

HJ670-2013 のメソッド変換 INTUVO 9000 GC 対応



内径 530 μm カラムメソッドから 250 μm または
320 μm カラムメソッドへの変換



はじめに

HJ メソッド 679-2013 は、ヘッドスペースガスクロマトグラフィーを用いた、土壌および堆積物からのアクロレイン、アクリロニトリル、アセトニトリルの分析について記載しています。このメソッドでは、ポリエチレングリコール相を用いた 30 m \times 530 μm のカラムの使用が指定されています。このメソッドでは、Agilent 7890 GC 以前の、ナットとフェラルで接続する従来型のガスクロマトグラフで分析を実行します。Agilent Intuvo 9000 GC のダイレクトヒーティング機能やクイック接続機能などの技術に適用するために、このメソッドを 250 μm カラム用に変換しました。元のメソッドと変換されたメソッドで相対比を同一に維持することによって、同様のクロマトグラム、リテンションタイム、溶出順序を実現できました。

分析方法

元の HJ-679 メソッドでは、内径 530 μm の 30 m カラムの使用が指定されています。FID と Agilent 7697 ヘッドスペースサンプラを搭載した Agilent 7890 GC での最初の評価には、Agilent DB-Wax UI (30 m \times 530 μm , 1.0 μm , p/n 125-7032UI) を用いました[1]。これに対し、Intuvo 9000 GC では、相対比が同じ Agilent DB-Wax UI (30 m \times 250 μm , 0.5 μm , p/n 122-7033UI-INT) を用い、メソッド変換を行いました (表 1 と表 2)。メソッドトランスレータのカリキュレータを用いて、変換されたメソッドのカラム流量を求めました (図 1)。

3 つ目のメソッドは、Intuvo システムの高速昇温速度の利点を活かし、より薄い膜厚のカラムを設定したメソッドトランスレータを使用して開発しました (図 2)。

詳細については、以下をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp



Agilent Technologies

表 1. GC メソッドの条件

パラメータ	Agilent 7890 の 設定値	Agilent Intuvo 9000 の 設定値	Agilent Intuvo 9000 の 高速設定値
注入口	150 °C、スプリット比 5:1		
カラム	Agilent DB WaxUI、 30 m × 530 µm、1.0 µm	Agilent DB WaxUI、 30 m × 250 µm、0.50 µm	Agilent DB Wax UI、 30 m × 320 µm、0.25 µm
カラム流量	4.5 mL/min	1.54 mL/min	3.5 mL/min
オープン	40 °C (5 分間)、 5 °C/min で 60 °C まで 昇温、30 °C/min で 150 °C まで昇温 (5 分間)	40 °C (5 分間)、 5 °C/min で 60 °C まで 昇温、30 °C/min で 150 °C まで昇温 (5 分間)	40 °C (1.34 分間)、 18.6 °C/min で 60 °C まで 昇温、112 °C/min で 150 °C まで昇温 (1.34 分間)
FID	250 °C		
ジャンパーチップ	150 °C		
バス温度	オン (デフォルト)		

表 2. Agilent 7697 ヘッドスペースサンプラの機器の条件。下記の条件は、それぞれの機器およびメソッドの変更で使用しました。

パラメータ	設定値
オープン	75 °C
ループ	105 °C
トランスファーライン	150 °C
バイアルの平衡化時間	30 分
注入時間	0.1 分
バイアル	20 mL
振とう	オン、レベル 1
バイアル充填流量	50 mL/min
バイアル充填圧力	8 psi
バイアル圧力平衡化時間	2 分
ループ充填昇温速度	20 psi/min
最終ループ圧力	1.2 psi
ループの平衡化	0.2 分

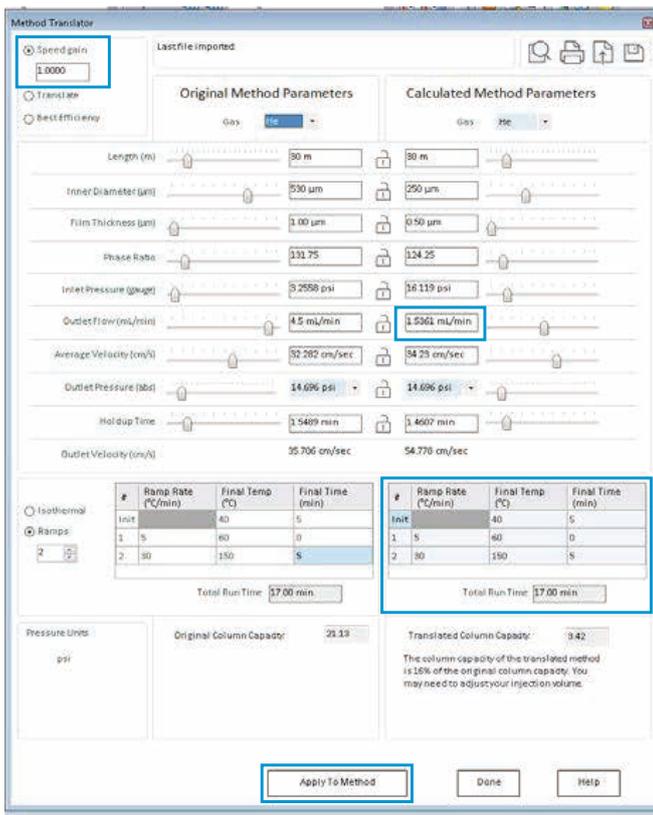


図 1. 使用可能な GC カリキュレータの 1 つであるメソッドトランスレータにより、内径 530 µm のカラムで構成した Agilent 7890 メソッドを内径 250 µm のカラムで構成した Agilent Intuvo 9000 に適用できます。

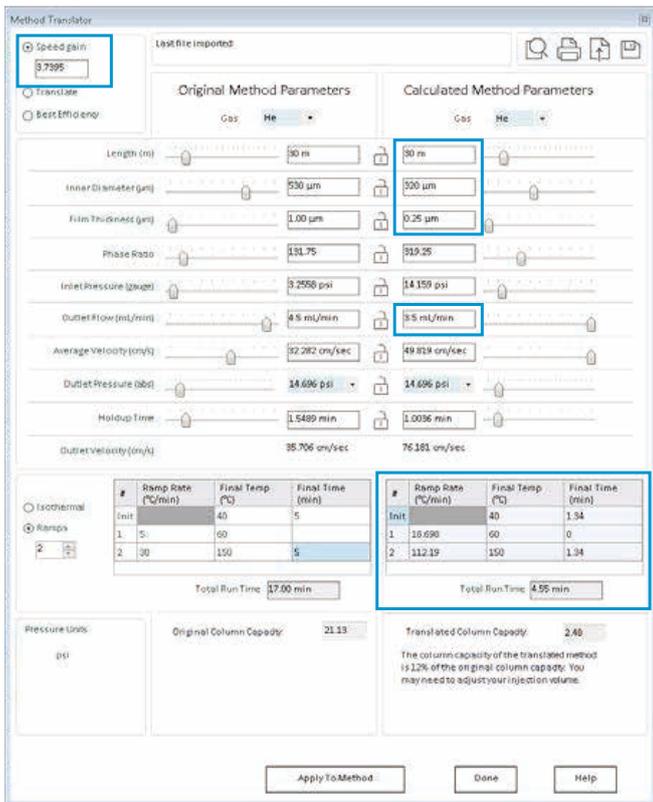


図 2. より薄い膜厚を用いた変換メソッドにより、分析時間の短縮 (Speed gain) 3.7 の高速メソッドが実現します。

結果と考察

メソッドトランスレータのカリキュレータにより、メソッド変換をシンプルかつ効率的に実施できました。元のカラムとメソッドパラメータを、左の列の**オリジナルのメソッドパラメータ (Original Method Parameters)** に入力しました。Intuvo カラムには、機器やメソッドを適切なカラム情報に設定したスマートキーが搭載されているため、右の列の**計算後のメソッドパラメータ (Calculated Method Parameter)** にはカラムパラメータが事前に入力されていました。元のメソッドパラメータと新しいメソッドパラメータを基に、新しい流量とオープンプログラムが算出されました。同様の相対的なカラム (250 μm , 0.5 μm) を選択し、**分析時間の短縮 (Speed gain)** を 1 に設定することによって、オープンプログラムは変更せずに新しい流量が計算されました。**メソッドに適用 (Apply to Method)** ボタンを使用して、新しいメソッドパラメータを現行メソッドに追加しました。

図 3 は、Agilent 7890 GC システムで得られた元のクロマトグラムを示しています。図 4 は、図 1 の Intuvo 9000 GC システム用に交換されたメソッドパラメータで得られたクロマトグラムを示しています。3 種類の化合物の分離度 (USP) が、元の 7890 メソッドと同じオープンプログラムで維持されました。交換されたメソッドを用いた場合のアクロレイン、アクリロニトリル、アセトニトリルのリテンションタイムは、それぞれ 4.1分、8.4分、8.8分でした。7890 システムと Intuvo システムでのカラムの膜厚の相対値は近い値ですが同じではないため、リテンションタイムのシフトが予測されました。しかし、ピーク間の分離度は保持されていました。7890 システムでは、アクロレインとアクリロニトリルの分離度は 58、アクリロニトリルとアセトニトリルの分離度は 5.3 と算出されました。Intuvo のクロマトグラムでも、アクロレインとアクリロニトリルの分離度は 56、アクリロニトリルとアセトニトリルの分離度は 5.8 と算出されました。2 つの GC システム間のリテンションタイムをさらに整合させるために、リテンションタイムロッキングを使用することができます。

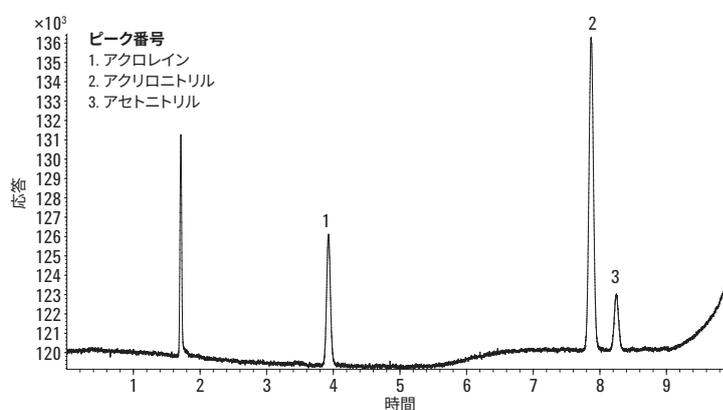


図 3. Agilent 7890 GC システムと内径 530 μm のカラムによる元のメソッドのクロマトグラムが、アクロレイン (1)、アクリロニトリル (2)、アセトニトリル (3) の分離を示しています。リテンションタイムはそれぞれ 3.9 分、7.9 分、8.3 分です。

元の HJ679-2013 メソッドから Intuvo メソッドへの変換時には、異なるカラムが必要とされます。そこで、Intuvo 9000 GC の大きな特長の一つである、最高 250 °C/min の昇温を可能にするダイレクトヒーティング機能を活用し、新しいメソッドを開発しました。このメソッドでは膜厚がより薄いカラムを用いることで、分析時間が短縮され、スループットが向上しました。図 2 のメソッドトランスレータに表示されたカラム寸法を使用し、新しい流量とオープンプログラミング速度を算出して Intuvo メソッドに適用しました。図 5 は、同じ 3 種類の分析対象物が 3 分以内に分離されたことを示しています。同じカラム相を使用したため、溶出順序に変化はありません。相比が変わり、分離度 (ピーク間隔) は低下しましたが、その値は 2.5 (USP) 以上であり、依然としてベースライン分離を可能としています。

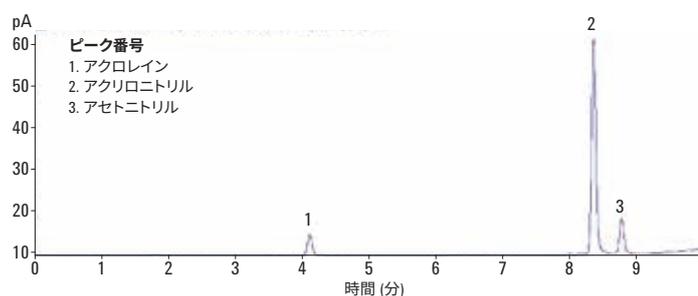


図 4. 内径 250 μm のカラムを用いた変換メソッドで得られた Agilent Intuvo 9000 GC クロマトグラム。元のメソッドと同じ溶出順序、分離度、同様のリテンションタイムを示しています。

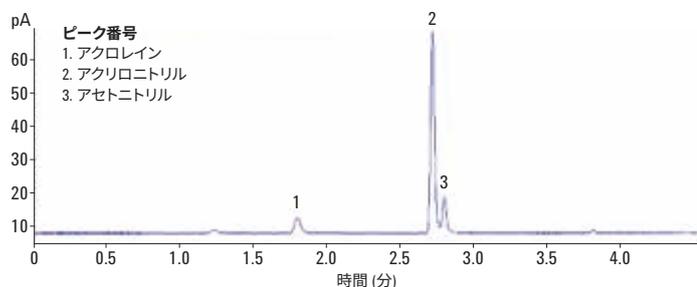


図 5. Agilent Intuvo 9000 GC システムで実現できる、高速加熱速度を活かした変換メソッドが、アクロレイン (1)、アクリロニトリル (2)、アセトニトリル (3) の分離を示しています。リテンションタイムはそれぞれ、1.796 分、2.718 分、2.798 分です。

結論

アジレントのクロマトグラフィーソフトウェアで使用可能なツールにより、メソッドを1つのGCプラットフォームから別のプラットフォームへと容易に変換できます。メソッド HJ 679-2013 の場合、Agilent 7890 GC システムで使用したカラムを Agilent Intuvo 9000 GC で使用することができないため、相比が似たカラムを選択しました。メソッドトランスレータのカリキュレータも使用して、元のメソッドと同じオープンプログラムで同様のクロマトグラフィーを得るために必要なカラム流量を求めました。溶出順序と分離度は維持されました。メソッドトランスレータのカリキュレータは、高速化したメソッドの新しいカラム流量とオープンプログラムを決定するためにも使用しました。3つのメソッドすべてで同じカラム相 (DB-Wax UI) を使用したため、溶出順序は変わりませんでした。また3番目の高速化メソッドでは、膜厚が変わったために分離度は低下しましたが、ベースライン分離は問題なく実現しています。これら Intuvo 9000 GC システム用に変換した両方のメソッドにおいて、優れたクロマトグラフィー結果が得られました。このことはメソッドトランスレータを用いることで、さまざまなGCプラットフォームにおける分析メソッドが、Intuvo 9000 GC システムへ容易に適用でき、かつ最適化可能であることを示しています。

参考文献

1. HS-GC によるアクロレイン、アクリロニトリル、アセトニトリルの分析、アジレント・テクノロジー、資料番号 5991-8096JAJP (2017)

ホームページ
www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ
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いません。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. 2017
Printed in Japan, August 16, 2017
5991-8331JAJP



Agilent Technologies