

カラムスイッチングHPLCによる分析時間の短縮 ～糞尿中のフェノール分析～

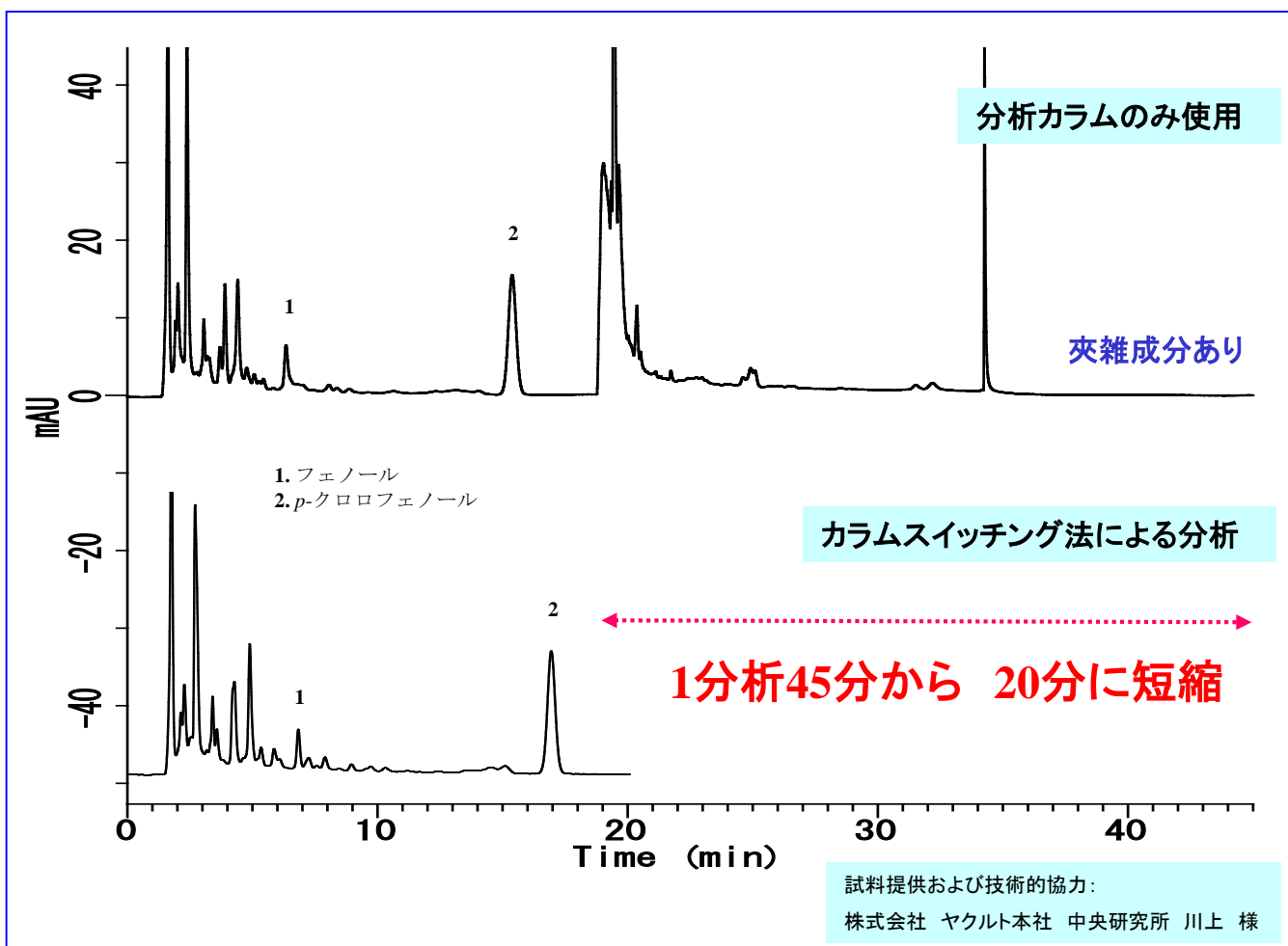
夾雑成分が多く含まれる生体試料の分析では、目的成分の溶出後に夾雑成分が溶出し、分析時間が長くなる場合があります。この夾雑成分の除去に、試料の前処理を行うことができますが、手動では人為的誤差が生じたり、作業に多くの時間を要することがあります。

カラムスイッチングHPLC法は目的成分の濃縮や夾雑物質の除去を自動で行うことから、作業効率の向上に有効な手法になります。

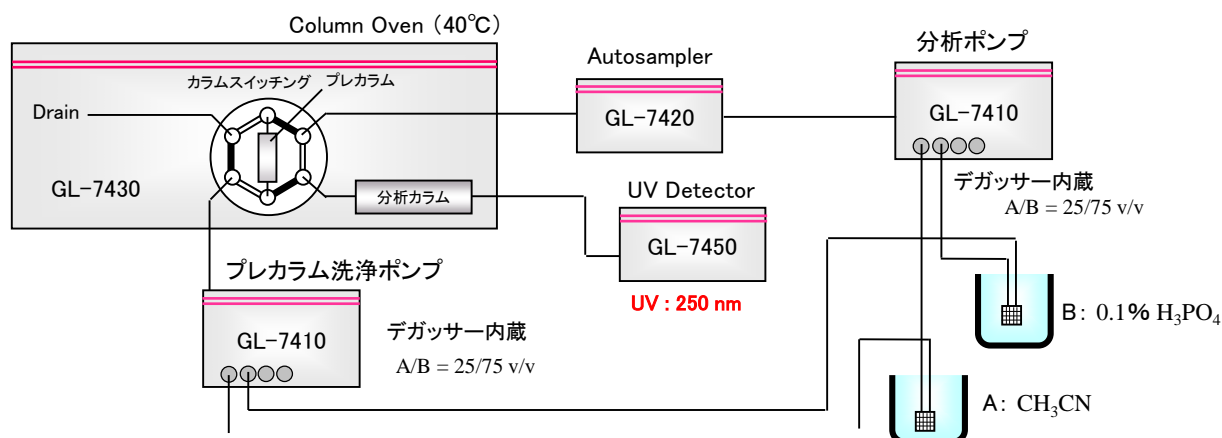
今回は、糞尿中のフェノール分析を中心に、分析時間の短縮に成功した例をご紹介します。

(I.Miyazaki)

糞尿中フェノールの分析



分析条件・流路図

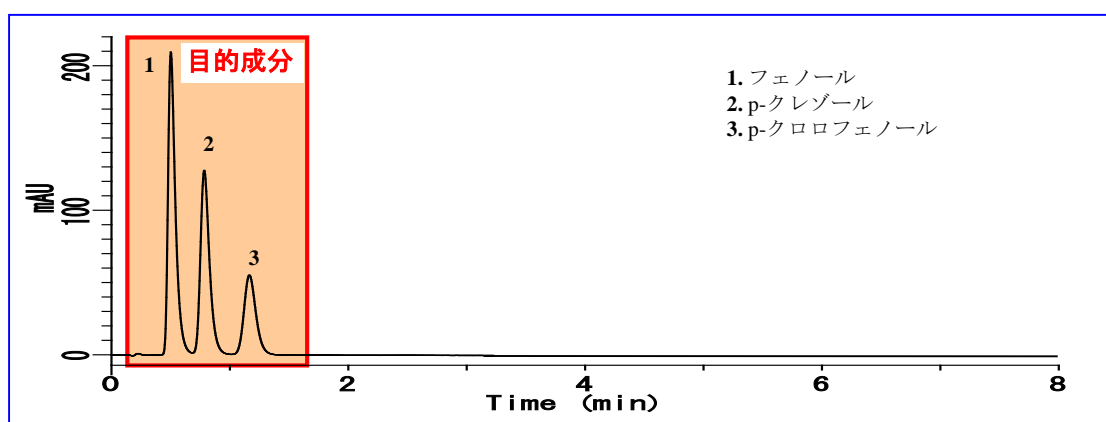
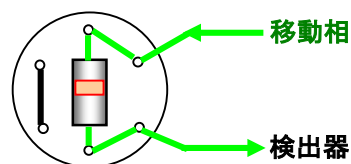


カラムスイッチング分析の検討方法

本報告のカラムスイッチング法は、プレカラムから目的成分が溶出した後に、スイッチングバルブを切り換え、夾雑成分を分析カラムに導入しないことで、分析時間の短縮を可能にしております。
したがって最初にスイッチングバルブの切り換え時間を検討する必要があります。

① バルブ切換時間の確認

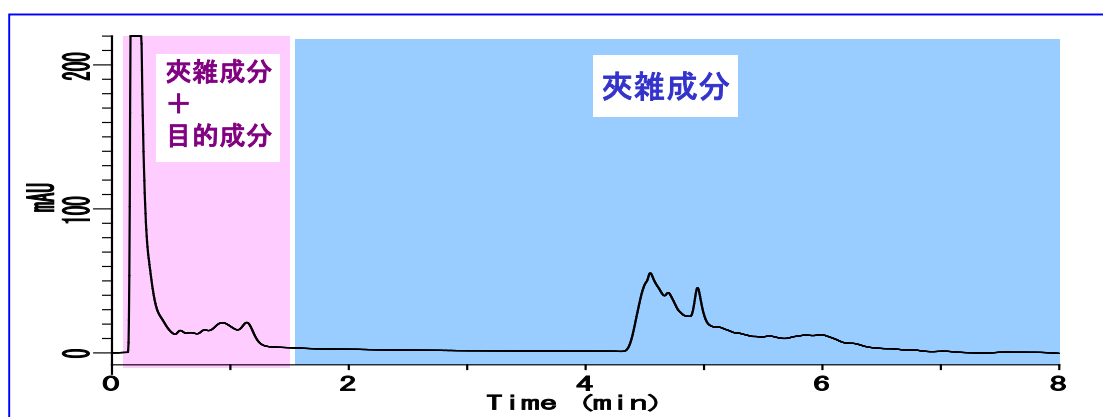
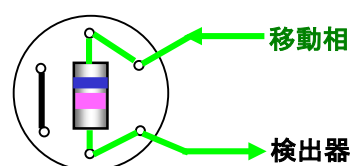
プレカラムから目的成分()の溶出時間を確認します。この時間がバルブを切り換える時間になります。



② 溶出時間の確認

試料()を注入し、分離と溶出時間を確認します。

①の溶出時間より遅い夾雑成分()はプレカラムに残り、バルブ切り換えと同時に、洗浄されることとなります。

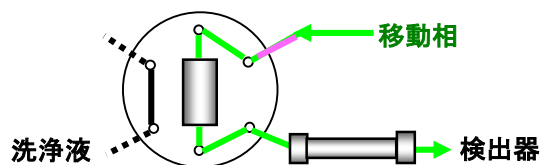


カラムスイッチング分析のしくみ

バルブ切換時間の検討終了後、カラムスイッチング分析を行います。ここでは試料の挙動を中心に示します。

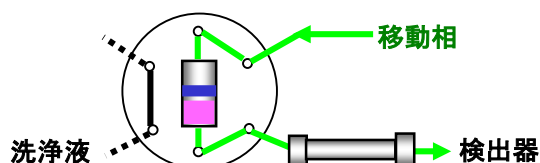
① 試料注入

試料(■)を注入します。
この時、洗浄液は停止しています。



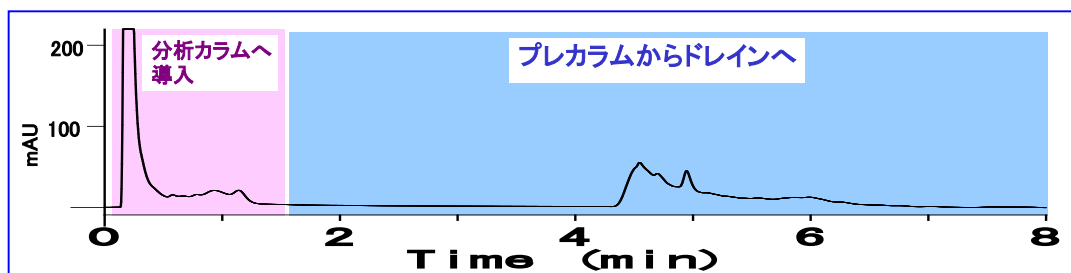
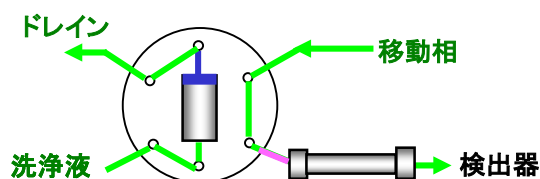
② プレカラム分離

プレカラムに入った試料(■)は、
保持の強い夾雑成分(■)と分離します。



③ バルブ切り換え

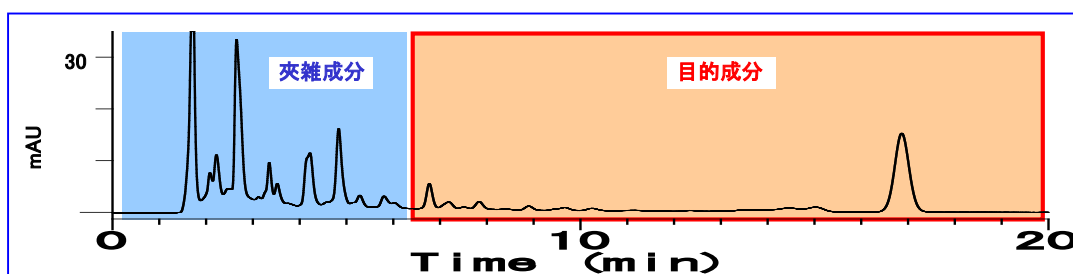
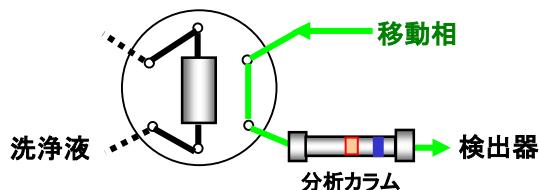
スイッチングバルブが切り換わり、
プレカラムに残った夾雑成分(■)を
洗浄液でバックフラッシュし、排出します。



④ 目的成分の溶出

分析カラムに入った試料は、さらに
夾雑成分(■)と目的成分(■)
に分離します。

洗浄液を停止し、分析が終わり次第、
バルブを初期の位置に戻します。

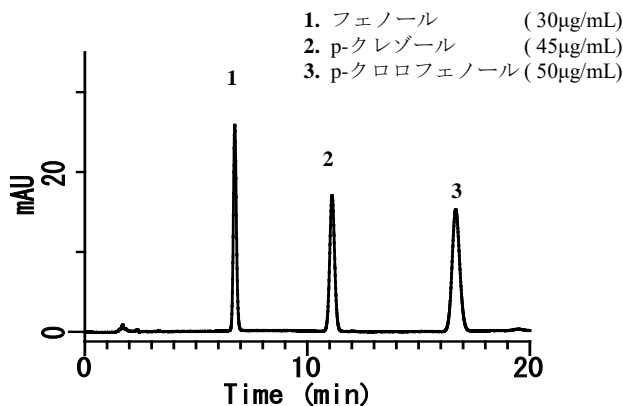


HPLC 条件

- ・ プレカラム Inertsil ODS-SP (5 μ m, 10 x 4.0 mm I.D.)
 - ・ 分析カラム Inertsil ODS-SP (5 μ m, 150 x 4.6 mm I.D.)
 - ・ 溶離液* : A) CH₃CN B) 0.1% H₃PO₄
A/B = 25/75 v/v, 1mL/min
 - ・ 温度 40 °C
 - ・ 検出器 UV 270 nm
 - ・ 注入量 10 μ L
- 注入1.5分後(目的成分がプレカラムから溶出後)、バルブを切換え、夾雑成分の残るプレカラムを洗浄しドレインする。
- 注入4.5分後、プレカラム洗浄用ポンプ②を止める。
- 注入18分後に再度バルブ切換え、初期の位置にもどす。

* 洗浄用および分析用ポンプ共に同一溶離液

標準試料のクロマトグラム (カラムスイッチング法による分析)



HPLC装置: GL-7400 シリーズ

番号	品名	型番
1	UV検出器	GL-7450
2	カラムオープン 6方バルブ内蔵	GL-7430
3	オートサンプラー	GL-7420
4	キャリアリザーバー	GL-7480
5,6	ポンプ × 2台	GL-7410

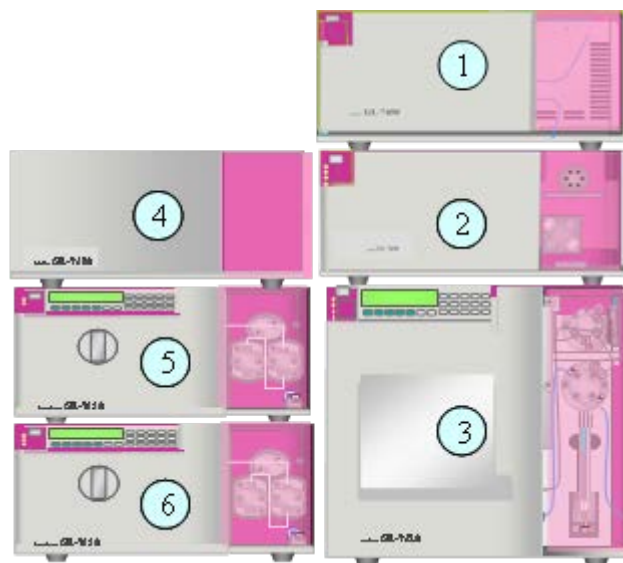
分析カラム:

Inertsil ODS-SP 5 μ m, 150 × 4.6 mm I.D. Cat.No. 5020-02745

プレカラム:

交換用カートリッジE及びカラムホルダーセット

Inertsil ODS-SP 5 μ m, 10 × 4.0 mm I.D. Cat.No. 5020-08520



ジーエルサイエンス株式会社

〒163-1130 東京都新宿区西新宿 6-22-1 新宿スクエアタワー 30F
TEL.03-5323-6611 FAX.03-5323-6622

※各試験法は、変更される場合がありますので、分析の前に確認されることをお勧めします。

データに起因し、直接的または間接的に生じたいかなる損害に対しましては、当社が責任をおうものではありません。また、記載事項につきましては、予告無しに改訂する場合がありますので、あらかじめご了承ください。

カスタマーサポートセンターでは、ノウハウのご提供と分析に関するフォローを行っております。お困りの際は、カスタマーサポートセンターまでお気軽にお問い合わせください。

カスタマーサポートセンター (土・日・祝除く9:00-17:00)

☎ 04-2934-1100 ✉ info@glsc.co.jp



【アプリケーションの検索はこちら】

https://www.glsc.co.jp/technique/app/app_search.html