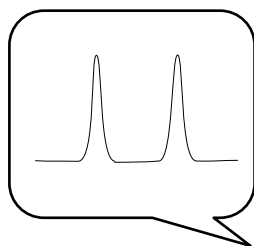
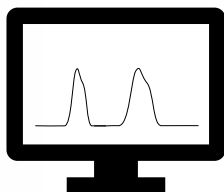


HPLCのトラブル例とその解決法

2_ピーク形状の劣化

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



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

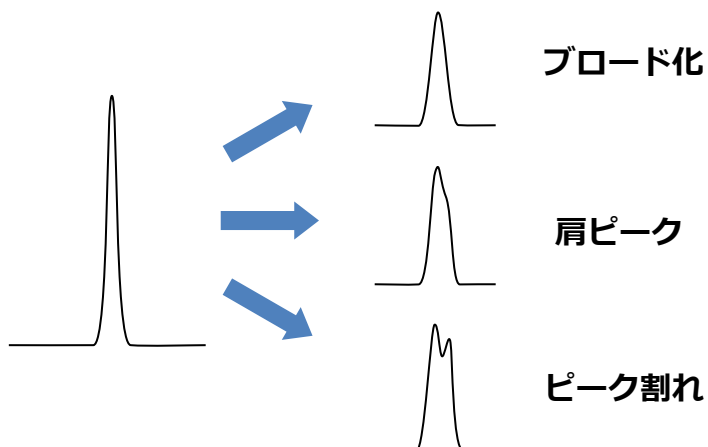
● 検討する順番

- 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

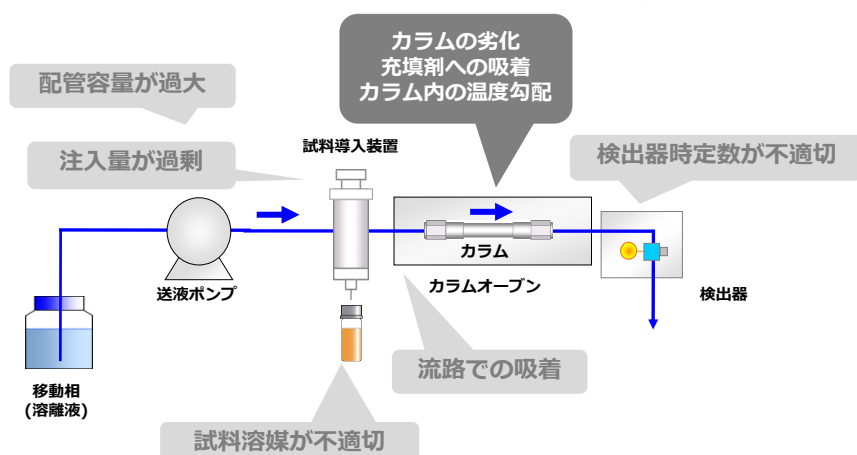
● 可能性が大きく切り分けられる事柄

- 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

定型的なピーク形状の異常



ピーク形状の劣化 … 最初にやること



● 分析カラム (ガードカラム) の性能確認

- カラム以外にも落とし穴があるので要注意

LAAN-E-LC220

5

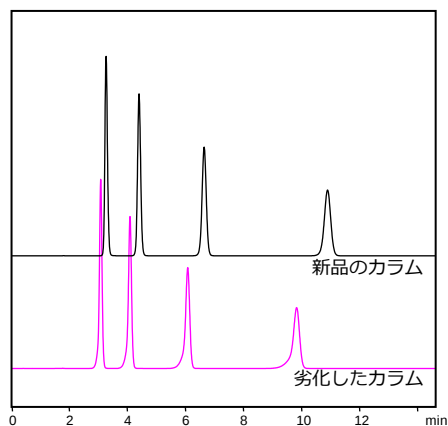
カラム・ガードカラムの劣化

● 原因

- 固定相の劣化 (固定相官能基の脱離)
- 充填状態の変化 (隙間の発生)
- 夾雑成分の吸着

● 対策

- カラム添付の性能検査データと同じ分析条件での性能確認
- ガードカラム使用時は、それを外して再分析
- 取扱説明書に従って洗浄、新しいカラムに交換



LAAN-E-LC220

6

試料溶媒の影響

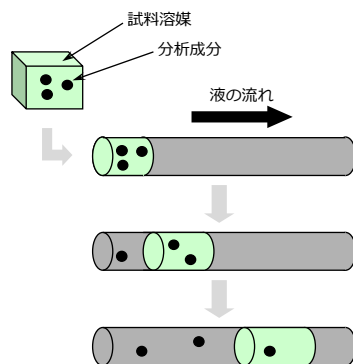
● 原因

- 試料溶媒の方が移動相よりも溶出力が強い場合、右図のように試料バンドが広がる
- 試料バンドが拡散しないまま充填剤と接触するため、試料溶媒が、別種の移動相であるかのように振舞う

● 対策

- 移動相組成に近い試料溶媒の選択
- 注入量を減らす

注) 超高速LC (UHPLC) ではオートサンブラーからカラムまでの配管が細いため、試料溶媒の影響を受けやすい



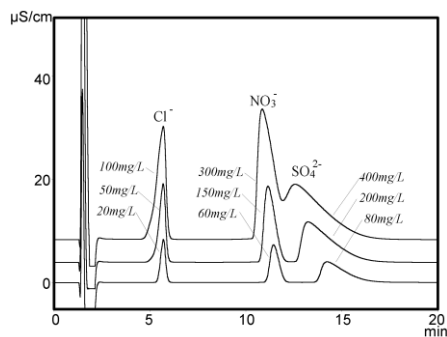
試料負荷量の影響

● 原因

- 大量に注入された成分を固定相が支えきれず、ピークが変形する
 - 高濃度な成分が固定相を占領し、低濃度の成分の保持に影響を及ぼすこともある

● 対策

- 試料負荷量を減らす
 - 注入体積を減らす
 - 試料濃度を減らす
- 保持容量の大きいカラムへの変更



試料負荷量の増大によるピーク変形の例
(無機イオン分析)

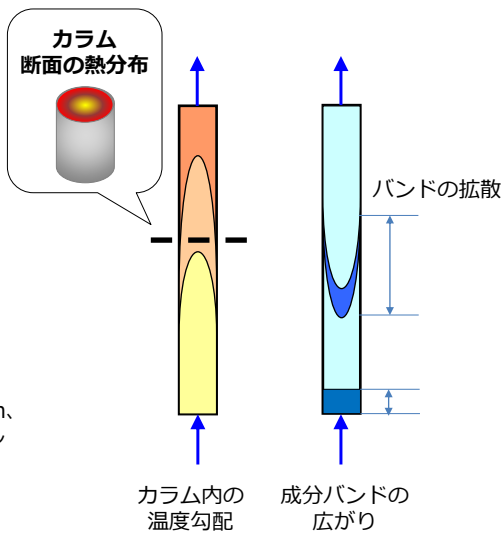
カラム内の温度勾配 (1)

● 原因

- カラム温度と室温に差がある場合、移動相の流入によりカラム入口が冷やされる
- オープンの熱はカラム外側から中心に向けて伝播する
- 移動相の線速度が高い場合に起こりやすい

● 対策

- プレヒート用配管の使用
 - オープン内のカラム入口側に長めの配管（ステンレス製配管、60 cm程度）を装着
 - 内径は通常システムでは0.3 mm、超高速システムでは0.1 mmとして、移動相を加温

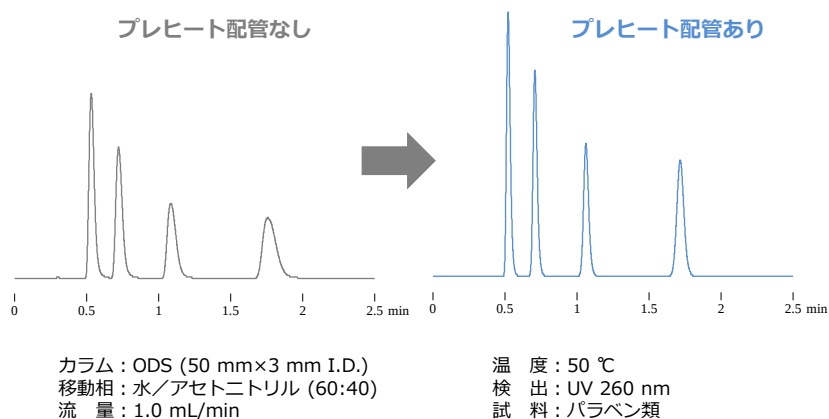


LAAN-E-LC220

9

カラム内の温度勾配 (2)

● プレヒート配管の効果

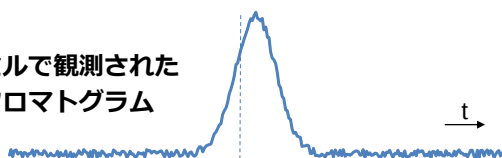


LAAN-E-LC220

10

検出器レスポンス（時定数）

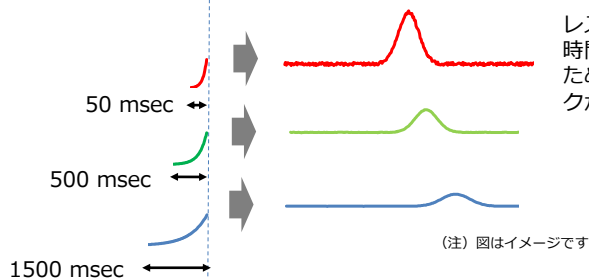
セルで観測された
クロマトグラム



検出器のデジタルフィルター
機能により、検出器信号に重
み付け平均化処理を行う

レスポンス（時定数）設定
と信号の平均化区間

検出器出力クロマトグラム



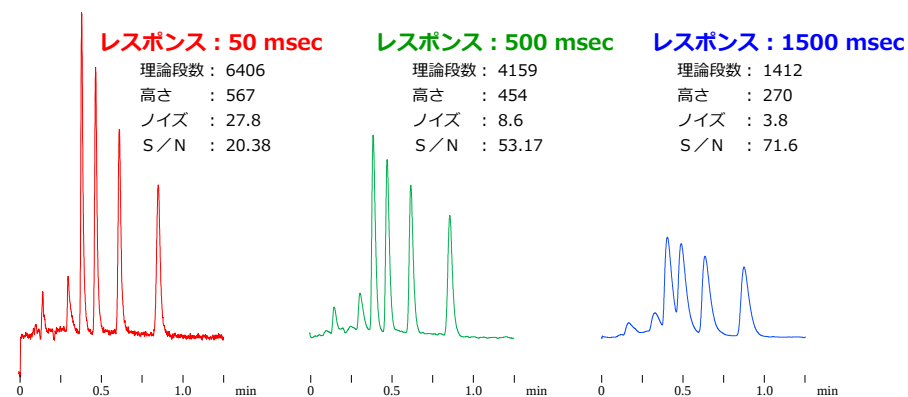
レスポンスが大きいほど長い
時間区間の信号を平均化する
ため、ノイズが低下し、ピー
クが広がる

LAAN-E-LC220

11

検出器レスポンス（時定数）の影響

- レスポンス（時定数）の違いによるピーク形状の比較



カラム : Shim-pack XR-ODS (50 mm×3.0 mm I.D., 2.2 μm) 温 度 : 25 °C
移動相 : 水/アセトニトリル (45:55) 検 出 : UV 260 nm
流 量 : 1.0 mL/min 試 料 : パラベン類

LAAN-E-LC220

12

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。