

吸引式マルチサンプルデバイスによる HPLC 用サンプルろ過の高速化

Janet L Smith,
Biochemical Scientist, Merck

はじめに

サンプルのプレフィルトレーションは、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）の分析前にサンプルから汚染物質を取り除く重要なプロセスです。夾雑物をろ過することで、カラムの寿命を延ばすだけでなく、また、サンプルマトリックスにおける不純物の干渉を取り除くことができ、データの再現性の向上に寄与します。HPLC/UHPLC 分析用のサンプルは、粒子を含まず、クロマトグラフィーシステムに適合した溶媒に完全に溶解させる必要があります。また、サンプルのろ過は、粒子の存在により HPLC のトレース内に予期しないピークが発生する可能性を低減する役割を果たします。シリンジフィルターを用いたろ過は効果的で利便性の高い方法ですが、多検体を同時にろ過する場合には時間がかかり、非効率的な方法となります。

Samplicity® G2 フィルトレーションシステムは、Millex® シリンジフィルターを活用する新たな手法として開発されました。これにより、複数のサンプルを調製する際の時間を削減し、サンプルで人間工学的な作業工程を可能にします。Samplicity® システムは、シンプルなアダプターファネルと標準的な Millex® 33 mm シリンジフィルターとを組み合わせることで、最大 8 サンプルを標準的な HPLC バイアルに直接、吸引ろ過することが可能です。この方法により、加圧式のシリンジ法と比較して、より高速なサンプルろ過が可能となり、複数のサンプルを手作業で連続してろ過する際に生じる労力を低減することができます。

本稿では、手動によるシリンジろ過と Samplicity® G2 システムを用いた吸引式ろ過とを並行した、医薬品や食品・飲料の加工用途に関連したサンプルのろ過を実施しました。この結果から、様々なメンブレンの種類と孔径を用いて吸引式ろ過で複数サンプルを同時に行った場合と、同一サンプルに対して手動の圧力式ろ過を逐次的に行った場合との間で、ろ過収量と所要時間を比較しました。

材料と方法

溶液の粘度測定

低粘度測定用にスピンドル S61 を備えた Brookfield Model LVDV-II 粘度計により、60 rpm でろ過した溶液の粘度を測定しました。3 回の測定値の平均として粘度を算出しました。

サンプルのろ過とメンブレンの選択

すべての試験において、サンプルは Durapore® PVDF 膜（フッ化ポリビニリデン）、ナイロン膜または Millipore Express™ PLUS PES（ポリエーテルスルホン酸）膜を用いた非滅菌 Millex® シリンジフィルターを用いてろ過しました。ろ過方法は、10 mL シリンジに Millex® フィルターを装着した手動による方法と、Millex® フィルターにファネルを接続した Samplicity® G2 フィルトレーションシステムによる方法を用いました。

Samplicity® G2 フィルトレーション

Samplicity® G2 システムを使用する際には、以下の手順に従いました。システムを吸引ポンプに接続し、バイアルトレイに HPLC バイアルをセットした後、透明なトレイの蓋を閉めます。蓋付きのサンプルハッチのうちサンプルが存在する部分のみ蓋を開け、開口部にフィルターを取り付けます。その後、フィルターにファネルを取り付けます。各ファネル内にサンプルを注ぎます。

サンプルが入っていないポートが閉じられていることを確認し、Samplicity® G2 ベースの左側にあるレバーを操作して真空にすることで吸引ろ過をします。ろ過後、真空を解除し、フィルターと透明カバーを取り外す前に、周囲の圧力が回復していることを確認します。手順は図 1 を参照してください。

ろ過時間の比較

図 1 に示したシリンジによる手動のろ過と Samplicity® G2 を用いた 2 つの方法により、各サンプル 2 mL のろ過試験を行いました。平均ろ過時間は、各条件における 8 サンプルの平均として記録しました。

ろ過手順における逐次的処理とバッチ処理との比較

Samplicity® G2の作業手順
8本のHPLCバイアルをベースに差し込み、バイアルトレイの蓋を閉める
8つのMillex® フィルターを蓋に取り付ける
8つのファネルをMillex® フィルターに取り付ける
2 mLのサンプル8検体をファネルに注ぐ
吸引（真空）ろ過をする
ファネルとフィルターを廃棄する
バイアルを取り出す

シリンジろ過の手順	
シリンジを開封する	これら 4 つの手順を 8 回繰り返す
サンプルをシリンジ内に吸引する	
Millex® フィルターをシリンジに取り付ける	
プランジャーを押してサンプルをろ過する	

図 1：Samplicity® G2 吸引式フィルトレーションシステムを使用して、効率化された 8 サンプルのバッチ処理により、人間工学的な利点が得られ、逐次的なシリンジろ過よりも大幅に時間を節約することができます。

結果と考察

サンプルの粘度を測定した結果、溶出試験液と純水 (Milli-Q® 水) の間には粘度の有意な差は認められず、ケチャップの希釈液は純水と比較して高い粘度が示されました (図 2)。

Samplicity® G2 システムは、すべてのサンプルの種類において、手動シリンジ法よりも迅速に 8 つのサンプルをろ過しました

図 1 に示す手順に従い、様々なメンブレンの 33 mm Millex® デバイスと試験溶液を用いた、Samplicity® G2 フィルトレーションシステムと手動のシリンジろ過のそれぞれの方法によって 8 つのサンプルを処理し、その処理時間を比較した結果、Samplicity® G2 フィルトレーションシステムを用いることによって、サンプルの特性、メンブレンの素材、孔径に応じて、28% から 62% の時間短縮を実現しました。

Samplicity® G2によるろ過は、すべてのメンブレンの種類と、あらゆる粘度のサンプルにおいて、サンプル処理時間を短縮します

メンブレンの材質および孔径、並びにサンプルの粘度がろ過効率に及ぼす影響を評価するため、Durapore® PVDF 膜、ナイロン膜、Millipore Express™ PLUS PES 膜の 3 種類の Millex® デバイスを用いて、水、アセトアミノフェン溶液、ケチャップ希釈液の各 8 サンプルを前述の通りろ過しました。各サンプルは、それぞれのメンブレン材質の 2 種類の孔径 (0.45 µm、0.22 または 0.2 µm) を用いてろ過しました。いずれの場合も、Samplicity® G2 プロトコルを用いることで、2 mL のサンプル 8 検体をろ過するのに必要な時間は大幅に短縮されました (図 2)。8 つのサンプルから得られたろ液の平均重量を比較すると、Samplicity® G2 のサンプルの最終的なろ液量は、同じサンプルを手動でシリンジろ過した際に得られる量よりも 14% ~ 25% 多いことが確認されました (データは非掲載)。これらの結果から、Millex® デバイスと様々な種類のサンプルにおける Samplicity® G2 システムの互換性と効率性の向上が示されました。

	手動式シリンジと比較した場合の Samplicity® G2 フィルトレーションシステムの時間短縮 (8 サンプル)		Samplicity® G2 フィルトレーションシステムによる処理時間 (分、8 サンプル)		10 mL シリンジによる処理時間 (分、8 サンプル)	
サンプルの種類	最小	最大	最小	最大	最小	最大
Milli-Q® 水	54%	62%	1.88	2.08	4.08	5.22
溶出試験液	40%	49%	2.23	2.68	3.85	5.17
5% ケチャップ	28%	60%	3.10	4.15	4.93	9.23

表 1：Samplicity® G2 フィルトレーションシステムは、8 サンプルを一度に処理する場合、手動シリンジろ過よりも迅速に処理し、ろ過することができます。

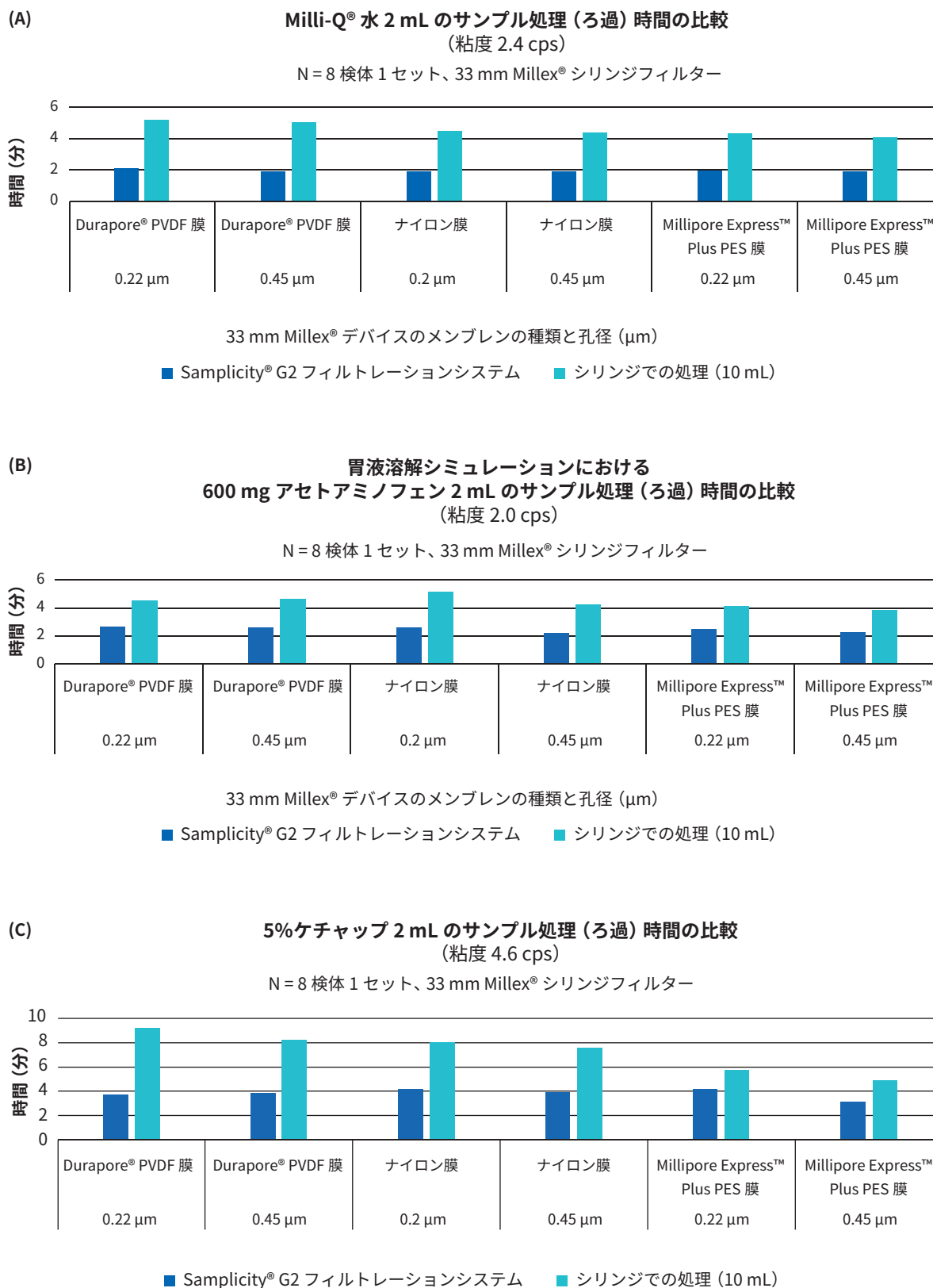


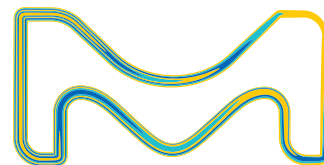
図 2 : Samplicity® G2 フィльтраーションシステムまたは手動シリンジを使用した場合における、サンプルのろ過に要する時間。Milli-Q® ろ過水 (A)、模擬胃液におけるアセトアミノフェン 600 mg の溶出液 (B)、5% ケチャップ希釈液 (C) の 2 mL のサンプルを 8 検体ずつ、同一のセットを準備し、記載した手順でろ過しました。サンプルの各セットは、Durapore® PVDF 膜 (孔径: 0.22 または 0.45 µm)、ナイロン膜 (孔径: 0.2 または 0.45 µm)、Millipore Express™ PLUS PES 膜 (孔径: 0.22 または 0.45 µm) を用いた Millex® デバイスを使ってろ過しました。シリンジの処理時間は、8 つの各デバイスの平均値として記録しました。

結論

クロマトグラフィーのサンプルをろ過することで、クロマトグラフィーのデータ中のコンタミネーションピークを減少させるだけでなく、カラムの損傷の原因となる粒子状の夾雑物が除去されることにより HPLC カラムを守ることができます。シリンジによる手動の加圧ろ過による多検体の処理は時間のかかる作業となり、反復ストレスによる怪我のリスクも高まります。Simplicity® G2 フィルトレーションシステムが手動のシリンジろ過に代わる HPLC サンプル処理の新しい方法を提供します。上述のデータでは、一度に 8 つのサンプルを調製した場合、正確な処理時間はサンプルとメンブレンの種類によって異なりますが、少なくとも 28% の時間を節約することが示されました。HPLC および UHPLC を使用し、一度の分析で複数のサンプルを処理しているラボでは、Simplicity® G2 フィルトレーションシステムにより、最終的な過収量を損なうことなく、時間を節約して効率性を大幅に向上させることができます。

関連製品

製品名	入数	カタログ番号
Simplicity® G2 Filtration System	1	SAMP2SYSB (Blue) SAMP2SYSG (Green)
Millex® Filters for the Simplicity® G2 System, 0.22 µm Durapore® PVDF	250	SAMP2GVNB
Millex® Filters for the Simplicity® G2 System, 0.45 µm Durapore® PVDF	250	SAMP2HNVB
Millex® Filters for the Simplicity® G2 System, 0.22 µm Millipore Express™ PLUS PES	250	SAMP2GPNB
Millex® Filters for the Simplicity® G2 System, 0.45 µm Millipore Express™ PLUS PES	250	SAMP2HPNB
Millex® Filters for the Simplicity® G2 System, 0.2 µm Nylon	250	SAMP2GNNB
Millex® Filters for the Simplicity® G2 System, 0.45 µm Nylon	250	SAMP2HNNB



メルクライフサイエンス公式 SNS、動画コンテンツをご覧ください。

本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。掲載価格は希望販売価格（税別）です。実際の価格は弊社製品取扱販売店へご確認ください。なお、品目、製品情報、価格等は予告なく変更される場合がございます。予めご了承ください。記載内容は2022年6月時点の情報です。Merck, the vibrant M, and Millipore are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. ©2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved. Original is Lit. No. AN8516EN00

メルク株式会社

ライフサイエンス リサーチ事業部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

製品の最新情報はこちら www.merckmillipore.com/bio

E-mail: jppts@merckgroup.com Tel: 03-4531-1140