

ChromasterUltra Rs 6440 蛍光検出器の紹介

Introduction of ChromasterUltra Rs 6440 Fluorescence detector

清水克敏*1, 青田俊道*1, 和田宏之*1, 秋枝大介*1, 宝泉雄介*2, 伊藤正人*1

1. はじめに

ChromasterUltra Rs は高分離、高感度分析を実現する UHPLC (Ultra High Performance Liquid Chromatography) である。システム耐圧 140 MPa を有していることから分析圧力が上がりやすい移動相を使用することが可能であり、微粒子充填剤を用いた LaChromUltra II カラムシリーズと組み合わせて、さまざまな分析バリエーションが提供できる。今回、新たに ChromasterUltra Rs シリーズの検出器として、ChromasterUltra Rs 6440 蛍光検出器をラインアップした。



図1 装置外観

2. ChromasterUltra Rs 6440 蛍光検出器の特長

2-1 シャープなピーク形状

ChromasterUltra Rs 6440 蛍光検出器は、カラムから蛍光検出器までの配管に内径φ 0.1 mm を使用し、3 μ L (照射容量) のフローセルを採用している。徹底的にピーク拡散の要因を低減することで成分ピークの可能な限り拡散を抑え、シャープなクロマトグラムピーク形状を実現する。

図2 に多環芳香族 15 成分を分析した例を示す。多環芳香族炭素 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons : PAHs) は、ベンゼン環を複数持つ化合物であり、発がん性に関する知見も報告されている。多環芳香族 15 成分について、14 分で分離可能であった。また、本結果では合わせて各成分が感度良く検出できるよう、ChromasterUltra Rs 6440 蛍光検出器の検出波長をタイムプログラムにより切り替えて測定している。

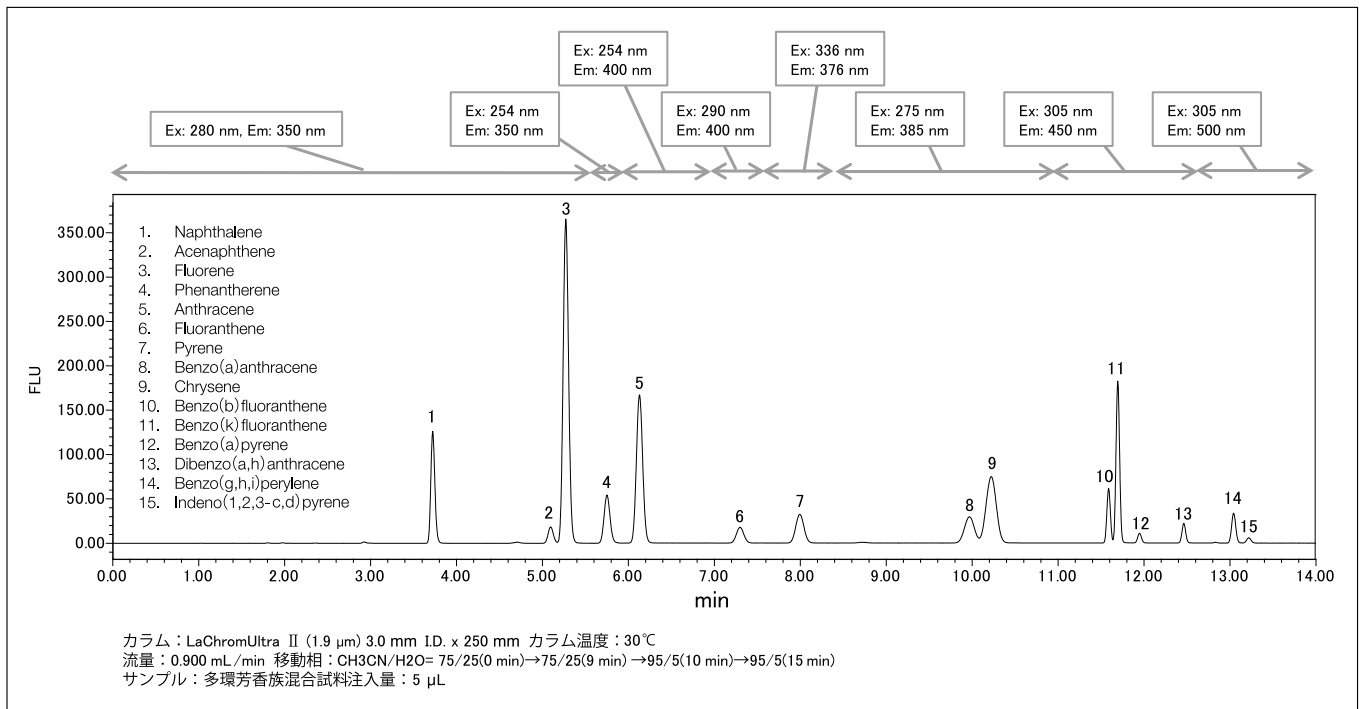


図2 タイムプログラムを用いた多環芳香族の分析

2-2 ダイナミックレンジの拡大

従来からのダイナミックレンジに、新たにワイドモードを追加した。ワイドモードは、図3に示すように、従来のスタンダードモードと比較して、検量線範囲が約5倍に拡大する。

その結果、従来よりも注入量を増やして感度を上げることも可能であり、また、成分に濃度差があり、従来では同時に測定できなかった成分の測定も可能である。

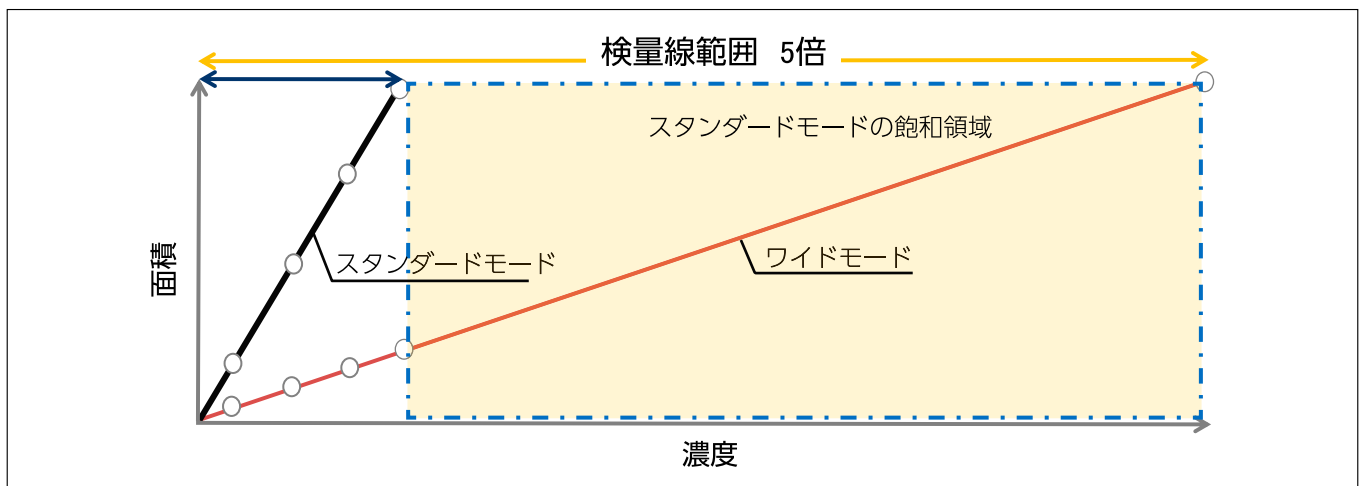


図3 ダイナミックレンジの比較

ダイナミックレンジの設定によるクロマトグラムの比較として、図2に示した多環芳香族をスタンダードモードおよびワイドモードについて測定した結果を図4に示す。約5.3分に検出されるFluoreneピークはスタンダードモードではピークが飽和し定量ができないが、ワイドモードにすることによりピークの検出が可能である。

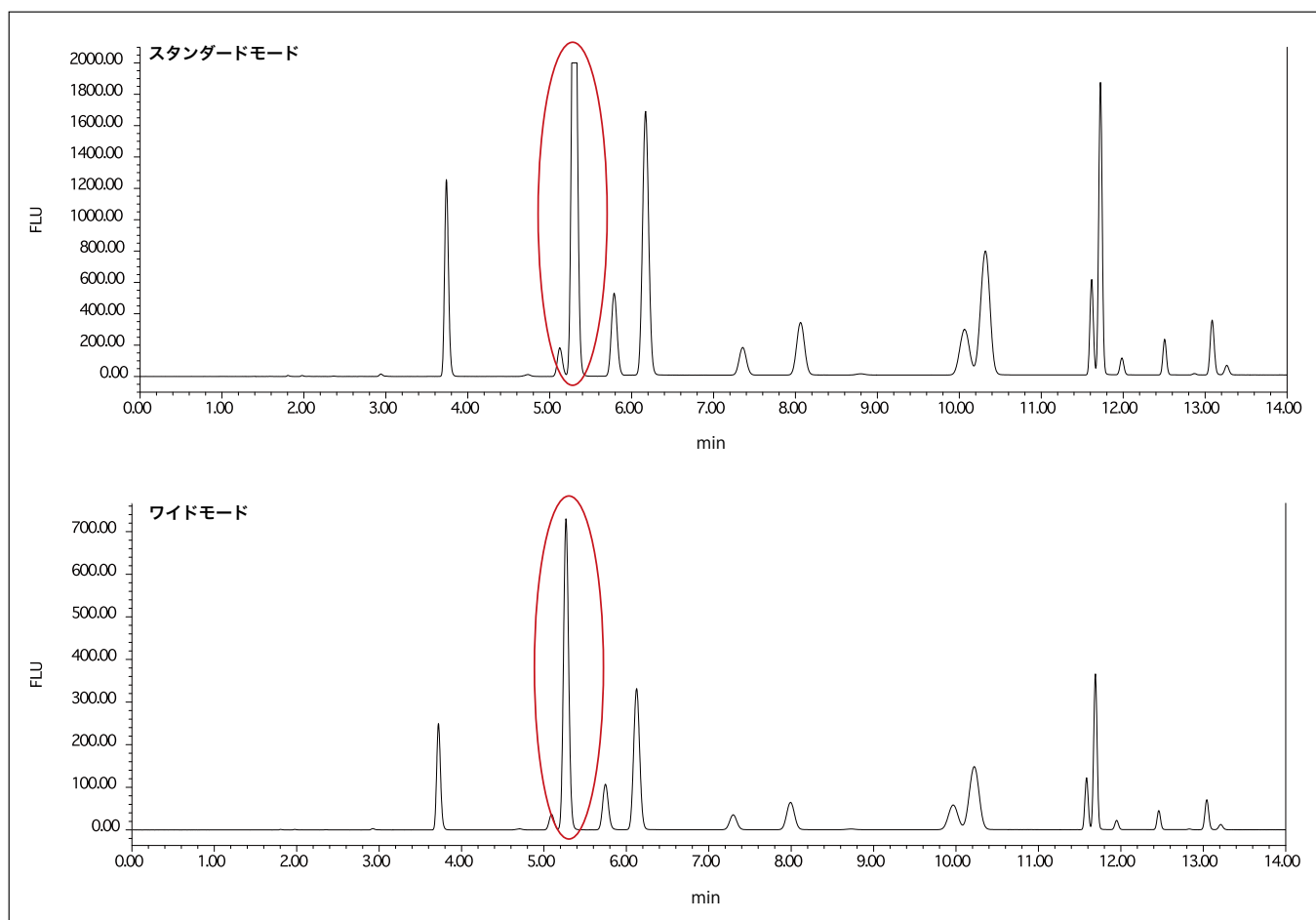


図4 ダイナミックレンジ設定によるクロマトグラムの比較

3. アプリケーションの紹介

超高速液体クロマトグラフのアプリケーションの一つとして、アミノ酸分析が注目されている。日立ハイテクサイエンスでは、従来から、精密定量が可能なポストカラム誘導体化法を採用した専用機 (L-8900 形) および汎用 HPLC (Chromaster シリーズ) に関してのアプリケーションがあるが、今回これに加えて ChromasterUltra Rs 6440 蛍光検出器を用いて超高速アミノ酸分析に対応したアプリケーションを紹介する。

超高速アミノ酸分析では、あらかじめ誘導体化試薬と反応させたアミノ酸 (プレカラム誘導体化法) を ODS カラムで分離する。誘導体化試薬としては NBD-F (4-Fluoro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole) を用いた。本手法は UV 検出器でも検出可能であるが、蛍光検出器との組み合わせにより、超高感度分析が可能 (fmol 単位でアミノ酸を検出可能) である。本手法ではアミノ酸 19 成分を 9 分間で分析可能である。

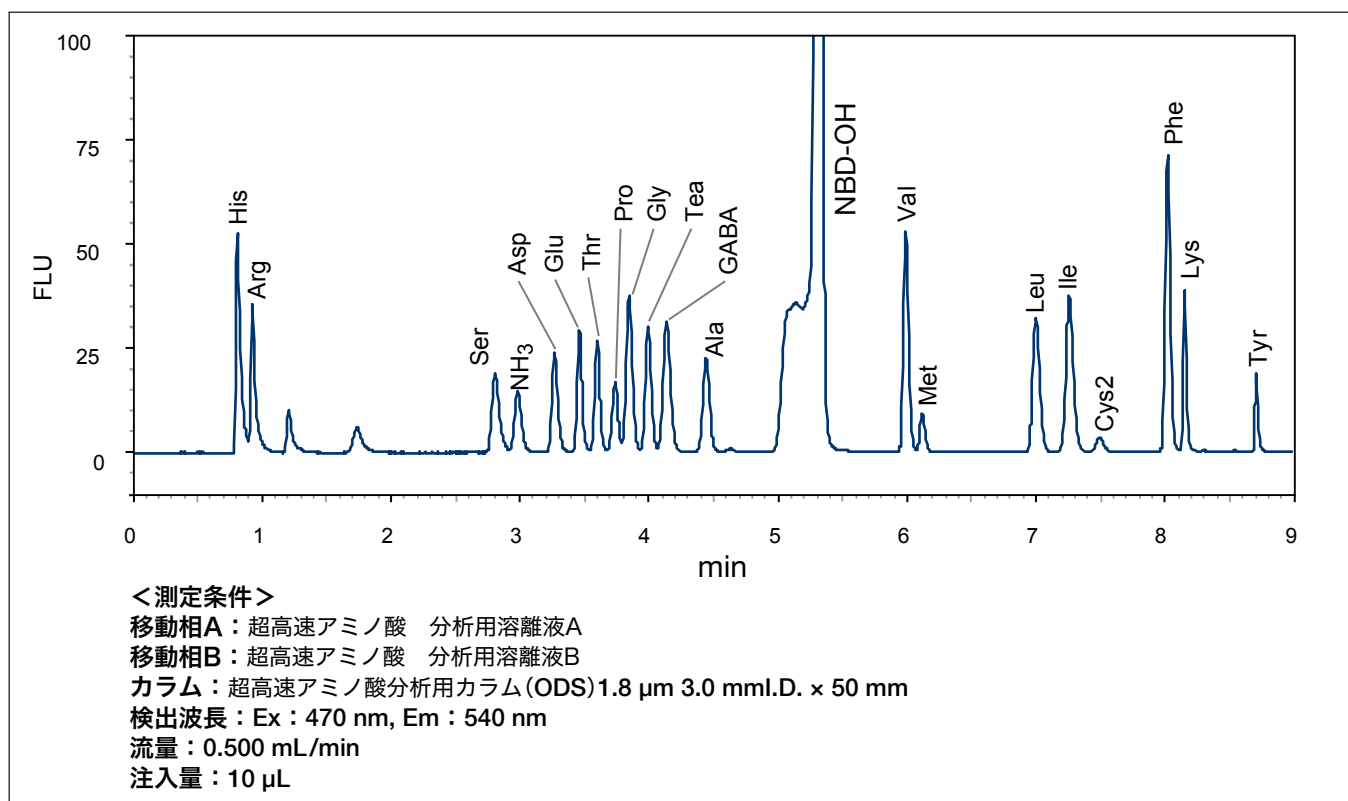


図5 ChromasterUltra Rs 蛍光検出器システムによるNBD-Fアミノ酸標準試料の測定

4. まとめ

蛍光検出器は励起波長と蛍光波長の二つの波長を設定して測定することから、一般的に目的物質に対する選択性が高く、UV検出器と比較して高感度に測定することが可能であり、微量成分の分析に適している。今後も ChromasterUltra Rs 6440 蛍光検出器を用いた新規アプリケーションの対応を図る。

著者所属

*1清水克敏 青田俊道 和田宏之 秋枝大介 伊藤正人
 (株)日立ハイテクサイエンス 光学技術部

*2宝泉雄介
 (株)日立ハイテクサイエンス 経営改革部