

Agilent InfinityLab Poroshell 120 カラムによる最新の HPLC メソッド

Poroshell 120 SB-C18 カラムでカルボニル DNPH 誘導体の
分析のスループットが 3 倍に向上

著者

Rong-jie Fu
Agilent Technologies
(Shanghai) Co. Ltd.

概要

従来の 5 μm カラム上で開発されたカルボニル-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH) 誘導体の分析のオリジナルメソッドを移管し、4、2.7、1.9 μm を含む Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18 カラムの異なる粒子サイズにスケーリングしました。粒子径がより大きい全多孔質粒子カラムからより小さい表面多孔質カラムにメソッドをスケーリングすることで、大幅な分析時間の短縮と溶媒消費量の削減が実現しました。

はじめに

カルボニル化合物は通常、空気中や土壌中に存在する有害物質です。さまざまな環境サンプル中のカルボニル化合物の濃度を管理するために、米国、欧州、中国、日本では多くの規制が定められています^{1, 2}。また、カルボニル化合物は、揮発性や反応性が高いため、多くの場合 LC 分析前に DNPH 誘導体に変化します。

このアプリケーションノートでは、Agilent ZORBAX StableBond C18、4.6 × 250 mm、5 μm を用いる 16 種類のカルボニル-DNPH 誘導体の分析のオリジナルメソッドを、同じサイズの 4 μm Poroshell 120 SB-C18 に移管しました。さらにメソッドを 2.7 や 1.9 μm などの異なる粒子サイズのカラムに分離能を保ったままスケールアップしました。分析時間と溶媒消費量が大幅に低減しました。

実験方法

試薬および調製

試薬はすべて、HPLC グレード以上のものを使用しました。HPLC グレードのアセトニトリルは J. T. Baker (センターバレー、ペンシルバニア州、米国) から購入しました。水は、ELGA PURELAB Chorus システム (ハイ・ウィカム、英国) を使用して精製しました。標準原液は Anpel Laboratory Technologies (上海、中国) から購入しました。標準混合物溶液は、原液をアセトニトリルで 10 μg/mL の濃度に希釈して作成しました。

機器と材料

- **カラム入口:** Agilent InfinityLab クイックコネクタ LC フィッティング (p/n 5067-5965)
- **カラム出口:** Agilent InfinityLab クイックターン LC フィッティング (p/n 5067-5966)
- Agilent バイアル、スクリュートップ、茶色、ラベル付、認定、2 mL (p/n 5182-0716)
- アジレントの圧着スクリュキャップ、圧着、青、PTFE/赤シリコンセパタム (p/n 5190-7024)
- Agilent InfinityLab 溶媒ボトル、茶色、1,000 mL (p/n 9301-6526)
- Agilent InfinityLab セーフティキャップ、GL45、3 ポート、1 ベントバルブ (p/n 5043-1219)
- エッペンドルフピペットおよびリピーター

装置構成

- Agilent 1290 Infinity II ハイスピードポンプ (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II マルチサンブラ (G7167B)
- Agilent 1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116B)
- Agilent 1290 Infinity II DAD (G7117B)
- Agilent OpenLab CDS、バージョン C.01.07

表 1. このアプリケーションノートで分析したターゲットカルボニル DNPH 化合物

No.	名前	CAS	原液濃度 (μg/mL)
1	アセトアルデヒド-DNPH	1019-57-4	100
2	アセトン-DNPH	1567-89-1	100
3	アクロレイン-DNPH	888-54-0	100
4	ベンズアルデヒド-DNPH	1157-84-2	100
5	2-ブタノン-DNPH	958-60-1	100
6	ブチルアルデヒド-DNPH	1527-98-6	100
7	クロトンアルデヒド-DNPH	1527-96-4	100
8	シクロヘキサノン-DNPH	1589-62-4	100
9	ホルムアルデヒド-DNPH	1081-15-8	100
10	ヘキサアルデヒド-DNPH	1527-97-5	100
11	メタクロレイン-DNPH	5077-73-6	100
12	プロピオンアルデヒド-DNPH	725-00-8	100
13	o-トルアルデヒド-DNPH m-トルアルデヒド-DNPH	1773-44-0 2880-05-9	100 100
14	p-トルアルデヒド-DNPH	2571-00-8	100
15	バレールアルデヒド-DNPH	2057-84-3	100

表 2. HPLC 条件

カラム	移動相の組成	流量 (mL/min)	注入量 (μL)	カラムコンパートメント (°C)	ダイオードアレイ 検出器
Agilent ZORBAX StableBond C18、 4.6 × 250 mm、5 μm (p/n 880975-902)	水/ACN : 0 ~ 8 分、57 % ACN、 8 ~ 10 分、57 ~ 75 % ACN、 10 ~ 17 分、75 % ACN	1.5	5	50	360 nm、5 Hz
Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18、 4.6 × 250 mm、4 μm (p/n 680970-902)					
Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18、 4.6 × 150 mm、2.7 μm (p/n 683975-902)	水/ACN : 0 ~ 5 分、57 % ACN、 5 ~ 6 分、57 ~ 75 % ACN、 6 ~ 10 分、75 % ACN	1.5	3	50	360 nm、40 Hz
Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18、 3.0 × 100 mm、1.9 μm (p/n 685675-302)	水/ACN : 0 ~ 3.3 分、57 % ACN、 3.3 ~ 4 分、57 ~ 75 % ACN、 4 ~ 6.7 分、75 % ACN	0.64	0.85	50	360 nm、80 Hz

結果と考察

図 1B に示すように、全多孔質粒子 ZORBAX StableBond C18、4.6 × 250 mm、5 μm カラムでの 16 種類のカルボニル DNPH 誘導体の最初の分離は 14 分以内に完了しました。

図 1A に、同じサンプルと LC メソッドを使用し、InfinityLab Poroshell 120 SB-C18、4.6 × 250 mm、4 μm カラムで分離した場合を示します。4 μm の表面多孔質カラムは、同じ相の 5 μm の全多孔質粒子カラムよりも効率が 2 倍向上するように設計されています。結

果的に、メソッドを変更せずに、4 μm の表面多孔質カラムを使用して分離能を向上させることができました。

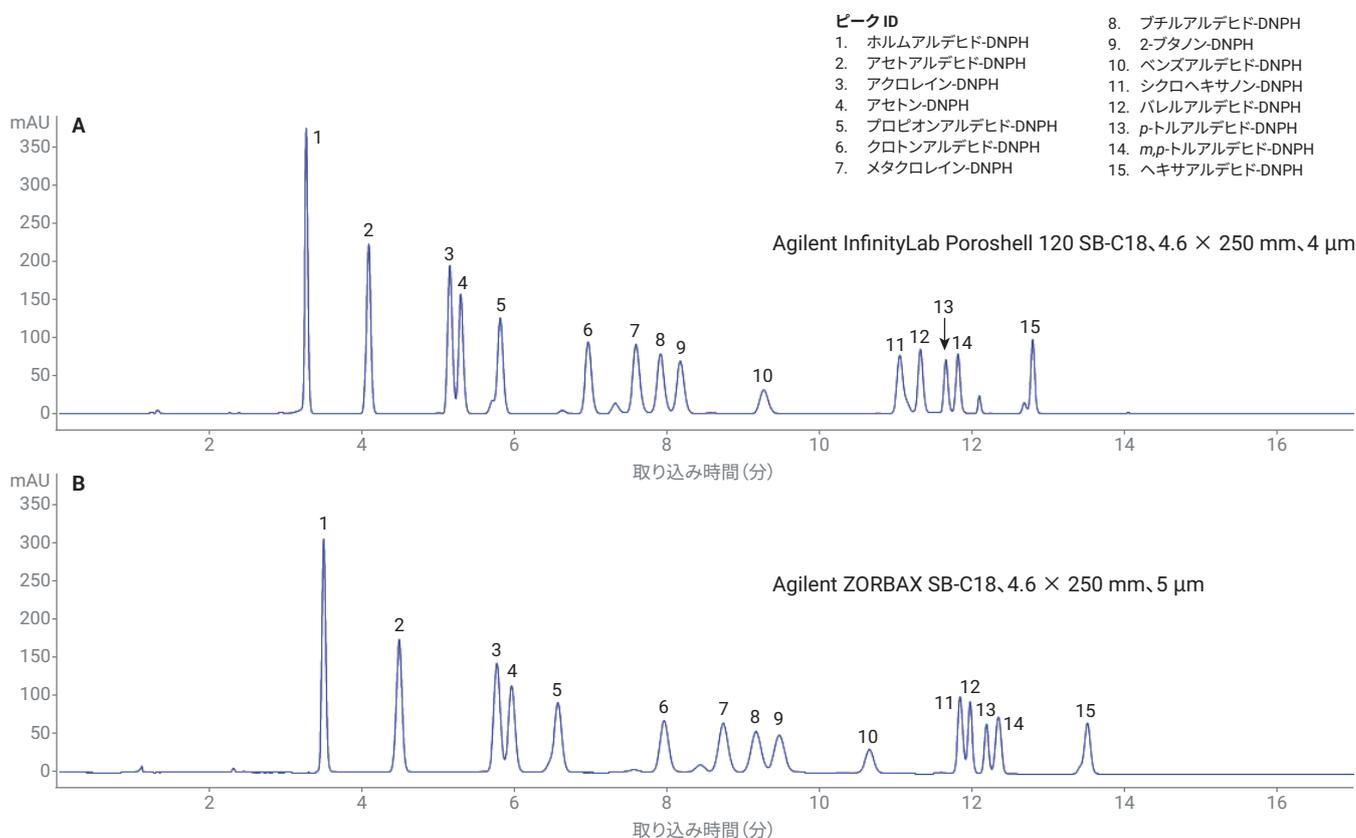


図 1. Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18 カラムと ZORBAX StableBond C18 カラムでのクロマトグラムの比較

図 2 に、粒子サイズが 4、2.7、1.9 μm の各表面多孔質カラムでのメソッドのスケールビリティを示します。3 種類すべてのカラムで、長さ対粒子直径比 (L/dp) は類似しています。このため、粒子サイズが異なるカラム間で分離の移管が可能となります。より小さい粒子

サイズかつより短いカラムを使用する利点は、分析時間が短縮され、溶媒消費量を削減できることです。SB-C18 250 mm、4 μm メソッドと比べると、2.7 μm カラムでは分析時間が 40 % 短縮し、移動相の消費量が 41 % 減少しましたが、同じ分離能を維持していました。

同じ 250 mm との比較で、1.9 μm カラムでは分析時間が 61 % 短縮し、移動相の消費量が 83 % 減少しました。結果を表 3 にまとめています。

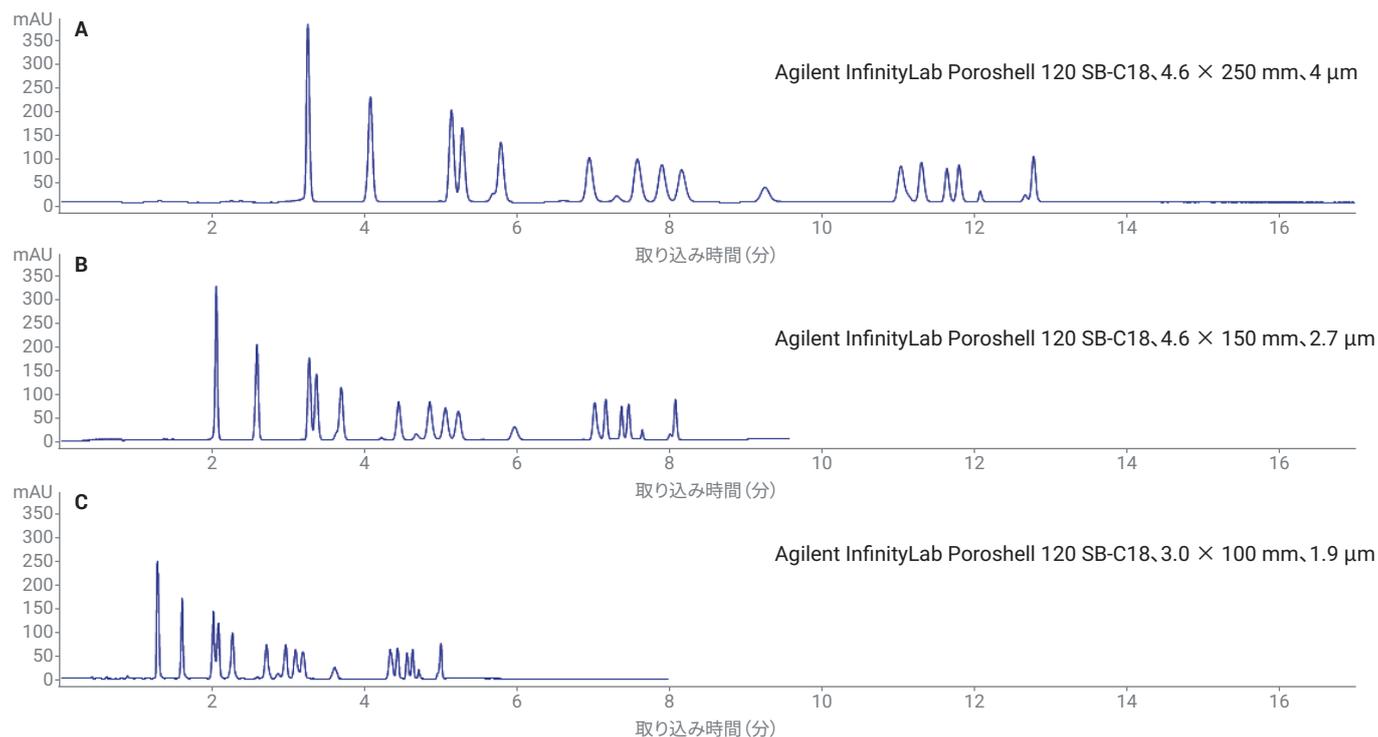


図 2. Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18 の粒子サイズ 4、2.7、1.9 μm 間でメソッドスケールリングした場合のクロマトグラム

表 3. さまざまな寸法のカラムを使用した分析結果

カラム寸法	L/dp	分析時間	溶媒消費量
4.6 × 250 mm、4 μm	62.5	17 分	25.5 mL
4.6 × 150 mm、2.7 μm	55.6	10 分 (-41 %)	15 mL (-41 %)
3 × 100 mm、1.9 μm	52.6	6.7 分 (-61 %)	4.3 mL (-83 %)

結論

ZORBAX StableBond C18、5 μm カラムなどの従来のカラムと比べると、同じ寸法の Poroshell 120 SB-C18、4 μm を用いた方が分離能が向上しました。選択性が整合しているため、異なる粒子ファミリー（ZORBAX および Poroshell）と粒子サイズに合わせてメソッドを容易にスケールリングできます。より小さな粒子を用いたカラムによって、より短いカラムの使用が可能になり、大幅な分析時間の短縮と溶媒消費量の削減を実現できます。

参考文献

1. Determination of Carbonyl Compounds by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). EPA Method 831.5a, *Environmental Protection Agency*, Washington, DC, USA, **1996**.
2. Soil and Sediment — Determination of Carbonyl Compounds — High Performance Liquid Chromatography. HJ 997-2018, *Standards of Environmental Protection*, China, **2018**.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンター

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. 2020
Printed in Japan, March 9, 2020
5994-1809JAJP
DE.194837963

