

低濃度試料における容器への吸着と低吸着バイアルの開発

Adsorption Phenomenon and Development of Low Adsorption Vials for LC and LC/MS

○村越幹昭¹、福澤興祐¹、佐藤友紀¹、浅川直樹²(¹ 株式会社島津ジーエルシー R&Dグループ、² 株式会社島津製作所)

Motoaki MURAKOSHI* (1), Kosuke FUKUZAWA (1), Yuki SATO (1), Naoki ASAKAWA (2);

(1) Shimadzu GLC Ltd. R&D Group, (2) Shimadzu Corporation

1. はじめに

近年、高感度および高選択性を発揮する分析を可能としたLC/MSは、多くの分野で不可欠な分析手段となっている。この際のLC/MSに適用する試料の低濃度化が加速する中で、試料の容器への吸着が分析結果の信頼性確保に深刻な影響を及ぼすことが懸念される。一般的にガラス容器ではガラス表面のシラノール基によるイオンの吸着とシロキサンによる疎水的吸着が同時に生じ、一方、PP容器では素材に基づく疎水的吸着のみが生じる。このため、種々の塩基性化合物とペプチド（ミオグロビンおよびBSAのトリプシン消化）をモデルとして用い、容器への吸着現象を検証した。その結果、容器（ガラス製バイアルとPP製バイアル）により吸着現象はそれぞれ異なり、バイアルへの吸着現象は得られた分析結果の信頼性を損なう一因であることを確認した。そこで、塩基性化合物とペプチドを対象に、新規に開発した低吸着HPLC用バイアルの吸着挙動を紹介する。

2. 容器への吸着の現状と吸着抑制法

pKa（酸解離定数）の高い塩基性化合物等はイオンの吸着によりガラス容器に、またlogP（オクタノール/ 水分配係数）の大きい化合物は疎水的吸着によりガラス容器およびPP容器に容易に吸着する。従って、吸着抑制法としては、ガラス容器でのシラノールとのイオンの吸着を抑制するためには試料液への塩の添加が、またガラス・PP容器の疎水的吸着を抑制するためには有機溶媒や界面活性剤の添加がそれぞれ効果的である。しかし、HPLC およびLC/MSによる高感度定量には、添加物による分離やMSにおけるイオン化への影響を考慮する必要があり、容器への吸着を考慮した試料調製の最適化条件の設定は複雑化する。

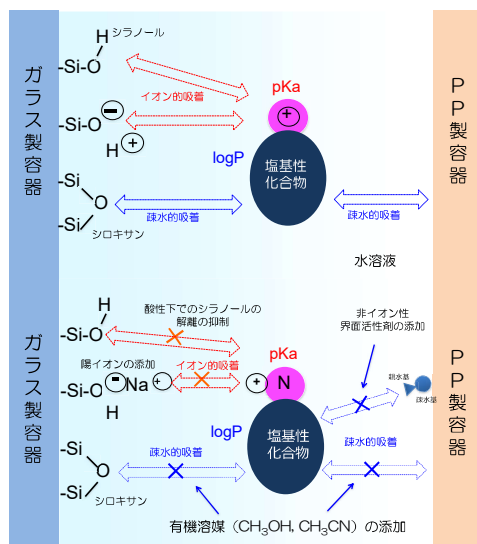


Fig.1 容器への吸着メカニズムと吸着抑制法

3. 低吸着バイアルの開発

◎ガラス製バイアル（LabTotal Vial）

一般のガラス製バイアルの表面は凸凹しており、試料との接触面積が大きい。そこで、製造時の成形条件の最適化により、表面積を最小化した。

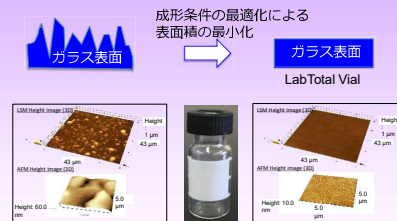


Fig.2 低吸着ガラス製バイアルの概要

◎PP製バイアル（TORAST-H™ Bio Vial）

PP製バイアル表面には非イオン性の超親水性基を化学結合させた。

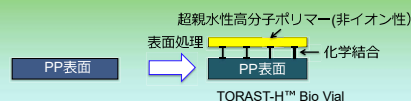


Fig.3 低吸着PP製バイアルの概要

4. LabTotal Vialの塩基性化合物に対する吸着抑制効果

LabTotal Vialと市販のLCMS用途のバイアルおよびLC/GC用途のバイアルを用いて、4種類の塩基性化合物分析における吸着抑制効果について比較検討した。得られたクロマトグラムをFig.4 に、また面積値（回収率）をTable 1に示した。その結果、LabTotal Vialは他社バイアルと比べて顕著な吸着抑制効果を確認した。

Table 1 3種類のバイアル間での塩基性化合物の回収率の比較値

	アミトリプチリン	アテノロール	イミプラミン	プロプラノロール
LabTotal Vial	51,376 (100%)	8,638 (100%)	64,990 (100%)	32,249 (100%)
他社バイアルA (LCMS用途)	45,376 (88%)	7,620 (88%)	55,531 (85%)	31,496 (97%)
他社バイアルB (LC/GC用途)	21,788 (42%)	6,137 (71%)	24,131 (37%)	27,327 (84%)

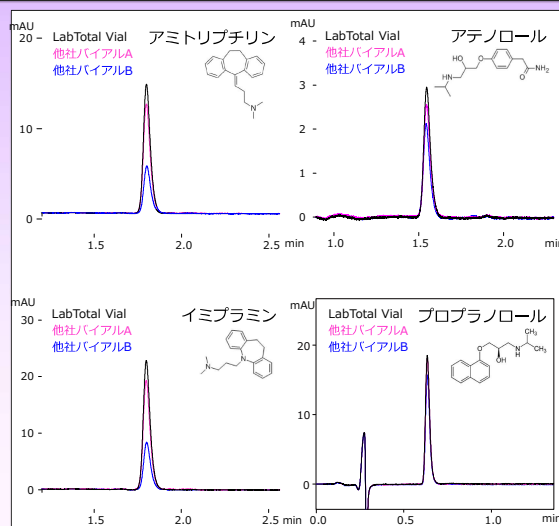


Fig.4 4種類の塩基性化合物（1 mg/L）のクロマトグラム

5. TORAST-H™ Bio Vialのペプチドに対する吸着抑制効果

極性の高いペプチド（保持時間：約7～8分）は主にガラス製バイアルへ、また疎水性の高いペプチド（保持時間：約12～16分）は主にPP製バイアルに顕著に吸着することが確認された。TORAST-H™ Bio Vialはいずれのペプチドにおいても吸着抑制効果を示した。

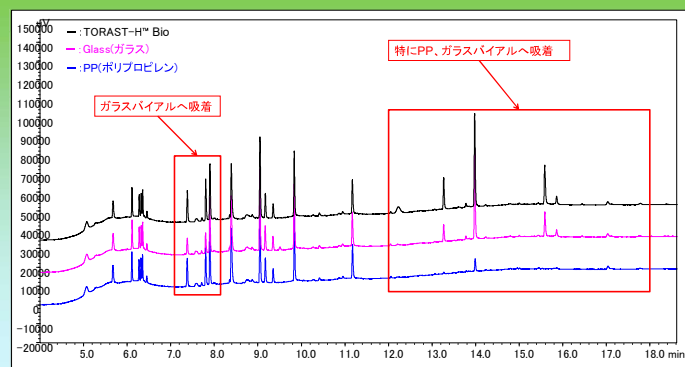


Fig.5 ミオグロビンのトリプシン消化物(1.9 pmol/mL)のクロマトグラム

6. まとめ・考察

LCおよびLC/MSにおける高感度分析に求められる低吸着バイアル（LabTotal VialおよびTORAST-H™ Bio Vial）を開発した。

- 1) ガラス製低吸着バイアル（LabTotal Vial）は塩基性化合物の吸着を抑制した。
- 2) PP製低吸着バイアル（TORAST-H™ Bio Vial）はペプチドの吸着を抑制した。

本低吸着バイアルは高感度分析での信頼性確保に貢献できるものと期待される。