本的に同じであり、溶媒強度 (可能な限り目標ピークに対して $k < 2$) と選択性 (可能であれば $\alpha > 1.5$) を最適化します。小さなスケールでの条件 (定量分析の条件など) が確立されているならば、より大量のサンプルを注入して分離状態を評価することができます。

試料負荷量の検討

分析スケールでの分離条件の開発に続く次のステップは負荷量の検討です。可能な負荷量を調べるため、分析スケールのカラムに注入する試料量を計画的に徐々に大きくしていきます。この手法の目的は、より大型で高価な分取カラムを購入する前に、試料と溶媒の消費を抑えながら分離条件の評価を行うことにあります。試料は移動相に溶かして調製しますが、もし可能であればピークの歪みを小さくするために移動相よりも強度の弱い溶媒を使用します。理論段数が 10% 減少するまで試料注入量を増加させます。実際には、どこでピークが歪み始めるかは目で見て明らかですから計算を行う必要はありません。

分析者が HPLC メソッドのスケールアップを図る場合の指針は、充てん剤の表面化学は変化しないということ仮定しています。スケールアップに使用するカラムや分析カラムは最終的に使用する分取カラムと同一の充てん剤でなければなりません。試料負荷は、質量過負荷の場合も容積過負荷の場合も同様に、カラム容積に比例させて調整する必要があります。両方のカラムに充てんされている粒子の径が同じ場合には両者の

図 2. 300SB-C8 を用いたタンパク質分離



線流速も同じにしなければなりません。スケールアップで使用する計算を式 1、2 に示します。

式 1
カラムから大型カラムへの流量スケールアップ

$$F_{\text{分取}} = \left[\frac{d_{\text{分取}}}{d_{\text{分析}}} \right]^2 \times F_{\text{分析}}$$

式 2
小型カラムから大型カラムへの注入質量スケールアップ

$$M_{\text{分取}} = \left[\frac{d_{\text{分取}}}{d_{\text{分析}}} \right]^2 \times M_{\text{分析}}$$

圧力が装置の耐圧上限を超えそうになったならば、流量を下げてください。この場合は負荷量を流量に合わせて調節し、分析時間を長くします。Agilent の ZORBAX 分析カラムと PrepHT 分取カラムを使用すれば、単にカラムの交換と流量の変更だけでスケールアップができます。両方のカラムには同じ充填材が入っていますから、ほとんどの場合スケールアップといってもカラムと流量の変更だけで済みます。分析の際の分離状態を維持するためには線流速を保つ必要があります。分取用

カラムは直径が大きく、したがってカラム容積も大きくなりますから、分取用分離で同じ線速度を保つためには流量も大きくなります。

たとえば、4.6×150 mm の分析カラムに 1.0 mL/min の流量を流して分離したとすれば、同等の分離を 21.2 mm × 150 mm カラムにスケールアップしようとするれば 21.2 mL/min を流すことになります。同様に、サンプル負荷量についても同じ係数を使用します。内径 21.2 mm の分取カラムは内径 4.6 mm カラムと比較して 21.2 倍の試料を付加しても分離できます。

グラジエント分離を使用する場合は、式 1 に従ってグラジエント容積をカラム容積に比例して調整します。

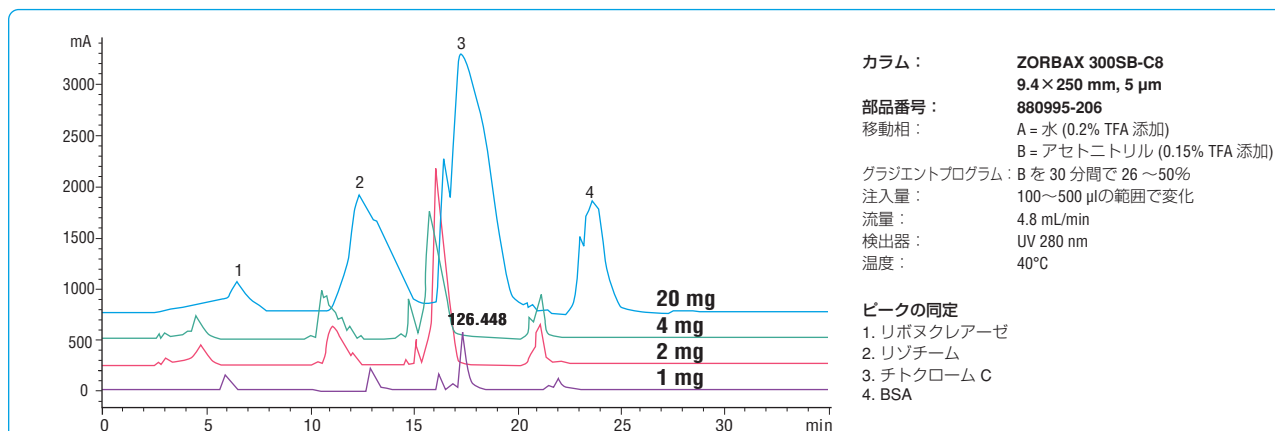
流量を大きくしても装置の耐圧上限を超えないのであれば、グラジエントのタイムプログラムをそのまま使用してもかまいません。グラジエント分離のスケールアップを、300SB-C8 カラムを使用したタンパク質混合試料の分離を例に説明します。この分離では、図 1 (p.14)、図 2 (p.15)、図 3 (下図) に示すように水/アセトニトリル/TFA によるグラジエント溶出を用いています。最初の分離は 4.6×250 mm カラムを用いて行いました。図 1 の (A) と (B) はグラジエント条件を僅かに変更したときの分離能への影

響を示しています：ピークが早く溶出しています。負荷量の増加にしたがって、化合物間の分離能は低くなる傾向を示しています。この効果は、同一サンプルで注入量を変化させた場合 (図 2) とサンプル濃度を増大させた場合 (図 3) のどちらにも見られます。図 3 は、セミ分取カラム (9.4×250 mm) を使用したときに最終的に達成できる分離を示しています。このケースではカラム長は同じですから、式 2 を用いてカラム直径の比からセミ分取用流量 4.18 mL/min を計算しました。それ以外のすべてのグラジエント条件は同じです。最終的なクロマトグラフでは、注入容積を増やすために 0.5 mL ループを追加しており、これによってもピークの保持時間がシフトしています。

結論

ここで紹介した実例が示しているように、ZORBAX PrepHT のようにスケラブルなカラムを使用すれば、比較的安価な分析カラムを利用して最小の労力でメソッド開発が可能であることが判ります。対象試料の分離に適した分析スケールのカラムでプロセスの最適化と移動相条件の調節を行い分取に必要な分離係数と理論段数を達成する方法は、充填剤が共通である場合にうまく機能します。結果的に、メソッドをよりスケールの大きな分取カラムへ適用しようとする場合に起こり得る問題を最小することができます。

図 3. 300SB-C8 を用いたタンパク質のセミ分取分離





www.agilent.com/chem/store (米国内のみ)

すべてが簡単 – Agilent のオンラインストアをご利用ください

カラムや各種用品、修理部品、装置、アクセサリ、ソフトウェア、サービスに至るまでアクセス可能な強力な機能

輸送料無料
総額 \$500 を超える
ご注文は輸送料が
無料になります
(米国内のみ)

特徴:

- **価格と迅速さ。**お客様に適用される価格リストを表示させます。アカウントの設定が終わっていれば、お客様の会社/組織に適用される価格が表示されます。
- **簡単な購入手続き。**部品番号と数量を入力するだけで直接、簡単に発注していただけます。
- **在庫確認。**指定の製品がすぐ出荷可能かどうかその場で知ることが出来ます。
- **装置構成。**購入したい装置の構成が決まったならば、直ちに価格を調べて購入申請用の見積もりを作成することができます。勿論オンライン購入も可能です。

NEW!

- **購入のオンライン認証。**カートに品物を入れたならば、お客様専用 ID を購入代理店、または他の正規代理店へ電子メールで送ってください。これらの代理店がお客様のカートにアクセスして必要な変更を加えてから発注処理を行います。

NEW!

- **個人カタログ。**何回か購入されると、お客様が頻繁に発注される製品を網羅した個人用カタログが作成されます。次回発注されるときは、このカタログから欲しい品物を選択することができます。
- **処理状況の追跡。**どのような方法で注文を出された場合も、その処理がどこまで進んでいるかをチェックすることができます。Agilent が受注

してからお客様に届けられるまで、注文の状況を細かく追跡することができます。

- **発注履歴。**発注履歴を見ながら、効率的に発注処理を行うことができます。
- **購入処理をパーソナライズ。**お客様の便利を考え、オンラインストアはそれぞれの企業/組織の購入ポリシーとニーズに適応するように設計されています。

オンライン発注を パーソナライズしましょう

ステップを追った詳しい説明を
ご希望のお客様は、
www.agilent.com/chem の
"Library" をクリックしてから
資料番号 **5988-9307EN** を
入力してください。

すべての機能へ 迅速なアクセス

まず
www.agilent.com/chem/buyonline に
入ってください。ここから
オンラインストアのすべての
機能に簡単にアクセスできます。
初回発注でも待たされる
ことはありません。

Order Confirmation									
Primary Contact									
Your P.O. No.	S.O. Date	Agilent Sales Ord.	Page						
4500045075	12/13/2002	0301005051	1 of 1						
Customer Service					Delivery Status				
(800)227-9770					Completely processed				

Item	Product	Description	Notes	Ord. Qty	Net Price	Subst. Div. Date	Div. Qty	Ship Date
1	5181-1263	Septa 11mm no hole 25/PK		4 PK	\$110.67		4	12/16/2002
2	5182-9652	Split/Splitless Disk		5 EA	\$192.80		5	12/16/2002
3								

Order Status of					Status
Sales Under	P.O. Number	Net. Amount	Date		
0301022009	12185	\$3,039.66	1/22/2003	Completely Processed	
0301021838	12183	\$3,279.68	1/21/2003	Partially Processed	
0301021074	12181	\$2,178.74	1/20/2003	Partially Processed	
0301020565	12177	\$2,558.35	1/17/2003	Partially Processed	
0301020423	12176	\$2,180.04	1/17/2003	Completely Processed	

例えばオンライン発注したものでなくても、あらゆる注文の処理状況を追跡できます。

My Catalog					Instructions
Add To My Catalog					Enter part number in the field below
Part No.	Description	Remove Item	Qty	Your Price	
5181-3315	Line r, splitless, dbi-lpr, no glswl, deacted	X		\$34.80	
5183-4620	Column cutter w/rotating Diamond Bled	X		\$262.00	
5020-8294	Blanking plug, finger-tight style	X		\$12.03	
5184-3572	Electronic Crimper for 20mm vials To configure and add to My Configurations click New Config button.	X			New Config
5001-3758	Decapper head 11mm	X		\$191.00	
5041-2178	Can column connector 0.1mm-0.1mm 10/PK	X		\$65.15	

頻繁に注文する製品をまとめてパーソナライズされたカタログが表示されますから、再注文が非常に簡単です。

日本国内のお客様はオンラインストアを利用して直接購入することは出来ません。もし必要な部品が Web 上で見つけた場合にはその内容を印刷して、弊社カスタマーコンタクトセンター(0120-477-111)、若しくは弊社代理店へお問い合わせください。(日本国内でオンラインストアを使用できるようになるのは 2004-2005 年の予定です)。

技術サポートに
聞いて
見ましょう

GC カラムの仕様は本当に私の 分析結果に影響するのですか？

Agilent J&W Scientific カラムを使用する利点



Eberhardt Kuhn, Ph.D.
テクニカルサポートケミスト



あるカラムと別なカラム間の再現性を保証するため、Agilent Technologies は「スペシフィケーションプログラム」を用意して業界で最も厳しい仕様を作成しております。

Agilent J&W Scientific カラムを使用する利点

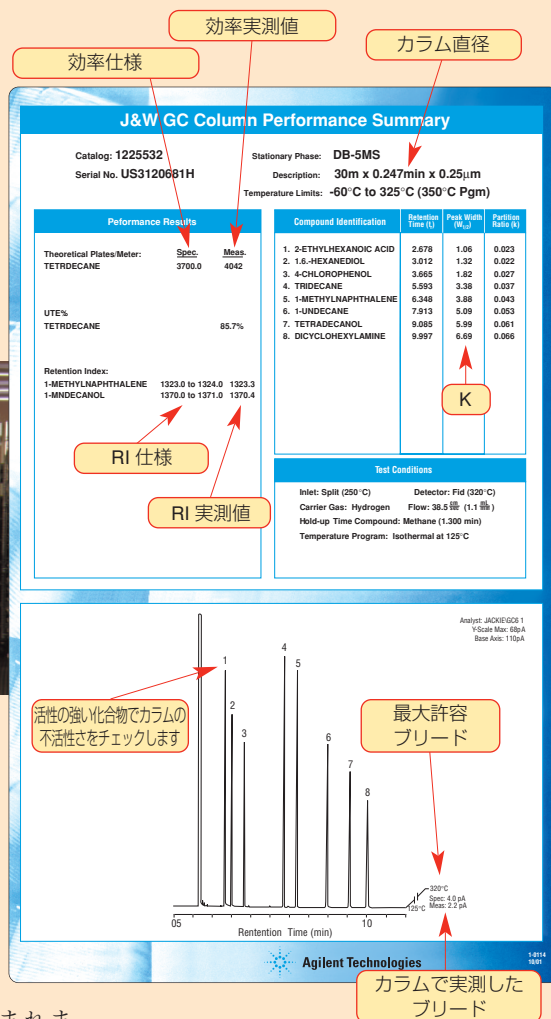
- **時間とコストの節約。**ある 1 本のカラムを使用してメソッドを開発したならば、確信を持って次のカラムからも全く同様の性能を期待することができます。別な場所の装置にメソッドを移す場合にも、他の場所のカラムがこちらのカラムと全く同様に機能してくれることと期待できます。したがって、新しいカラムを購入するたびにメソッドを修正する必要はありません。
- **信頼性、正当性を主張できるデータ。**すべての Agilent カラムで得た結果に自信を持つことができます。
- **再現性。**来月、新しいカラムで分析を行ってもその前のカラムと同じ結果が得られます。どこで分析しても結果は同じです。
- **比類ない性能と品質。**Agilent J&W カラムは最小のブリーディングと最高度の効率を持ち、優れて不活性です。

カラムパラメータを厳重に コントロール

GC カラムの製造は時間と労力を要する作業です。様々な基準のパラメータにはカラムチューブの物理的寸法（直径と長さ）、固定相の特性（ポリマーの組成と膜厚）などが含まれます。Agilent Technologies で製造されるキャピラリーカラムは、これらのパラメータが厳密に再現するように 1 本ごとに試験が行われます。試験結果のまとめがカラム 1 本ごとにボックスに添付されます（上図右）。

これら 4 種類のパラメータがあるカラムから得られるクロマトグラムにどのように影響を与えるかを次に簡単に説明します。Agilent が厳密にコントロールしなければ実際にこのようなことが起こります。

直径：許容誤差ゼロで実施できる製造プロセスは存在しません。フューズドシリカチューブの延伸作業も例外ではありません。高速 GC では、より短く、より直径の小さなカラムが求められるなかで、カラム直径に最



Agilent J&W Scientific DB-5ms カラムの試験結果

技術的な疑問をお持ちのお客様へ
技術的な質問をオンラインで
直接弊社のエキスパートへ
お寄せください。弊社 Web サイト
(www.agilent.com/chem) へ
ログオンし、"Technical Support"
続いて "Ask our Technical Support
Specialist" を選択してください。
ここから疑問点をお寄せ
いただければ迅速に
対応させていただきます。

も厳しい許容差を適用して最高度のカラム間再現性を提供しているのが Agilent です。Agilent の熱的に安定化された高度な固定相コーティング技術により相対比が一定のカラムが得られます。 β の値を一定に保つことにより、カラム直径や膜厚の若干の変動がクロマトグラフに及ぼす影響を補償することができます。

カラム長さ：カラムの長さだけがユーザーが唯一指定できるパラメータであり、実際に目的に応じて変更します。取り付けを行う時と、汚れた部分を取り除く時にカラムの切断が必要になります。カラムの長さによって保持時間、必要なヘッド圧、分離能に影響を受けます。高速 GC で使用する短いカラムの出現により、カラム長さの小さな差でも大きな変化をもたらすようになってきています。本来 12m のカラム (0.200 mm I.D.) ならば、長さが 1m 違うことによって同じ線速度を維持するためのヘッド

圧に殆ど 50% もの差が生じます。Agilent の GC カラムは (全部の処理が終わった後の) 最終試験の一部としてカラム長の全数検査が行われます。

ポリマー組成：固定相ポリマーの正確な組成はそのカラムの選択性 (極性) を直接支配する要素であり、その尺度となるのが保持インデックス (RI) です。固定相ポリマーの調製段階では、本来目標とするフェニル架橋度 50% が実際には 49% や 51% フェニルになることがあります。あるカラムが公称値である 50% からどれくらいばらついているかを RI が示してくれます。したがって、RI に厳密な許容幅仕様を課すことにより、選択性に再現性 (溶出順序や分離能) を持たせることが可能になります。

* 選択性と極性の違いに関する詳細情報が "Journal of Separation Science" (p. 473, Vol. 24, No. 6, July 2001) に載っています。

膜厚：固定相の膜厚は保持時間に大きな影響を与えます。膜厚 (d_f) の確認に使用できる指標が保持係数 (k) です。特にリテンションタイムロッキング (RTL) を利用するときは d_f にバラツキがないことが重要であり、 d_f が変化すると観測対象となるピークの保持時間が許容ウィンドウ幅から外れてしまうことがあります。固定相の膜厚は分離能にも影響を与えます。 d_f に関連する最も重要なパラメータは相対比 (β) であり、カラム直径に対して相対的に d_f を表す指標になります。すなわち、カラムが違って β の値が同じであるならば同じクロマトグラムが得られます。Agilent が採用している高度なコーティング技術はカラム直径の小さな変動の影響を受けずに一定の β を保証し、カラム間の差異のない再現性のあるクロマトグラムをお届けします。

厳しい仕様の重要性は明らかです。Agilent が公表している仕様から分る通り、お客様は市場で最も一貫性のある最高のカラムを手に入れているのです。

どのようにすれば最高の HPLC 分離能を達成できるキャピラリーを選択できるのでしょうか？



Erich Wagner
製造部長 - HPLC 消耗品担当

カラム外容積によって必要以上にピークの分離能が失われることがあります。あまり注意が払われませんが、システムのカラム外容積 (Extra Column Volume) とはインジェクタと検出器間の容積に注入されたサンプル容積を足した値と定義され、HPLC カラムの容積は含まれません。実際問題として、ECV はシステムごとにかかなり変動する可能性があり、特に最近一般化してきた短く内径の小さなカラムは特にこの変動に対して敏感になります。この様子は実際に観測されるピーク容

積 (V_w) を記述する式を見ると良くわかります。実際に観測されるピーク容積はカラム外容積 (V_p) が全く存在しなかった場合のピーク容積を二乗した値の総和に、個々のカラム外容積の二乗の総和を足したのになります。

$$(V_w)^2 = (V_p)^2 + V_{ss}^2 + V_D^2 + V_T^2 \dots$$

ここで、 V_{ss} = サンプルサイズ、 V_D = 検出器容積、および V_T = 接続配管等の容積です。

したがって、 V_p が小さくなる (例えば内径の小さな短いカラムを低流量で使用する) に従い、観測されるピークの ECV への影響は大きくなっていきます。LC/MS などのシステムでは意図的にピーク容積を小さくしようとしますから、カラム外容積については特に注意を払う必要があります。さもなければ、せっかく最適化して得られた分離能が不必要に、しかも知らない間に低下してしまいます。

どのようにすれば最高の HPLC 分離能を達成
するキャピラリーを選択できるのでしょうか？

ページ 19 より続く

問題点

次の図は、クロマトグラムシステムの配管の長さを追加したことによる効果を示したものです。このクロマトグラムを見ると分るとおり、このカラムの場合内径 0.02 in. (0.5 mm) 配管を僅か 8 in (約20cm) 長くするだけで、より細い内径 0.007 in. (0.18 mm) の配管を 35 in (約89cm) 以上も長くした場合に相当する性能低下が見られます。この例からも明らかなように、コンベンショナル LC 用の短いカラム (4.6 mm ID×30 mm) を使用する場合であってもできるだけ短い配管か、できるだけ内径の小さな配管 (できればその両方) を使用する必要があります。

Agilent のキャピラリーオプション

Agilent は内径 0.12~0.5 mm、外径 0.9 mm (1/32 inch) の各種フレキシブルステンレスキャピラリーを提供しています。外径が細いことにより取扱いが容易なので、すべてのクロマトグラムシステムに良く適合します。の一般的な HPLC システムで使用されている配管 (外径 1/16 inch、1.6 mm) と比較して、このフレキシブルキャピラリーは内壁が非常に滑らかであるために背圧が小さく、閉塞を起こしにくくなっています。これらのキャピラリーを標準的な 1/16 inch 用 フィッティングでご使用いただけるようにするため、Agilent はレーザー技術を応用してキャピラリー両端に 1/16 inch 用 フィッティングに適合するスリーブ

を溶接し、デッドボリュームの小さな接続を可能にしています。

最小のデッドボリュームでお客様のシステムにマッチする各種サイズが用意されています 一目で分る色分けがされています

ご使用中のシステムの分離能力を最大限に引き出すためには、システムの流量に適合する最小内径のキャピラリーを使用してください。内径 1mm と 2mm の HPLC カラムの場合には最も内径の小さい (0.12 mm) ステンレスキャピラリーを用いてシステムのカラム外容積を最小にすることをお奨めします。内径 3 または 4 mm のコンベンショナル HPLC カラムの場合にはより太い内径 0.17 mm ステンレスキャピラリーの使用を考えてください。より大きな流量を必要とする分取、セミ分取には一般的に内径 0.25~0.5 mm のステンレスキャピラリーが適しています。これらのキャピラリーは内径に対応したカラーコードで色分けされていますから一目で内径を正しく区別することができます。

ステンレスキャピラリーはあらゆる LC 用溶媒に適合し、高圧でも問題なくご使用いただけます

Agilent はステンレス製と PEEK 製キャピラリーの両方を提供しています。

ステンレスキャピラリーは 400 bar を超える圧力にも耐え、通常 LC で使用されるあらゆる溶媒に侵されません。PEEK キャピラリーはステンレスキャピラリーよりも耐久性 (化学的および機械的耐久性) に劣りますが、それでもステンレスに代わる便利な選択肢として使われています。キャピラリーとナノフロー HPLC システムの場合には、Agilent 独自の PEEK コーティングされたフューズドシリカキャピラリーと 1/32 inch フィッティングの使用をお奨めします。



さらに詳しくは..

Web サイト www.agilent.com/chem に入り、
"Library" をクリックしてから資料番号 **5988-8453EN** を
入力するか、または "Columns and Supplies."へ
入ってください。

または、弊社カスタマーコンタクトセンター
(0120-477-111)、若しくは弊社代理店へ
お問い合わせください。

配管容積がピーク幅に及ぼす影響

カラム: ZORBAX StableBond SB-C18

4.6×30 mm、3.5 μm

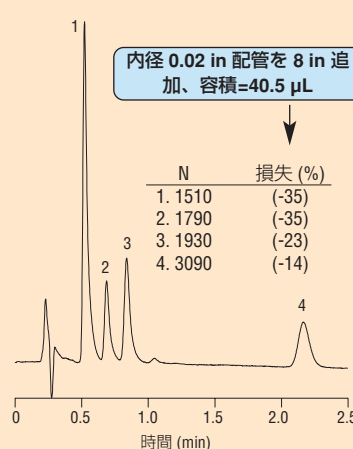
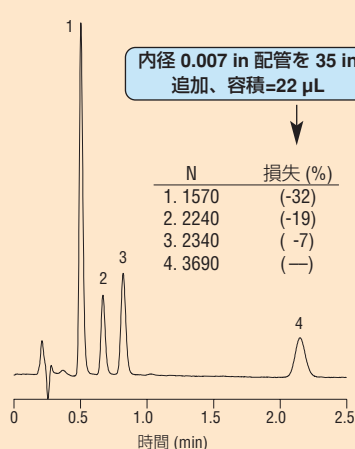
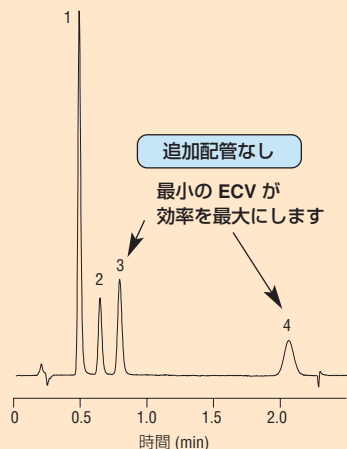
部品番号: 833975-902

移動相: 85% H₂O (0.1% TFA 添加) : 15% AcN

流量: 1.0 mL/min

温度: 35°C

サンプル: 1. フェニルアラニン、2. 5-ベンジル-3,6-ジオキソ-2-ピペラジン酢酸、3. Asp-phe、4. アスパルターム



部 品 ガ イ ド

標準フィッティング スターターキット、0.17 mm I.D.
部品番号: 5065-9939

説明	数量
PEEK キャピラリー、0.17 mm I.D.、1.5 m	1
ステンレスキャピラリー、105×0.17 mm	4
ステンレスキャピラリー、150×0.17 mm	4
ステンレスキャピラリー、200×0.17 mm	2
Stainステンレスキャピラリー、280×0.17 mm	2
ステンレスキャピラリー、400×0.17 mm	1
チューブカッター、PEEK キャピラリー用	1
1/16 in. ステンレスフィッティング、10個/パック	1
1/16 in. PEEK フィッティング、10個/パック	1
1/16 in. PEEK フィッティング、色分け、10個/パック	1
ZDV ユニオン、ステンレス	3
Rheotool	1
Cybertool	1

無料

部 品 ガ イ ド

キャピラリーフィッティング スターターキット、0.12 mm I.D.
部品番号: 5065-9937

説明	数量
PEEK キャピラリー、0.12 mm I.D.、1.5 m	1
ステンレスキャピラリー、105×0.12 mm	4
ステンレスキャピラリー、150×0.12 mm	4
ステンレスキャピラリー、200×0.12 mm	2
ステンレスキャピラリー、280×0.12 mm	2
ステンレスキャピラリー、400×0.12 mm	1
チューブカッター、PEEK キャピラリー用	1
1/16 in. ステンレスフィッティング、10個/パック	1
1/16 in. PEEK フィッティング、10個/パック	1
1/16 in. PEEK フィッティング、色分け、10個/パック	1
ZDV ユニオン、ステンレス	3
Rheotool	1
Cybertool	1

無料

部 品 ガ イ ド

ナノLCフィッティング スターターキット、
1100 キャピラリー LC システム用
(20 µL/min 流量センサー対応)
部品番号: 5065-9938

説明	数量
フューズドシリカ/PEEK キャピラリー、50 µm、55 cm	2
フューズドシリカ/PEEK キャピラリー、50 µm、20 cm	1
フューズドシリカ/PEEK キャピラリー、100 µm、110 cm	1
フューズドシリカ/PEEK キャピラリー、50 µm、50 cm	2
フューズドシリカ/PEEK キャピラリー、50 µm、40 cm	2
4 mm ステンレスフィッティング、オス、10-32	4
1/32 in. PEEK フェラルとステンレスロックリング	4
PEEK フィッティング、µ-Vループ用	4
ダブルウィング PEEK ネットと 3/32 in. フェラル	4
Cybertool	1

無料

スターターキット

ユーザーにキャピラリーを簡単に選択して頂けるようにするため、Agilent は HPLC システムで最も頻繁に使用されるキャピラリーとフィッティングをまとめたキャピラリースターターキットを用意しています。このキャピラリースターターキットには無料で Cybertool が付属します。スイス製アーミーナイフのような Cybertool には 30 種類以上のツールが組み込まれていますから、ラボで非常に便利にお使い頂けます。

無料

スターターキット
には無料で
Cybertool が
付属します。



ご 注 文 ガ イ ド

フレキシブルステンレスキャピラリーの接続	説明	I.D. (mm)	長さ (mm)	容積 (µL)	部品番号
赤		0.12	105	1.2	5021-1820
		0.12	150	1.7	5021-1821
		0.12	200	2.3	5065-9935
		0.12	280	3.2	5021-1822
		0.12	400	4.5	5021-1823
緑		0.17	105	2.4	5021-1816
		0.17	150	3.4	5021-1817
		0.17	200	4.6	5065-9931
		0.17	280	6.4	5021-1818
		0.17	400	9.1	5021-1819
		0.17	600	13.6	5065-9933
		0.17	700	15.9	5065-9932
青		0.25	280	13.8	5022-6508
		0.25	800	39.3	5065-9930
色分けなし		0.5	105	20.6	5065-9927
		0.5	150	29.5	5022-6509
		0.5	280	55	5022-6510
		0.5	800	157	5065-9926

ご 注 文 ガ イ ド

PEEK ポリマーキャピラリー接続	説明	I.D. (mm)	I.D. (in.)	O.D. (in.)	長さ (m)	部品番号
赤		0.13	0.005	1/16	1.5	0890-1915
		0.13	0.005	1/16	5	5042-6461
黄色		0.18	0.007	1/16	1.5	0890-1763
		0.18	0.007	1/16	5	5042-6462
青		0.25	0.01	1/16	1.5	0890-1762
		0.25	0.01	1/16	5	5042-6463
オレンジ		0.5	0.02	1/16	1.5	0890-1761



パージアンドトラップ GC/MS での低レベル含酸素化合物の高感度分析

- ・低レベル含酸素化合物の最適化条件
- ・メタノールとエタノールの ppb レベル検出に最適なカラム (DB-VRX)
- ・頑丈で感度の高い質量選択検出器



Cameron George
テクニカルサポートケミスト

環境分析ラボはしばしばパージアンドトラップ前処理と GC/MS 装置を用いて飲料水や地下水、廃液サンプル中の含酸素化合物を分析することが求められます。アセトンやエチルエーテル、メチル-*t*-ブチルエーテル (MTBE)、*t*-ブタノール (TBA)、および 2-ブタノン (MEK) などの従来から一般的な検体に加えて、メタノールやエタノールの分析への要求が増えつつあります。分析ラボによってはこれらの極性化合物を非常に低濃度で検出するメソッドを報告しています。逆に言えば、これらの低レベル分析に対応できない分析ラボは仕事を失うことになります。

この解説および Agilent アプリケーションノート 5988-8993EN は、パージアンドトラップ GC/MS を用いてメタノールとエタノールの低レベル検出を試みようとする分析化学者に必要なツールを提供しようとするものです。

含酸素化合物の感度を最適化する

基本的な感度を確認し結果の再現性を保証するために、同一含酸素化合物の複数のサンプルを標準的なパージアンドトラップで分析を行いました。基本的な感度が明確になったならば、メソッドパラメータを修正して感度変化をすべて記録しました。最も重要な修正内容が明らかになったならば、最も大きな感度が得られるようにこれらを組合せ、キャリブレーションカーブを作成してこの方法が定量分析に適用可能であることを確かめます。

表 1. 感度最適化の検討に使用する含酸素化合物
(パージされた標準試料中の検体濃度)

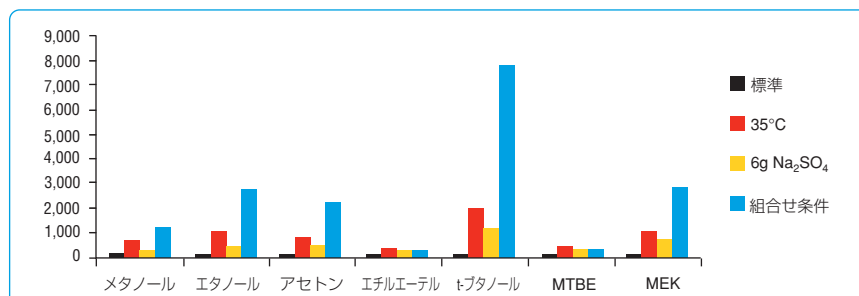
化合物	濃度 (µg/L)
メタノール	500
エタノール	500
アセトン	50
エチルエーテル	5
<i>t</i> -ブタノール (TBA)	50
メチル- <i>t</i> -ブチルエーテル (MTBE)	5
メチルエチルケトン (MEK)	50

すべてのストック溶液は純水中に溶解して作成しました。

結果

図 1 に示すのは、それぞれ 25 mL のサンプル (85°C、赤) および塩添加 (6 g Na₂SO₄、黄色) による相対的な効果を標準条件 (黒) および組合せ条件 (青) と比較したものです。この図は、条件変更を組み合わせることによって効果がはるかに大きくなることも示しています。例えば、パージ温度を 85°C にすると *t*-ブタノールの応答はおおよそ 20 倍に増加し、6 g の硫酸ナトリウムを加えることによって約 10 倍に増加します。さらにこの 2 つの条件を組み合わせることによって、全体としての応答は標準パージアンドトラップ条件と比較して 75 倍以上にも増加します。

図 1. 最適パージアンドトラップ条件を組み合わせることによる効果 (相対回収率%)



8 点のキャリブレーションカーブは 0.5 ppb ~ 200 ppb の範囲をカバーします。メタノールを除くすべての成分については 0.5 ppb ~ 200 ppb の範囲で 0.990 ~ 0.998 (表 3 参照) の相関係数を実現しており、EPA が有効な定量のために要求している条件を満たしています。メタノールについては、範囲を 10 ppb ~ 200 ppb としたときに相関係数 0.9987 が得られました。

結論：パーミアンドトラップの最適条件と Agilent DB-VRX カラムおよび Agilent 5973N 質量選択検出器を組み合わせることにより、水サンプル中のメタノールやエタノールなどの含酸素化合物を ppb レベルで正確に定量することができます。

表 2. 最適分析条件

カラム:	DB-VRX
部品番号:	121-1524
長さ:	20 m
直径:	0.18 mm
膜厚:	1.0 µm フィルム
キャリアガス:	ヘリウム、45 cm/sec (1.0 mL/min)
オープン温度:	45°C、3.5 分
	15°C/min の割合で 45 から 150°C へ昇温
インジェクタ:	Tekmar 3100 パーミアンドトラップ
トラップ:	Vocarb 3000
サンプル容積:	25 mL
サンプル温度:	85°C (1 分間予熱)
パージ:	11 分
ドライパージ:	3 分
脱離予熱:	245°C
脱離:	250°C、1 分間
ベーキング:	260°C、10 分間
配管とバルブ温度:	125°C
インターフェイス:	200°C に保温したスプリットインジェクタ、スプリット比 60:1
ガスセーバー:	150 mL/min、1 分
Agilent 5973 MSD スキャン範囲:	29-260 amu
スキャン速度:	3.17 スキャン/秒
Quad 温度:	150°C
ソース温度:	230°C
トランスファライン温度:	250°C
マトリックス修飾:	6 g 硫酸ナトリウム

図 2. パーミアンドトラップの標準および最適化条件をクロマトグラムで比較
縦軸スケールは比較のために規格化してあります。

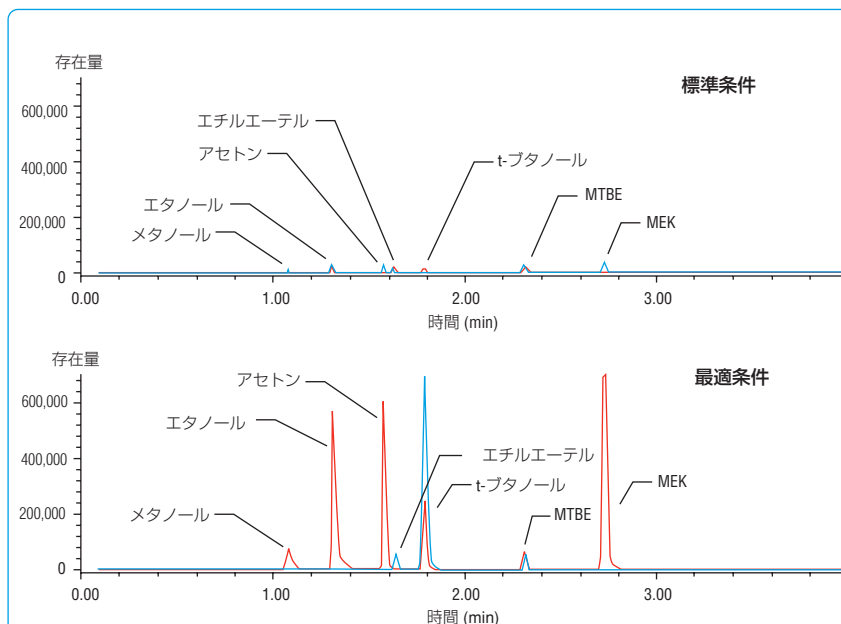


表 3. 最適分析条件を使用して得られる
キャリブレーションカーブのまとめ

化合物	校正範囲 (ppb)	相関係数 (R ²)
メタノール	10 - 200	0.999
エタノール	0.5 - 200	0.998
アセトン	0.5 - 200	0.993
エチルエーテル	0.5 - 200	0.994
TBA	0.5 - 200	0.990
MTBE	0.5 - 200	0.995
MEK	0.5 - 200	0.994

USEPA は定量分析実施のために 0.990 以上の相関係数を要求しています。

資料請求

"Analysis of Low Concentration Oxygenates in Environmental Water Samples Using Purge and Trap Concentration and GC/MS."

弊社 Web サイト (www.agilent.com/chem) からダウンロードして頂けます。
"Library" をクリックしてから、キーワード欄に資料番号 **5988-8993EN** を入力してください。または、弊社カスタマーコンタクトセンター (0120-477-111)、若しくは弊社代理店へお問い合わせください。

発注のご案内

説明	部品番号
DB-VRX 0.18 mm ID × 20 m × 1.0 µm	121-1524
Vocarb 3000 トラップ	5182-0775
ルアーロックシリンジ、25 mL	5182-9639
フリット付スパージャーキット (Tekmar 3100 用)	5182-0845



最大
20%

新規年間保守契約で
最大20%の費用を
削減できます。



ラボの効率アップを実現： 保守サポート契約

予期しないシステムの停止は分析ラボのオペレーションを台無しにしてしまいます。その解決策は？ 保守サポート契約をお勧めします。

高度のトレーニングを受けた経験豊かな Agilent のカスタムエンジニアがお客様のシステムを適切かつ迅速に、しかもお客様のご都合に合わせてメンテナンスを行います。

問題が起こってから対処するのではなく、定期的なメンテナンスを実施しましょう

Agilent のエキスパートが装置をメンテナンスすることで得られるメリットは非常に大きいと確信しています。今ならば契約初年度に大幅な割引が適用されます。障害が起こるたびに修理を依頼されていたお客様が **2003 年 11月30日まで**に年間保守契約を結ばれると **最大20%の割引**が適用されます。

詳細は、弊社カスタマーコンタクトセンター(0120-477-111)、もしくは弊社代理店へお問い合わせください。

最高の状態で Agilent の装置を運用されたいのならば、Agilent に任せるのが最高の策です。

定期購読

Separation Times を
定期購読をご希望の
お客様は、弊社
カスタマーコンタクトセンター
(0120-477-111)、若しくは
弊社代理店へ
お問い合わせください。

本冊子に記載の価格、部品番号、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。本冊子に記載されている部品をご注文する際に、弊社カスタマーコンタクトセンター(0120-477-111)、若しくは弊社代理店へお問い合わせください。

不許複製：© Agilent Technologies, Inc. 2003
All Rights Reserved

Printed in USA May 2, 2003
5988-9110JAJP



Agilent Technologies

2850 Centerville Road
Wilmington, Delaware 19808-1644

www.agilent.co.jp/chem/yan

横河アナリティカルシステムズ株式会社 本社/〒192-0033 東京都八王子市高倉町9-1

●カスタムコンタクトセンター ☎ 0120-477-111

- 1) システム、製品および部品に関するご相談窓口
- 2) 製品の操作、アプリケーションの問合せおよび故障時の連絡窓口