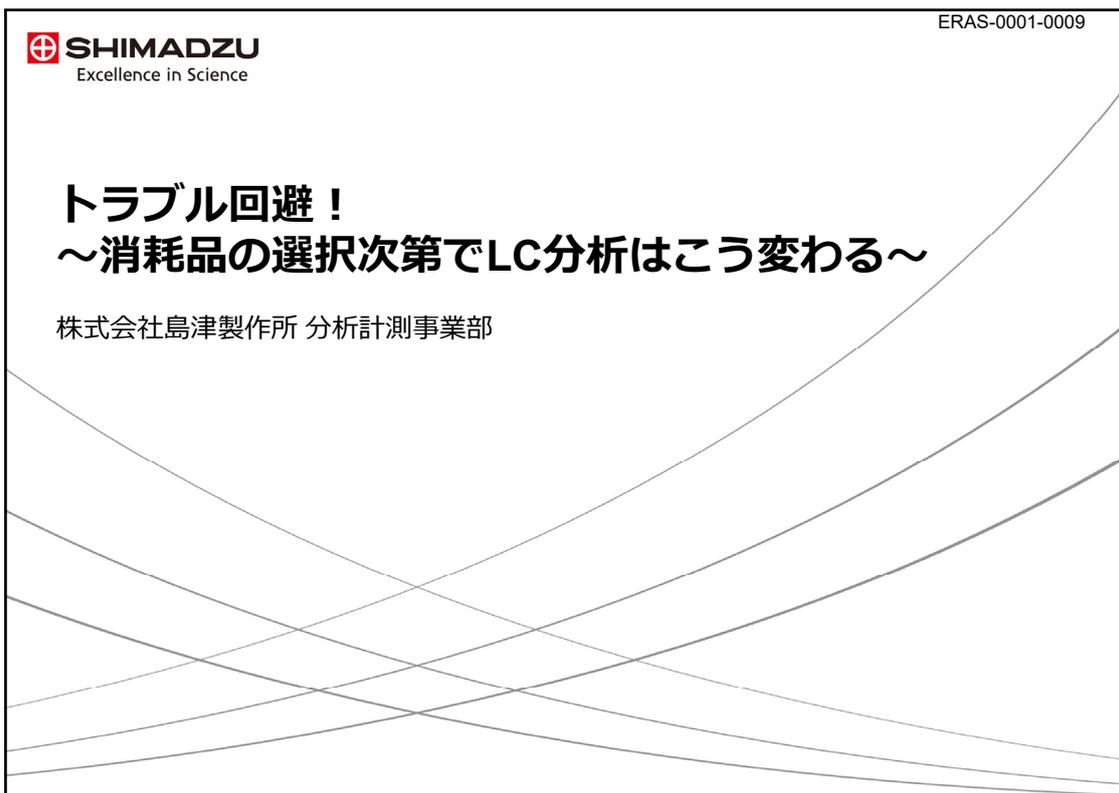


SHIMADZU
Excellence in Science

ERAS-0001-0009

トラブル回避！ ～消耗品の選択次第でLC分析はこう変わる～

株式会社島津製作所 分析計測事業部



SHIMADZU

ERAS-0001-0009

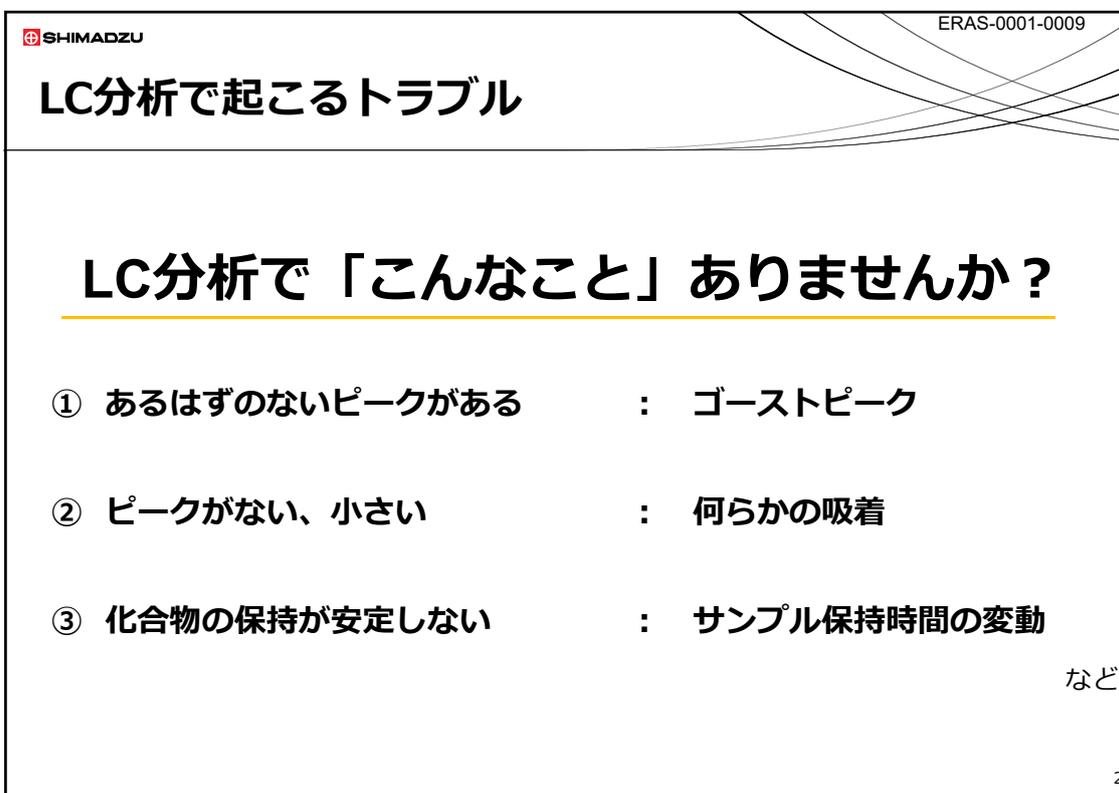
LC分析で起こるトラブル

LC分析で「こんなこと」ありませんか？

① あるはずのないピークがある	:	ゴーストピーク
② ピークがない、小さい	:	何らかの吸着
③ 化合物の保持が安定しない	:	サンプル保持時間の変動

など

2



ERAS-0001-0009

SHIMADZU

LC分析で一旦トラブルが起こると…

**分析結果の信頼性が損なわれ、
原因究明に多大な労力やコストがかかります。**



原因は何??
装置まで調べるとなるととても
手間だなあ。。。

賢い消耗品選択により、未然にトラブルを回避 or トラブルの可能性となる要因をなるべく抑え、LC分析成功に最短で到達させることができます！

3

ERAS-0001-0009

SHIMADZU

トラブル回避の消耗品

原因を3つに分けて、計4製品ご紹介

ゴーストピーク回避

**GLC Suction Filter 2
&
ゴーストラップDS**



吸引方向
活性炭
SUS繊維フィルター

吸着回避

TORAST™-H Series



TORAST-H™ Bio Vial
(低吸着バイオアンプル)

**塩基性化合物保持時間
の変動回避**

Shim-pack ARATA™ C18



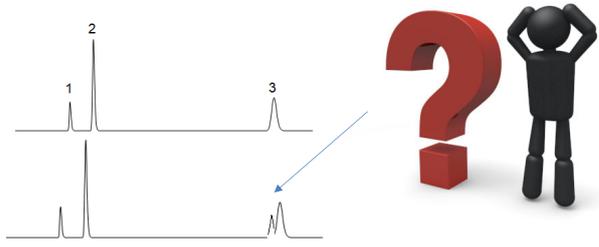
売れています

4

SHIMADZU ERAS-0001-0009

賢い消耗品選択によるトラブル回避_1

トラブル回避の消耗品選択① ～ゴーストピークの回避～



SHIMADZU ERAS-0001-0009

ゴーストピークが出現すると・・・

- 分析結果の信頼性が損なわれる
- 再解析に労力・コストがかかる
- 原因究明に多大な労力やコストがかかる



SHIMADZU ERAS-0001-0009

ゴーストピーク

➤ **ゴーストピーク**
⇒ サンプル中に存在しない不純物/汚染物質によって起こります。

特に

移動相に起因するゴーストピーク

- ・ 実験室環境中の揮発性有機化合物（VOC）の溶解
- ・ 移動相調整に用いた試薬および溶媒中の不純物
- ・ 移動相容器や調整に使用した器具からの汚染
- ・ 水系移動相における微生物の発生

↓

消耗品選択によりトラブルを未然に防いで回避可能です。



7

SHIMADZU ERAS-0001-0009

ゴーストピーク回避の消耗品選択

移動相からのゴーストピークを抑えたい場合に

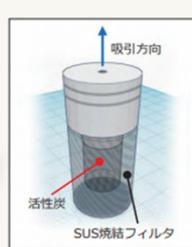



図1 GLC Suction Filter 2 模式図

GLC Suction Filter 2



ゴーストラップDS

8

ERAS-0001-0009

SHIMADZU
ゴーストピーク回避の消耗品選択
～サクシオンフィルタ

「移動相」が汚れていた場合は、分析結果や装置に悪影響を及ぼします。
 → 「移動相」の汚染物質を除去してくれるフィルターがサクシオンフィルターです。

9

ERAS-0001-0009

SHIMADZU
サクシオンフィルタについて

一般的な
 サクシオンフィルタ—外観
 (P/N:228-45707-91)

※HPLC据え付け時に納入されるサクシオンチューブに基本ついてきます。

使っていくうちに汚れます。

参照) <https://www.youtube.com/watch?v=GE4fHKwgY5I>

- 移動相汚れを除去できなくなってきました。
- うまく液を吸引できなくなります。

→ 汚れ除去も効果的でなくなるので、基本的に交換が必要です。

10

ERAS-0001-0009

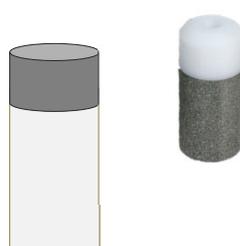
SHIMADZU

一般的なサクションフィルタとの違いとは

GLC Suction Filter 2

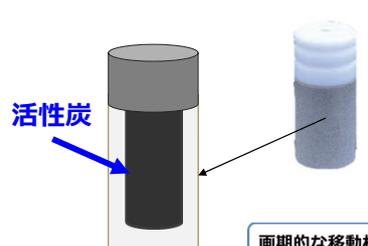
A. 一般的なサクションフィルタにはない活性炭の内蔵により高い除去効果
(なお、操作性は変わらず、システムボリュームにも影響しません)

一般的なサクションフィルタ



SUS焼結フィルタによる
物理的な除去効果のみ

GLC Suction Filter 2



活性炭

画期的な移動相クリーニング機能

物理的な除去効果
+
活性炭による吸着除去

11

ERAS-0001-0009

SHIMADZU

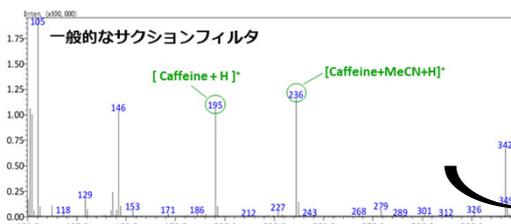
GLC Suction Filter2 除去効果

LC/MSでも使用可能

**移動相への溶出を最小限に抑え、
LC/MSでも使用可能な低ブリード性能を実現**

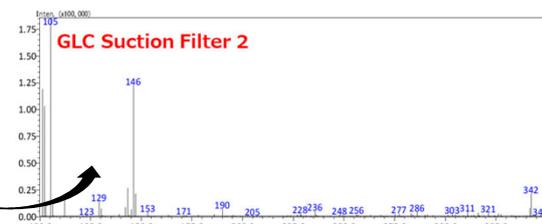
アセトニトリル溶液中の汚染物質除去効果例 (LC/MS)

一般的なサクションフィルタ



[Caffeine+H]⁺ (m/z 195)
[Caffeine+MeCN+H]⁺ (m/z 236)

GLC Suction Filter 2



m/z 146

CN1C=NC2=C1C(=O)N(C)C2=O
 カフェイン
 分子式: C₈H₁₀N₄O₂
 分子量: 194.1906

活性炭内蔵のGLC Suction Filter 2 では
汚れ成分である「移動相のカフェイン」が検出されない。

移動相: 超純水/1ppmカフェインアセトニトリル溶液 = 10 : 90 (v/v)
 MS分析モード: Scan mode 100 to 2000 m/z

※カフェイン含有移動相を用いて装置点検をする際は、GLC Suction Filter 2を使用しない様ご注意ください。

12

SHIMADZU ERAS-0001-0009

ゴーストトラップ編

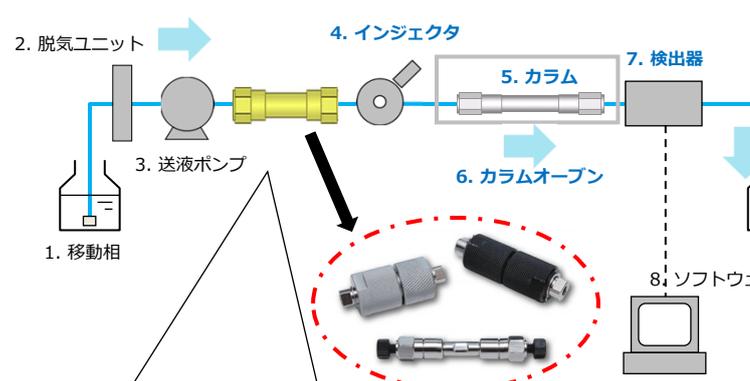
**HPLC使用時で「ゴーストピーク」や「移動相汚れ」
が気になる方へお勧めしたいのが
ゴーストトラップDS**



13

SHIMADZU ERAS-0001-0009

ゴーストピーク回避の消耗品選択 ～ゴーストトラップ



1. 移動相
2. 脱気ユニット
3. 送液ポンプ
4. インジェクタ
5. カラム
6. カラムオープン
7. 検出器
8. ソフトウェア

ゴーストトラップDSは主に「移動相」～「インジェクタ手前」までの汚れをトラップ除去します。
特に
✓ 有機溶媒の不純物除去
✓ 移動相容器～インジェクタ手前までの不純物除去に効果的です。

14

ERAS-0001-0009

SHIMADZU

ゴーストトラップ編

製薬分野では微量成分を検出できることが求められます

↓

**HPLC装置内でどこかに「汚れ」があると
微量成分をうまく検出できません**

何かの汚れが検出されてしまっている

適切に検出できているか判断できない

15

ERAS-0001-0009

SHIMADZU

ゴーストトラップ編

**ゴーストトラップを使用すれば、
微量な成分を適切に検出することが可能**

ゴーストトラップDS-HPなし

ゴーストトラップDS-HPあり

移動相条件

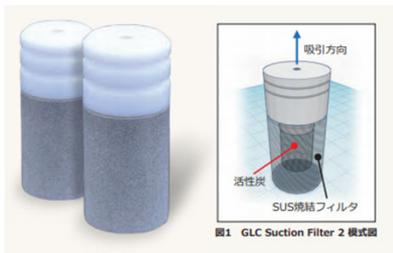
- 移動相A : 5 mMリン酸 (ナトリウム) 緩衝溶液 (pH2.6)
- 移動相B : 5 mMリン酸 (ナトリウム) 緩衝溶液 (pH2.6) / アセトニトリル = 1 / 3
- グラジエント : 0.1 % (0 min) → 20 % (10 min) → 60 % (15 min) → 95 % (20 min)
- 流速 : 0.5 mL/min

16

ゴーストピーク回避の消耗品選択

Point! 移動相からのゴーストピーク回避

GLC Suction Filter 2



ゴーストトラップDS

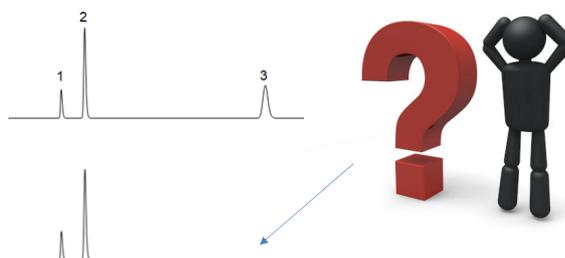


お求めの際は各代理店もしくは島津GLCにお声がけください。

賢い消耗品選択によるトラブル回避_2

トラブル回避の消耗品選択②

～吸着の回避～



SHIMADZU ERAS-0001-0009

表面処理（低吸着処理）が必要な理由

高感度検出／高選択性を有するLC/MS(/MS)は、今や不可欠な分離分析手段です。多くの分野で適用されてきています。

HPLC/UV

試料濃度
mg/mL～ μ g/mL

➔

LC/MS(/MS)

試料濃度
 μ g/mL～pg/mL

分析対象試料は低濃度化へ

低濃度試料であるがゆえに生じる試料の容器・器具への吸着は、定量結果の信頼性を損なう致命的な要因になりえます。

19

SHIMADZU ERAS-0001-0009

吸着回避の消耗品選択～バイアル

サンプルが一番長く接している容器はバイアルです
 バイアルにサンプルが吸着し、意図した濃度のサンプルが正確な量注入されないと、その後の分離、検出、データ解析をどれだけきちんと行っても正しい結果は得られません

➔ バイアル自体の選択も非常に重要

20

バイアル選択において考慮すべきファクター

- **キャップ&セプタム**
 - キャップタイプ
 - セプタム素材
 - セプタムスリット（切り込み）の有無
- **バイアル本体**
 - 価格
 - 形状
 - 材質
 - 色
 - **表面処理（低吸着処理）**

バイアル選択において、**価格はもちろん重要なファクター**ですが
しかし、バイアルの選択を誤ると、正しい結果が得られないだけでなく、トラブルシューティングに多くの時間を費やす可能性があります

「たかがバイアルで..」と思われがちですが、バイアルの選択は非常に重要です

21

吸着回避の消耗品選択

サンプルの吸着が気になる場合にお勧めしたいのが
TORAST™-H シリーズ

TORAST™-H Glass Vial



TORAST™-H Bio Vial



22

ERAS-0001-0009

SHIMADZU

低吸着ガラスバイアルのご紹介

TORAST™-H Glass Vial

特殊な処理（TORAST™-H Glass Technology）により、
バイアル成形時にガラス中の金属を除去

- ✓ 世界最高峰の低吸着性能 → 塩基性、酸性、中性全てに対して
- ✓ 機能性を追求したデザイン → 小容量バイアル・梱包
- ✓ 万全な品質管理

23

ERAS-0001-0009

SHIMADZU

ガラス製容器への吸着メカニズム

一般的なガラスバイアル

水溶液

シラン化処理ガラスバイアル
(一般的な低吸着処理)

水溶液

シラン化処理による低吸着処理では吸着を十分に抑制できていません。

➡ TORAST™-H Glass Vial では別のアプローチから低吸着性を実現
「金属」に着目

24

ERAS-0001-0009

SHIMADZU

更なる低吸着化に向けて ～ガラス中の金属に注目～

ガラスバイアルへの吸着は「金属」が悪さをする。

- ・バイアル原料のガラスは約70～75%がSiO₂で、その他は**金属の酸化物**
- ・ガラスに含有する金属は成形時の熱により、**ガラス表面へと移動する**傾向があり、一般的に**ガラスバイアルの表面は金属が多い**

ガラス内面 成形時の熱 シロキサン結合の切断 塩基性化合物 ガラス表面

金属 (M) は近接する Si-O-Si (シロキサン) 結合を切断し、**Si-O-M (金属シラノラート)** になる。Si-O-M は Si-O-H (シラノール) に比べ、**容易にイオン化**し Si-O⁻ となるため、試料中の塩基性化合物との**イオンの吸着**を引き起こしていると推測される。

25

ERAS-0001-0009

SHIMADZU

更なる低吸着化に向けて ガラス製容器吸着抑制のための表面処理②

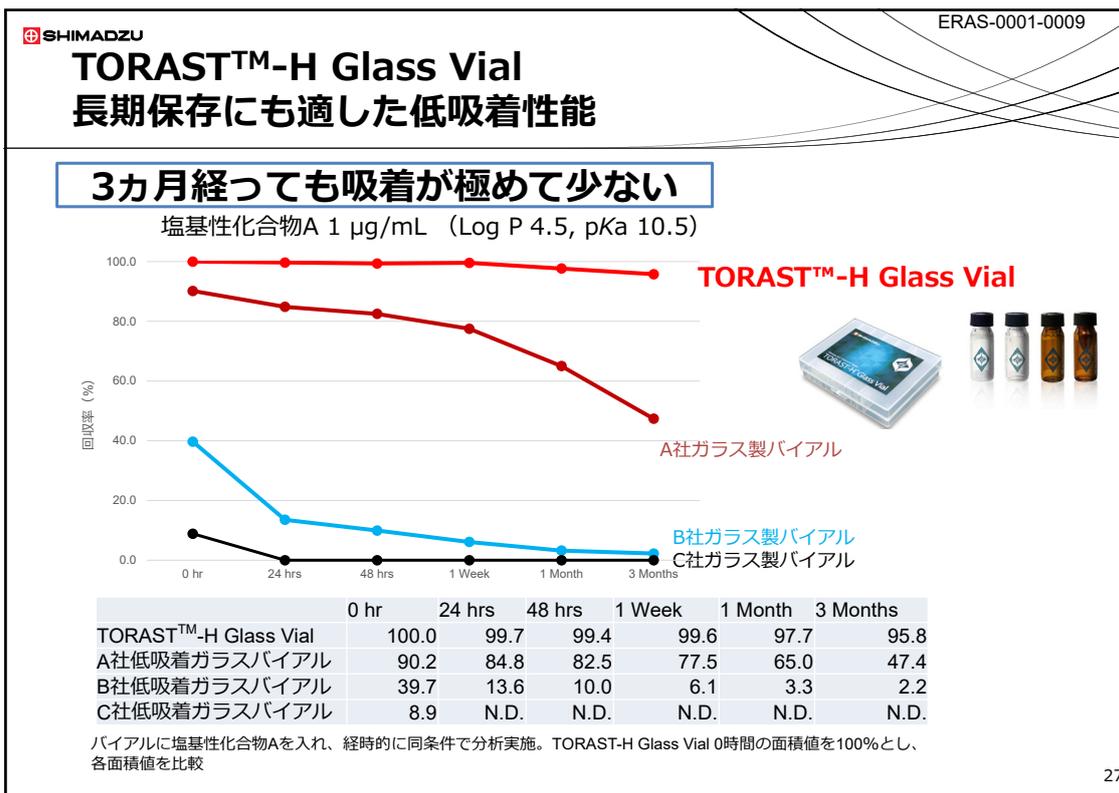
特殊な処理 (TORAST™-H Glass Technology) により、
 バイアル成形時にガラス中の金属を除去することで
 高い吸着抑制効果を維持できる世界最高峰の低吸着バイアルを実現

TORAST™-H Glass Technology を用いて製造

TORAST™-H Glass Vial

一般的なガラスバイアル

26



SHIMADZU ERAS-0001-0009

低吸着PPバイアルのご紹介

TORAST™-H Bio Vial

非イオン性の親水性高分子ポリマーをPP表面に特殊な処理で固定化

TORAST™-H Bio Vial (低吸着バイアル)

TORAST™-H シリーズ
見えなかったものが見えてくる

- ✓ PPバイアルなのに高疎水性サンプルの吸着をも防ぐ
- ✓ 他TORAST™-H PP製品と組み合わせて使用することで効果増大!

28

ERAS-0001-0009

SHIMADZU

樹脂製容器への吸着メカニズム & 吸着抑制に向けた表面処理

主な吸着メカニズム：
疎水性の樹脂表面と有機化合物の疎水的部分との疎水的吸着

試料との接触部を親水化することで低吸着化

有機化合物

⇕ 疎水的吸着 ⇕

樹脂表面

表面処理

→

有機化合物

⇕ 疎水的吸着 ✕ ⇕

樹脂表面

← 固定化

親水性高分子ポリマー (非イオン性)

TORAST™-H Bio Vial



29

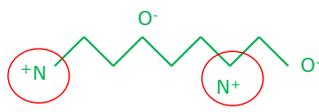
ERAS-0001-0009

SHIMADZU

樹脂製容器への吸着抑制 ペプチドの分析

親水的吸着と疎水的吸着のどちらも抑制された樹脂製バイアルが非常に望まれる。

✓ ペプチドの分析：PPなどの樹脂製バイアルがよく使用される

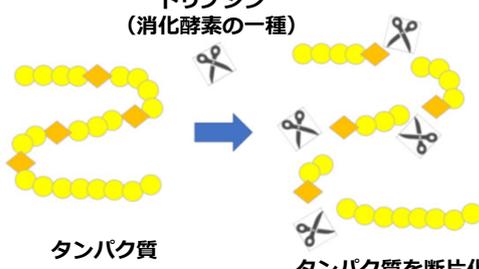


ペプチドは両性化合物で、塩基性部位のガラスへの吸着が考えられるため

ただし、ペプチドも様々
疎水性の高いペプチドでは逆に樹脂への吸着の可能性も考えられる

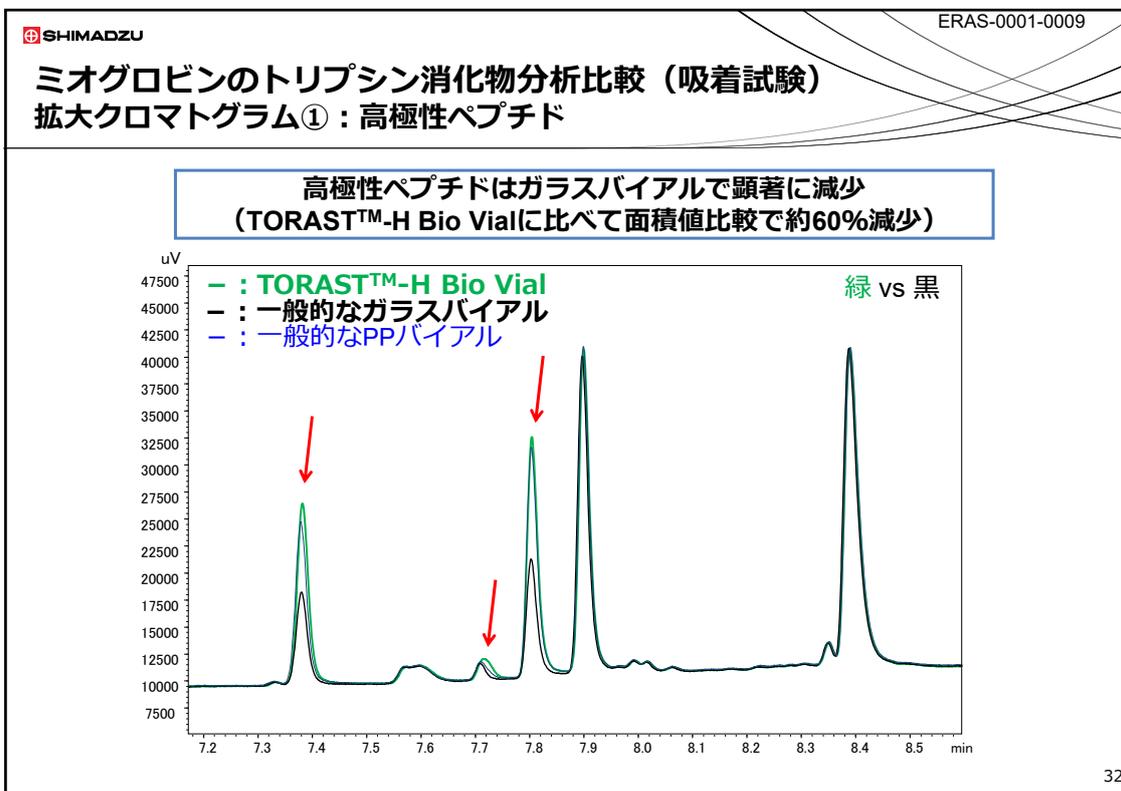
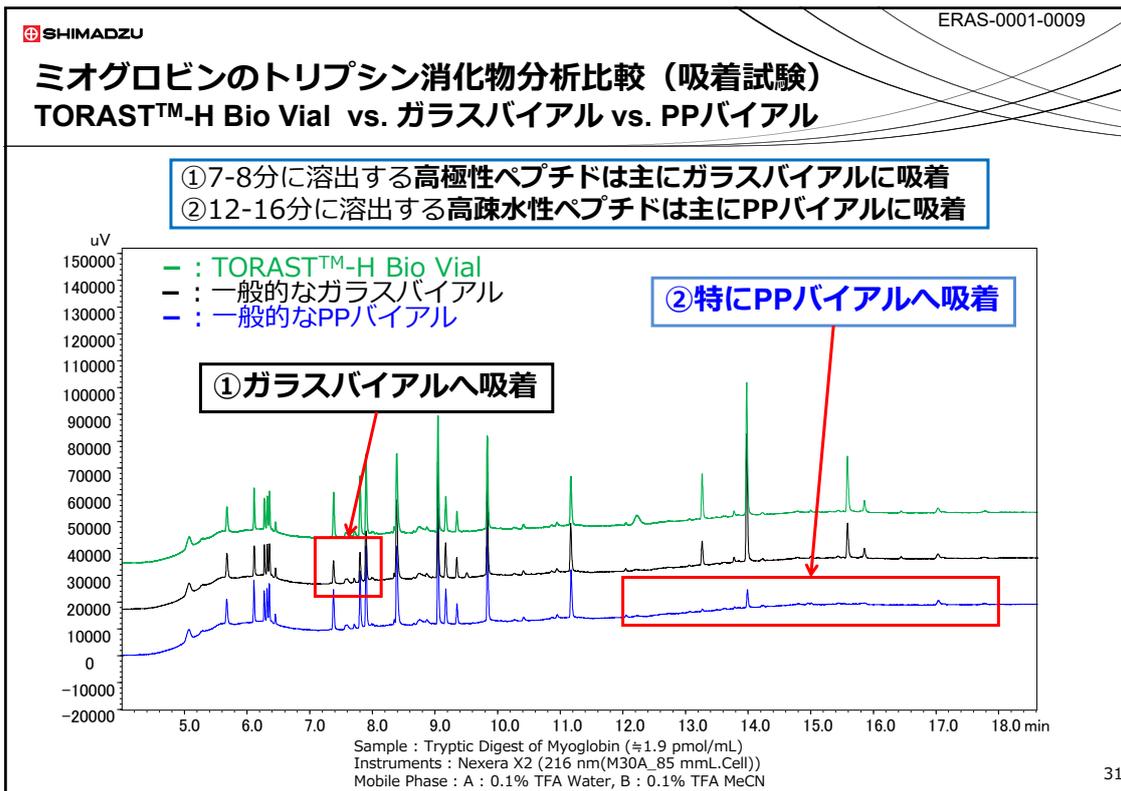
抗体医薬品などのタンパク質性医薬品は、特性解析や品質試験の一環として、トリプシンなどの消化酵素で断片化した**ペプチド混合物 (高極性～高疎水性まで様々なペプチド)**をLCで分析

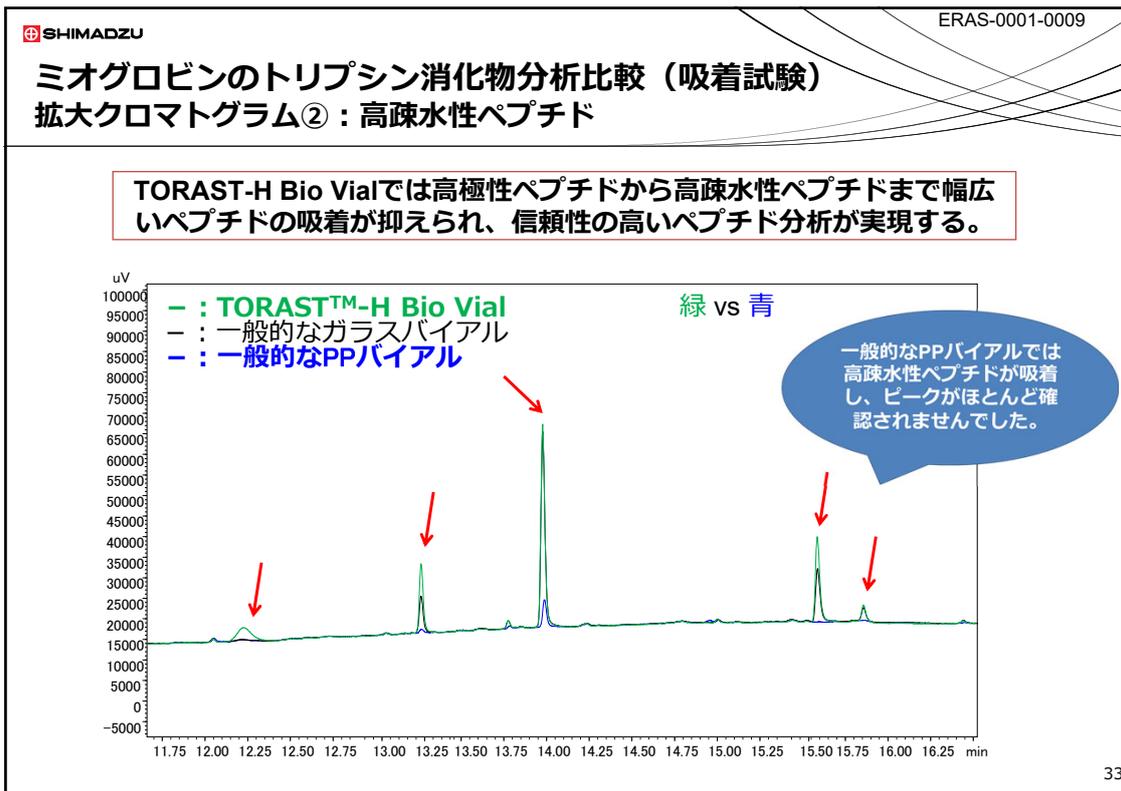
トリプシン (消化酵素の一種)



タンパク質 → タンパク質を断片化 → ペプチド

30





SHIMADZU ERAS-0001-0009

吸着回避の消耗品選択

Point! サンプルのバイアルへの吸着回避

化合物全般に対する低吸着性能

TORAST™-H Glass Vial

特にペプチド分析に

TORAST™-H Bio Vial

TORAST™-H Ultrafilter Device (低吸着マイクロフィルター)
TORAST™-H シリウス (低吸着インキュベーター)
TORAST™-H Bio Vial (低吸着バイアル)
TORAST™-H 96well 500 RU (低吸着96ウェルプレート)

見えなかったのが見えてくる
TORAST™-H シリーズ

お求めの際は各代理店もしくは島津GLCにお声がけください。

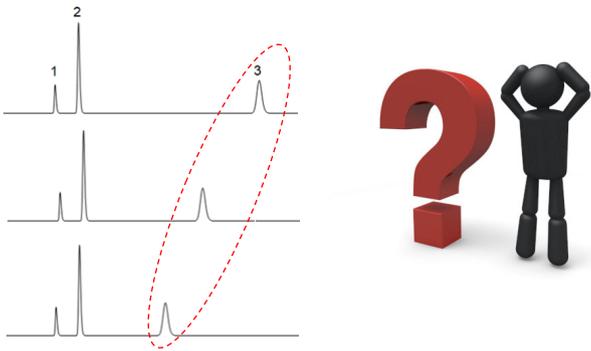
34

ERAS-0001-0009

SHIMADZU

賢い消耗品選択によるトラブル回避_3

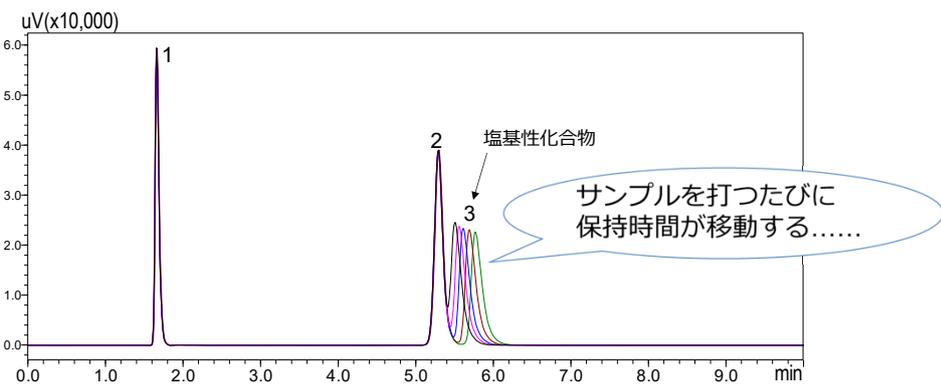
トラブル回避の消耗品選択③ ～塩基性化合物の保持時間変動～



ERAS-0001-0009

SHIMADZU

LC分析時にこんなことはありませんか？



塩基性化合物

サンプルを打った時に
保持時間が移動する.....

<p>Condition</p> <p>LC System : Nexera XR, LC-20AD</p> <p>Column size : 150 mmL. × 4.6 mmI.D.</p> <p>Mobile Phase : CH3CN / 0.1% HCOOH aq. =30/70</p> <p>Flow rate : 1.0 mL/min</p> <p>Temperature : 40°C</p> <p>Inj. Volume : 1 µL</p> <p>Sample : 1. Uracil, 2. Amitriptyline, 3. Benzoic acid</p> <p>Detection : 254 nm (Conventional Cell)</p>	<p>Methods</p> <p>1. ACN/Water =30/70でカラム平衡化 (30分)</p> <p>2. ACN/Water =30/70でブランク3回 (各10分)</p> <p>3. 実サンプル5回 (各10分)</p> <p>Analyte</p> <p>1. Uracil 2. Benzoic acid 3. Amitriptyline</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <chem>O=C1NC=CC(=O)N1</chem>  </div> <div style="text-align: center;"> <chem>O=C(O)c1ccccc1</chem>  </div> <div style="text-align: center;"> <chem>CN1C=NC2=C1C=CC=C2C3=CC=CC=C3</chem>  </div> </div>
---	--

36

SHIMADZU ERAS-0001-0009

保持時間変動 トラブル原因として考えられること

移動相条件のせい？
それとも試料溶媒？

ポンプの故障？？

カラムの劣化？

脱気の問題？
デガッサーの故障？

装置の故障までを疑いだすと、とても面倒なことに.....

37

SHIMADZU ERAS-0001-0009

一般的な保持時間変動の原因

- 同一カラム、同一装置、同一移動相で分析を行っていて、同じ日の一連の分析で保持時間が変動
 - 保持時間がランダムに変動：主に装置や移動相などの問題
 - 移動相脱気不足
 - 移動相pHが不適當
 - 不適當なバッファーを使用
 - ポンプの脈流、ポンプの故障
 - **保持時間が時間と共に一定方向に変化：主にカラムの問題**
 - **カラム平衡化不足**
 - カラム劣化
 - 水混合比の高い移動相で逆相カラム使用していて、突然保持が悪くなった
 - Dewetting*

*極性化合物分析のために逆相で水混合比の高い移動相を用いて分析している際に、一旦送液を停止すると、細孔表面は疎水性であるため、細孔内から移動相が排除され、そのまま送液を再開しても移動相が細孔に入らず、化合物が保持されない現象

38

ERAS-0001-0009

SHIMADZU

保持時間変動回避の消耗品選択

化合物の保持時間変動に困った時お勧めしたいLCカラム

Shim-pack Arata™ C18



➔ 素早く確実なカラム平衡化で
分析スループットの向上に貢献します。

39

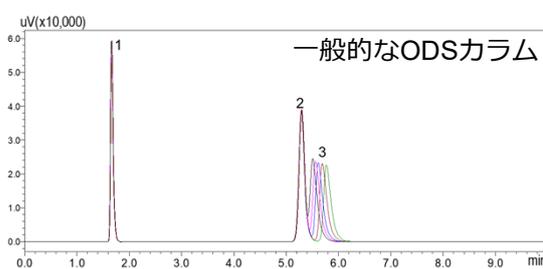
ERAS-0001-0009

SHIMADZU

Shim-pack Arata™ C18 を使えば…

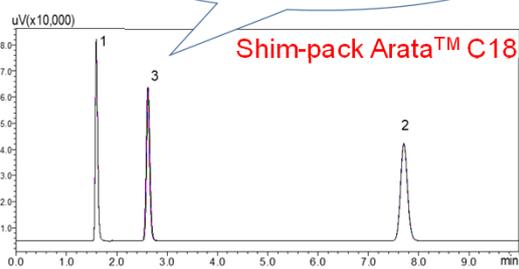
先ほど保持時間が動いていたものが……

一般的なODSカラム



初めからピシッと決まる!

Shim-pack Arata™ C18



Condition

LC System : Nexera XR, LC-20AD

Column size : 150 mmL, $\times 4.6$ mmI.D.

Mobile Phase : CH₃CN / 0.1% HCOOH aq. =30/70

Flow rate : 1.0 mL/min

Temperature : 40°C

Inj. Volume : 1 μ L

Sample : 1. Uracil, 2. Amitriptyline, 3. Benzoic acid

Detection : 254 nm (Conventional Cell)

Methods

1. ACN/Water =30/70でカラム平衡化 (30分)

2. ACN/Water =30/70でブランク3回 (各10分)

3. 実サンプル5回 (各10分)

Analyte

1. Uracil 2. Benzoic acid 3. Amitriptyline

O=C1NC=CC(=O)N1
Uracil

O=C(O)c1ccccc1
Benzoic acid

CN1C=CC2=C(C=C1)C(=C3C=CC=CC3N)C2
Amitriptyline

40

SHIMADZU ERAS-0001-0009

塩基性化合物の保持時間変動：回避のための消耗品選択 ～Shim-pack Arata™ C18カラム

独自の官能基結合やエンドキャッピングにより、希薄有機酸移動相条件でも塩基性化合物の良好なピーク形状と安定した保持を実現する

➡ **保持時間・ピーク形状で問題が起きた時に
このカラムを1本持つておけば、原因を早く特定できます**



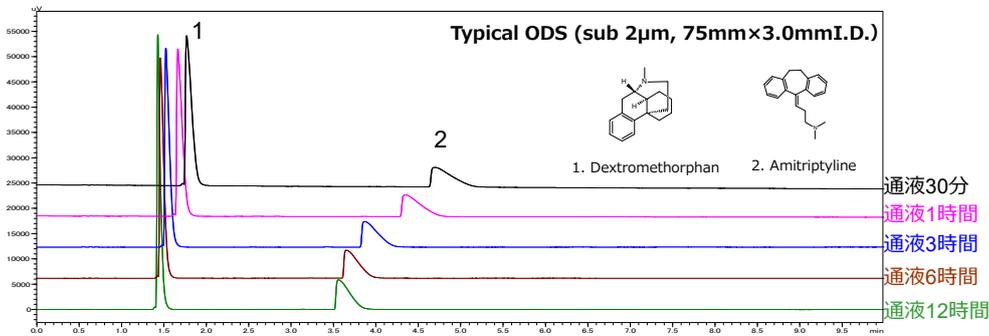
41

SHIMADZU ERAS-0001-0009

希薄有機酸移動相条件での塩基性化合物の保持時間変動 一般的なODSカラム

一般的なODSカラムでは、0.1%ギ酸移動相条件で塩基性化合物のピーク形状が悪く、長時間安定していない

➡ **分析効率が悪い
カラムが原因とわかっていないと余計なストレスに**



Typical ODS (sub 2 μ m, 75mm \times 3.0mm I.D.)

1. Dextromethorphan 2. Amitriptyline

通液30分
通液1時間
通液3時間
通液6時間
通液12時間

Mobile Phase : 0.1% HCOOH in H₂O / CH₂CN = 70/30
Flow rate: 0.4 mL/min
Column Temp.: 40C
Inj. Vol: 2 μ L

*新品カラム(封入溶媒: アセトニトリル)を使用し、コンディショニング無しにそのまま移動相を流し始め、一定時間毎に、分析実施。

42

ERAS-0001-0009

SHIMADZU

希薄有機酸移動相条件での塩基性化合物の安定した保持 Shim-pack Arata™ C18

Shim-pack Arata C18カラムでは、0.1%ギ酸移動相条件でも迅速な平衡化&塩基性化合物の卓越したピーク形状

➤ 分析効率が良い・分析スループットの向上に
➤ 信頼感のある試験結果に

Shim-pack Arata C18 (2.2μm, 75mm×3.0mmI.D.)

CN1CC[C@H]2C[C@@H]1Cc3ccccc23
 1. Dextromethorphan

CN1Cc2ccccc2C1Cc3ccccc3
 2. Amitriptyline

通液30分
通液1時間
通液3時間
通液6時間
通液12時間

Mobile Phase : 0.1% HCOOH in H_2O / CH_2CN = 70/30
Flow rate: 0.4 mL/min
Column Temp.: 40C
Inj. Vol: 2 μL

*新品カラム (封入溶媒: アセトニトリル) を使用し、コンディショニング無しにそのまま移動相を流し始め、一定時間毎に、分析実施。

43

ERAS-0001-0009

SHIMADZU

実サンプルでの例 医薬品純度試験

**医薬品の品質管理の質を左右するキーポイントとなる
医薬品の原薬および製剤中の不純物管理において、高い信頼性を確保した試験法を提供**

**0.1%リン酸移動相条件における
塩基性医薬品および不純物の保持挙動**

Shim-pack Arata™ C18カラムでは
比類ないピーク形状と安定した保持
で、確実な定性・定量を実現

Mobile Phase : 0.1% H_3PO_4 in H_2O / CH_2CN
= 76 / 24 (Shim-pack Arata C18)
= 70 / 30 (Typical ODS)

Flow Rate : 0.4 mL/min
Detection : 210 nm
Temperature : 40 °C
Inj. volume : 1 μL
Sample : Amitriptyline

Shim-pack Arata™ C18

Typical ODS

通液5時間
通液12時間

44

ERAS-0001-0009

SHIMADZU

保持時間変動回避の消耗品選択

Point! 塩基性化合物の保持時間変動回避

Shim-pack Arata™ C18



原因を特定する用に1本もっておくのもオススメです。

お求めの際は各代理店もしくは島津GLCにお声がけください。

45

ERAS-0001-0009

SHIMADZU

トラブル回避の消耗品_まとめ

お求めの際は各代理店もしくは島津GLCにお声がけください

GLC Suction Filter 2 & ゴーストトラップDS	TORAST™-H Series	Shim-pack ARATA™ C18
		
↓	↓	↓
ゴーストピーク回避	吸着回避	塩基性化合物保持時間 の変動回避

46

『賢い消耗品の選択で
ストレスの少ないLC分析へ』

CoreFocus