

HPLCの基礎

1_HPLC分析の概要

株式会社 島津製作所

分析計測事業部 グローバルアプリケーション開発センター

岩田 奈津紀

2021年5月

HPLCとは何の略？

英文名と和文名の違い・・・

【英文名】 High Performance Liquid Chromatography

【和文名】 高速液体クロマトグラフィー

- HPLC誕生時(1969年頃), 従来の古典的液体クロマトグラフィーが高速化されたものとして, 「High Speed Liquid Chromatography」と呼ばれた
- その後, 高性能化の意味合いが強まり, 現在の英文名となった
- 和文名は, 最初に紹介された「High Speed Liquid Chromatography = 高速液体クロマトグラフィー」が, 現在も正式名称となっている

用語の使い分け

クロマトグラフィー : 手法

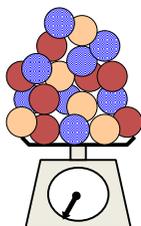
クロマトグラム : 得られたチャート

クロマトグラフ : 装置

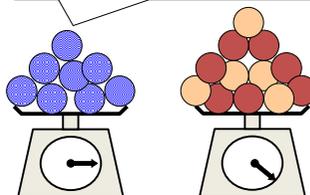
クロマトグラフィーとは何？

混合物から目的成分を分離すると・・・

混ぜたままでは、青いボール(目的成分)が何gあるかわからない・・・



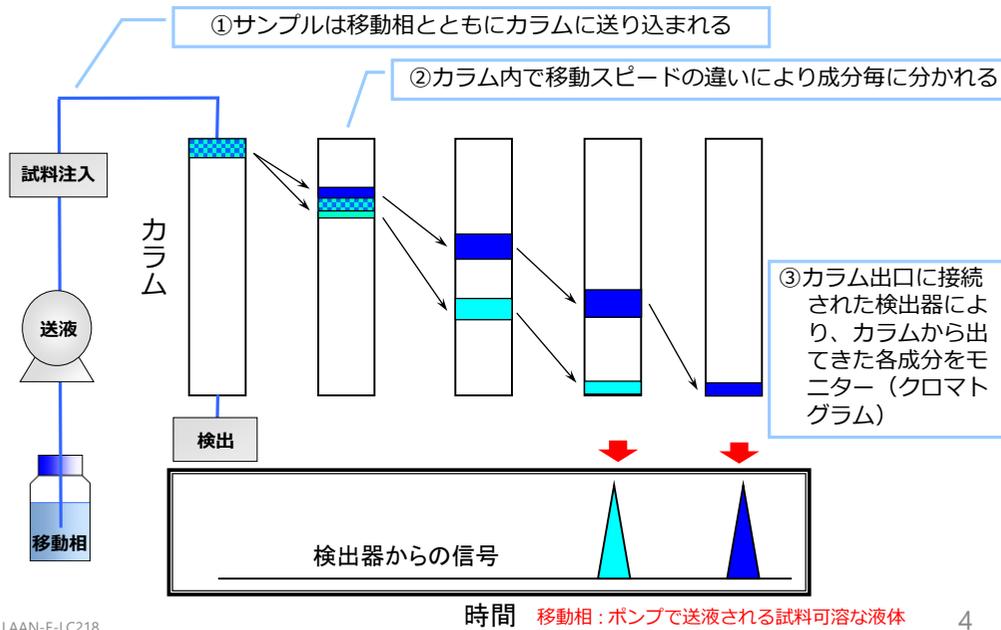
分離



他のボールと分ける(分離する)ことにより、青いボールが何gあるかわかり、取り出すこと(分取)もできる

- クロマトグラフィーは分離分析手法のひとつ
- 混合物から目的成分を分離して検出する手法
- 目的成分の量を知る目的の他、目的成分の分取にも用いる

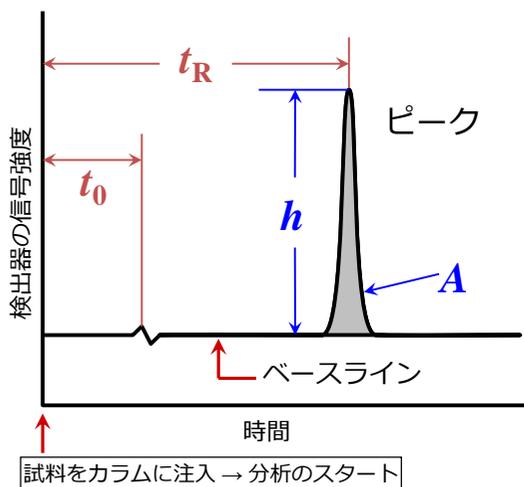
HPLCの仕組み



- 基本用語とクロマトグラムの読み方
- HPLCにおける定性と定量

HPLCのデータ（クロマトグラム）の読み方

- クロマトグラム上の情報と意義



- ① 検出された時間（保持時間）にて化合物を特定→**定性**
- ② 検出された大きさ（ピーク面積またはピーク高さ）にて化合物の量を測定→**定量**

注) 濃度既知の標準試料と測定試料（未知試料）の比較が必要

- t_R : 保持時間
 ……ピーク頂点の時間
- t_0 : 非保持の時間
- A : ピーク面積
- h : ピーク高さ

定性分析と定量分析

- **定性**
… どのような物質かを調べる
- **定量**
… どれだけの量が入っているかを調べる

・何が… →定性
・どれだけ… →定量

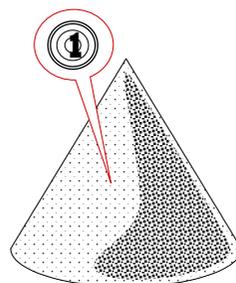
砂利の中の1円玉の例では…

定性

→ 砂利に混ざっているもの : **1円玉**

定量

→ 砂利に混ざっている1円玉の量 : **1 g/kg**



HPLCにおける定性

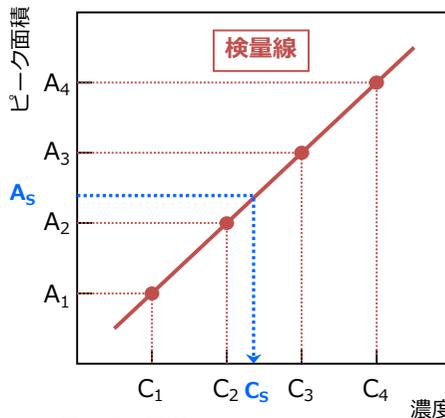
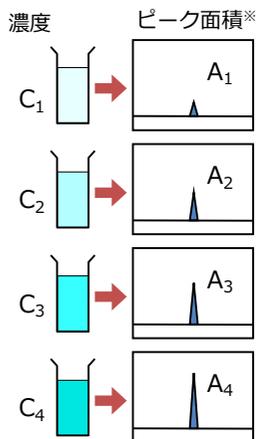
- **目的成分の保持時間**
… 標準品クロマトグラム中の目的成分の保持時間との一致を確認
- **検出器でのスペクトル採取**
… 夾雑成分と目的成分の保持時間が一致することもあるため、紫外(可視)吸収スペクトルやマススペクトルで確認
- **分取後、他の分析装置**
… 目的成分が含まれる溶出液を分取して、構造解析装置などで確認

HPLCにおける定量

検量線(calibration curve)

目的成分濃度と応答値(この場合はピーク面積) の関係を示すグラフ

… 目的成分の標準液より検量線を作成して定量



A_s : 試料中の目的成分面積

C_s : 試料中の目的成分濃度

※ ピーク高さを用いる場合もある

LAAN-E-LC218

9

ご清聴ありがとうございました

動画の内容は掲載時点の情報であり、最新のものとは異なる場合があります。

本発表内に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。
なお、本発表中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

10