ACQUITY UPLC I-Class: 最高のUPLCパフォーマンスを実現する、バンド拡散が最小限に抑制されたシステム

目的

カラム以外の部分におけるバンド拡散が最小限になるよう最適化されたACQUITY UPLC I-Classシステムを用いることで、さらなる高分離とUPLCの高分離を維持した状態でのハイスループット分析が可能になることを実証します。これは、不純物の分析や高速グラジエント分析を行う上で非常に重要です。

背景

粒子径2 µm以下のカラムを用いる多くのアプリケーションによって、ピークキャパシティと分離能が改善され、分離度とスループットが飛躍的に向上する結果が示されてきました。しかし、要求に対して最大の分離を実現するには、システムの拡散を最小限に抑える必要があります。システムの注入部分より後に接続されている、注入バルブ、溶媒プレヒーター、配管、フィッティング、光学検出器のセルなどの全てが、カラムを除いたシステム全体での拡散の原因となる可能性があります。

従ってメーカーの多くが従来のHPLCより、UHPLCシステムの拡散を抑えようと改良を重ねていますが、十分な成果が上げられていません。拡散を低減することができても、内径の小さいUPLCカラム(内径2.1 mm) の性能を十分引き出せるまでの最適化には至っていません。十分な分離を効率的に行うことができれば、より内径の小さいカラムを用いて少量の溶媒で分析を行うことにより、1サンプルあたりの費用対効果を改善することができます。

2 µm以下の粒子径カラムを効果的に活用することのできる、低拡散のACQUITY UPLC I-Classシステムを用いることで、さらなるスループットの向上や高分離を実現します。

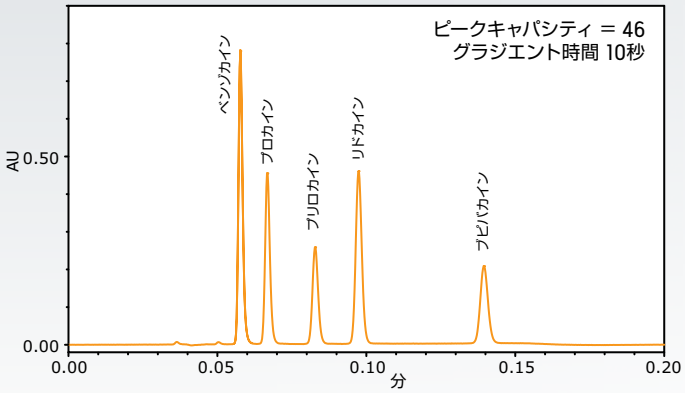

図1. ACQUITY UPLC I-Classで10秒の高速グラジエントを用いて麻酔薬を分析した結果。この低拡散のシステムによりピークキャパシティ46という高分離を実現しました。ベンゾカインの6回の繰り返し注入による保持時間の標準偏差は12 ms、ピークの半値幅は88 msでした。

ソリューション

ACQUITY UPLC I-Classシステムでは、サンプル注入後のカラムを除いたシステム内でのバンド拡散が抑えられています。新しいUV検出器のフローセルは、従来のACQUITY UPLCと同様、高感度分析を可能にする光路設計となっていますが、セルの流路と接続部については、さらに拡散を抑えるための改良が加えられています。また、溶媒プレヒーターは、カラム内でのバンド拡散に影響を与える温度勾配を最小限に抑えるために非常に重要です。ACQUITY UPLC I-Classシステムの溶媒プレヒーターは、容量を最小限に抑えることで、高温高流速でも優れた温度調節を可能にしながら、サンプルを拡散させずにカラムへ輸送します。

ACQUITY UPLC I-Classシステムには、目的に合わせて選択できるよう、固定ループ方式(SM-FL)とフロースルーニードル方式(SM-FTN)の2種類のサンプルマネージャがあります。低容量のニードルポート、配管およびバルブにより、いずれの注入方式でも拡散が最小限に抑えられています。一般的に、固定ループの方がインジェクター流路の容量が少ないため、カラムを除いたシステム全体としての拡散が少なくなります。ACQUITY UPLC I-Classの場合、システム全体が最適化されているので、市販されているどのLCシステムよりも、カラムを除いたシステム全体でのバンド拡散が大幅に抑えられています。表1に各LCシステム(UHPLCも含む)のバンド拡散についてまとめました。

ACQUITY UPLCファミリーは、バンド拡散を抑制することで高分離を実現したという点で、他のどのシステムよりも優れていると考えられます。ACQUITY UPLC H-Classのバンド拡散は9 µL、I-Classではさらに5.5 µLにまで小さくなっています。ACQUITY UPLC I-Classシステムは、拡散を抑えたことが直接分離度の向上につながっており、従来の標準的なグラジエント条件での分離度を維持しながら、さらに超高速グラジエント分離が可能となっています。図1に示した10秒のグラジエントで分離された麻酔薬の分析においては、4σでピークキャパシティ46が得られています。このような高速分析においても保持時間の標準偏差が12 msという高いパフォーマンスが維持されています。またシステムの拡散を低減することで、不純物分析のように高分離が必要とされる複雑なサンプル分析にも最適です。図2にテトラカインの不純物分析の結果を示しました。同一の条件で行った、ACQUITY UPLC I-ClassシステムとB社のUHPLCシステムの結果は、明らかにACQUITY UPLC I-Classの分離が良好です。B社のシステムに、B社が推奨する60 mmの光路長のフローセルを用いましたが、ショルダーピークの検出が困難であり優位性は認められませんでした。

システム	バンド拡散 (µL)
Alliance HPLCシステム	29
A社　HPLC	41
B社1　UHPLC	28
B社2　UHPLC（カラム1本接続）	20
B社2　UHPLC（カラム2本接続）	23
C社　UHPLC	21
D社　UHPLC	17
ACQUITY UPLC H-Class	9
ACQUITY UPLC H-Class（カラムマネージャ接続）	12
ACQUITY UPLC I-Class(SM-FTN)	7.5
ACQUITY UPLC I-Class(SM-FL)	5.5

表 1. カラムを除いたシステム全体でのバンド拡散を測定した結果。ACQUITY UPLCファミリーはUHPLCよりも明らかに拡散が少なく、ACQUITY UPLCファミリーの中でも最も拡散が少ないのがACQUITY UPLC I-Classです。

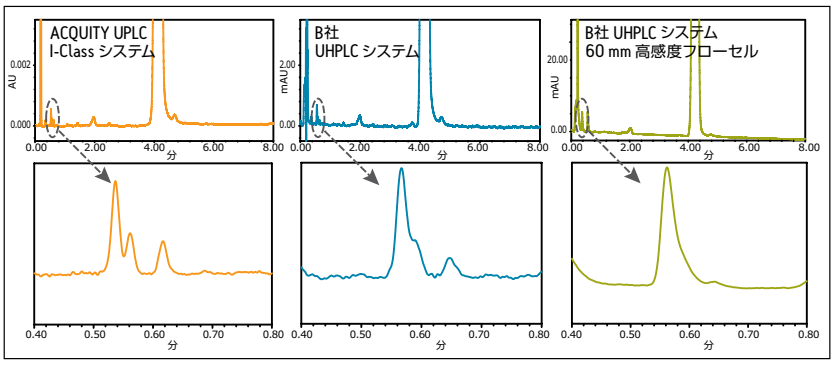

図2. ACQUITY UPLC I-Classシステム(バンド拡散5.5 µL)とB社のUHPLC(バンド拡散20 µL)でテトラカインの不純物分析を行った結果。フルスケールのクロマトグラムの下段に拡大図を示しています。分離度は、明らかにACQUITY UPLC I-Classが良好です。B社の60 mmの高感度フローセルを用いても、B社のシステムの分離に優位性は認められませんでした。

まとめ

ACQUITY UPLC I-Classシステムは、最も難易度の高い分離が必要とされる場合に、圧倒的に優れたパフォーマンスを提供することができます。UPLCカラムの分離パフォーマンスを最大限に活用するために、分離の改善またはスループットの向上などのニーズに合わせて選択できるフレキシブルなシステムによって、カラムを除いたシステム全体でのバンド拡散を最小限に抑えることが可能です。

適用規格：JISQ9001:2008
登録番号：JMAQA-331 登録日：1999年05月31日
審査登録範囲：理科学機器（液体クロマトグラフ・質量分析装置・データ管理システム等）の輸入・販売から保守業務までのトータルサポート及び保守プランの設計・開発

このISO9001認証登録ロゴは、Waters Corporationのものです。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

日本ウォーターズ株式会社　www.waters.co.jp
東京本社　〒140-0001　東京都品川区北品川1-3-12第５小池ビル　TEL 03-3471-7191　FAX 03-3471-7118
大阪支社　〒532-0011　大阪市淀川区西中島5-14-10 サムティ新大阪フロントビル11F　TEL 06-6304-8888　FAX 06-6300-1734
ショールーム　東京　大阪
テクニカルセンター　東京　大阪　名古屋　福岡　静岡

Waters、Alliance、ACQUITY UPLC、ACQUITY および UPLC は Waters Corporationの登録商標です。The Science of What's Possible は Waters Corporationの商標です。その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

©2011 Waters Corporation. Produced in Japan. 2011年6月　720003947JA　PDF