

SINCE 1889



Chromatography Solutions

Technical note #032

LCメソッド開発のための リテンション モデリングを使用した ラボの持続可能性について

イントロダクション

HPLC メソッドの開発は、分析ラボで大量のリソースを消費する長いプロセスになる場合があります。これには、時間と費用のほかに、移動相用の溶媒と添加剤、および機器に電気を供給するための電力も含まれます。

これはまた、大量の廃棄物の生成にもつながります。

多くの場合、メソッド開発では試行錯誤（または一度に1つの要素）によるアプローチが採用され、各反復ステップで得られた分析結果に従ってパラメーターが調整され、意思決定が行われます。メソッド開発により構造化されたアプローチを採用することで、必要な実験の数が減ります。結果として、分析対象物に関する有用な蓄積知識が生成され、時間、費用、および環境への影響を大幅に低減できます。

これに加えて、リテンションモデリング ソフトウェアを使用すると、実際の実験の数をさらに大幅に減らすことができ、環境に悪影響を与える溶剤の廃棄物や電気の使用量が大幅に削減されて、プロセス全体がより持続可能になります。

一般的なアプローチは、スクリーニング プロトコルを使用して個々のクロマトグラフィー パラメーター（カラム固定相、溶離液組成、pH など）とそれらの保持/分離に対する影響をシステムティックに調査することによってメソッド開発を開始することです。^[1, 2]

スクリーニングが完了すると、必要に応じて最も有望な条件の組み合わせをさらに最適化し、最終的なメソッドを作成できます。情報に基づいたこのアプローチは有益で、強く推奨されます。^[3]

このプロセスをさらに進めると、スクリーニング実験からの分析物の保持データを LC リテンション モデリング ソフトウェアに入力して、保持モデルを作成し、分析物の保持挙動を予測することができます。^[4]

1つからでも実験パラメーターについて分析物の保持時間をモデル化することにより、多くのリアルな実験の必要性が排除され、関連する化学廃棄物やその他の環境への影響が除去されます。これは持続可能な目標の達成に大きく貢献します。成功した分離がモデル化されると、わずか数回のサンプル注入で実験的に検証できます。

Avantor® ACE®

Chromword 5.1 Lite を使用した リテンション モデリング

Avantor® ACE® ChromSword メソッド開発キット (MDK) は、堅牢な分析メソッドを開発し、スクリーニングとモデリングを組み合わせたアプローチを持続可能な、完璧な方法で研究室に導入するために設計されています。

多くの場合、カラムスクリーニングアプローチによる最適な結果は、すべてのサンプル分析物の完全な分離を提供しません。この場合、温度やグラジエント時間などの他のクロマトグラフィーパラメーターを変更することで、さらなるメソッド開発が必要になります。

Avantor® ACE® ChromSword MDK に含まれる ChromSword 5.1 Lite ソフトウェアを使用してこれらのパラメーターをモデル化することができます。また、関連する溶媒の消費と廃棄物の発生を低減し、さらなる追加実験の必要性を回避できます。

わずか 2 回の実験実施からの保持データをソフトウェアに入力することで、保持モデルを確立できます。このモデルから、追加の実験を行うことなく、何千もの潜在的な分離をシミュレートすることができます。

図 1 に示す例では、6 つの分析物の単純な混合物を 3 つの異なる pH 値 (3, 4.5, 6) で実行しました。3 つの実験すべてで、少なくとも 2 つの分析対象物の共溶出が発生します。たとえ分離が成功しなかったとしても、この時点でこの研究が研究室から離れてしまう可能性があります。

分析物の保持データを ChromSword Lite ソフトウェアに入力することにより、保持モデルを生成できます。このモデルから、最適な分離を特定してシミュレーションできるため、溶媒を節約し、化学廃棄物を低減し、エネルギー消費を削減できます。

(一般的な HPLC 装置は、使用時に 1 日あたり 5 kWh 以上を必要とする場合があります)

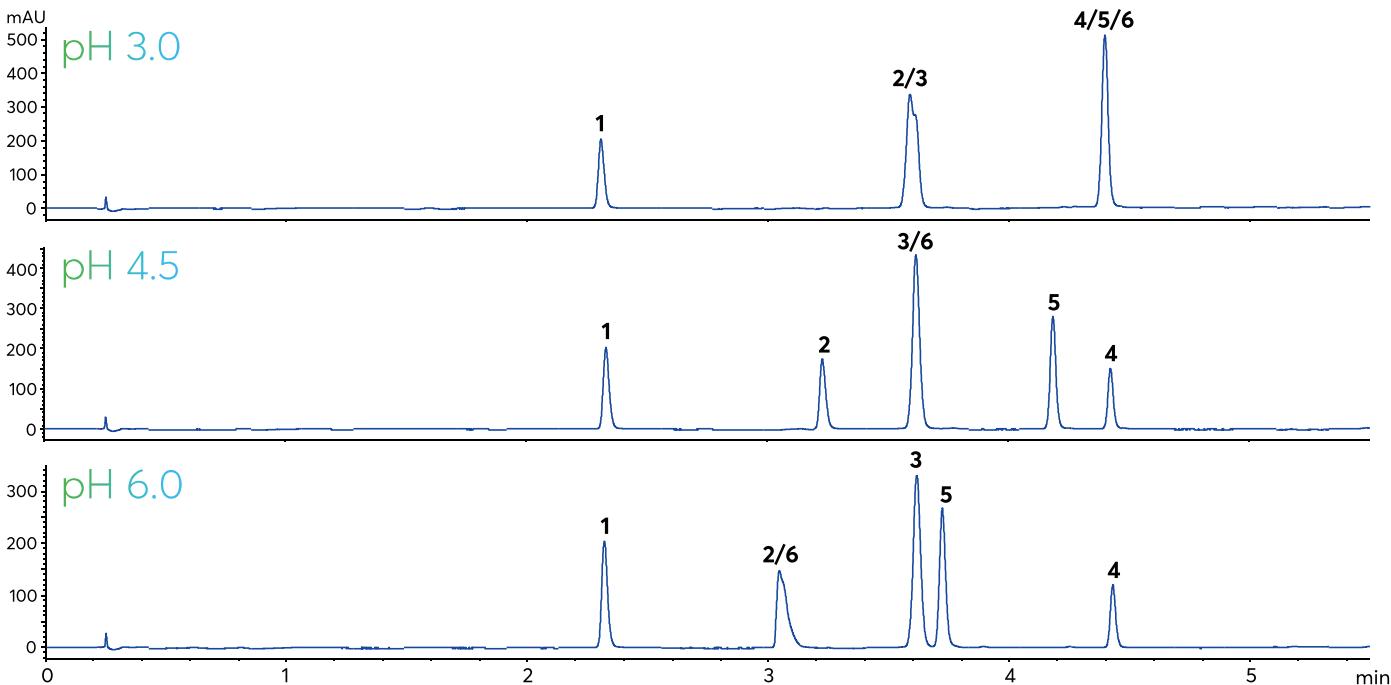


図 1: pH 3, 4.5、および 6 での 6 つの分析対象テスト混合物の分離

カラム: Avantor® ACE® Excel® 3 C18-AR, 50 x 2.1 mm

移動相 A: 20 mM ギ酸アンモニウム (水溶液) B: MeOH/H₂O 9:1 v/v 中の 20 mM ギ酸アンモニウム

グラジエント: 5 分間で 3 ~ 100% B 流量: 0.6 mL/分 温度: 40 °C 注入量: 5 µL 検出: UV, 254 nm

サンプル: 1: カフェイン、2: フロセミド、3: 1,3,5-トリニトロベンゼン、4: ウチルパラベン、5: ケトプロフェン、6: 3,4-ジクロロ安息香酸

AVANTOR® ACE® TECHNICAL NOTE #032

保持モデルを生成するには、実験の保持時間と、使用したカラムおよび実験条件の詳細を ChromSword 5.1 Lite ソフトウェアに入力します。(図 2) この例では、図 1 に示す 3 つの pH の保持データを使用して、6 つすべての分析対象物の pH に対する分析対象物の保持係数の対数モデルを構築しました。(図 3)

各色付きの線は 1 つの分析物に対応します。線が交差する点は分析物の共溶出に対応しますが、交差が発生しない領域では分析物の完全な分離が達成されます。

多くの場合、保持モデルは、クリティカルペアの分解能を pH の関数としてプロットする分解能マップとして表示するのが最適です。(図 4)

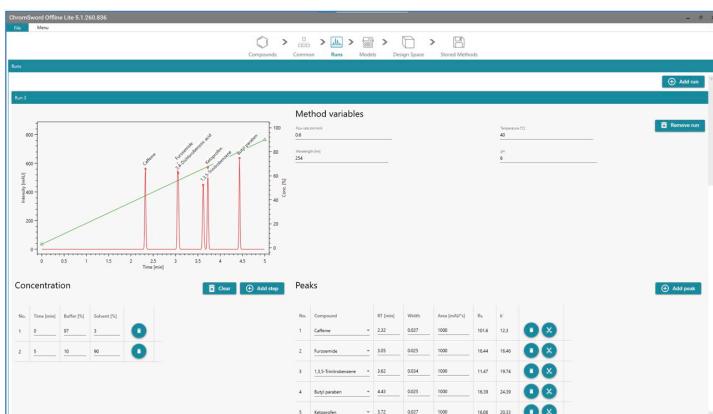


図 2: ChromSword 5.1 Lite のデータ入力画面

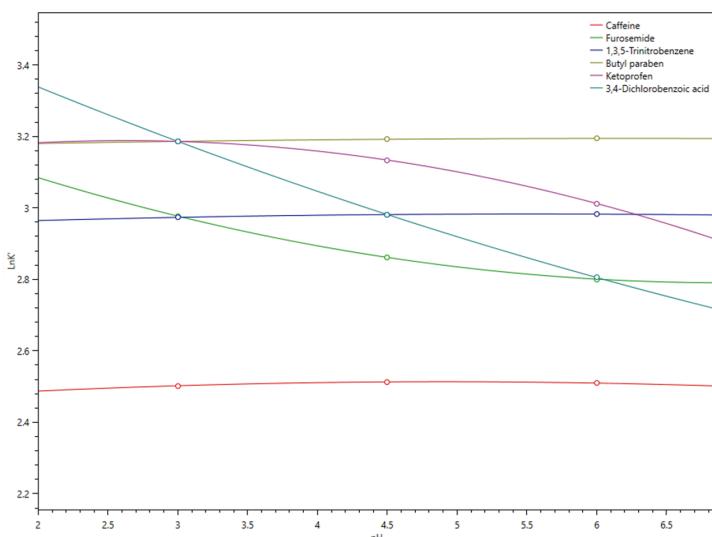


図 3: 図 1 に示す実験実施から生成された二次関数 $\ln K$ 対 pH 保持モデル

この場合、許容可能な最小分解能は 1.5 に設定されており、赤い線で示されています。したがって、分離マップが 1.5 を超える任意の pH において、許容可能な分離が得られます。この分解能マップは、移動相の pH 値 5.1 が最大の分解能を提供することを明示しています。

モデリング アプローチのもう 1 つの大きな利点は、最終的なメソッドに堅牢性を組み込むために使用できることです。図 4 では、pH 4.2 で許容可能な分離が得られていますが、pH がわずかに変化すると分離が失敗する可能性があります。メソッド開発への試行錯誤のアプローチにより、最終的なメソッドがこの堅牢性のないポイントに設定される可能性があります。しかし、モデリング アプローチでは、移動相 pH 5.1 ではるかに強力な分離が達成されることが明らかになりました。この pH ではメソッドが失敗するリスクを冒すために、移動相を少なくとも ± 0.3 pH 単位変化させる必要があり、その結果より堅牢な最終メソッドが得られます。

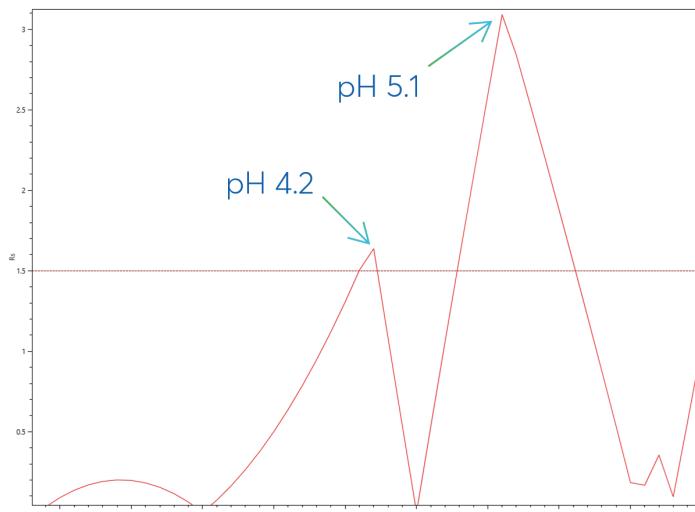


図 4: 図 3 の保持モデルから自動的に生成された分離マップ (pH 対 クリティカルペア分離)

保持モデルまたは分離マップ上のどの時点でも、すべての分析物の予測保持時間を示す仮想クロマトグラムを生成することもできます。(図 5)

最終的なメソッドの最適条件がモデルから特定されたら、1 回の実験を使用してモデル化された結果を確認します。(図 6)

表 1 は、モデリング ソフトウェアによって予測された保持時間と実験的に得られた結果を比較し、保持モデリングから得られる高い精度を示しています。

AVANTOR® ACE® TECHNICAL NOTE #032

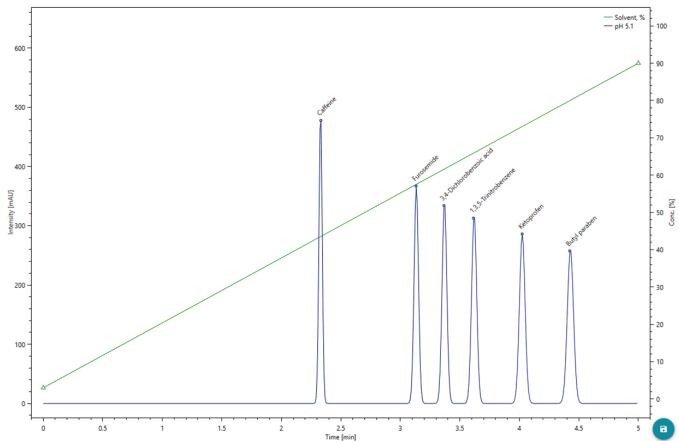


図 5: pH 5.1 で分離された 6 つのピークすべてを示すシミュレートされたクロマトグラム

表 1: 図 5 に示すシミュレートされた分離から予測された保持時間 (pH 5.1) と実験的に得られた保持時間 (図 6) の比較

pH 5.1: Retention Times (mins)			
Analyte	Predicted	Actual	% Difference
Caffeine	2.33	2.33	0.0%
Furosemide	3.13	3.10	-1.0%
1,3,5-Trinitrobenzene	3.62	3.62	0.0%
Butylparaben	4.43	4.43	0.0%
Ketoprofen	4.02	3.93	-2.2%
3,4-Dichlorobenzoic acid	3.37	3.26	-3.3%

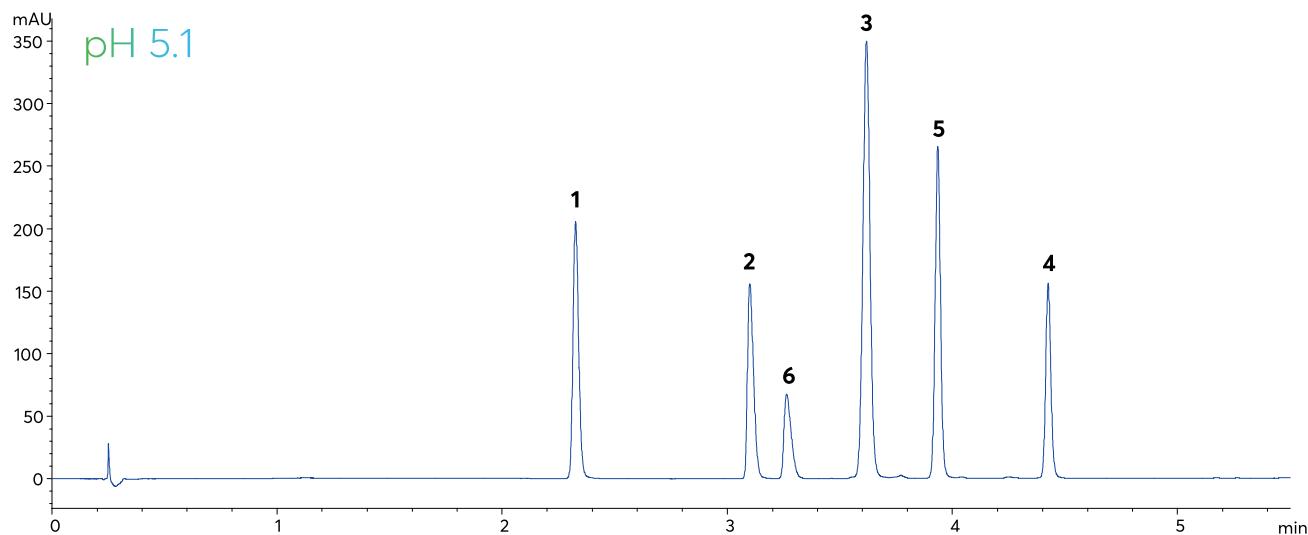


図 6: pH 5.1 での実験結果 実験的に生成されたデータと ChromSword 5.1 Lite で得られたシミュレーション データの比較を表 1 に示します。
カラム: Avantor® ACE® Excel® 3 C18-AR, 50 x 2.1 mm
移動相 A: 20 mM ギ酸アンモニウム (水溶液) B: MeOH/H₂O 9:1 v/v 中の 20 mM ギ酸アンモニウム
グラジェント: 5 分間で 3 ~ 100% B 流量: 0.6 mL/分 温度: 40 °C 注入量: 5 μL 検出: UV, 254 nm
サンプル: 1: アフェイン, 2: フロセミド, 3: 1,3,5-トリニトロベンゼン, 4: ブチルパラベン, 5: ケトプロフェン, 6: 3,4-ジクロロ安息香酸

6 つの分析物すべてが良好に分離されました。実際の実験でこの段階に到達するには、大量の溶媒と電力が消費され、大量の化学廃棄物が生成され、この完全に最適化された分離は達成できなかった可能性があります。

保持モデリングを使用することにより、最適化された分離には、保持モデルを生成するための 3 回の実験操作と、最終的なメソッドを確認するための 1 回の実験だけが必要でした。したがって、この例は保持モデリング ソフトウェアを組み込むことによって、LC メソッド開発の環境への影響を大幅に削減できることを示しています。

結論

LC メソッドの開発中に保持モデリング ソフトウェアを使用すると、わずか数回の実験から包括的な保持モデルを生成でき、これを使用して数千の潜在的な分離をシミュレートできます。すなわち新しい手法を生み出すために必要な実験作業量を合理化し、大幅に削減できることを意味します。環境の観点から見ると、メソッド開発中に発生する廃液量と LC 機器で消費される電力を大幅に削減できます。さらに多くの場合、モデリング アプローチの方が迅速であるため、ラボの効率が向上し、最終的なメソッドの堅牢性に対する信頼性が高まるという追加の利点が得られます。これは、分析メソッドのライフサイクル中の下流で得られる結果に影響を与えます。

Avantor® ACE® ChromSword メソッド開発キットは、ユーザーフレンドリーな保持モデリング ソフトウェアをメソッド開発ワークフローに導入するために、コスト効率の高いソリューションを提供します。

REFERENCES

1. Avantor® ACE® Knowledge Note #0018 "Step-by-Step Protocol for Streamlined Reversed-Phase Method Development using Avantor® ACE® MDKs" (https://uk.vwr.com/cms/ace_knowledge_notes)
2. Avantor® ACE® Knowledge Note #0021 "A Simple Step-by-Step Protocol for HILIC Method Development" (https://uk.vwr.com/cms/ace_knowledge_notes)
3. P. Petersson, M. R. Euerby, M. Fever, J. Hulse, M. James and C. Pipe, *LCGC Europe*, **29** (2016), 8-21
4. Avantor® ACE® Technical Note #006 "Streamlined Method Development Using the Avantor® ACE® ChromSword Method Development Kit" (https://av.cmd.vwr.com/rq/ddl/avantorace_technicalnote_atn006)

様々なシングルユース品・バイオ医薬品向け原料・精製プロセス材料
～アップストリームからダウンストリーム工程まで網羅～

- サンプリング用品
- 2Dパッジ(ピローパッジ)
- 3Dパッジ(コンテナ)
- ミキシングパッジ
- タンク/タンクライナー

- Cell Lysis Solution
- ウィルス不活化試薬
- 高活性エンドヌクレアーゼ
- FBS/培地/調整済み試薬
- レジン

- cGMPコーディネート
- ハードウェア
- 制御システム
- カスタム品

etc.



Q&A

Q 長納期で手に入らない物が多く困っています。

現在、セルカルチャーソリューション・シングルユース品・バイオ医薬品向け原料等の国内在庫枠を増やしています。また、お客様のニーズに合わせた商品も在庫しております。随時ラインアップも広げておりますので、是非ご相談ください。

Avantor社はバイオ医薬品製造市場における世界有数のサプライヤで、30カ国以上に200を超える拠点で展開しています。cGMP製造施設13拠点、ISO準拠施設19拠点を有しており、ラボ～製造までバイオ医薬品の開発製造に必要なソリューションの提供をしています。

注意

本カタログに掲載された製品の仕様・性能数値は、一般的な使用条件における、ユーザーガイドとして提示しています。
ご使用の際は、取扱説明書の内容をご理解いただき、正しくご使用ください。取扱説明書の記載使用条件を外れて使用され、人的・物的損害が発生しても、当社はその責任を負いかねますのでご注意ください。

●仕様および外観、価格は、改良のため予告なく変更することがありますのでご了承ください。●製品カラーは、撮影・印刷インキの関係で実際の色と異なって見えることがあります。●価格には、消費税が含まれておりません。
●記載されている会社名、製品名およびロゴは、当社または各社の商標および登録商標です。本文中に「TM」、「®」は記載していません。

SINCE 1889



科学・技術の未来のために

ヤマト科学株式会社

本社 〒104-6136 東京都中央区晴海1-8-11 晴海トリトンスクエアY棟36階

お客様総合サービスセンター

0120-405-525

受付時間 9:00～12:00, 13:00～17:00 土日祝除く

ヤマト科学ウェブサイト

www.yamato-net.co.jp

メールでのお問い合わせは、ヤマト科学ウェブサイトより



お問い合わせは、信用とサービスの行き届いた当店へ

Cat.No: C1487A

<国内営業・サービス拠点>

札幌 (011)204-6780	仙台 (022)216-5701	前橋 (027)280-4650	筑波 (029)852-3411	北関東 (048)642-2569	千葉 (043)241-7085	サンフランシスコ	重慶	上海
東京 (03)5827-3525	東京西 (042)352-3211	川崎 (044)540-3751	横浜 (045)828-1631	厚木 (046)224-6911	長野 (026)291-6001	北京	广州	西安
静岡 (054)653-0510	名古屋 (052)202-3051	北陸 (076)443-8603	京滋 (075)343-7201	関西 (06)6101-3112	広島 (082)221-0921	東莞	ケルン	
山口 (083)974-4760	福岡 (092)263-7550							

Copyright© Yamato Scientific Co., Ltd. All Rights Reserved.

このカタログの記載内容は2024年2月現在のものです。