

## 塩基性化合物の分析におけるピーク形状の改善とマルチリンスによるキャリアオーバーの低減

季節性インフルエンザの流行に対しては、こまめに手指の消毒を行うことが有効とされています。こうした手指消毒剤の多くはエタノールが主成分ですが、中には殺菌作用を有する成分を配合しているものもあります。市販消毒剤に含まれる有効成分にはクロルヘキシジンやベンゼトニウムなどがあり、これら2成分はいずれも塩基性の強い化合物です。

一般的な ODS カラムで塩基性化合物を分析すると、充てん剤表面の残存シラノールとの非特異的な相互作用により、テーリングなどピーク形状の悪化が確認される場合があります。Shim-pack Arata™ C18 はシラノールとの相互作用を抑制するように設計され、塩基性化合物を分析する際に、単純な移動相を用いても良好なピーク形状が得られることが期待できます。

また、クロルヘキシジンはオートサンプラーの接液部に非常に吸着しやすい化合物であることが知られています。そのため、特に高濃度の試料を分析した後、キャリアオーバーとして次の分析に影響を与えることがあります。Nexera™ X3 システムはマルチリンス機能を標準装備しており、キャリアオーバーが発生しやすい注入ポートを自動的に洗浄することで、キャリアオーバーを低減させることが可能です。

本稿では、Nexera X3 と Shim-pack Arata C18 を用いた塩基性化合物の分析例と、マルチリンス機能によるキャリアオーバーの低減例をご紹介します。

Y. Zhou

表1 分析条件

System	: Nexera X3	
Column	: Shim-pack Arata C18 (100 mm × 3.0 mm I.D., 2.2 μm)	
	: Typical ODS column (100 mm × 3.0 mm I.D., 2.2 μm)	
Mobile phase	: A) 0.1% Formic acid in water : B) 0.1% Formic acid in acetonitrile	
Flow rate	: 0.7 mL/min	
Column temp.	: 40 °C	
Injection volume	: 1 μL	
Detection	: UV 258 nm	

表2 タイムプログラム

Time (min)	A. Conc	B. Conc
0	95	5
3	50	50
6	50	50
6.01	95	5
10	95	5

### ■ クロルヘキシジン、ベンゼトニウムの分析

図1にクロルヘキシジン二酢酸塩 (50 mg/L) と塩化ベンゼトニウム (200 mg/L) の標準混合溶液を 1 μL 注入した際のクロマトグラムを示し、表1、2に分析条件を示します。カラムは一般的な ODS カラムと Shim-pack Arata C18 を使用しました。表3にこれらのカラムを使用して、標準混合溶液を分析した際のシンメトリー係数を示します。

一般的な ODS カラムを使用した際のシンメトリー係数は、クロルヘキシジンが 1.85、ベンゼトニウムが 2.17 でした。一方、Shim-pack Arata C18 を使用した場合のシンメトリー係数は、クロルヘキシジンが 1.14、ベンゼトニウムが 0.98 でした。一般的な ODS カラムと比べて、Shim-pack Arata C18 は塩基性化合物を分析する際に、良好なピーク対称性を示しました。

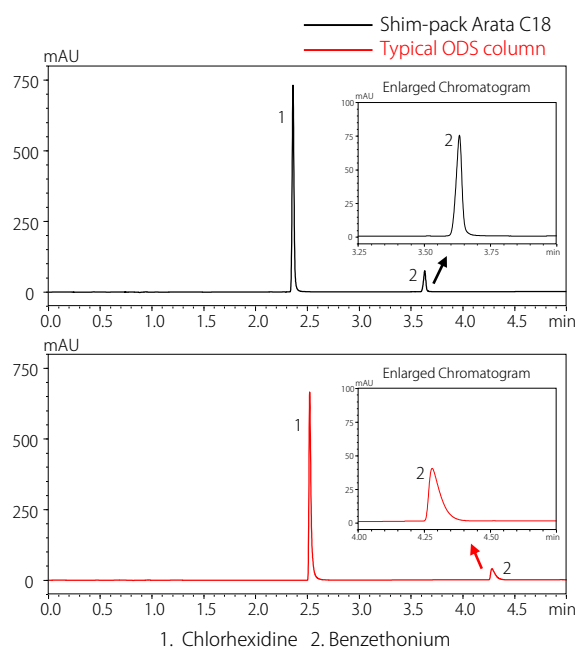


図1 クロルヘキシジン二酢酸塩 (50 mg/L)、塩化ベンゼトニウム (200 mg/L) 標準混合溶液のクロマトグラム

表3 シンメトリー係数の比較

Compound	Shim-pack Arata C18	Typical ODS column
Chlorhexidine	1.14	1.85
Benzethonium	0.98	2.17

## ■ マルチリンス機能を活用したキャリーオーバーの低減

マルチリンス機能はニードル外面を最大2液、ニードル内面を最大で3液のリンス液を使用して洗浄することが可能で、洗浄順序も任意に設定が可能です。また、キャリーオーバーが発生しやすい箇所として注入ポート部分がありますが、マルチリンス機能を使用することにより注入ポートを自動的に洗浄することも可能です。

今回は通常のリンスモード（ニードル外洗浄のみ）を使用した場合のキャリーオーバーと、マルチリンス機能の注入ポート洗浄を使用した場合のキャリーオーバーの値を比較しました。標準溶液を注入した直後にブランクとして水を注入し、それらのピーク面積値からキャリーオーバーの値を算出しました。リンス液には水とアセトニトリルの混合溶液と0.1%ギ酸を含むアセトニトリル溶液を使用しました。

表4、5に分析条件を示します。マルチリンス機能を使用した時のLabSolutions™上の設定を図2に示します。図3にニードル外洗浄のみを使用した場合、および図4にマルチリンス機能を使用した場合のクロルヘキシジン二酢酸塩（10000 mg/L）標準溶液に次いでブランク液5 μLを注入した結果を示します。それぞれのキャリーオーバーの結果を表6に示します。図2の設定では、分析終了後に、ニードル外洗浄以外にリンス溶媒 R2、R1 の順番でニードル内面と注入ポートの洗浄を行います。その後、R0 で1分間サンプルループ内の溶媒を置換し、次の分析のための平衡化を行います。

表4 分析条件

System	: Nexera X3
Column	: Shim-pack Arata C18 (100 mm × 3.0 mm I.D., 2.2 μm)
Mobile phase	: A) 0.1% Formic acid in water B) 0.1% Formic acid in acetonitrile
Flow rate	: 0.7 mL/min
Column temp.	: 40 °C
Injection volume	: 5 μL
Detection	: UV 258 nm
Rinse solution R0	: Water/acetonitrile=50/50 (v/v)
Rinse solution R1	: Water/acetonitrile=50/50 (v/v)
Rinse solution R2	: 0.1% Formic acid in acetonitrile

表5 タイムプログラム

Time (min)	A. Conc	B. Conc
0	80	20
2	80	20
2.01	60	40
3	60	40
3.01	80	20
6	80	20

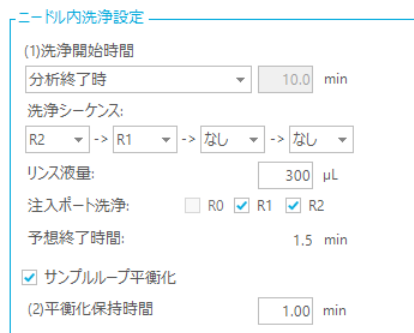


図2 ニードル内洗浄の設定画面  
(R0、R1、R2はリンス溶媒種を示します)

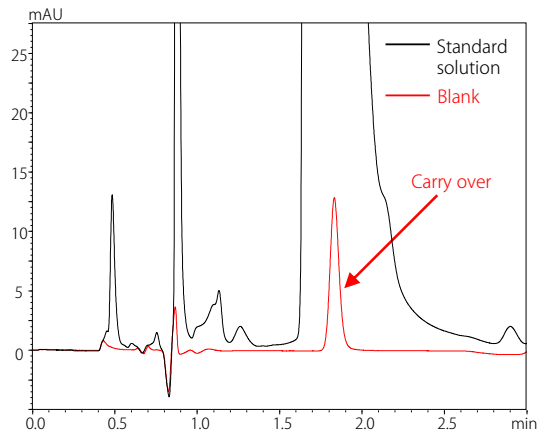


図3 ニードル外洗浄のみを使用した時のクロマトグラム

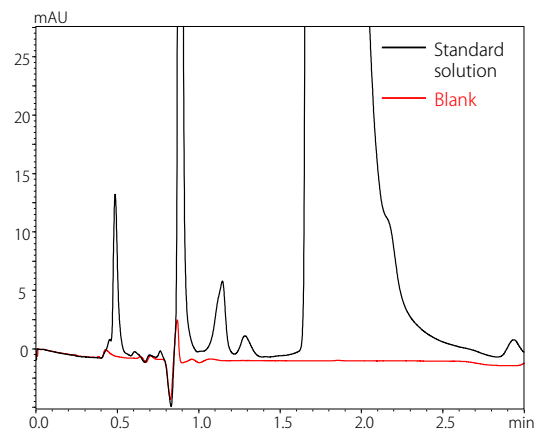


図4 マルチリンス機能を使用した時のクロマトグラム

10000 mg/L クロルヘキシジン二酢酸塩の標準溶液を注入した後、ニードル外洗浄のみを使用した場合のキャリーオーバーは2.31 mg/Lであり、標準溶液の0.0231%相当の結果でした。一方、ニードル内外洗浄と注入ポート洗浄を行った後のキャリーオーバーは検出限界以下でしたが、参考濃度は0.01 mg/Lであり、標準溶液の0.0001%相当の結果でした。このように、マルチリンス機能を活用することにより、キャリーオーバーを約230分の1まで低減することができました。

表6 キャリーオーバーの比較

ニードルの洗浄方法	キャリーオーバーの濃度 (mg/L)	キャリーオーバー (%)
ニードル外洗浄	2.31	0.0231
ニードル内外洗浄と注入ポート洗浄	0.01	0.0001

## ■ まとめ

0.1%ギ酸水溶液のような簡単な移動相を使用して塩基性化合物を分析する場合、Shim-pack Arata C18を用いることで一般的な ODS カラムに比べて、良好なピーク形状を得ることができます。そして、Nexeraのマルチリンス機能を活用することにより、キャリーオーバーを大きく改善することができます。本機能は高濃度の試料を注入した際のキャリーオーバーを低減させるために有用な機能であると言えます。

Nexera、Shim-pack Arata、および LabSolutions は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

**株式会社 島津製作所** 分析計測事業部  
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2020年4月

島津コールセンター ☎0120-131691  
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。  
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。