

高速高分離分析の応用 (その36) “Nexera”によるキノロン系合成抗菌薬の分析

High Speed with High Resolution Analysis (Part 36)

Analysis of Quinolones by “Nexera”

キノロン系合成抗菌薬は、感染症などの予防・治療のため、家畜、家禽、養殖魚類にも広く使用されており、多くの種類があります。

ここでは、超高速LCシステム“Nexera”および高感度蛍光検出器“RF-20Axs”を用いたキノロン系合成抗菌薬の一斉分析例をご紹介します。

K. Yamabe

■分析時間の短縮

Reduction of Analysis Time

キノロン系合成抗菌薬11成分について、一斉分析を行いました。検出は蛍光検出器“RF-20Axs”を用い、標準混合液(各1 mg/L, 30%メタノールで調製)を注入しました。分析カラムには、コンベンショナルカラムと高速分析用カラム2種を用いました。Fig. 1に、各カラムのクロマトグラム①～③を、Table 1に分析条件を示します。

粒子径2.2 μmの“Shim-pack XR-ODS”を用いることにより、分析時間をコンベンショナルカラムの約1/6に短縮でき、さらに粒子径1.6 μmの“Shim-pack XR-ODSⅢ”を用いることにより、約1/12に短縮できました。

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

Column	: ①Shim-pack VP-ODS (150 mm L. × 4.6 mm I.D., 4.6 μm) ②Shim-pack XR-ODS (75 mm L. × 3.0 mm I.D., 2.2 μm) ③Shim-pack XR-ODSⅢ (50 mm L. × 2.0 mm I.D., 1.6 μm)
Mobile Phase	: A; 0.1% Formic acid-Water B; 0.1% Formic acid-Acetonitrile
Flow Rate	: ①1 mL/min ②1.3 mL/min ③0.8 mL/min
Gradient Program	: ①B. Conc. 3% (0 min) → 15% (18 min) → 35% (21 - 27 min) → 95% (27.01 - 31.8 min) → 3% (31.81 - 45 min) ・ Mixer : 20 μL ②B. Conc. 3% (0 min) → 15% (3 min) → 35% (3.5 - 4.5 min) → 95% (4.51 - 5.3 min) → 3% (5.31 - 7.5 min) ・ Mixer : 20 μL ③B. Conc. 3% (0 min) → 15% (1.5 min) → 35% (1.75 - 2.25 min) → 95% (2.26 - 2.65 min) → 3% (2.66 - 3.75 min) ・ Mixer : 20 μL
Column Temp.	: 65 °C
Injection Volume	: ①2 μL ②0.8 μL ③0.4 μL
Detection	: RF-20Axs Ex. at 299 nm, Em. at 455 nm, Gain × 4 (for Peak1-8) Ex. at 325 nm, Em. at 365 nm, Gain × 16 (for Peak9-11)
Cell Temp.	: 20 °C
Flow Cell	: ①Conventional Cell ②Semi-micro Cell ③Semi-micro Cell

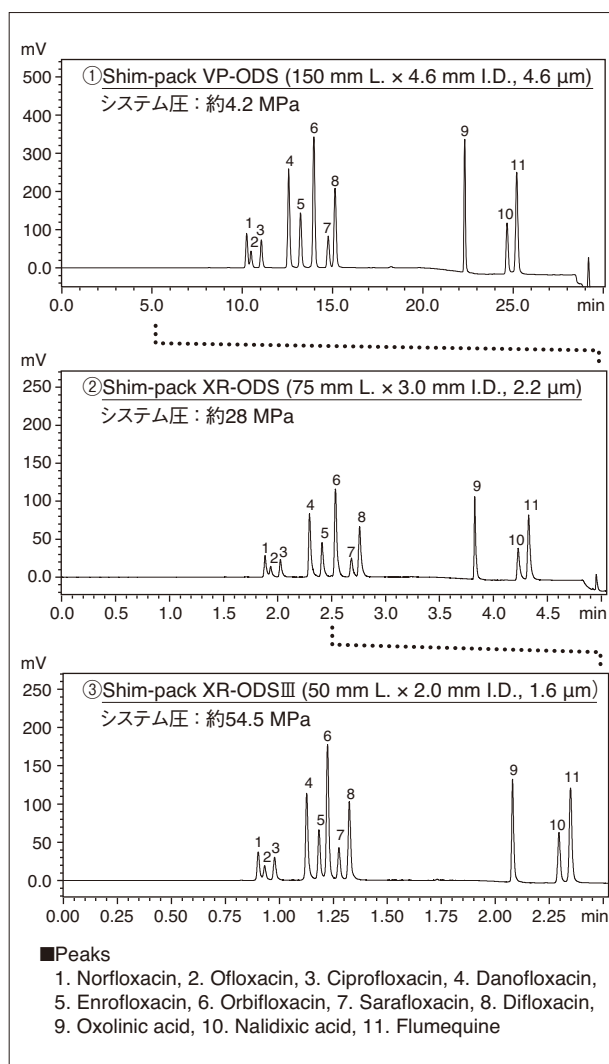


Fig. 1 キノロン系合成抗菌薬11成分のクロマトグラム (各1 mg/L)
Chromatograms of a Standard Mixture of 11 Quinolones (1 mg/L each)

■フローセルの選択

Selection of Flow Cell Type

“RF-20Axs”には、コンベンショナルセルとセミマイクロセルの2種類があります。これらを比較するため、“Shim-pack XR-ODS” (75 mm L. × 3.0 mm I.D., 2.2 μm) を用いて同じ分析を行いました。

Fig. 2に、得られたクロマトグラムを示します。クロマトグラム中、AとBのペアにおける分離度をTable 2にまとめました。これより、感度を優先する場合には、コンベンショナルセルを、また分離を優先する場合には、セミマイクロセルを選択すれば良いことがわかります。

Table 2 AとBにおける分離度 (Rs)
Resolution(Rs) at A and B

Flow Cell Type	Resolution(Rs)	
	A	B
Conventional Cell	1.40	1.74
Semi-micro Cell	1.85	2.43

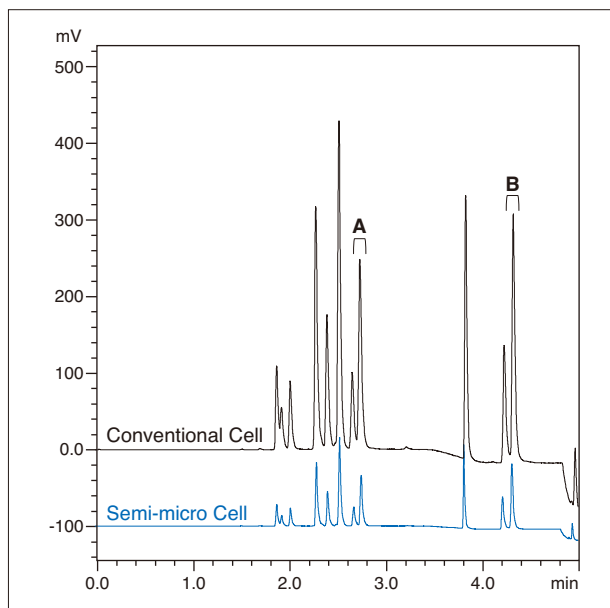


Fig. 2 コンベンショナル、セミマイクロセルによるクロマトグラム比較
Comparison of Chromatograms with Conventional Cell and Semi-micro Cell

■セル温調の効果

Effect of Cell Temperature Control

一般に、蛍光強度は温度の影響を受けやすいことが知られています。Fig. 3に、検出器セル温調ON (20 °C)の場合とOFF場合のクロマトグラムを示します。Table 3には、セル温調ONにおけるピーク面積の増加率をまとめました。ほとんどの成分で、セル温調によりレスポンスの増加が確認されました。本分析のようにカラムオープン温度が高い場合 (本分析では65 °C)、RF-20Axsを用いてセル温度 (検出温度) を下げることにより、感度上昇が期待できるとともに、室温変動に影響されない精度の高い分析が可能となります。

Table 3 セル温調によるピーク面積の増加率
Percentage of Peak Area Increase by Cell Temperature Control

Peak No.	Area (%)	Peak No.	Area (%)
1	21.5	7	22.0
2	0	8	20.3
3	19.7	9	27.0
4	8.4	10	24.0
5	18.0	11	8.6
6	29.0		

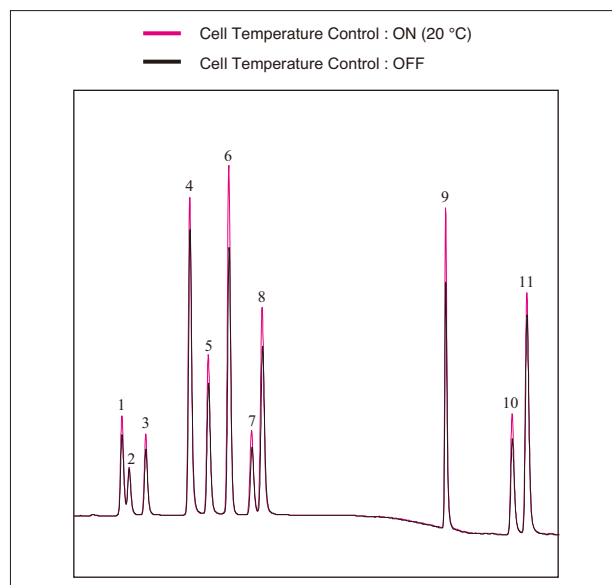


Fig. 3 セル温調によるピークレスポンス比較
Effect of Cell Temperature Control on Peak Response

初版発行：2011年1月

島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

● ☎ 0120-131691 (携帯電話不可)
● 携帯電話専用番号 (075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>
会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。