

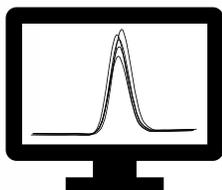
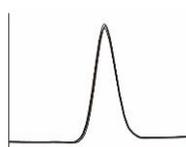
# HPLCのトラブル例とその解決法

## 1\_ピーク面積の変動

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

## 分析時に異変を感じたら

Peak Area %RSD(n=6) = 1%?



## トラブル解決のための基本方針

### ● 消去法

- 明らかに可能性のない要素を原因から除き、残ったものから原因を探る  
「全ての不可能を消去して、最後に残ったものが如何に奇妙なことであっても、それが真実になる」 - シャーロック・ホームズ

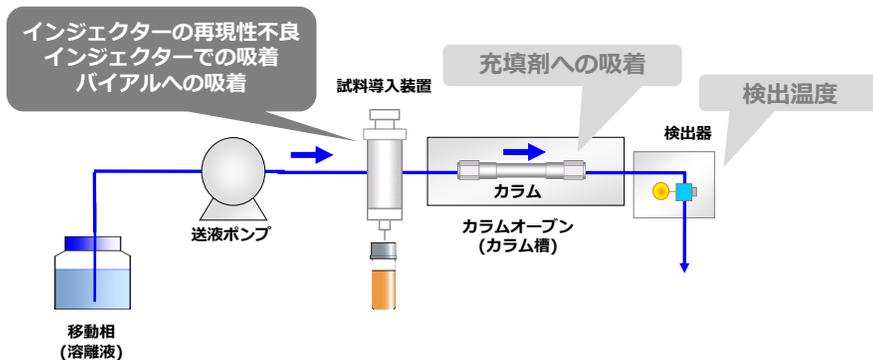
### ● 検討する順番

- 原因である可能性が高そうな事柄
- 簡単に実行でき、費用をかけずにできる事柄

### ● 可能性が大きく切り分けられる事柄

- ひとつの検証で複数の可能性を切り捨てることのできるようなこと など

## ピーク面積の変動 … 最初にやること



### ● 試料が再現性良く注入されていることを確認

- インジェクター関係を重点的に

## ニードルでの吸着

### ● 確認

- 同一条件での繰り返し注入を行って評価 (右表)
  - オートサンプラーのカタログスペックとの比較

### ● 対策

- ニードルのリンス
- リンス液の入れ替え、気泡抜き
- 吸引速度、ニードル深さなどの設定値の確認
- インジェクターの点検とメンテナンス

	リンスなし	リンスあり
1st	43031	48228
2nd	42935	48293
3rd	43637	48434
4th	43864	48060
5th	43679	47951
Average	43429	48193
%RSD	<b>0.96</b>	<b>0.40</b>

### 塩酸チアミンのピーク面積再現性試験例

試料溶媒 : 水  
 リンス液 : 100 mmol/L過塩素酸水溶液  
 試料濃度 : 10 nmol/mL  
 注入量 : 10  $\mu$ L

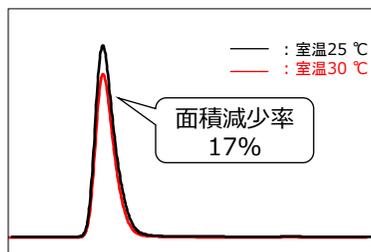
## 検出温度の変動

### ● 確認

- 温調機能付き検出器なら、セル温度をモニターする
  - 示差屈折率検出器、電気伝導度検出器など
  - **吸光度検出器、蛍光検出器**でも温調機能付きの製品が市販されている

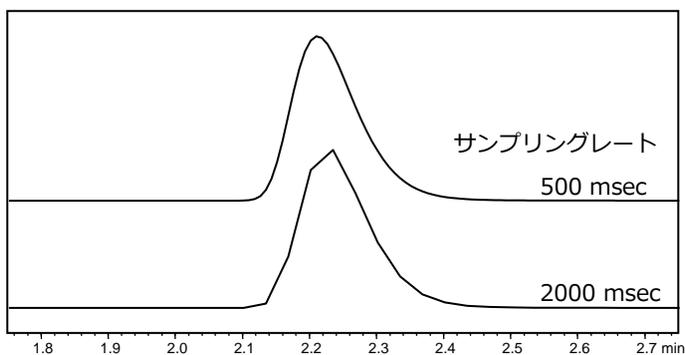
### ● 対策

- 室温の一定化
  - 特に、蛍光検出器は、一般に温度が高いほど感度が低下する



アクリジンの蛍光検出におけるセル温度の影響

## データ処理のサンプリングレートの影響 (1)

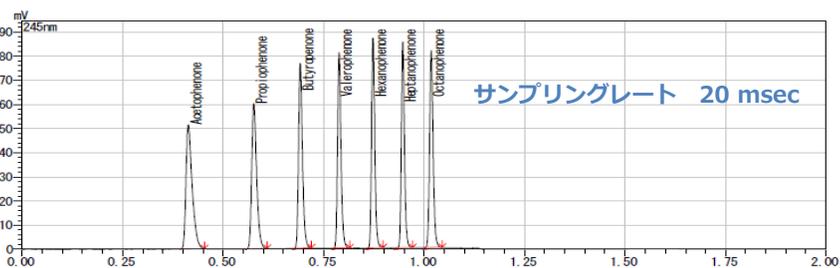
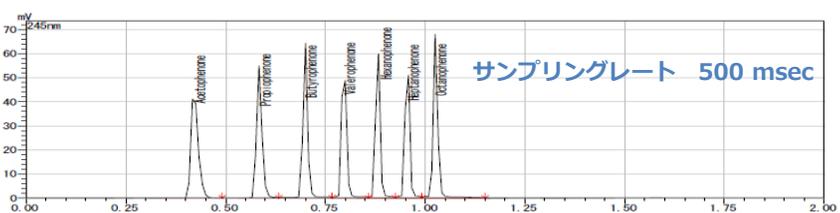


### データファイルに記録される信号間隔

ピーク形状の変化

→ 保持時間・ピーク面積・高さへ影響

## データ処理のサンプリングレートの影響 (2)



## データ処理のサンプリングレートの影響 (3)

- 特に超高速分析ではサンプリングレートが遅いと再現性が悪くなる。
- 最もシャープなピークで1ピーク30ポイント程度を確保できるスピードに設定。

サンプリングレートと保持時間, 面積の再現性 (%RSD, n=6)

		アセト フェノン	プロピル フェノン	ブチル フェノン	バレロ フェノン	ヘキサノ フェノン	ヘプタノ フェノン	オクタノ フェノン
保持時間	500 msec	0.89	0.64	0.57	0.72	0.62	0.62	0.49
	20 msec	0.20	0.13	0.07	0.10	0.09	0.08	0.12
面積	500 msec	0.8	0.21	1.00	1.21	0.94	0.57	0.27
	20 msec	0.21	0.14	0.19	0.09	0.14	0.16	0.20

## 普段から心がけること

- **全般**
  - 定期的にシステム適合性試験を実施
    - 標準液を5~6回繰り返し分析
    - 保持時間、ピーク面積、理論段数、分離度などを記録
- **HPLC装置、カラム**
  - 使用記録をつける
    - 装置については使用者、使用時間、消耗部品の交換記録など
    - カラムについては、背圧の記録も必要
  - 定期点検
- **実験室環境**
  - できるだけ室温変化の少ない環境を整備する
    - 冷暖房の風がHPLC装置に直接あたらないように

## ご清聴ありがとうございました

動画の内容は掲載時点の情報であり、最新のものと異なる場合があります。

本発表内に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。  
なお、本発表中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。