

## Agilent 1290/1260 Infinity II ELSD（蒸発光散乱検出器）

### パラメータ最適化&トラブルシューティング

#### 【目次】

1. ELSD の検出原理	- 2
2. ELSD のパラメータ	- 3-5
- ELSD パラメータの最適化	
- ELSD パラメータの最適化ステップ	
- ELSD パラメータの最適化時の注意点	
3. トラブルシューティング	- 6-7
- 使用上の注意	
- 感度低下時の対応	
4. 改訂履歴	- 8

## 1. ELSD の検出原理

ELSD 検出の原理は、次の 3 つの異なる段階に分けられます。

- Nebulization

移動相を窒素ガスと混合して噴霧（ネブライゼーション）し、液滴を生成させます。

ELSD の感度は主にネブライザ部分での液滴サイズに依存します。液滴が大きいほどシグナルが大きくなります。

- Evaporation

蒸発管内で液滴を蒸発させます。蒸発管温度は分析対象の揮発性に依拠して設定する必要があります。

- Detection

光源から光を当て分析対象の粒子の散乱光を検出します。

- その他の特徴

ELSD 検出には揮発性移動相を使用します。

ELSD は universal な検出器です。

検出下限は 1-50ng（オンカラム）です。

ELSD の応答は直線ではありません。対数（Log）で近似します。

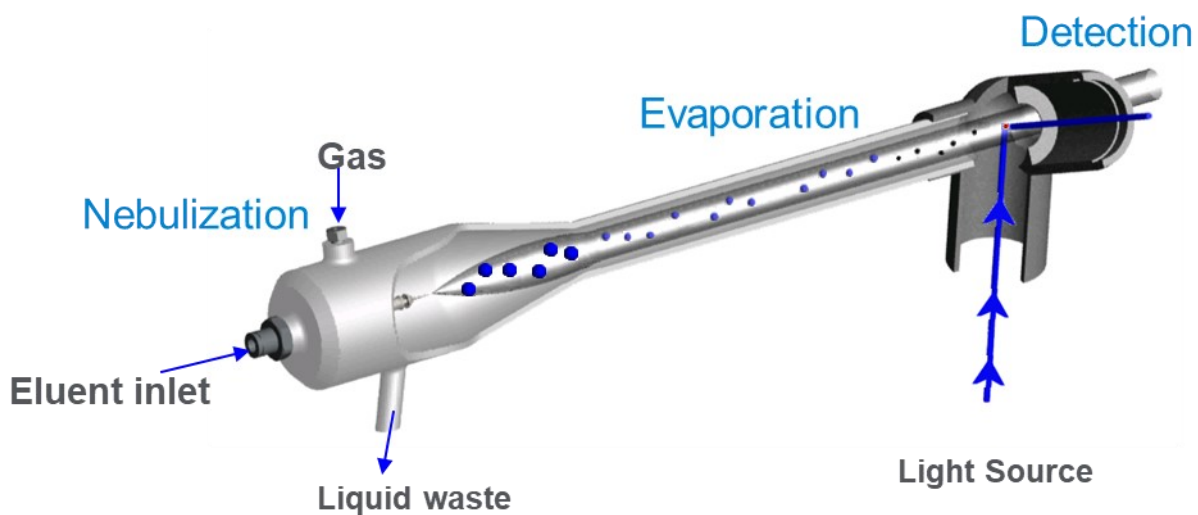


図. ELSD の検出原理

## 2. ELSD のパラメータ

### ELSD パラメータの最適化

主に3つのパラメータを最適化します。

- ・ Evaporator Temperature (蒸発管温度)
  - 感度向上のための最も重要なパラメータ
  - 揮発性化合物：蒸発管温度を上げるとシグナルが減少
  - 不揮発性化合物：蒸発管温度を上げると S/N 比が向上
  
- ・ Gas Flow (ガス流量)
  - 2 番目に重要なパラメータ
  - ガス流量を下げすぎるとネブライゼーションがうまくいかない
  - ガス純度が低いとスパイクノイズが発生する原因となるので注意
  
- ・ Nebulizer Temperature (ネブライザ温度)
  - 感度向上の寄与は小さい
  - 揮発性化合物：ネブライザ温度を上げるとシグナルが減少

### ELSD パラメータの最適化ステップ

1. ELSD のパラメータを以下に設定します。

Nebulizer Temperature (ネブライザ温度)	: 30 °C
Evaporator Temperature (蒸発管温度)	: 30 °C
Gas Flow (ガス流量)	: 1.6 SLM
Data Rate (データ取り込み速度)	: 10 Hz
Smoothing (スムージング)	: 50 (5 sec)

2. LC システムの平衡化を行い、サンプルを注入し測定を行います。
3. 蒸発管温度を 50° C に設定変更し、サンプルを測定します。
4. 蒸発管温度を 80° C に設定変更し、サンプルを測定します。
5. 蒸発管温度 30~80 °C でシグナル強度が減少していく場合(ターゲットが半揮発性化合物の場合)、蒸発管温度を 20°C に設定変更し、サンプルを測定します。(cooling オプション搭載機種のみ)
6. ターゲットピークの S/N を比較し最適な蒸発管温度を決定します。(必要な場合は 10 °C 刻みで変更しても良い)
7. 次にガス流量を 1.0 SLM に設定しサンプルを測定します。
8. ELSD 応答がオフスケールになった場合、またはベースラインノイズが大きい場合(およそ 0.3mV (0.3 LSU) 以上の場合)は、ガス流量を 0.2 SLM ずつ上げて調整します。
9. 必要に応じて Data Rate、Smoothing 値を調整します。通常はデフォルト値使用で問題ありません。

## ELSD パラメータの最適化時の注意点

### ・ Evaporator temperature : 蒸発管温度

蒸発管温度が安定するまでには時間がかかります。ソフトウェア画面上で ELSD がレディ状態になっても、再現性のある分析を行うためには 30-60 分以上の安定化時間が必要です。蒸発管温度の最適化を行う際には、安定化時間を充分に取るか、複数回測定を行い再現性のあるデータが採取できていることを確認しながら行ってください。

### ・ Gas Flow : ガス流量

ガス流量の最適値は、移動相組成、移動相流量、蒸発管温度に依ります。

一般的に、ガス流量を下げるとシグナルは大きくなりますが、下げすぎると移動相の蒸発が不良になり、ベースラインノイズが大きくなります。ベースラインノイズが <0.3 mV (または 0.3 LSU) の場合、ガス流量を 0.2 SLM ずつ上げて ノイズが小さくなるように最適化します。

ガスの純度が低い場合、スパイクノイズが多くなることがあります。窒素ガス発生装置等のメンテナンスを適切に行ってください。

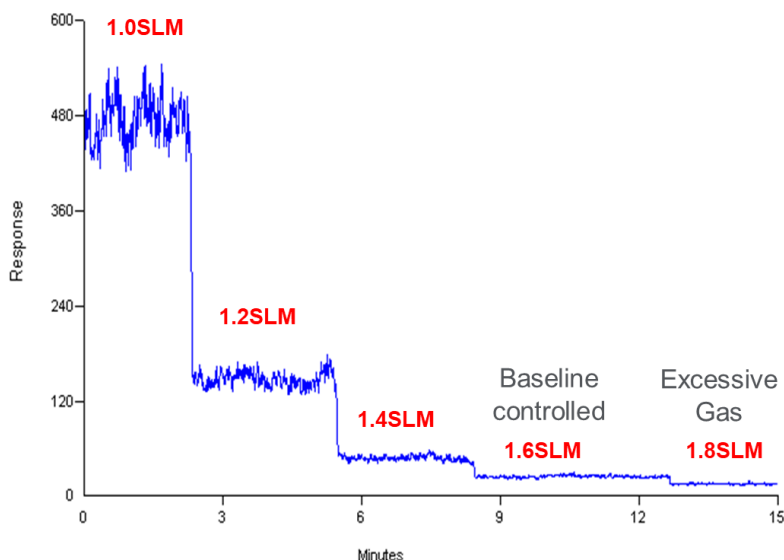


図. Gas Flow とベースラインノイズ 移動相：水 1ml/min @ 25° C

### ・ Nebulizer Temperature : ネブライザ温度

変更することで感度を上げられることがあります。

ネブライザ温度を変更する場合は、30 °Cから徐々に温度を上げ、移動相の沸点を超えないことを原則として、最適化します。(ネブライザ温度は特に温度を下げたときに安定に時間を要するため、徐々に温度を上げるようにすると良い)

ネブライザ温度が安定するまでには時間がかかります。ソフトウェア画面上で ELSD がレディ状態になっても、再現性のある分析を行うためには 30-60 分以上の安定化時間が必要です。ネブライザ温度の最適化を行う際には、安定化時間を充分に取るか、複数回測定を行い再現性のあるデータが採取できていることを確認しながら行ってください。

• **Data Rate : データ取り込み速度**

10 Hz, 40 Hz, 80 Hz から選択します。

通常の測定では 10 Hz を選択します。高速分析を行う場合のみ、40 Hz、80 Hz を選択します。

- UHPLC カラム使用、予想される検出ピークの半値幅が 0.005 min 程度の場合 : 80 Hz
- UHPLC カラム使用、予想される検出ピークの半値幅が 0.01 min 程度の場合 : 40 Hz
- 上記以外 (GPC 等も含む) : 10 Hz
- 

• **Smoothing : スムージング**

通常の測定では変更する必要はありません。Data Rate で 40 Hz、80 Hz を選択した場合、Smoothing 値を小さくすると S/N 比が向上することがあります。

### 3. トラブルシューティング

#### 使用上の注意

ELSD 検出には揮発性移動相を使用します。リン酸緩衝液、リン酸、過塩素酸等の揮発しない添加剤は移動相として使用できません。GPC 分析等で移動相にテトラヒドロフランを使用する場合は安定剤不含の溶媒を使用してください。

通常 ELSD は「Run (レディ)」状態にして 窒素ガスを常時流しておきます。(Standby (スタンバイ) 状態にしないことを推奨、連続分析終了後はポンプオフなどを推奨)

分析終了時や、システムシャットダウンメソッドなどにより、ELSD が Standby 状態になるような場合や、Standby 状態にして 窒素ガスを止める場合は、下記条件の終了メソッドを作成しておき、シーケンス最後に組み入れます。これは、シーケンス終了時に ELSD は 4 時間後にガスが止まり Standby モードになります。

<終了メソッド>

- 1) ポンプ流速 0.0 mL/min、終了時間 240 min
- 2) ELSD 条件 Evap Temp: 90°C、Neb Temp: 80°C、Gas Flow: 3.0 SLM
- 3)  Switch off at of run にチェックを入れます。

分析開始時には、<終了メソッド>を読み込み、システムや ELSD を ON にし、120 min 以上待ちます。その後、分析メソッドで分析を開始します。

#### 感度低下時の対応

ELSD の洗浄と乾燥 (オートサンプラーとカラムコンパートメント設定は変更なし) を行います。カラムを外し、オートサンプラーから直接 ELSD に接続します。

<洗浄メソッド>を作成

- 1) ポンプ: 洗浄溶媒(\*注意)、流速 0.2 mL/min。終了時間 120 min
- 2) ELSD 条件 Evap Temp: 25°C、Neb Temp: 25°C、Gas Flow: 0.9 SLM

※  Switch off at of run のチェックは外しておきます。

<乾燥メソッド>を作成

- 1) ポンプ: 流速 0.00 mL/min、終了時間 24 時間
- 2) ELSD 条件 Evap Temp: 90°C、Neb Temp: 80°C、GAS Flow: 3.0 SLM
- 3)  Switch off at of run にチェックを入れます。

<手順>

シーケンスメソッドで<洗浄メソッド>と<乾燥メソッド>を設定し RUN (測定開始) します。

\*注意

洗浄溶媒は、サンプルやマトリクス（ターゲット成分以外の夾雑成分）がよく溶解する溶媒を選びます。  
 サンプルと洗浄溶媒の例（下表）をご参考ください。

表. サンプルと洗浄溶媒の例

分析サンプル	洗浄溶媒の例
糖	超純水 等
水溶性化合物	超純水、アセトニトリル、メタノール 等
低分子有機化合物 界面活性剤 脂質 セラミド 等	アセトンを推奨 アセトニトリル、クロロホルム、クロロホルム/メタノールなど サンプルがより溶解しやすい溶媒での洗浄が有効
ポリマー（GPC 分析）	テトラヒドロフラン、クロロホルム 等 ポリマーが完全に溶解する溶媒を使用

#### 4. 改訂履歷

Date	Version	内容
2022/01/13	1.0	初版(A.N.)