

## 高速液体クロマトグラフィー No. L247

HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

### 海水中のクロロフィル(a)の分析

Analysis of Chlorophyll (a) in the Sea Water

海水中のクロロフィル量は、海洋資源の基礎生産量分布の把握の指標として重要です。本試料の分析には、蛍光分光光度計が用いられていますが、前処理が複雑であったり、クロロフィル各成分の分離が困難で総量として

しか濃度が得られないなどの問題を有していました。

そこで、これをフォトダイオードアレイ検出器を備えたHPLCにより分析する方法が採用されてきています。

ここではそれについて紹介します。(N.Hamada)

#### クロロフィル標準溶液の分析

Analysis of Chlorophyll (a) Standard Solution

Fig.1はクロロフィル(a)140ppb標準溶液を50 $\mu$ l注入し、波長339nm, 430nmでモニタしたクロマトグラムです。12.9分にクロロフィル(a)が確認されました。また、Fig.2に本データより得られたクロロフィル(a)のスペクトルを示します。Table 1に分析条件を示しました。

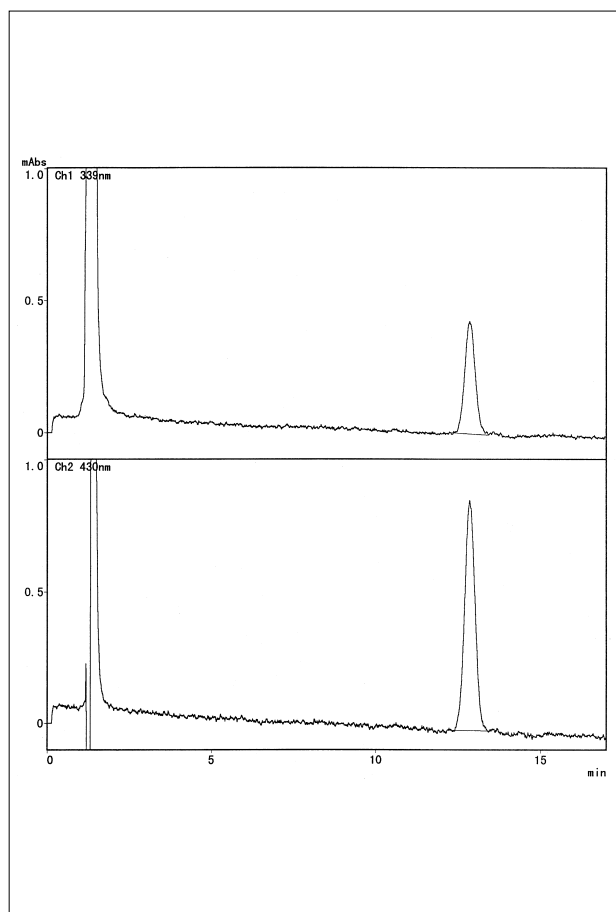


Fig.1 クロロフィル(a)標準溶液のクロマトグラム  
Chromatograms of Chlorophyll (a) Standard Solution

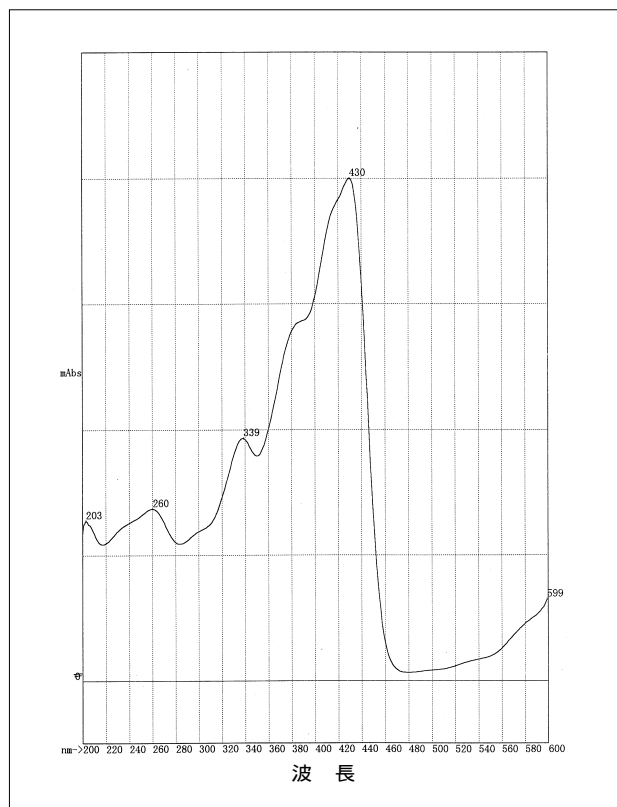


Fig.2 クロロフィル(a)標準溶液のスペクトル  
Spectrum of Chlorophyll (a)

Table 1 Analytical Conditions

Instrument	: Shimadzu High Performance Liquid Chromatograph LC-10A System
Column	: STR ODS-II (4.6mm I.D. × 150mmL.)
Mobile Phase	: Methanol : 0.1M Ammonium acetate = 98:2
Flow rate	: 1.5 mL/min
Col. Temp.	: 40
Detector	: Photo Diode Array UV-VIS Detector (SPD-M10AVP)
Injection Vol.	: 50 $\mu$ L

## 海水中のクロロフィルの分析

Analysis of Chlorophyll in the Sea Water

海中からのクロロフィルの抽出は以下の処理で行いました。Fig. 3, 4は海水の分析例です。本試料からは各々21.4ppb, 24.6ppbのクロロフィルが検出できました。

クロロフィルと思われるピークについてスペクトルを確認したところ, Fig. 5のように良好な一致をみました。

Fig. 6にピュリティー曲線を示します。これにより本ピークは夾雑のない単一成分であることがわかりました。

Table 2 Pretreatment Conditions

採水	Nansen採水器もしくはバケツによる表面採水。 (1ℓもしくは250mlプラ茶ビンに分注)
ろ過	プラ茶ビンをよく振って海水をよく混ぜる。  プラスチックシリンダに230mlあるいは1ℓ分注入する。 (シリンダ内にMgCO <sub>3</sub> 懸濁液は入れない)  Whatman GF/Fフィルタをセット。  吸引ポンプ作動(0.33 - 0.5atm), ろ過する海水を注入。  GF/Fフィルタを取りだし定性ろ紙上で水分をぬぐう。  サンプルチューブに入れて船上冷凍庫(-18℃)で保存, アルミホイルで包む。
保管	分析時まで-80℃のメディカルフリーザーに保管。
分析	ガラスフィルタをヒスコトロンで粉碎したのち, 90% アセトンで超音波抽出。  3000rpmで5分間遠沈。  上澄みをPTFEシリンジフィルタでろ過し, オートサンブラに分注。  HPLC

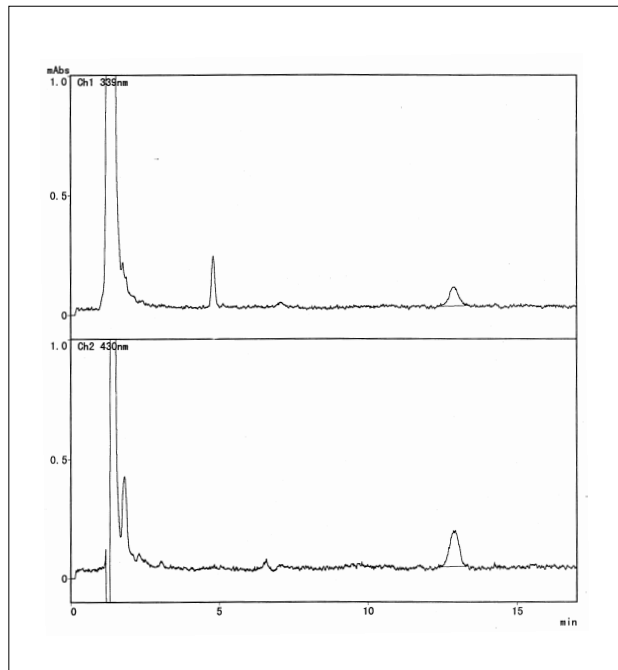


Fig.4 海水中のクロロフィル(a)の分析2  
Chromatogram of Chlorophyll (a) in Sea Water 2

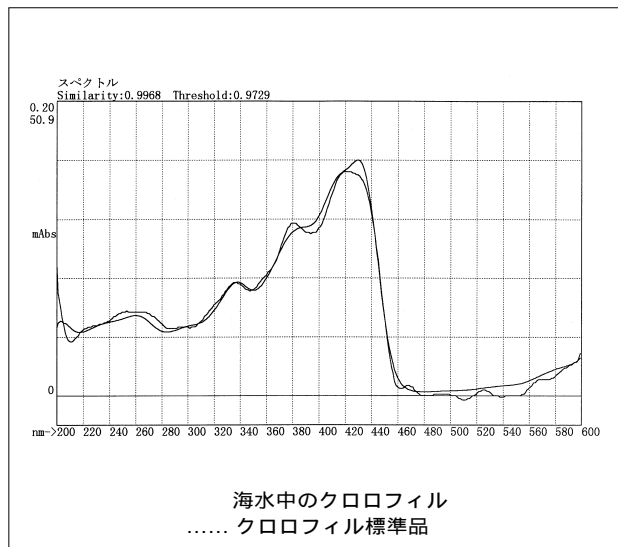


Fig.5 海水中のクロロフィル(a)のスペクトル  
Spectra of Chlorophyll (a) in Sea Water

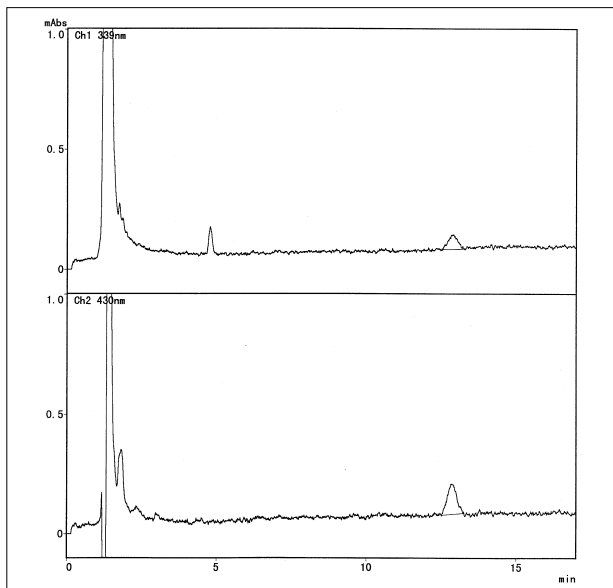


Fig.3 海水中のクロロフィル(a)の分析1  
Chromatogram of Chlorophyll (a) in Sea Water 1

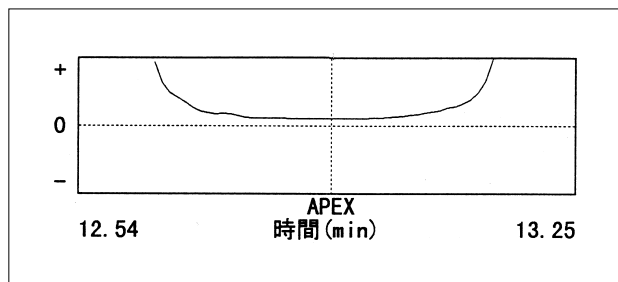


Fig.6 ピュリティー曲線  
Purity Curve

試料提供および前処理手法の指導は北海道立中央水産試験場・八木宏樹博士よりいただきました。

初版発行: 1997年4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。