

Agilent A-Line UHPLC フィッティング

技術概要



クイックコネクトフィッティングは、名誉ある R&D 100 award 2015 の最終選考に残りました。50 年以上にわたり、R&D Magazine は、その年に発売された技術的に重要な製品 100 点を選出しています。選考対象となったことは、アジレントの技術力が高く評価されていることを示しています。

**AWARD
WINNER**
TASIA 2014

手締めできる UHPLC フィッティングで 1300 bar までの安定性と再利用性が評価され、The Analytical Scientist Innovation Award 2014 を受賞しました。

はじめに

HPLC および UHPLC を利用している研究者は、ピークテーリング、ピークブロードニング、ピークの割れ、キャリアオーバーなどの問題を抱えている場合が少なくありません。見落とされることが多くトラブルシューティングに多大な時間がかかるこれらの問題に共通する 1 つの原因はチューブ接続の不具合です。チューブ接続のデッドボリュームやわずかなリークは、クロマトグラフィー分析の性能および再現性の大幅な低下につながります。特に、最新の UHPLC カラムや高速 LC カラムでは、その影響が顕著に現れます [1、2]。

フィッティングの接続要件

フィッティングの接続状態は、分析のピーク形状を大きく左右します。次のようなフィッティング接続が理想的です。

- チューブと接続先ポート間にデッドボリュームがない
- 超高压下や高温でもリークのない状態を維持可能
- 長期使用に耐えられる堅牢性、チューブのずれを防止
- 使いやすい



Agilent Technologies

既存製品

調整不可の金属製フィッティング

UHPLC で使用されるフィッティングは、2 個または 3 個の部品で構成される金属製フィッティングが一般的です。組み立て後に各部品が固定されるため、位置を調整することはできません [3]。また、カラムメーカーによってカラムのエンドフィッティングの設計が異なり (図 1)、メーカーごとに新しいチューブとフィッティングを用意する必要があります。こうすることで、フェラル先端からチューブ先端までのステム長をカラムの形状にぴったり合わせることができます (図 2C)。

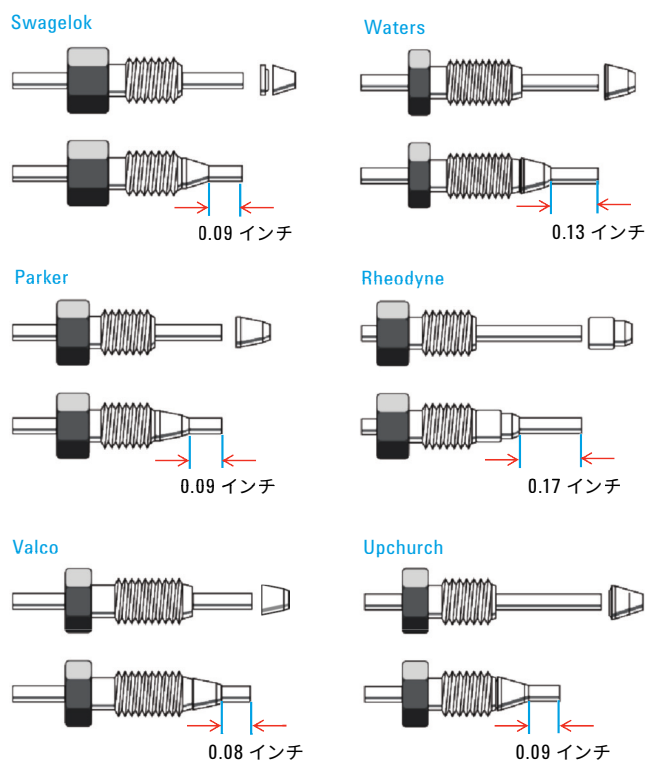


図 1. さまざまなメーカーの一般的な HPLC コネクタ

ステム長が短すぎるとデッドボリュームができ、これがピーク形状の悪化や分解能の低下、キャリアオーバーにつながります (図 2B および 3)。一方、ステム長が長すぎるとフェラルがしっかり固定されず、リークが起こります (図 2A)。また、従来のフィッティングやフェラルは、取り付けに工具を使用するため締めすぎが生じやすく、フィッティングがカラム内に貼り付いてしまうこともあります。

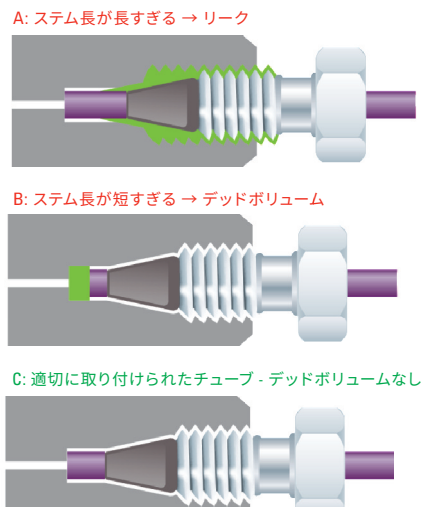


図 2. フィッティングの適正な接続と不適切な接続の比較

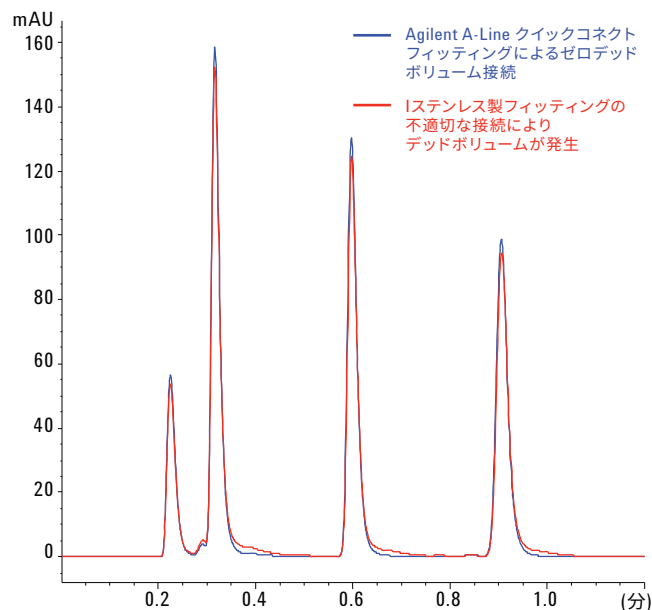


図 3. Agilent A-Line クイックコネクティフィッティングによりゼロデッドボリュームが実現され、ピーク形状が改善しています。

調整可能なフィンガータイトフィッティング

従来のフィッティングに伴う問題を解決するために、幅広いカラムで使用できる調整可能なフィンガータイトフィッティングが開発されました。その多くはポリマー製 (PEEK など) のフェラル付きで、フェラルがチューブに固定されていないため、フィッティングの再利用が可能です。ただし、このタイプのフィッティングにも、次のような欠点があります。

- 工具を使わなければ 1,300 bar の超高压を実現できない
- 締めすぎを防ぐためにトルクや回転角度の厳密なガイドラインに従わなければならない
- 再接続後に必ず、リークがないかチェックしなければならない
- 一般にフィッティングの締め直しが必要
- ポリマー製フェラルがチューブにしっかり固定されていない場合、超高压下または圧力サイクル中にフェラルが接続先ポートからずれ、デッドボリュームが生じる可能性がある

Agilent A-Line フィッティング

Agilent A-Line UHPLC フィッティングでは、これらの欠点が解決されているため、毎回リークのないカラム接続を確実に行えます。A-Line フィッティングには、次の 2 種類があります。A-Line クイックコネクタフィッティング (図 4A) は、カラムの接続に使用します。最大 1,300 bar の密閉性能を工具なしで実現できます。A-Line クイックターンフィッティング (図 4B) は、カラム注入口/アウトレットやバルブなど、流路のさまざまなコンポーネントを接続するために使用します。手締めで最大 600 bar (締め具合や接続位置によって異なる)、レンチを使用すれば最大 1,300 bar に対応可能です。

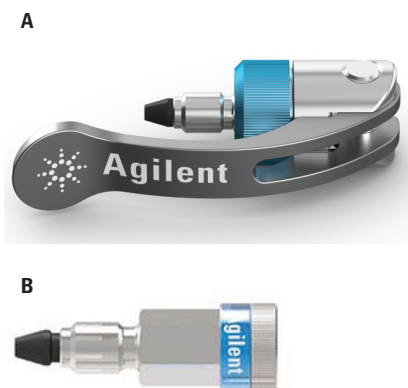


図 4. Agilent A-Line フィッティング。A) クイックコネクタフィッティング、B) クイックターンフィッティング。

どちらのフィッティングも新たなスプリング構造を採用しています (図 5)。チューブが常に接続先ポートに圧着し、再現性の高いゼロデッドボリューム接続が実現されるため、一貫したクロマトグラフィ性能が得られます。また、スプリングによってステム長が調整されるため、どんなタイプの LC カラムにも適合します。さらに、A-Line クイックコネクタフィッティングは、アジレント独自のレバー式です。レバーを含むスプリングアセンブリによって一定の力でフェラルがチューブに押圧されるため、チューブがずれることもありません。わずかな力でフィッティングを締め、1,300 bar (18,850 psi) の安定性を実現できます。工具は必要ありません。最初に手応えを感じるまでナットを手で締めてから、レバーを押し下げるだけで取り付け完了です (図 6)。

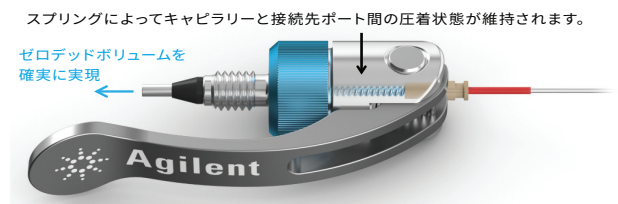


図 5. Agilent A-Line フィッティングの独自のスプリング構造

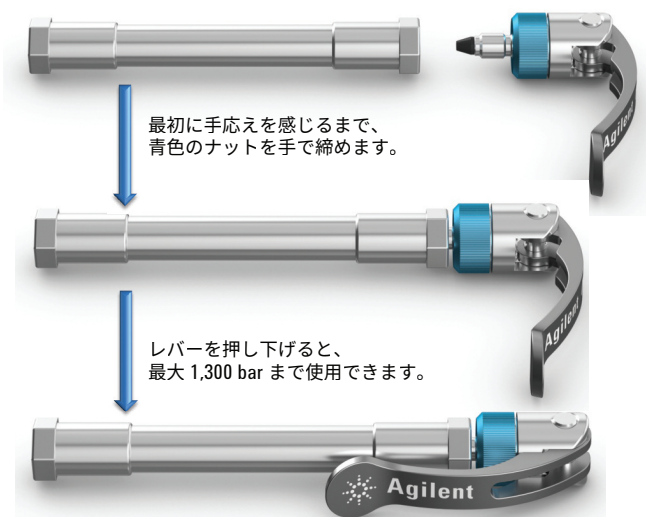


図 6. Agilent A-Line クイックコネクタフィッティングの取り付け手順

実験方法

Agilent 1290 Infinity パイナリ LC を使用して Agilent A-Line フィッティングの性能評価を実施しました。堅牢性テストでは、評価対象のフィッティング (Agilent A-Line クイックコネクティングおよび他社製の UHPLC フィンガータイトフィッティング) をカラム注入口に接続しました。さまざまなメーカーのカラムに対する A-Line フィッティングの適合性テストでは、A-Line クイックコネクティングをカラム注入口に、また A-Line クイックターンフィッティング (p/n 5067-5966) をカラムアウトレットおよび検出器に接続しました。分析対象物として、水:アセトニトリル 40:60 (v/v) に溶解したウラシル (10 µg/mL)、フェノール (200 µg/mL)、4-クロロニトロベンゼン (25 µg/mL)、ナフタレン (40 µg/mL) の混合液を使用しました。

堅牢性および再利用性評価条件

カラム: Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18、
2.1 × 100 mm、1.8 µm (p/n 959758-902)
移動相: A) 水
B) Acetonitrile; A:B 40:60 isocratic
流量: 1.4 mL/min (システム圧力 1,100 bar)
注入量: 1 µL
カラム温度: 40 °C
DAD 波長: 254 nm/4 nm、参照 400 nm/100 nm

多様なメーカーのカラムとの適合性評価条件

カラム: さまざまなメーカーの C18 結合相、2.1 × 50 mm、
サブ 2 µm カラム
移動相: A) 水
B) アセトニトリル、A:B 45:55、イソクラティック
流量: 1.2 mL/min
(システム圧力 600~1,000 bar、カラムにより異なる)
注入量: 1 µL
カラム温度: 25 °C
DAD 波長: 254 nm/4 nm、参照 400 nm/100 nm

結果と考察

200 回の再接続にわたり変わらぬ性能を発揮

Agilent A-Line クイックコネクティングの再利用性と堅牢性を評価するために、フィッティングの取り外しと再接続を 200 回繰り返しました。接続 1 回目および 200 回の再接続後のクロマトグラムの比較を図 7 に示します。クロマトグラムには、接続を 200 回繰り返した後も目に見える変化が生じていません。リテンションタイムの長い成分 (ナフタレン) のピークのテーリングファクターと、保持係数の小さい成分 (フェノールおよびウラシル) のピークの理論段数をモニタリングしました。これらの数値には、カラム外ボリュームやわずかなリークに起因するピークブロードニング効果がきわめて敏感に反映されます。図 8 から、実験を通してテーリングファクターと理論段数が一定に保たれていることがわかります。これは、200 回の再接続後もフィッティング接続にデッドボリュームやリークがないことを表しています。

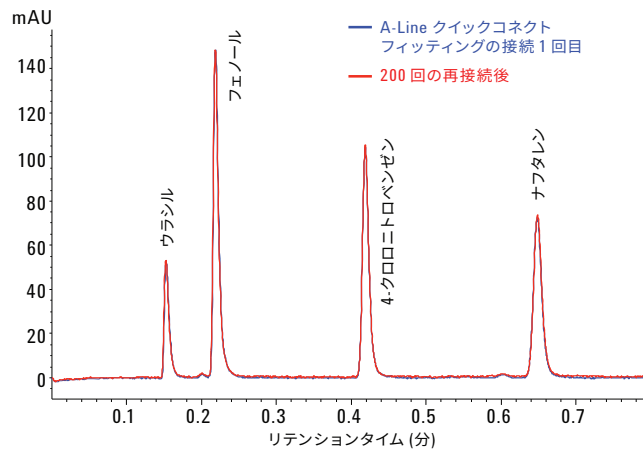


図 7. Agilent A-Line クイックコネクティングの接続 1 回目および 200 回の再接続後のクロマトグラムの比較

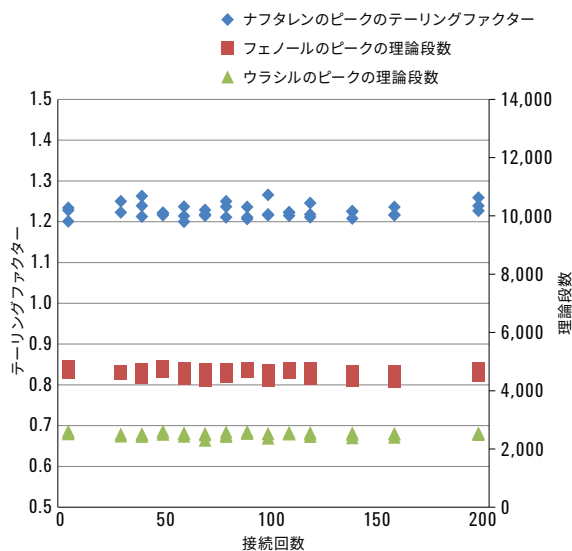


図 8. Agilent A-Line クイックコネクティングの 200 回の再接続にわたるテーリングファクターと理論段数のモニタリング

他社製フィッティングに勝る堅牢性を実現

他社製の再利用可能なポリマー製フェラル付きフィンガータイト UHPLC フィッティングを使用して、同じ条件で実験を実施しました。ポリマー製フェラルは、わずか 30 回の再接続後にキャピラリーに貼り付いて調整できなくなり、図 2B に示すデッドボリュームが生じました。これは、図 9 のクロマトグラムの比較からも確認できます。30 回の再接続後のクロマトグラムには、ピークテーリングの進行やピーク高の低下など、ピーク形状の悪化がはっきり現れています。

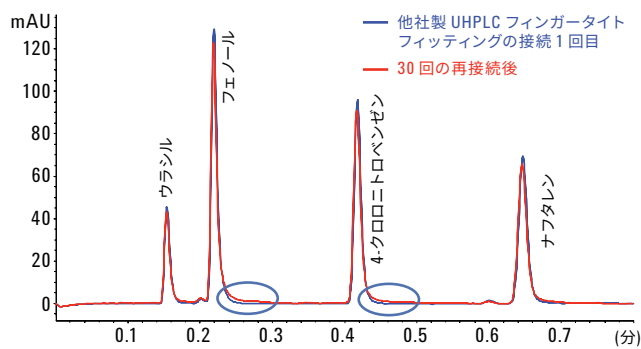


図 9. 他社製 UHPLC フィンガータイトフィッティングの接続 1 回目および 30 回の再接続後のクロマトグラムの比較

多様なメーカーのカラムとの適合性

フィッティング接続部の設計はカラムメーカーによって異なり、カラムに応じて適切なステム長のフィッティングを使用しないと、リークが生じたりピーク形状が悪化する可能性があります。Agilent A-Line フィッティングとさまざまなメーカーのカラムとの適合性を評価するために、Agilent A-Line フィッティングを使用してカラムメーカー 3 社 (W 社、P 社、および S 社) のカラムを接続しました (カラム注入口にはクイックコネクフィッティング、カラムアウトレットおよび検出器にはクイックターンフィッティングを使用)。すべてのカラムには、同一の A-Line フィッティングとチューブを使用しました。一般的なステンレス製フィッティングを使用する場合、カラムメーカーごとに、カラム接続部の形状に合った新しいフィッティングとチューブが必要です。図 10 に、Agilent A-Line フィッティングで得られたクロマトグラムと、適切なステム長のステンレス製固定フィッティングで得られたクロマトグラムを比較します。両クロマトグラムに明確な違いは認められませんでした。これは、評価したすべてのメーカーのカラムで A-Line フィッティングが理想的な状態で機能したことを示します。

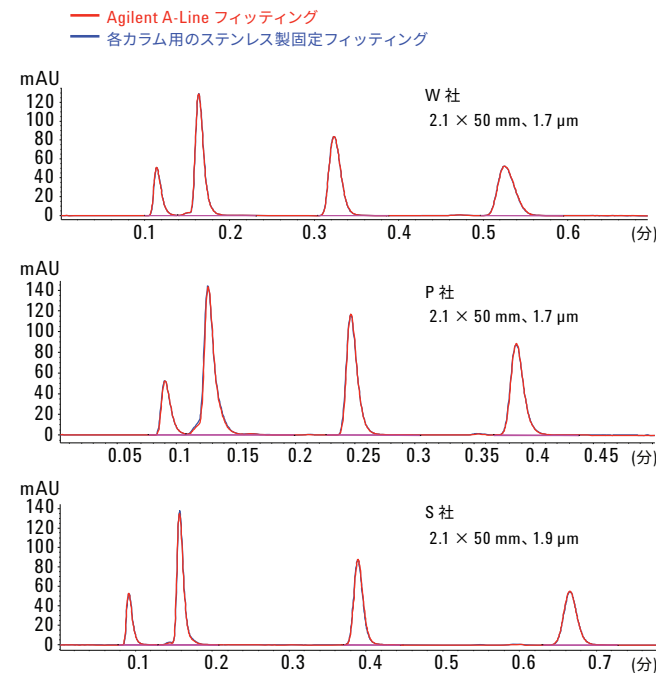


図 10. Agilent A-Line フィッティングと他社カラムとの適合性

結論

Agilent A-Line フィッティングは、優れた再利用性と堅牢性、UHPLC 性能を備え、次のような利点をもたらします。

- 200 回の再接続にわたって、テーリングファクター、理論段数、ピーク高など優れたクロマトグラフィー性能を維持
- アジレント独自のスプリング構造により、ゼロデッドボリューム接続を確実に実現
- 一般的なカラムメーカーとの適合性
- 使いやすさ

参考文献

1. Rogatsky, E.; Shaynah, B.; Cai, M.; Daniel, T. S. Optimizing UHPLC Fittings and Connections: A Case Study. *J. Chromatogr. Sep. Techniq.* **2013**, 4, 193. doi: 10.4172/2157-7064.1000193.
2. Fountain, K. J.; Neue, U. D.; Grumbach, E. S.; Diehl, D. M. Effects of extra-column band spreading, liquid chromatography system operating pressure, and column temperature on the performance of sub-2- μm porous particles. *J. Chromatogr. A* **2009**, 1216, 5979-5988.
3. Majors, R. E. Fittings and Tubing for Ultrahigh-Pressure Liquid Chromatography. *LCGC North America* **2014**, 32, 840-853.

詳細については製品ビデオをご覧ください

www.agilent.com/chem/jp

Agilent A-Line クイックコネク フィッティングの詳細情報

A-Line クイックコネクフィッティング	部品番号
アセンブリ	
ステンレス 0.075 × 105 mm	5067-5961
ステンレス 0.075 × 150 mm	5067-6163
ステンレス 0.075 × 220 mm	5067-6164
ステンレス 0.075 × 280 mm	5067-6165
ステンレス 0.12 × 105 mm	5067-5957
ステンレス 0.12 × 150 mm	5067-5958
ステンレス 0.12 × 220 mm	5067-5959
ステンレス 0.12 × 280 mm	5067-5960
ステンレス 0.17 × 105 mm	5067-6166
ステンレス 0.17 × 150 mm	5067-6167
ステンレス 0.17 × 220 mm	5067-6168
ステンレス 0.17 × 280 mm	5067-6169
ステンレス 0.25 × 105 mm、メスコネクタ付き	5067-6210

注意: すべてのアセンブリには、一方の端部にクイックコネク
フィッティング、もう一方の端部に未固定 Swagelok フィッティングを
取り付けられたキャピラリーが付属しています。

フィッティングとフェラル	部品番号
クイックコネク LC フィッティング	5067-5965
フロントフェラル	5043-0924
ステンレスキャピラリー 0.075 × 105 mm	5500-1174
ステンレスキャピラリー 0.075 × 150 mm	5500-1175
ステンレスキャピラリー 0.075 × 220 mm	5500-1176
ステンレスキャピラリー 0.075 × 250 mm	5500-1177
ステンレスキャピラリー 0.075 × 280 mm	5500-1178
ステンレスキャピラリー 0.12 × 105 mm	5500-1173
ステンレスキャピラリー 0.12 × 150 mm	5500-1172
ステンレスキャピラリー 0.12 × 220 mm	5500-1171
ステンレスキャピラリー 0.12 × 280 mm	5500-1170
ステンレスキャピラリー 0.12 × 400 mm	5500-1179
ステンレスキャピラリー 0.12 × 500 mm	5500-1180
ステンレスキャピラリー 0.12 × 105 mm	5500-1181
ステンレスキャピラリー 0.12 × 150 mm	5500-1182
ステンレスキャピラリー 0.12 × 220 mm	5500-1183
ステンレスキャピラリー 0.12 × 280 mm	5500-1230
ステンレスキャピラリー 0.12 × 500 mm	5500-1231
ステンレス 0.25 × 105 mm、メスコネクタ付き	5500-1258
ステンレス 0.25 × 150 mm	5500-1259
ステンレス 0.25 × 400 mm	5500-1260

注意: A-Line クイックコネクフィッティングは、上の表に記載の A-Line
キャピラリーのみに取り付けることができます。A-Line キャピラリーは
スプリングおよびホルダと適合するように設計されています。

Agilent A-Line クイックターン フィッティングの詳細情報

A-Line クイックターンフィッティング	部品番号
フィッティングとフェラル	
クイックターン UHPLC フィッティング (フェラル付き)	5067-5966
フロントフェラル	5043-0924
キャピラリー	
ステンレス 0.075 × 105 mm ロングソケット	5500-1198
ステンレス 0.075 × 150 mm ロングソケット	5500-1232
ステンレス 0.12 × 105 mm ロングソケット	5500-1188
ステンレス 0.12 × 150 mm ロングソケット	5500-1189
ステンレス 0.12 × 180 mm ロングソケット	5500-1233
ステンレス 0.12 × 200 mm ロングソケット	5500-1190
ステンレス 0.12 × 280 mm ロングソケット	5500-1191
ステンレス 0.12 × 500 mm ロングソケット	5500-1192
ステンレス 0.17 × 105 mm ロングソケット	5500-1193
ステンレス 0.17 × 150 mm ロングソケット	5500-1194
ステンレス 0.17 × 180 mm ロングソケット	5500-1234
ステンレス 0.17 × 200 mm ロングソケット	5500-1195
ステンレス 0.17 × 280 mm ロングソケット	5500-1196
ステンレス 0.17 × 380 mm ロングソケット	5500-1235
ステンレス 0.17 × 400 mm ロングソケット	5500-1236
ステンレス 0.17 × 500 mm ロングソケット	5500-1197
ステンレス 0.17 × 700 mm ロングソケット	5500-1237
ステンレス 0.25 × 105 mm ロングソケット、 メスコネクタ付き	5500-1261
ステンレス 0.25 × 150 mm ロングソケット	5500-1262
ステンレス 0.25 × 400 mm ロングソケット	5500-1263

注意: A-Line クイックターンフィッティングには、上の表に記載の専用キャピラリーのみ使用できます。

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おりません。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。アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2016

Printed in Japan, July 20, 2016

5991-5525JAJP



Agilent Technologies