[TECHNOLOGY BRIEF]

Alliance HPLC システムにおけるキャリーオーバの評価

Tanya Jenkins and Michael Waite

目的

キャリーオーバの原因が異なる化合物を用い、Alliance® HPLC システムの優れたキャリーオーバ抑制性能の実証。

フロースルーニードル注入機構は、1 種類の洗浄溶媒の設定だけで高度なメソッド性能で、除去が困難な検体においても優れたキャリーオーバの抑制を実現します。

背景

定量分析においては、正確で再現性よくカラムへの試料導入が可能な機構を持つことが重要です。ピーク面積値変動要因の一つは、直前の注入試料のキャリーオーバです。インジェクターの構造はキャリーオーバの影響を最小限にするものでなくてはなりません。時にはシステム全体をオフラインにした上で、汚染箇所の洗浄や交換する必要となる事態がおこりかねません。シンプルなインジェクター構造、効果的なキャリーオーバ抑制機能は、ユーザーにとって LC 分析条件の最適化を容易にします。キャリーオーバに対する性能を評価するために、LC 装置を 2 つの異なる試験用化合物で評価しました。1 つは溶解性が高く、界面活性の低い高極性化合物です。これは、試料溶液が残存することを想定したもので、一般的なキャリーオーバ評価用の化合物です。この評価では、インジェクターが洗浄サイクル中に十分に溶媒で洗い流されているか、残存した試料がないかを確認します。

2 つ目の評価に用いる化合物は、一般的に吸着しやすく界面活性を持つと知られているものです。これはインジェクター内部に吸着した場合、除去するのが難しい化合物です。

キャリーオーバは分析対象化合物の化学的性質に依存します。そのため洗浄機構に、さまざまな特性をもつ化合物についてキャリーオーバを抑制できる能力があるかを評価します。

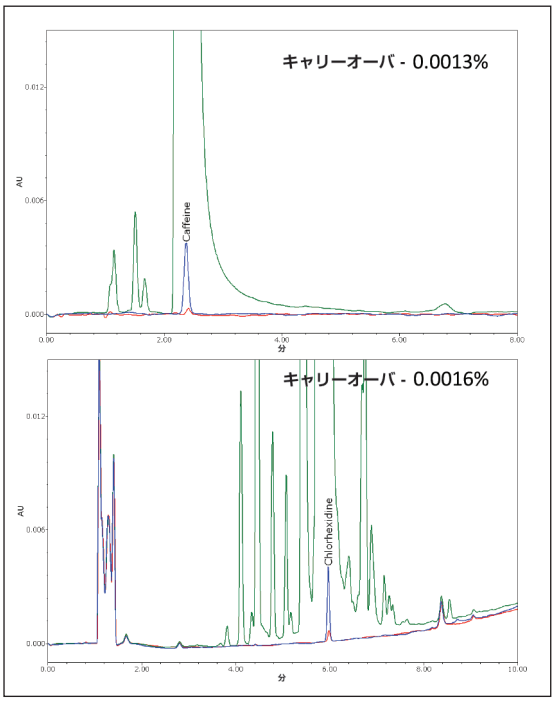

図 1. 高濃度標準品（カフェイン 5 mg/mL, クロルヘキシジン 2 mg/mL）注入（緑）と直後のブランク注入（赤）。装置キャリーオーバ仕様である 0.01% 標準試料（青）

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

ソリューション

Alliance HPLC システムのインジェクターはフロースルーニードル構造に基づいています。このタイプのインジェクターは、分析中にニードルの内部は移動相で洗浄され、ニードル外部は注入毎に最適な溶媒によって洗浄する事が可能です。キャリーオーバ低減率向上のためにニードル洗浄時間を延長することもできます。ニードル洗浄溶媒組成の選択は試料の性質によって決まり、その分析試料の溶解度が高いものを採用する必要があります。Alliance HPLC システムは多様な溶媒を洗浄溶媒として使用することができ、この広い選択性はキャリーオーバを抑制する上で重要です。試料残存によるキャリーオーバの確認のための化合物として、表面に吸着しない極性低分子であるカフェインを選択しました。“粘着性”化合物の除去を確認するための化合物には、LC システムからの除去が極めて難しいクロルヘキシジンを用いました。図 1 では Alliance HPLC システムの通常の洗浄サイクルを用いて、試料分析後の最初のブランク注入におけるキャリーオーバを確認しました。このシステムでの目的化合物のキャリーオーバは、装置仕様の 6 分の 1 程度あることがわかります。さらにニードル洗浄時間を 2 倍もしくは 4 倍に増やす、アドバンス洗浄機能を用いたキャリーオーバ評価結果を示します。これらの機能を使うことで、キャリーオーバは図 2 に示すようにさらに減少しました。

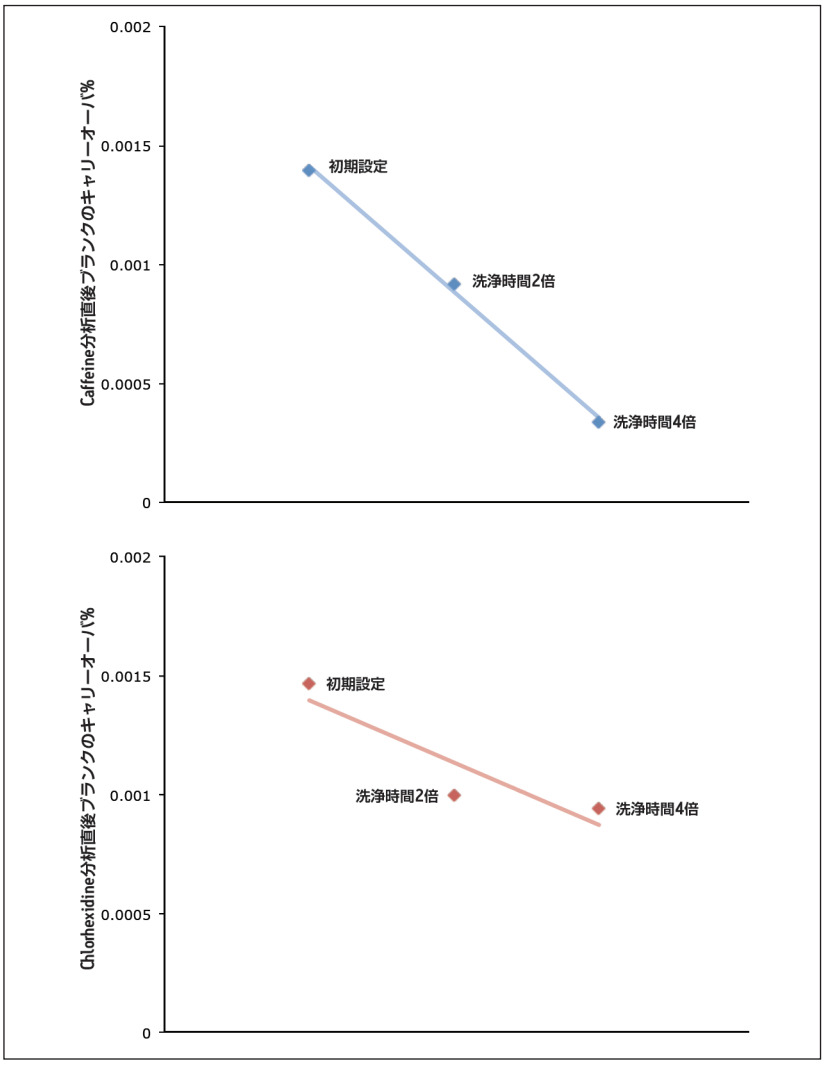

図 2. Alliance HPLC システムのアドバンス洗浄機能を用いた確認用試料のキャリーオーバ抑制

まとめ

分析試料のキャリーオーバを管理することは非常に困難です。このことは、高感度かつ広いダイナミックレンジが要求される分取分析に特に当てはまります。Alliance HPLC システムは、どのような試料においても試料の残存及び化学的吸着いずれのキャリーオーバも容易に抑制し、複雑な試料の分析に対してより良い定量性を提供します。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.com
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 札幌

Waters および Alliance 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。

©2013 Waters Corporation. Printed in Japan. 2013年5月 720004534JA PDF