

# Agilent InfinityLab 온라인 LC 솔루션을 이용한 온라인 반응 모니터링

아스피린 가수분해 및 pH 값 의존 반응 속도



## 저자

Edgar Naegele  
Daniel Kutscher  
Agilent Technologies, Inc.

## 개요

이 응용 자료의 목적은 Agilent InfinityLab 온라인 LC 솔루션을 이용한 저분자 반응 온라인 모니터링 수행을 시연하는 것입니다. 이 고도로 정밀한 샘플링은 반응의 정량적 모니터링 및 반응 용기 내 추출물과 생성물 농도의 정확한 측정을 가능케 합니다. 이 자료에서는 최적화된 반응 모니터링을 위한 InfinityLab 온라인 LC 솔루션의 주입 전 샘플 및 희석/퀵치 성능 또는 최고 속도를 위한 직접 주입 성능을 설명합니다.

## 서론

현대 저분자 의약품 및 저분자 바이오의약품에서는 온라인 반응 모니터링 분석과 같은 방법으로 반응을 정밀하게 모니터링하며, 향후에는 통제도 가능할 것으로 보입니다. 따라서 샘플링 장치를 이용해 반응 용기에 UHPLC 기기를 연결하는 것이 도움이 될 수 있습니다. InfinityLab 온라인 LC 솔루션은 Agilent 1260 Infinity II Online Sample Manager 에서 반응 시료 분석을 자동화하기 위한 결합형 UHPLC 및 통합형 반응기 샘플링 인터페이스를 제공합니다. 이 장치는 반응기에서 시료를 추출하고, 주입 전에 희석/퀵칭을 수행하는 것을 가능케 합니다.

이 응용 자료에서는 InfinityLab 온라인 LC 솔루션을 이용해 샘플링 및 퀵칭을 위해 높은 샘플링 속도를 필요로 하는 반응부터 가장 빠른 결과를 얻기 위한 직접 주입에 이르기까지 다양한 속도의 반응을 모니터링하는 것을 설명합니다. 모델 반응으로는 아세틸살리실산(아스피린)의 살리실산으로의 pH 의존적 가수분해가 사용되었습니다.

## 실험

### 기기

- Agilent 1290 Infinity II 고속 펌프 (G7120A)
- Agilent 1260 Infinity II Online Sample Manager Set(G3167AA): Agilent 1260 Infinity II Online Sample Manager(G3167A)와 Agilent 1290 Infinity 밸브 드라이브(G1170A)에 위치한 외부 밸브(5067-6680) 결합체, Agilent Online LC 모니터링 소프트웨어
- Agilent 1260 Infinity II 다중 컬럼 온도 조절 장치(G7116A)
- Agilent 1260 Infinity II 다이오드 어레이 검출기(G7115A)

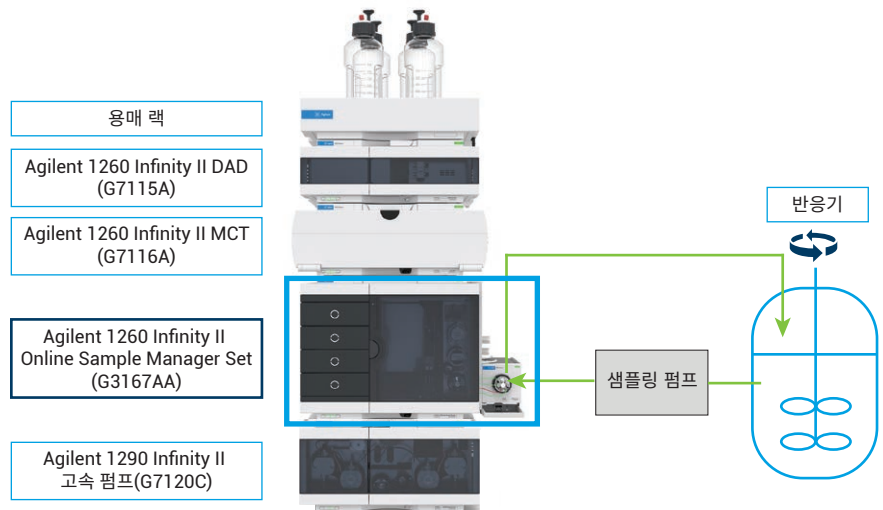
### 기기 설정(그림 1)

InfinityLab 온라인 LC 솔루션은 Agilent 1260 Infinity II Online Sample Manager 를 갖추고 있습니다. 이 모듈은 Agilent 1260 Infinity II Multisampler 하우징에 기초하고 있으나, 각각 모듈 안팎에 위치한 2개의 일치도 높은 밸브와 같은 새 특허 기술을 적용하고 있습니다.<sup>1</sup> 새로 개발된 이 밸브는 Agilent Feed 주입과 기존의 flow-through 주입을 모두 가능케 하는 특별 전환 모드를 갖추고 있습니다. 포트와 그루브는 반응 용기에서 직접 주입과 직접 추출이 가능하게끔, 그리고 주입 전 희석이나 퀵칭과 같은 시료 처리가 가능하게끔 설계되었습니다. 1260 Online Sample Manager는 별개의 독립된 펌프로 반응 용기에 연결되어 있어, 반응기에서의 용매 흐름을 제공합니다. 가장 낮은 지연 부피에서 반응기는 0.8mm id PTFE 튜빙으로 펌프 헤드에 직접 연결됩니다. Agilent OpenLab CDS와 원활하게 통합된 전용 Agilent Online LC 모니터링 소프트웨어가 전체 샘플링 및 주입 절차를 제어합니다.

### Agilent Online LC 모니터링 소프트웨어 설정

온라인 LC 모니터링 소프트웨어는 3가지 섹션으로 구성되어 있으며, 이는 각각 설정, 실험 설정, 실험 실행입니다. 설정에서는 연결된 CDS와 기기가 선택 및 표시됩니다. 실험 설정에서는 분석법이 시료 처리, 일정 관리, 한계와 결합됩니다(그림 2). 한계 수치로는 면적 백분율, 반응 화합물의 농도 또는 보정 농도가 사용될 수 있습니다. 반응 과정에서 한계치가 초과하면 경고 메시지가 표시됩니다. 실험 실행 섹션에서는 샘플링, 검량, 품질 관리, 바탕 시료를 위한 바이알을 선택할 수 있으며, 실험을 시작할 수 있습니다. 실험 결과는 여기에 표시될 것입니다.

**실험 설정**의 시료 탭에서는 샘플링 및 분석 방법을 선택 및 결합할 수 있습니다(그림 3). 또한 재검량, QC 시료, 바탕 시료 등도 설정이 가능합니다. 직접 주입 설정을 위해서는 반응기 흐름 또는 바이알 중 원하는 시료원을 선택할 수 있으며, 이를 분석 설정과 결합할 수 있습니다(그림 3A). 반응기 흐름에서 바이알까지의 샘플링



**그림 1.** 샘플링 펌프와 반응기를 포함한 기기 설정 예 모식도. 연결 반응기부터 펌프까지: 0.8mm id PTFE 튜빙 (p/n 5041-2191), 페룰(p/n 5022-2154), PTFE 너트(p/n 5022-2158). 연결 펌프에서 샘플링 인터페이스까지: SST 캐필러리 0.17mm id, 900mm 길이(p/n 5500-1217). 연결 샘플링 인터페이스에서 반응기까지: 0.8mm id PTFE 튜빙, 피팅, 페룰(p/n 5065-4454).

설정에 대해서는 희석 배수와 목표 부피를 제공할 수 있으며, 필요한 시료 부피는 자동으로 계산됩니다(그림 3B). 희석/퀵치 처리된 시료는 추후 분석을 위해 잔류시키거나, 분석법과 결합해 즉시 분석할 수 있습니다. Pure to vial 설정은 분석 여부에 맞게 희석되지 않은 반응기 흐름 시료가 바이알에 샘플링될 수 있도록 합니다.

일정 관리 탭에는 선택된 분석 종료 후 끄기와 같은 규칙 기반 이벤트가 표시되며, 시간 기반 모니터링 이벤트는 표에서 설정할 수 있습니다(그림 4). 시간 기반 설정 섹션에서는 직접 주입, 바이알 샘플링, QC 시료, 바탕 시료, 재검량과 같이 이전에 설정된 실험 내용을 선택할 수 있습니다. 각 라인마다 간격 및 카운트와 함께 시작 시간이 주어집니다. 종료 시간은 자동으로 계산됩니다. 미리 보기에는 모든 시간 기반 이벤트가 게시되며, 시간상 충돌 여부를 확인할 수 있습니다.

한계 탭에서는 보다 높은 또는 낮은 온도를 위한 한계 또는 면적 백분율을 설정할 수 있습니다. 한계 수치에 따르면, 결과에 메시지가 표시됩니다(결과 및 토의 섹션의 실험 실행 섹션 참조).

### 소프트웨어

- Agilent OpenLab CDS 2.6 또는 그 이상
- Agilent Online LC 모니터링 소프트웨어, 버전 1.0.1

### 컬럼

Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 50mm, 1.8µm(부품 번호 959757-902)

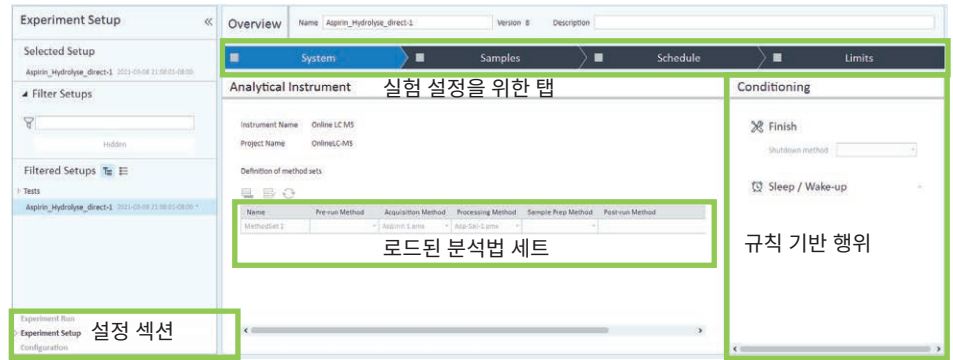
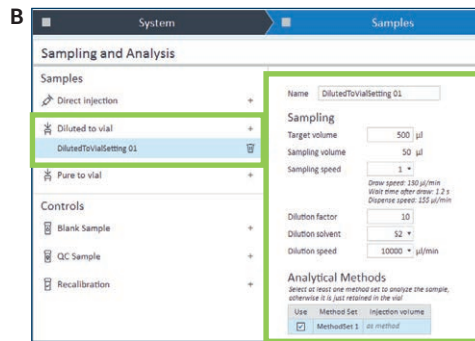
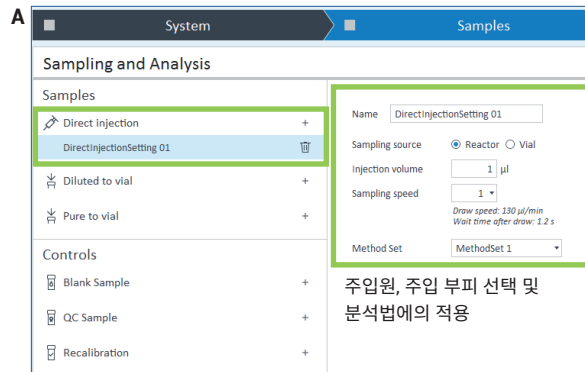


그림 2. 실험 설정 내 Agilent Online LC Monitoring 소프트웨어, 시스템 설정 내용. 분석법은 선택 후 분석법 세트에 결합될 수 있습니다. 시료 전처리 분석법 등과 같은 규칙 기반 행위를 정의할 수 있습니다.



희석률(Dilution Factor), 목표 부피 선택 및 분석법에의 적용

그림 3. A) 반응기 흐름 또는 바이알에서의 직접 주입 설정. B) 주입 유무와 무관한 반응기 흐름 시료의 희석/퀵치 설정.

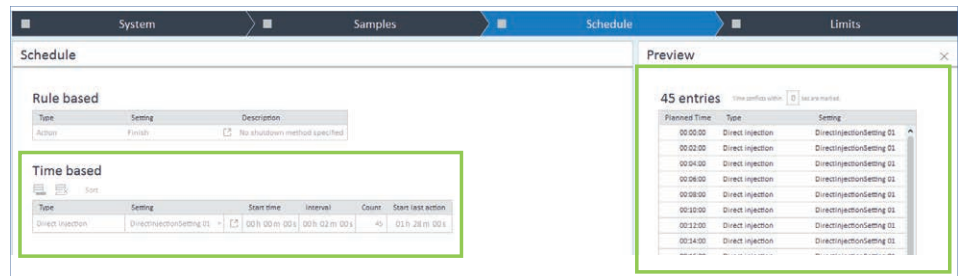


그림 4. 실험 설정 내 일정 탭. 시간 기반 이벤트의 여러 조합은 설정이 가능하며, 시간 충돌을 확인하고 해결하기 위한 미리보기도 가능합니다.

### 검량을 위한 시료 및 희석

- 추출물: 아세틸살리실산, 생성물: 살리실산
- **1g/L의 아세틸살리실산 원액 및 1g/L의 살리실산:** 각각 10mL의 에탄올(EtOH)에 100mg 용해, 물로 100mL까지 채우기
- **희석 농도:** 1000, 200, 100, 20, 10mg/L

### 시료 이송 펌프

- **펌프:** Agilent 1260 Infinity II Isocratic 펌프(G7110B)
- **유속:** 5mL/분
- 반응 용기로부터 Online Sample Manager 반응기 인터페이스를 거쳐 다시 반응 용기로 돌아오기까지의 용매 흐름(기기 설정도 참조)

### 온라인 LC 모니터링 소프트웨어의 실험 설정

- 직접 주입
  - **반응기로부터의 직접 샘플링:** 1µL (분석법에 따라)
  - **샘플링 속도 설정:** 1
  - **일정:** 간격: 2분, 실행 시간 90분
- 바이알로 희석
  - **희석률(Dilution Factor):** 1:10, 희석 용매(S2): 물 + 10% ACN + 0.1% FA
  - **목표 부피:** 500µL
  - **시료 부피:** 50µL
  - **샘플링 속도 설정:** 1
  - **희석 배출 속도:** 10,000µL/분
- Agilent InfinityLab deep-well 플레이트, 31mm, 1mL(부품 번호 5042-6454), 샘플링에 사용
- 웰 플레이트용 Agilent InfinityLab 실리콘 씰링 매트(부품 번호 5043-9317)
- **일정:** 간격: 5분, 실행 시간 180분

### OpenLab CDS 2.6 내 크로마토그래피 분석법

파라미터	값
유속	A) 물 + 0.1% FA, B) ACN + 0.1% FA, 0.7mL/분
등용매 조건	35% B, 중지 시간 1.0분
주입량	1µL
니들 세척	3초, 세척 용매(S1): 물 + 50% ACN + 0.1% FA
피드 주입	피드 속도: 적응적 80% 유속 오버피드 부피: 주입 부피에 따라 자동 계산 오버피드 용매(S2): water + 10% ACN + 0.1% FA
컬럼 온도	45°C
DAD	230/4nm, ref. 360/100nm, 데이터 수집 속도 20Hz

### OpenLab CDS 데이터 분석 내 데이터 처리 방법

파라미터	값
<b>적분</b>	
0.001분에서 off, 0.55분에서 On, 0.95분에서 off	
Area Reject	15.00
Height Reject	1.70
피크 폭	0.02
Area % Reject	0.00
기울기 감도	5.0
솔더 모드	꺼짐
<b>식별</b>	
아세틸살리실산	Signal DAD1A, RT 0.638분, window 0.1분
살리실산	Signal DAD1A, RT 0.797분, window 0.1분
<b>검량</b>	
농도 단위	mg/L
Response	Area
가중치	없음
곡선 모델	직선, 원점 무시
검출 수준	1,000, 200, 100, 20, 10mg/L

### 반응 설정

마그네틱 바로 강하게 섞어주는 조건 하에서 90mL의 글리신 완충액에 선택한 pH 값에서 10mL EtOH 내 100mg 아스피린 용액을 시린지로 빠르게 첨가하였습니다.

### 화학물질

아세틸살리실산, 살리실산, 글리신, NaCl, NaOH, HCl, EtOH

### 완충액

- **용액:**
  - 1) 0.1M glycine + 1L 물 속 0.1M NaCl
  - 2) 0.1M NaOH
- **pH 11:** 용액 1의 52mL + 용액 2의 48mL
- **pH 12:** 용액 1의 45mL + 용액 2의 55mL
- pH는 0.1M NaOH 또는 0.1M HCl로 조절

### 용매 및 화학물질

- 모든 용매는 Merck(독일)에서 구입하였습니다
- 화학물질은 VWR, 독일에서 구입하였습니다
- 초순수는 LC-Pak Polisher와 0.22 $\mu$ m의 membrane point-of-use cartridge를 장착한 Milli-Q Integral 시스템(Millipak)에서 얻었습니다

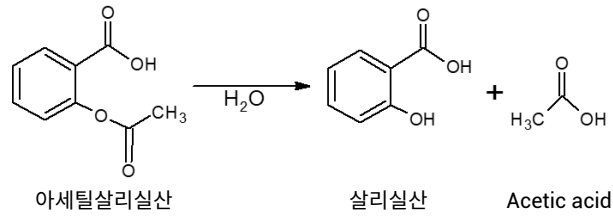


그림 5. 아세틸살리실산(아스피린)의 살리실산 및 아세트산으로의 가수분해.

### 결과 및 토의

아세틸살리실산(아스피린)의 가수분해를 모델 반응으로 선택하여 1260 Infinity II Online Sample Manager 및 온라인 LC 모니터링 소프트웨어와 함께 사용한 InfinityLab 온라인 LC 솔루션의 성능을 시연하였습니다(그림 5). 이 반응의 속도는 가수분해에 적용한 완충액의 pH 값에 의해 영향을 받을 수 있습니다. 이 모델 반응을 통해 샘플링, 샘플 처리, 속도 등과 같은 여러 성능을 시연할 수 있었습니다.

화학 실험에 앞서 아세틸살리실산과 살리실산의 빠른 분리법을 개발하였습니다(실험 참조). 이를 통해 화학 반응 과정에서 두 화학물을 정량하기 위한 검량 및 데이터 처리 방법을 생성하였습니다(그림 6).

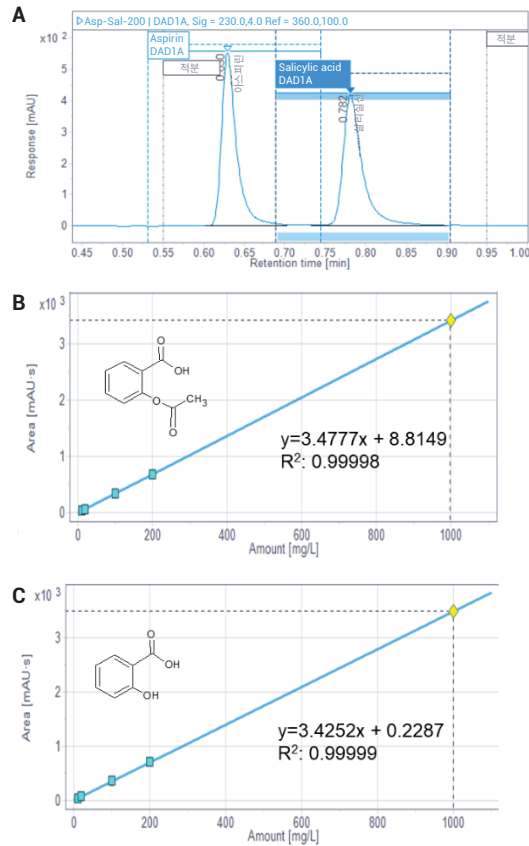


그림 6. 데이터 처리 방법 생성을 위한 아세틸살리실산과 살리실산의 교정. (A) 아세틸살리실산과 살리실산의 빠른 분리 및 적분 범위(200mg/L). (B) 검량선 아세틸살리실산(아스피린), R<sup>2</sup>: 0.99998. (C) 살리실산의 검량선, R<sup>2</sup>: 0.99999.

**pH11에서 아세틸살리실산의 가수분해**

실험 설정을 위해 pH 11에서 글리신 완충액 90mL를 플라스크에 채웠으며, 지속적으로 저어 주는 조건 하에서 100mg의 아세틸살리실산을 10mL의 에탄올에 녹여 빠르게 첨가하였습니다. 플라스크는 펌프에 연결되어 Online Sample Manager의 반응기 인터페이스로 빠른 유속의 지속적인 반응 용액 흐름을 만들어냈습니다. 실험 시작 전에 샘플링의 위치를 결정해야 합니다. QC, 바탕 물질, 검량제와 같은 추가 위치도 필요한 경우 결정할 수 있었습니다(그림 7). 온라인 LC 모니터링 소프트웨어에서 실험을 시작한 후, 희석 및 후속 분석을 위해 시료를 매 5분마다 추출할 수 있었습니다.

각 시료의 현재 상태 및 모든 정보는 실행 탭의 표에 표시됩니다(그림 8). 이 표는 실험 실행 과정에서 실시간 상태 정보로 채워질 것입니다. 이 화면에서 시료, 분석법, 일정의 변화를 실험에 바로 적용하는 것도

가능합니다. 그림 8에 나타난 바와 같이, 아세틸살리실산의 피크가 데이터 처리법의 면적 제한 한계 아래로 떨어져 데이터는 수집 후에도 재처리되었습니다.

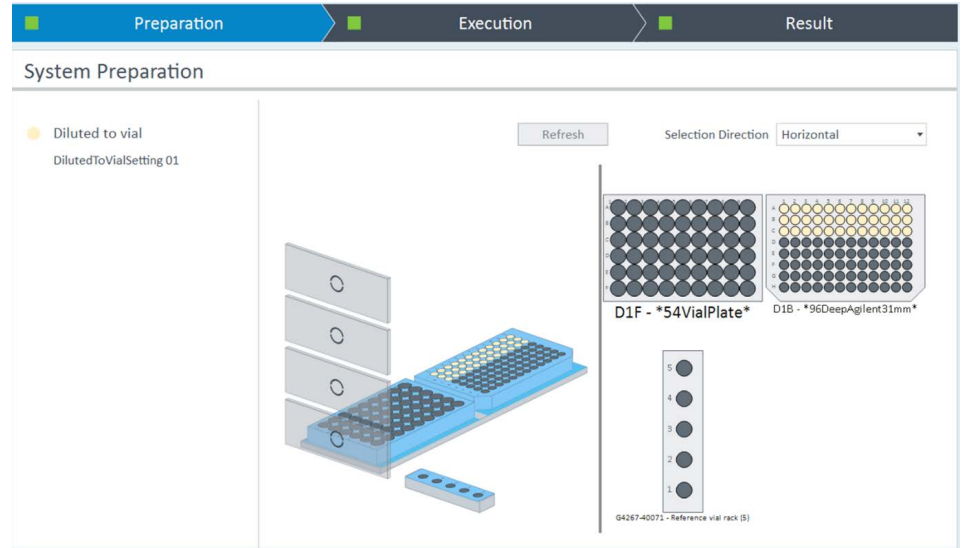


그림 7. 선택된 샘플링 위치를 보여주는 실험 준비 화면. 추가로 QC, 바탕 물질, 검량제 등에 필요한 위치도 여기에서 정의 가능합니다.

Preparation Execution Result

Status

Experiment Run Start Time 2021-03-24 13:30:02+01:00 Run Time 02:59:25

Schedule [0 pending analytical jobs]

State	Type	Name	Expected Time	Start Time	Info	Sample	Location	Sampling Time	Absolute Sampling Time	Injection Time	Analytical Method Set
Completed	Action	Start		00:00:00							
Reprocessed	Diluted to vial	DilutedToVialSetting 01	00:00:00	00:00:00		Sample-1	D1B-A1	00:00:31	2021-03-24 13:30:34+01:00	00:03:11	MethodSet 1
Reprocessed	Diluted to vial	DilutedToVialSetting 01	00:05:00	00:05:00		Sample-2	D1B-A2	00:05:01	2021-03-24 13:35:04+01:00	00:07:39	MethodSet 1
Reprocessed	Diluted to vial	DilutedToVialSetting 01	00:10:00	00:10:00		Sample-3	D1B-A3	00:10:08	2021-03-24 13:40:11+01:00	00:12:48	MethodSet 1
Reprocessed	Diluted to vial	DilutedToVialSetting 01	00:15:00	00:15:00		Sample-4	D1B-A4	00:15:08	2021-03-24 13:45:11+01:00	00:17:48	MethodSet 1
Reprocessed	Diluted to vial	DilutedToVialSetting 01	00:20:00	00:20:00		Sample-5	D1B-A5	00:20:08	2021-03-24 13:50:11+01:00	00:22:49	MethodSet 1
Reprocessed	Diluted to vial	DilutedToVialSetting 01	00:25:00	00:25:00		Sample-6	D1B-A6	00:25:08	2021-03-24 13:55:11+01:00	00:27:48	MethodSet 1
Reprocessed	Diluted to vial	DilutedToVialSetting 01	00:30:00	00:30:00		Sample-7	D1B-A7	00:30:08	2021-03-24 14:00:11+01:00	00:32:48	MethodSet 1
Reprocessed	Diluted to vial	DilutedToVialSetting 01	00:35:00	00:35:00		Sample-8	D1B-A8	00:35:08	2021-03-24 14:05:11+01:00	00:37:48	MethodSet 1
Reprocessed	Diluted to vial	DilutedToVialSetting 01	00:40:00	00:40:00		Sample-9	D1B-A9	00:40:08	2021-03-24 14:10:11+01:00	00:42:48	MethodSet 1
Reprocessed	Diluted to vial	DilutedToVialSetting 01	00:45:00	00:45:00		Sample-10	D1B-A10	00:45:08	2021-03-24 14:15:11+01:00	00:47:50	MethodSet 1

그림 8. 샘플링, 분석 시간, 적용된 분석법, 샘플링 위치 등을 포함한 정보가 표시되는 실행 표.

실행 과정에서 처리 결과는 결과 탭의 Online LC Monitoring 소프트웨어의 경향 플롯과 같은 데이터 시각화 도구 내에서 실시간으로 관찰 가능합니다. 최종 결과는 **실험 실행** 탭에서도 볼 수 있습니다(그림 9). 여기에는 상호 연결된 그래픽과 표가 표시됩니다. 설정 표는 반응 과정에서 선택된 시료의 결과를 요약해서 보여줍니다. 표는 머무름 시간, 피크 면적, 면적 백분율, 농도 또는 샘플링 희석을 고려한 보정 농도 등을 보여줍니다(그림 9A). 한계 초과 또는 미달 여부는 표시됩니다. 줄어드는 추출물과 증가하는 생성물의 크로마토그램 오버레이도 표시 가능합니다(그림 9B).

그림 9의 선택된 시료는 반응물의 농도가 약 45분 후 시료 10과 동일하다는 것, 그리고 아세틸살리실산의 농도가 145분 후 초기 농도의 10% 아래가 되었음을 보여줍니다.

**A**

Results									
Sample	Method Set	Compound	Signal	RT (min)	Height	Area%	Corr. concentration	Area	Concentration
Sample-1	MethodSet 1	<ALL>	DAD1A	0.626	282.416	100.000	986.814 mg/L	350.428	98.681 mg/L
Sample-2	MethodSet 1	Aspirin	DAD1A	0.625	255.079	89.820	897.320 mg/L	319.337	89.732 mg/L
	MethodSet 1	Salicylic acid	DAD1A	0.778	18.309	10.180	103.216 mg/L	36.194	10.322 mg/L
Sample-10	MethodSet 1	Aspirin	DAD1A	0.627	116.590	49.319	402.762 mg/L	147.524	40.276 mg/L
	MethodSet 1	Salicylic acid	DAD1A	0.780	94.393	50.681	440.494 mg/L	151.596	44.049 mg/L
Sample-30	MethodSet 1	Aspirin	DAD1A	0.624	20.257	9.101	48.239 mg/L	24.361	4.824 mg/L
	MethodSet 1	Salicylic acid	DAD1A	0.777	151.258	90.899	708.503 mg/L	243.297	70.850 mg/L



**그림 9.** 결과 탭에 시각화된 최종 결과. (A) 강조 표시된 반응 데이터 지점의 결과 표에는 머무름 시간, 피크 높이, 면적, 면적 백분율, 농도, 보정된 농도가 나와 있습니다. (B) 0.626분에서 줄어드는 아세틸살리실산 피크 및 0.777분에서 증가하는 살리실산 피크.

그림 9B의 결과 표는 OpenLab CDS 데이터 분석에 표시된 데이터로의 원클릭 바로그기를 제공합니다(그림 10). 그림 10의 시료 1은 반응 전환이 막 시작되고 반응 생성물이 검출 한계 아래였던 반응의 시작점을 보여줍니다. 반응 용기 내 아세틸살리실산의 초기 농도는 986.8mg/L였습니다. 반응 시간 5분 후 추출된 시료 2는 이미 반응 용기 내에서

반응으로 생성된 103.3mg/L(10.18 면적%)의 살리실산을 보여줍니다. 45분 후 추출된 시료 10은 아세틸살리실산과 살리실산의 동일한 농도 및 피크 면적 백분율을 보여줍니다. 145분 후 추출된 샘플링 지점 30은 아세틸살리실산의 면적 백분율이 10%라는 지정 한계치 아래로 나타났기 때문에 처음으로 플래그 처리되었습니다. OpenLab CDS 데이터 분석 내 데이터에

액세스할 수 있으면, 데이터 분석법 변경 또한 가능합니다. 예를 들어 적분 한계는 반응 초기에 형성된 생산물의 불순물 등 보다 낮은 농도의 피크를 검출할 수 있도록 변경 가능합니다. 새로운 분석법은 실험이 이미 진행 중인 상태에서도 내장된 재처리 함수를 통해 Online LC Monitoring 소프트웨어 내에서 생성된 데이터에 적용할 수 있습니다.

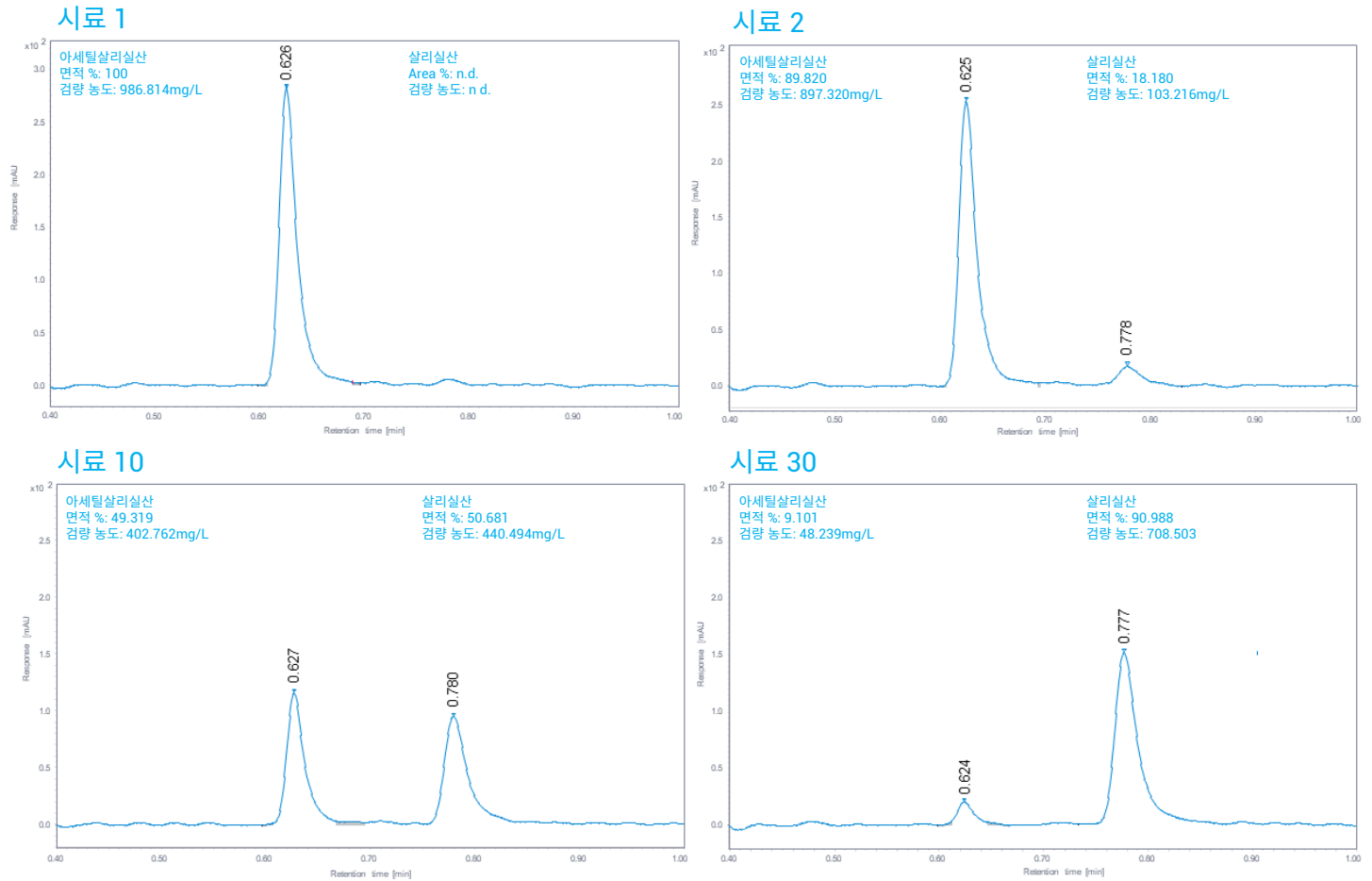


그림 10. 개별 실행 데이터가 Agilent OpenLab CDS 데이터 분석에 나타나 있습니다. (시료 1) 반응 시작 지점에서 처음으로 추출된 시료에는 추출물만이 표시됩니다. (시료 2) 5분 후 추출된 2번째 시료에는 반응으로 인한 생성물이 보이기 시작합니다. (시료 10) 45분 후 추출된 시료에는 반응이 동일한 피크 면적과 농도로 나타나 있습니다. (시료 30) 추출물 농도가 지정된 면적 한계인 10% 아래로 내려가 처음으로 플래그 처리된 시료입니다.

Online Sample Manager는 니들 세척, 유동 경로 세척, 희석, 퀀칭에 다른 용매를 적용하는 것을 가능케 합니다. 이는 퀀칭 용매 희석을 통해 샘플링 후 반응을 중지시킬 수 있도록 합니다. 이 사례에서 희석은 물+10% ACN+0.1% 포름산으로 진행하였으며, 이는 반응을 느리게 하였습니다(그림 11). 1:10 희석/퀀칭에서 약간의 아스피린 분해만이 24시간 후에 관찰되었으며, 이는 아세틸살리실산의 낮은 피크와 살리실산의 높은 피크로 나타났습니다. 이는 다른 분석 테크닉을 통한 추후 실험 분석 또는 추가 품질 관리를 가능하게 합니다.

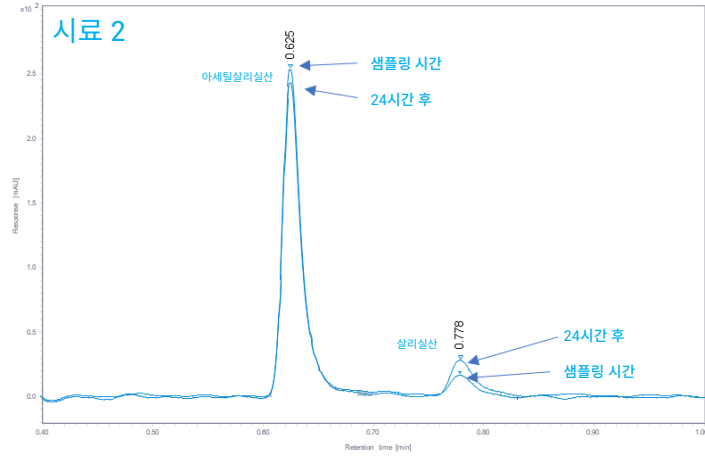


그림 11. 샘플링 직후 희석된 시료 및 24시간 후 희석/퀀칭된 시료의 오버레이.

### pH12에서 아세틸살리실산의 가수분해

온라인 LC가 빠른 반응을 처리할 수 있음을 보이기 위해, pH를 12로 올려 아세틸살리실산의 가수분해 반응 속도를 높였습니다. 빠른 반응을 모니터링하기 위해, 반응기 인터페이스 밸브 전환을 통해 시료를 반응기 흐름에서 직접 추출해 기계적 움직임 없이 니들에 바로 주입했습니다. 1분간 진행된 크로마토그래피 실험 및 여타 절차를 종합해, 선택한 분석법 설정에서 데이터 지점당 2분의 주기를 성취할 수 있었습니다. 결과적인 트렌드 플롯(그림 12A)은 매 2분마다의 시료 데이터 지점을 보여줍니다. 아세틸살리실산의 줄어드는 피크 면적 곡선과 살리실산의 증가하는 피크 면적 곡선은 동일한 면적 백분율 및 농도가 나타나는 20분 지점에서 서로 교차합니다. 78분 후, 반응은 거의 완료되고 추출물은 면적 백분율 10%의 지정된 한계 아래로 떨어집니다. 결과 표(그림 12B)는 머무름 시간, 피크 면적, 피크 높이, 면적 백분율, 농도와 같은 세부 사항을 보여줍니다. 크로마토그램(그림 12C)은

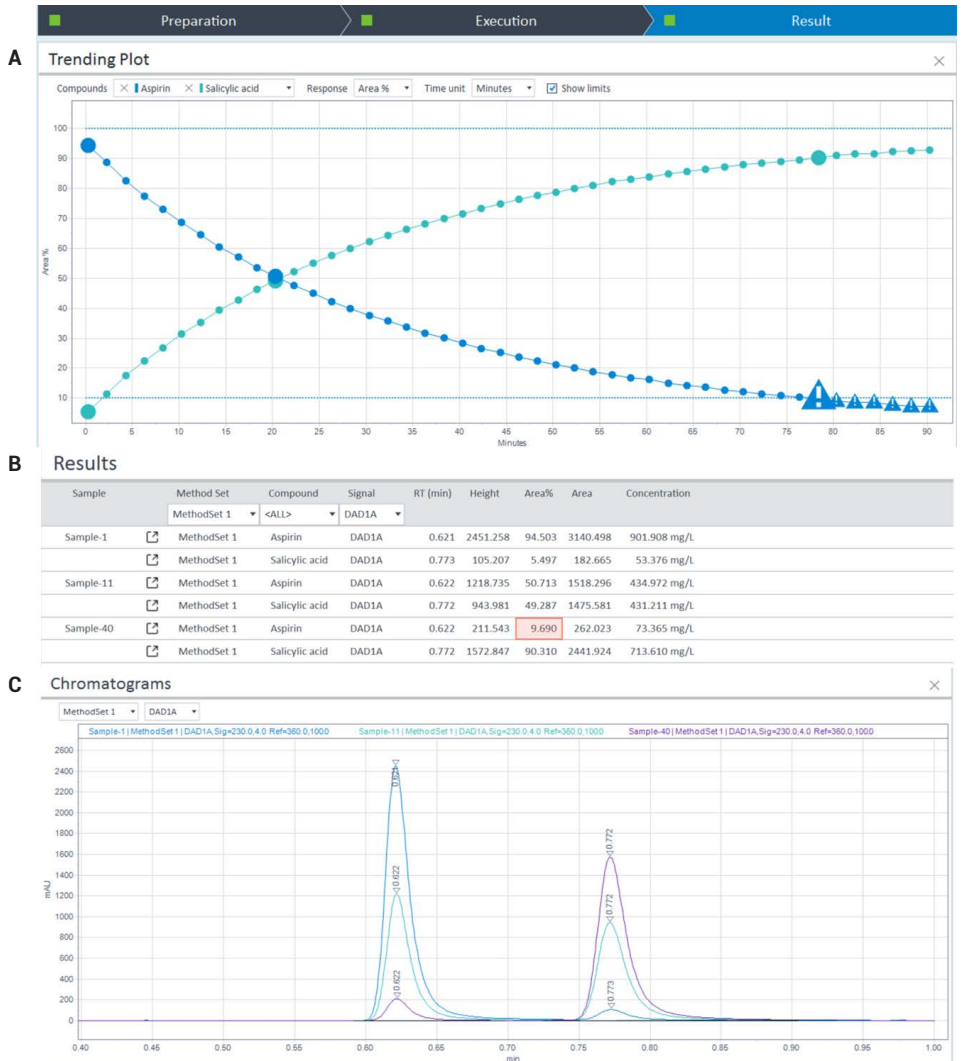


그림 12. 결과 탭에 시각화되어 나타난 고속 실험 결과. (A) 반응물 아세틸살리실산 및 살리실산 피크 면적의 트렌드 플롯. (B) 강조 표시된 반응 데이터 지점의 결과 표에는 면적, 면적 백분율, 농도가 나와 있습니다. (C) 0.622분에서 줄어드는 아세틸살리실산 피크 및 0.772분에서 증가하는 살리실산 피크.

0.772분에서 증가하는 살리실산의 피크와 0.622분에서 감소하는 아세틸살리실산의 피크의 오버레이를 표시하고 있습니다. 초기 반응은 매우 빠르게 시작하여, 첫 번째 추출 시료에서도 생성물이 나타났습니다(그림 12B). 반응 과정에서 생성물 형성 및 추출물 전환의 속도를 느려졌습니다. 이를 고려해 샘플링 빈도를 낮출 수 있으며, 이는 추가 시간 기반 이벤트의 도입을 통해 설정할 수 있습니다(그림 4). 예를 들어 첫 30분간은 2분 간격, 그 후 60분까지는 6분 간격, 나머지 반응 시간 동안에는 10분간의 간격으로 샘플링을 설정할 수 있습니다. 이러한 유연성은 시작 단계에서 속도가 빠르다가 점차 느려지는 반응에 맞게 샘플링 속도를 조절할 수 있도록 합니다.

## 결론

이 응용 자료에서는 Agilent 1260 Infinity II Online Sample Manager와 Agilent Online LC Monitoring 소프트웨어를 포함한 Agilent InfinityLab 온라인 LC 솔루션을 사용해 초고속 반응(예: 저분자 합성)의 모니터링을 시연하였습니다.

반응 시료는 반응기 흐름에서 직접 추출할 수 있었으며, 즉시 또는 추후 분석을 위해 반응을 중지하고 희석 또는 권치를 거쳤습니다.

매우 빠른 반응에 대처하기 위해 시료를 반응기 흐름에서 추출 후 바로 주입하는 것이 가능했습니다. 이는 고속 반응 모니터링 시 짧은 주기를 가능케 합니다. 고도로 정밀한 시료 추출 및 희석/권치는 반응 용기 내 반응물의 정확한 정량을 통해 귀중한 생성물을 최적으로 얻을 수 있게 해줍니다.

## 참조 문헌

1. Performance Characteristics of the Agilent 1260 Infinity II Online Sample Manager. *Agilent Technologies* 기술 개요, 발행 번호 5994-3529.

[www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)

DE44320.1899305556

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2021  
2021년 6월 18일, 한국에서 인쇄  
5994-3528KO

한국에질런트테크놀로지스(주)  
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,  
A+ 에셋타워 9층, 06621  
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)  
팩스: 82-2-3452-2451  
이메일: [korea-inquiry\\_lsca@agilent.com](mailto:korea-inquiry_lsca@agilent.com)