

# オートサンプラーの自動前処理機能を用いた 良好なピーク形状を与える試料溶媒組成の検討

藤崎 真一

## ユーザーベネフィット

- ◆ オートサンプラーの自動前処理機能により、試料溶媒組成を自動で変更しながら分析可能なため、最適な試料溶媒組成の検討を効率化できます。
- ◆ 検討したい試料溶媒組成は、LabSolutions™ MDの画面から簡単に入力できます。

## ■はじめに

LC分析において、試料溶媒組成は適切なピーク形状を得るために重要です。移動相よりも試料溶媒の溶出力が強い場合、カラム入口部での溶質の濃縮が不十分となり、試料バンドが広がることでピークがブロードになる場合があります。例えば極性の小さな化合物を溶解させるために試料溶媒中の有機溶媒比率を大きくすると、逆相クロマトグラフィーにおいては溶出時間の早い成分のピーク形状が悪化することがあります。したがって、適切なピーク形状を得るためには、試料溶媒中の有機溶媒組成の最適比率を検討することが重要ですが、手動で複数の組成の試料溶媒を調製することは膨大な手間がかかります。Nexera™シリーズのオートサンプラーの自動前処理機能と、[分析法開発支援ソフトウェアLabSolutions MD](#)を活用することで、試料溶媒組成を自動で変更しながら分析が可能となります。これにより、手動での調製の手間なく試料溶媒組成がピーク形状に与える影響を確認でき、最適な試料溶媒組成の検討を大幅に省力化できます。本稿では、低分子医薬品 Metoclopramide をモデルサンプルとし、最適な試料溶媒組成の検討を自動化した事例をご紹介します。

## ■自動前処理機能について

オートサンプラーに搭載された自動前処理機能により、任意のバイアルから指定量の試薬や溶媒を吸引・吐出したり、ニードルの中でミキシングしたりすることが可能です。一例として、本機能を用いて、試料溶媒（メタノール）中の水比率を自動で変更する場合の手順を図1に示します。Nexeraシリーズのオートサンプラーは、マルチリンス機能により、最大3液のリンス液を搭載可能であり、本手順で試料溶媒として使用するメタノールと水は、これらのリンス液から供給しました。図1中(2)の「メタノール吐出量」、(3)の「水吐出量」を変化させることで、メタノールと水の組成を任意に変更した試料溶媒を自動調製可能です。また、図1中(1)の「試料吸引量」を変化させることで、試料溶媒組成の変更に加え、任意の倍率に自動希釈することもできます。

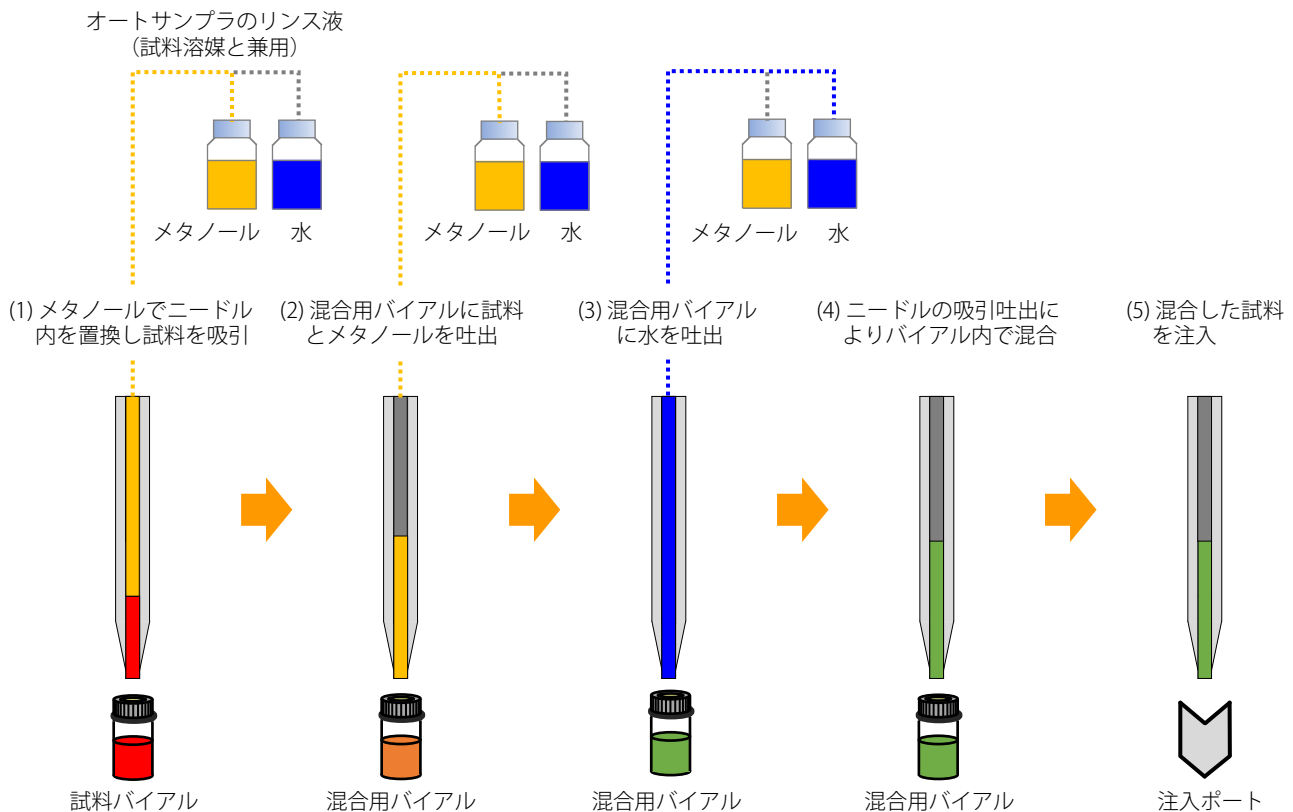


図1 オートサンプラーの自動前処理機能を用いた試料溶媒の自動調製手順

## ■ 分析条件および対象試料

低分子医薬品Metoclopramideの標準品について、試料溶媒をメタノール100%とし、濃度が1000 mg/Lとなるように調製したものを試料原液としました。これに対して、試料溶媒中の水比率を0%から90%まで10%刻みで変更（試料溶媒自動調製時の希釈倍率は10倍）し、ピーク形状に与える影響を確認しました（分析条件：表1）。試料原液に対して、検討したい試料溶媒中の水比率をLabSolutions MDの画面から入力（図2中赤枠内）するだけで、オートサンプラーの自動前処理機能により、試料溶媒組成を自動で変更しながら分析が実行されます。そのため、最も良好なピーク形状を与える試料溶媒組成の検討における手動での調製の手間がなくなり、作業の大幅な省力化が可能です。

表1 分析条件

System	: Nexera X3
Sample	: Metoclopramide
Sample solvents	: Methanol/Water = 100 - X : X <sup>*1</sup>
Column	: Shim-pack Scepter™ C18-120 <sup>*2</sup> (100 mm × 3.0 mm I.D., 1.9 μm)
Mobile phases	
Pump A	: 0.1% formic acid in water
Pump B	: Methanol
Temperature	: 40 °C
Injection volume	: 5 μL (100 mg/L)
Flow rate	: 0.6 mL/min
B Conc. (Isocratic)	: 50%
Detection	: 254 nm (SPD-M40, STD cell)

\*1 X = 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90

\*2 P/N : 227-31013-03 (島津GLC製品番号)

サンプル名	バイアル	試料溶媒中の水比率(%)	希釈倍率
Metoclopramide_0	1	0	10
Metoclopramide_10	1	10	10
Metoclopramide_20	1	20	10
Metoclopramide_30	1	30	10
Metoclopramide_40	1	40	10
Metoclopramide_50	1	50	10
Metoclopramide_60	1	60	10
Metoclopramide_70	1	70	10
Metoclopramide_80	1	80	10
Metoclopramide_90	1	90	10

図2 試料溶媒中の水比率の設定画面 (LabSolutions MD)

## ■ 試料溶媒組成がピーク形状に与える影響

自動前処理機能にて、試料溶媒中の水比率を変更した際に得られたクロマトグラムを図3 (左) に示します。また、手動調製にて水比率を変更した際に得られたクロマトグラムも参考として図3 (右) に示します。さらに、試料溶媒中の水比率を変更した際のピーク高さの推移を図4に示します。図3では、水比率が低い条件 (0~30%) では、試料溶媒の影響により、ピークがブロードになっており、適切なピーク形状が得られませんでした。一方で、水比率が高くなるほどピーク高さが回復することでピーク形状が良好となり、50%以上においては、ほぼ一定のピーク高さが得られることが確認できました。これは、試料溶媒中の水比率が高くなることで、移動相中のメタノール比率 (50%) に対して、試料溶媒の溶出力が相対的に弱まり、ピーク形状が改善したことを示唆しています。図4では、ピーク高さは水比率が50%以上でおおよそ飽和しており、本検討においては、試料溶媒組成としては水比率が50%以上が適切であると考えられます。

水比率を50%より高くすることでピーク形状はより良好になる傾向が認められましたが、一般的に水比率が高くなると、試料の溶解性が低下する可能性があります。特に、水比率が100%の条件では、見かけ上のピーク形状が良好であっても、再現性や定量性に影響を及ぼすおそれがあります。試料の溶解性は含有される夾雑成分にも依存しますが、標準品を用いた本結果においては、50~70%程度の水比率が、ピーク高さおよび試料の溶解性を確保できる最適な組成であると推察されます。このように、試料溶媒組成はピーク形状や定量性に大きく影響を与えるため、最適条件の検討は極めて重要です。さらに、図4においては、自動前処理機能によるピーク高さの推移 (赤線) が手動調製によるピーク高さの推移 (青線) とほぼ一致しており、両者に有意な差は認められませんでした。このことから、自動前処理機能は手動調製と同等の性能を有していることも確認できました。

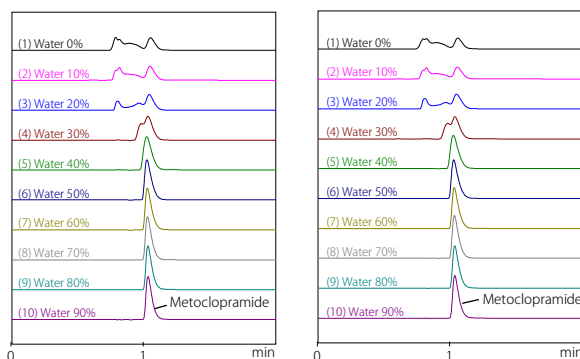


図3 試料溶媒 (メタノール) 中の水比率を変更したクロマトグラム  
自動前処理機能による調製 (左)、手動での調製 (右)  
(ピーク高さは最大値を1として正規化)

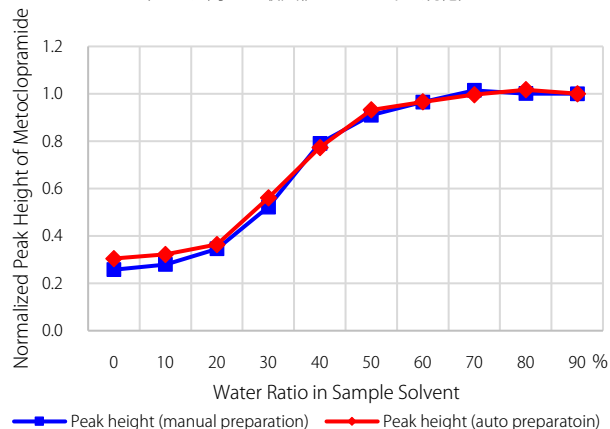


図4 試料溶媒中の水比率とピーク高さの関係  
(ピーク高さは最大値を1として正規化)

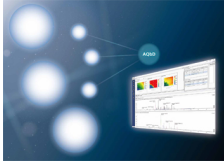
## ■ まとめ

適切なピーク形状を得るためには、試料溶媒組成を検討することが重要ですが、手動で複数組成の試料溶媒を調製することは手間がかかることが課題です。Nexeraシリーズのオートサンプラーの自動前処理機能と、分析法開発支援ソフトウェアLabSolutions MDにより、試料溶媒組成を自動で変更しながら分析が可能となり、最適な試料溶媒組成の検討を大幅に省力化できます。また、最適な試料溶媒組成は、分析対象試料や移動相等の条件によっても異なります。そのため、都度条件の最適化が必要ですが、自動前処理機能を活用することで、これらの作業の効率化が可能です。

LabSolutions、NexeraおよびShim-pack Scepterは株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

▶ アンケート

**関連製品** 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



▶ 分析法開発支援システム  
分析法開発支援ソフトウェア

## 関連分野

▶ 医薬・バイオ医薬品

▶ 低分子医薬品

▶ 価格お問い合わせ

▶ 製品お問い合わせ

▶ 技術お問い合わせ

▶ その他お問い合わせ