

●LC-逆グラジエント CAD による多成分の均一応答性定量

Multi-component Quantitation with Uniform Response
by LC-Inverse Gradient Condition CAD

TN527

[概要]

液体クロマトグラフの検出器の中でも CAD (Charged Aerosol Detector; 荷電化粒子検出器) は、物質の構造に依存せずに、あらゆる成分を検出可能です。さらに、逆グラジエント法を採用することで成分の応答性を均一に保つことが可能であり、精度の高い換算定量も可能です。この特徴から、液体クロマトグラフ-逆グラジエント CAD は、天然物由来原料の品質管理等、様々な構造の有機化合物を含有する多成分混合物の網羅的スクリーニング分析に有用です。ここでは、この分析手法の特徴と、天然系混合成分の網羅的分析の事例を紹介します。

キーワード: 添加剤、界面活性剤、高分子、バイオポリマー、リサイクルポリマー

[手法]

液体クロマトグラフ - 荷電化粒子検出器 (LC-CAD)

液体クロマトグラフは移動相として液体を用い、カラムの固定相と移動相との間で生じる各分析種の相互作用の差によって混合物の分離を行います (Fig. 1)。CAD は、移動相 (溶離液) を蒸発させて分析種を球状微粒子とし、コロナ電極によってプラスに荷電した窒素イオンと衝突させて帯電させ、その電荷量を検出します (Fig. 2)。

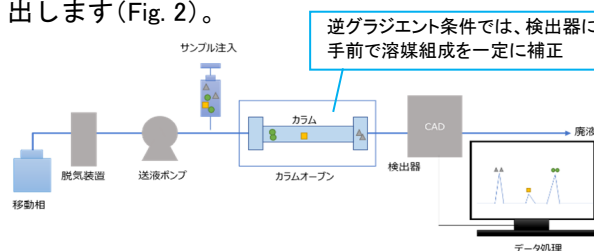


Fig. 1 液体クロマトグラフの構成図

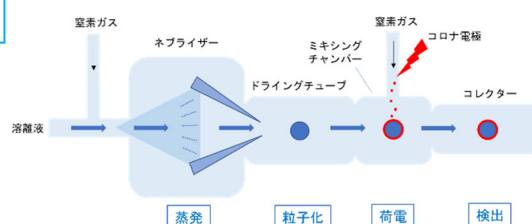


Fig. 2 荷電化粒子検出器の機構図

[CADの特徴]

LC 検出器は CAD の他に、汎用的に用いられる UV (紫外吸光度検出器) および MS (質量分析計) があります。UV は主に定量分析に用いられ、目的成分が検出できる特定の UV 波長を設定し、測定しますが、その波長に UV 吸収を持たない成分は検出しません。MS は検出成分の定性や高感度定量に用いられませんが、イオン化条件によって検出できる成分が異なります。一方、CAD は UV と同様に定量分析に用いられませんが、UV 吸収がなくても不揮発/半揮発性化合物であれば化学構造を問わず検出可能です。また LC-MS と同じ移動相で測定することが可能なため、同条件で LC-MS で定性することができます。

[事例]

事例-1) 均一応答性を生かした換算定量 (LC-逆グラジエント CAD)

CAD は物質の構造には依存しない検出器ですが、その応答性は噴霧 (蒸発) や粒子化工程において溶媒組成の影響を受けます。測定後半で有機溶媒の比率が高くなるグラジエント条件では、Fig. 3 に示すように、後半のピーク応答性が上がってしまいますが、検出器に導入される溶媒組成を一定に補正する逆グラジエント法を採用することで、溶媒の揮発効率が一定になり、Fig. 4 のように測定前半と後半での応答性の差を小さくすることができます。

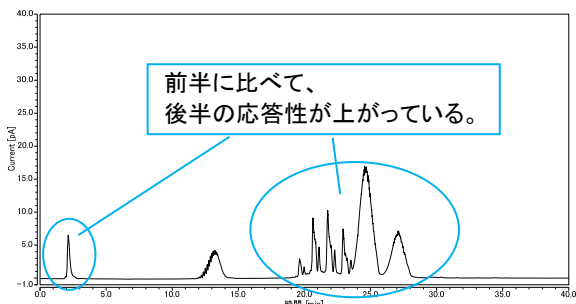


Fig. 3 通常のグラジエント条件でのクロマトグラム

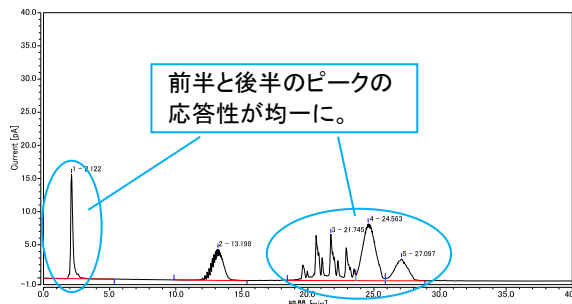


Fig. 4 逆グラジエント条件でのクロマトグラム

Fig. 4 に示す洗剤の繰り返し測定 (n=6) の再現性は、検出時間の RSD (relative standard deviation) 0.4% 以下、ピーク面積の RSD 6% 以下であり良好でした。また、標準試料のない化合物でも、別の化合物を用いた換算定量値で精度よく評価することが可能です。例としてドデシル硫酸ナトリウムを用いた換算定量の結果を Table 1 に示します。

Table 1 洗剤の繰り返し測定 (n=6) の再現性

ピーク No	検出時間 (min)	検出時間の RSD (%)	ピーク面積の RSD (%)	換算定量値 (SDS*換算) (μg/mL)
1	2.1	0.2	1.8	41
2	13.2	0.4	0.8	55
3	21.7	0.0	5.9	91
4	24.6	0.1	1.3	120
5	27.1	0.1	1.6	46

*SDS: Sodium Dodecyl Sulfate (ドデシル硫酸ナトリウム)

事例-2) 天然系混合成分の網羅的分析 (MS vs UV vs CAD)

天然系洗剤について各検出器を用いて測定した際のクロマトグラムを Fig. 5 に示します。LC-MS 測定において (Fig. 5-1)、Negative モードで検出した 20 分のピーク 1 および Positive モードで検出した 24 分のピーク 2 は LC-UV ではいずれも検出せず (Fig. 5-2)、LC-逆グラジエント CAD では両ピークとも検出することができました (Fig. 5-3)。

【おわりに】

今回測定対象とした天然系洗剤のように、自然環境にやさしい天然物は、今後様々な分野で利用が期待されます。しかし、産地や季節によって機能性成分の量や種類は変動し性能に影響が及ぶため、その含有物や含有量の把握が品質管理上、重要になってきます。水溶性の機能性成分は、水系の液体クロマトグラフで検出可能な成分が多いため、LC-逆グラジエント CAD は精度の高い換算定量値を用いた成分の傾向管理にも対応できます。

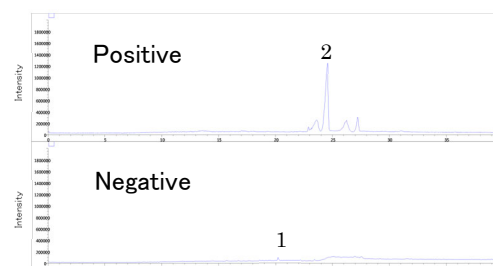


Fig. 5-1 LC-MS クロマトグラム

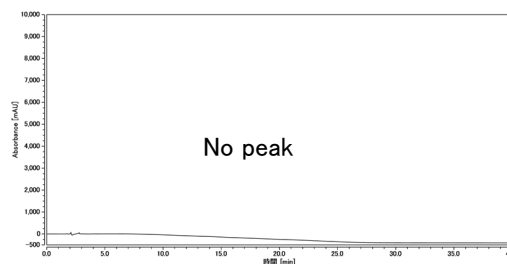


Fig. 5-2 LC-UV クロマトグラム (波長 210 nm)

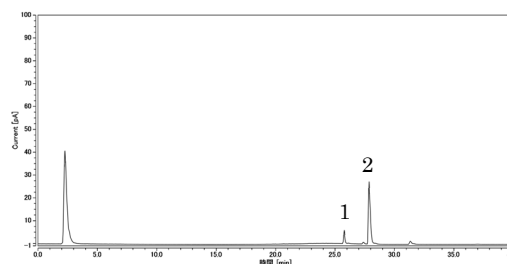


Fig. 5-3 逆グラジエント LC-CAD クロマトグラム