

バイアルサンプル前処理装置 **i-Prep** を使用し、トルエン、アセトニトリル、およびメタノールの3試料について、それぞれの試料を室温と加熱時にクエンチサンプリング。クエンチ後バイアルの試料重量と濃度を測定することにより、吸引量の定量性能を確認した。定量確認にはメラー・トレード製電子天秤とアジレント・テクノロジー製 HPLC [1100 Series] を使用した。

試料

(参考) 精製水 (重量測定のみ)

I. トルエン : 1.5mL (原液)

II. アセトニトリル : 1.5mL (アセトニトリル 5mL中に指標物質としてカフェイン 5mgを溶解させ、1.5mLを精秤採取した)

III. メタノール : 1.5mL (メタノール 5mL中に指標物質としてパラセタモール 5mgを溶解させ、1.5mLを精秤採取した)

* クエンチ液 : I にはエタノール, II および III には精製水を使用。

** カフェイン(関東化学), パラセタモール(東京化成工業)

(参考) 精製水 / サンプリング重量確認 n=5 (各温度)

サンプル	温度	重量	10 μ L(1)	10 μ L(2)	10 μ L(3)	10 μ L(4)	10 μ L(5)	avg.
水	室温	重量 / g	0.0099	0.0101	0.0098	0.0096	0.0099	0.0099
	60 $^{\circ}$ C	重量 / g	0.0102	0.0102	0.0101	0.0101	0.0101	0.0101
	90 $^{\circ}$ C	重量 / g	0.0102	0.0099	0.0098	0.0101	0.0099	0.0100

I. トルエン (原液) / サンプリング重量とHPLCで得たピーク面積 n=5 (各温度)

サンプル I	温度	重量 / ピーク面積	10 μ L(1)	10 μ L(2)	10 μ L(3)	10 μ L(4)	10 μ L(5)	avg.
トルエン	室温	重量 / g	0.0069	0.0068	0.0068	0.0066	0.0065	0.0067
		HPLC ピーク面積	611.6	606.9	595.6	588.5	589.1	598.3
	80 $^{\circ}$ C	重量 / g	0.0075	0.0074	0.0077	0.0076	0.0078	0.0076
		HPLC ピーク面積	632.7	649.9	659	673.1	691	661.1

II. アセトニトリル/カフェイン溶液 / 50 $^{\circ}$ Cにおけるサンプリング重量とHPLCで得たピーク面積 n=5 (各温度)

サンプル II	温度	重量 / ピーク面積	10 μ L(1)	10 μ L(2)	10 μ L(3)	10 μ L(4)	10 μ L(5)	avg.
アセトニトリル	50 $^{\circ}$ C	重量 / g	0.0073	0.0074	0.0077	0.0073	0.0075	0.0074
		HPLC ピーク面積	288.2	300.3	305.2	290.8	294.1	295.7

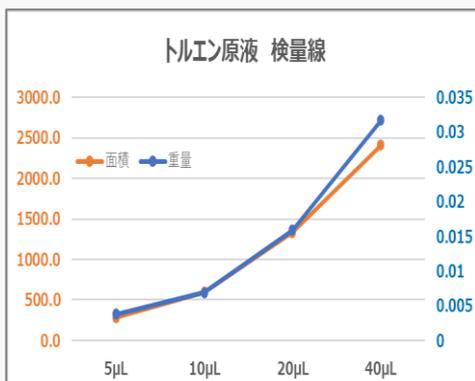
III. メタノール/パラセタモール溶液 / 50 $^{\circ}$ Cにおけるサンプリング重量とHPLCで得たピーク面積 n=5 (各温度)

サンプル III	温度	重量 / ピーク面積	10 μ L(1)	10 μ L(2)	10 μ L(3)	10 μ L(4)	10 μ L(5)	avg.
メタノール	50 $^{\circ}$ C	重量 / g	0.0063	0.0063	0.0066	0.0067	0.0065	0.0065
		HPLC ピーク面積	255.6	229.4	261.8	250.2	241.6	247.7

I・II・IIIの検量線 (各試料をクエンチサンプリングし、採取後試料の重量測定、およびHPLCでピーク面積を得た)

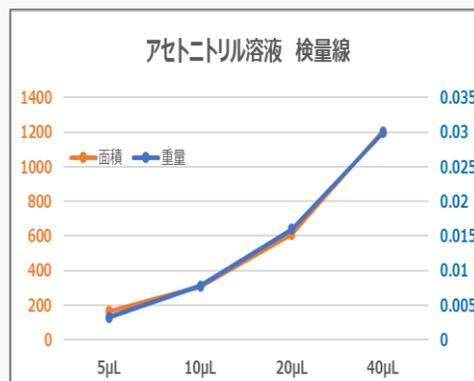
トルエン原液/80 $^{\circ}$ Cサンプリング

	5 μ L	10 μ L	20 μ L	40 μ L
重量	0.0038	0.0069	0.0159	0.0317
面積	283.0	594.8	1335.0	2412.0



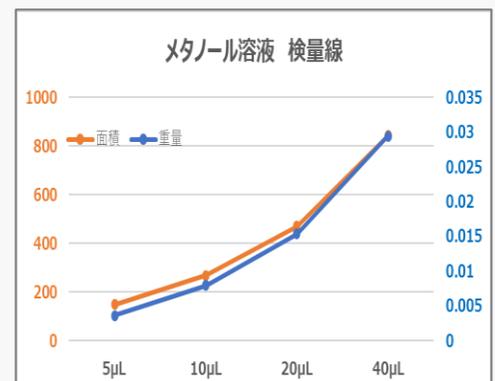
アセトニトリル溶液/50 $^{\circ}$ Cサンプリング

	5 μ L	10 μ L	20 μ L	40 μ L
重量	0.0032	0.0078	0.016	0.0299
面積	164.7	308.2	608.9	1204



メタノール溶液/50 $^{\circ}$ Cサンプリング

	5 μ L	10 μ L	20 μ L	40 μ L
重量	0.0036	0.0079	0.0153	0.0294
面積	147.6	266.1	468.7	841.8



i-Prep 加熱時サンプリングの定量性向上ポイント！

- ◆ ニードル洗浄液ライン,およびサンプルループ内の気泡を徹底除去=== 洗浄液は,できれば脱気処理が望ましい.
- ◆ ニードル洗浄液ライン,フィッティング,フェラルの劣化確認=== 接続部に漏れがないかを確認。(漏れ=空気混入)
- ◆ サンプルループの適量選択=== (サンプリング量より大きい量のサンプルループを選択装着する=シリンジ部への拡散防止)
- ◆ アルミクランプキャップバイアル,PTFE系セプタムの使用を推奨=== 溶媒揮発による液面低下,濃度変化を予防
- ◆ ニードルの劣化対策=== ニードル壁面が活性化し,送液不良を起こす事象あり. 定期的な交換が必要
- ◆ サンプリング直前のニードルウォッシュ (ソフトウェア更新*) === ニードルおよびサンプルループ内に空気が混入し送液不良を起こす事象あり.
- ◆ 液面の高さ確認 (needle height)=== できる限りバイアル内サンプルの底部にニードルを伸ばす.
- ◆ サンプル粘度に対する設定=== サンプルの粘度・膨張率に対し,Draw Speed,およびEject Speedの設定変更が有効.
- ◆ できればサンプリング初回時にダミー (予備) サンプリングを実施=== 長時間サンプリングの際に有効 (前回のサンプリングから1h経過時など)

*Ver.1.2.1 Build0074 (Take Samples)

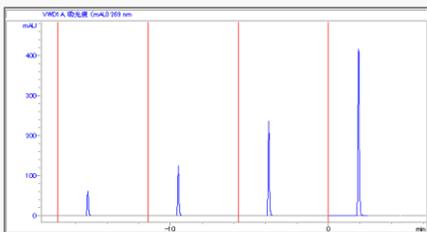
i-Prep [Quench Properties] 設定

[Quench Properties] 推奨設定値

設定 (10uLサンプリング時)		粘度高サンプル トルエン,水,メタノール	低粘度サンプル アセトニトリル	Mixingありの場合
Draw Spacer	Air Gap Spacer Volume	10uL	10uL	10uL
Draw Sample	Needle Offset	5mm	5mm	5mm
	Draw Speed	20uL/min	1000uL/min	20uL/min
Eject Sample	Needle Offset	5mm	5mm	5mm
	Eject Speed	9500uL/min	1000uL/min	9500uL/min
In-Vial Mixing (Liquid Mixing)	Mix Volume	-	-	20uL
	Mix Cycles	-	-	2回
	Draw Speed	-	-	5000uL/min
	Eject Speed	-	-	5000uL/min
	Air Gap Spacer Volume	-	-	10uL
In-Vial Mixing (Air Mixing)	Needle Offset	-	-	3mm
	Mix Volume	-	-	-
	Mix Cycles	-	-	-
	Draw Speed	-	-	-
	Eject Speed	-	-	-
Needle Wash	Air Gap Spacer Volume	-	-	-
	Needle Offset	-	-	-
	Mix Volume	-	-	-
	Mix Cycles	-	-	-
	Wash Cycles	2回	2回	2回

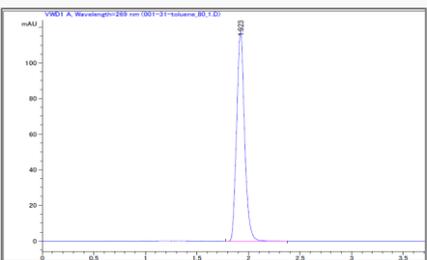
参考資料

トルエン原液の検量クロマトグラム



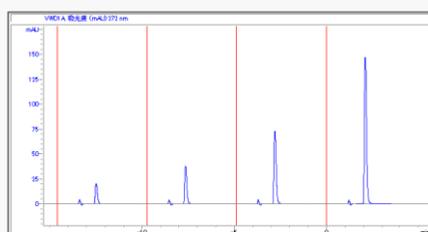
Column ODS-A(5μm,12nm) 150x4.6mmI.D.
Eluent Ethanol/Water(80/20)Flow rate 1.0mL/min
Column Temp.50°C Detection UV at 269nm
Injection 1μL

トルエン原液のクロマトグラム



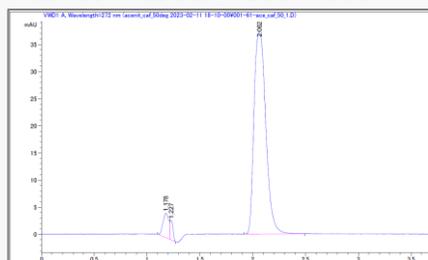
Column ODS-A(5μm,12nm) 150x4.6mmI.D.
Eluent Ethanol/Water(80/20)Flow rate 1.0mL/min
Column Temp.50°C Detection UV at 269nm
Injection 1μL

アセトニトリル (カフェイン) 溶液の検量クロマトグラム



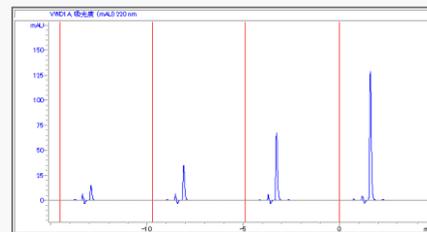
Column ODS-A(5μm,12nm) 150x4.6mmI.D.
Eluent Ethanol/Water(20/80)Flowrate 1.0mL/min
Column Temp.40°C Detection UV at272nm
Injection 10μL

アセトニトリル (カフェイン) 溶液のクロマトグラム



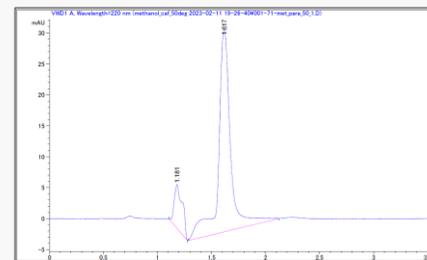
Column ODS-A(5μm,12nm) 150x4.6mmI.D.
Eluent Ethanol/Water(20/80)Flowrate 1.0mL/min
Column Temp.40°C Detection UV at272nm
Injection 10μL

メタノール (パラセタモール) 溶液の検量クロマトグラム



Column ODS-A(5μm,12nm) 150x4.6mmI.D.
Eluent Ethanol/Water(20/80)Flowrate 1.0mL/min
Column Temp.40°C Detection UV at220nm
Injection 10μL

メタノール (パラセタモール) 溶液のクロマトグラム



Column ODS-A(5μm,12nm) 150x4.6mmI.D.
Eluent Ethanol/Water(20/80)Flowrate 1.0mL/min
Column Temp.40°C Detection UV at220nm
Injection 10μL

アイデア製作所

〒196-0003東京都昭島市松原町4-6-12REVE202

TEL:042-519-1315 FAX:042-519-1316

MAIL: info@j-idear.com https://www.j-idear.com/