

Technical Report

オートサンプラ SIL-40シリーズの自動前処理機能（共注入）を活用したピーク形状の改善

Improving Peak Shape Using the Automatic Pretreatment Function (Co-Injection) in the SIL-40 Series Autosamplers

秋田 知志¹、内方 崇人¹、保永 研壱¹、寺田 英敏¹、服部 考成¹、松本 恵子¹

Abstract:

化合物の溶解性に応じて選択した試料溶媒が移動相より溶出力が大きい場合、クロマトグラムが悪影響を受けることがあります。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では溶出時間の早い成分のピーク形状が悪化し、定量結果の信頼性も損なわれます。ここではNexera™シリーズのオートサンプラ（SIL-40シリーズ）に標準搭載の自動前処理機能の一つである共注入機能を用い、試料と溶出力の弱い溶媒を同時に注入することにより、試料溶媒の影響を低減してピーク形状を改善した事例をご紹介します。共注入機能の設定は、ワークステーションLabSolutions™を用い、簡単に行うことができます。

Keywords: 自動前処理機能、共注入

1. 共注入機能とは

Nexeraシリーズのオートサンプラ（SIL-40シリーズ）は、通常の注入動作の他、サンプル希釈や試薬添加など、多様な自動前処理機能を標準搭載しています。「共注入」機能はこのうちのひとつで、指定したバイアルから指定量の試薬や溶媒を試料と共に注入したり、ニードルの中でミキシングしたりすることが可能です。

この機能を用いることで、指定したバイアルから指定量の試薬（溶媒）を試料と共に注入することができます（Fig. 1）。

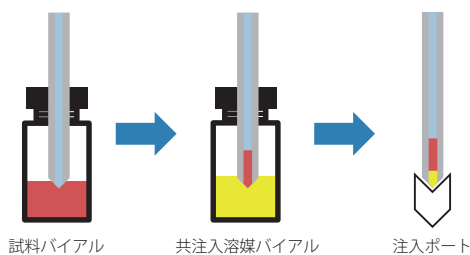


Fig. 1 注入動作イメージ

また、Fig. 3に示したように複数のバイアルから任意の量を連続で吸引し、共注入を行うこともできます。

共注入の他、テンプレートで用意した以外の前処理動作もプログラムを変更して実行することができます。



Fig. 2 共注入機能の設定

2. 共注入機能の設定方法

共注入などの標準的な自動前処理機能はLabSolutionsのテンプレートを用いて簡単に設定でき、メソッドファイルに保存されます（Fig. 2）。

設定するパラメータは、下記の項目です。

- ① 共注入試薬のトレイ及びバイアルの番号
- ② 共注入試薬の注入量
- ③ 注入のタイミング（サンプルの前/後/前後）
- ④ ミキシングの回数、容量（ニードル内での攪拌回数、容量）
- ⑤ 待ち時間（ミキシング後、注入までの待ち時間）
- ⑥ 試料・共注入試薬吸引前後に挟むエアギャップ量

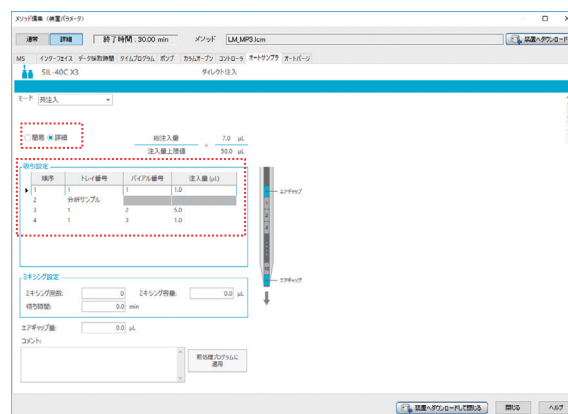


Fig. 3 共注入機能の設定（詳細）

3. 共注入によるピーク形状の改善例

脂質メディエーター及び関連物質の一斉分析は主としてバイオマーカー探索や疾患研究の分野で行われています。脂質分析では有機溶媒比率の高い試料溶媒が用いられるため、逆相クロマトグラフィーでは保持の弱い成分はピーク形状が崩れることがあります。

ここではメタノール100%に溶解した混合標準溶液を使って、共注入機能を用いたピーク形状の改善事例をご紹介します。

分析条件をTable1に、Fig.4に水の共注入の効果を示します。共注入によりピーク形状が改善され、シンメトリー係数(S)が向上しました。特に、保持時間の早い成分について顕著に効果が見られました。

Table 1 分析条件

カラム	: C8 column (2.1 mm I.D. x 150 mm L, 2.6 μm)
移動相A	: 0.1% ギ酸水溶液
移動相B	: アセトニトリル
リンス液	: アセトニトリル
その他の条件	: 島津「LC/MS/MSメソッドパッケージ 脂質メディエーター」準拠
サンプル	: 脂質メディエーターおよび関連化合物標準試料 (196成分混合、メタノール溶液)
共注入溶媒	: 水 (5, 10, 15 μL)

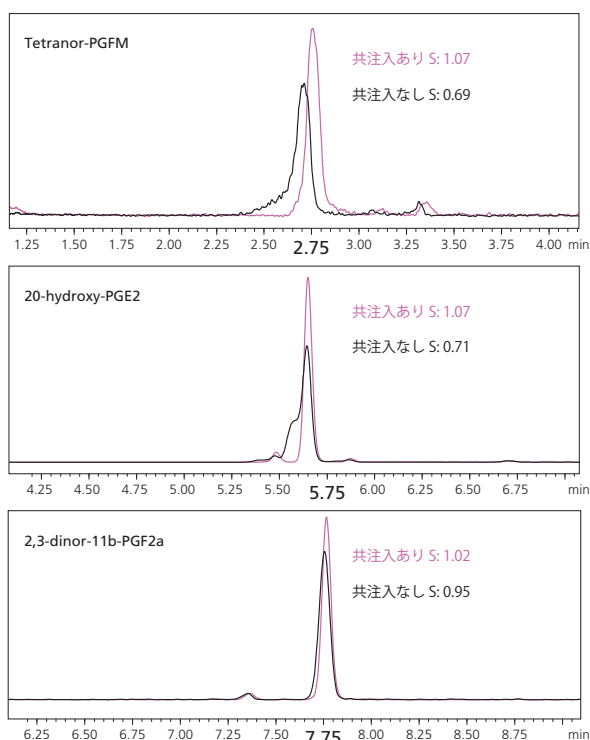


Fig. 4 各種脂質のMRMクロマトグラム (共注入無し、共注入有り (15 μL)) (シンメトリー係数sはUSP法で算出)

NexeraおよびLabSolutionsは、株式会社島津製作所の商標です。

共注入溶媒である水の注入量とピーク形状改善効果の関係Fig. 5に示します。共注入した水の量が大きいほど、両化合物ピークのリーディングが改善して、両成分の分離度 (Rs) が向上しました。

共注入溶媒の種類や量の最適化で、ピーク形状や分離度の向上が期待できます。

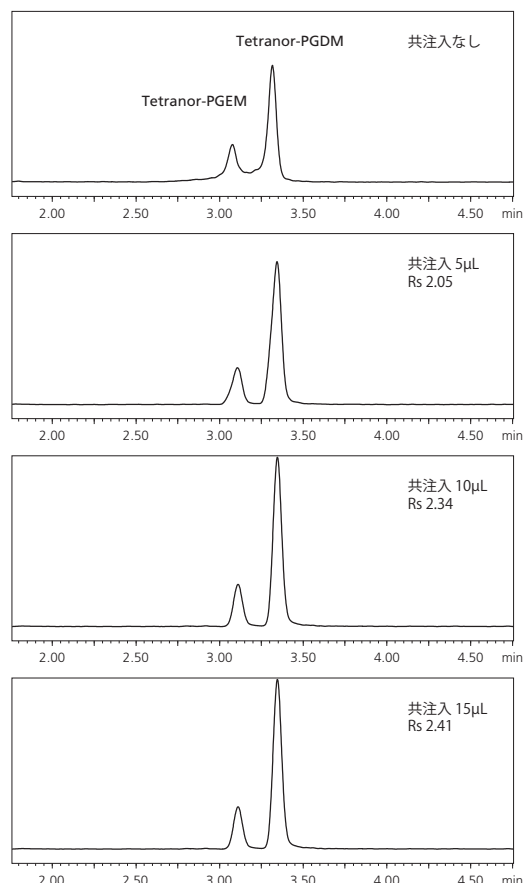


Fig. 5 脂質異性体間分離比較 (共注入無し、共注入有り (5, 10, 15 μL)) (分離度RsはUSP法で算出)

4. まとめ

- SIL-40シリーズは、オートサンプラ内で自動的に「共注入」、「希釈」などを行う自動前処理機能を標準搭載しています。
- 共注入機能を用いて試料と共注入溶媒を同時に注入することで、逆相クロマトグラフィーにおいて試料溶媒の有機溶媒比率が高い場合に、溶出時間の早いピークの形状を改善し、定量の信頼性を向上します。