

明 細 書

発明の名称：分析方法

技術分野

[0001] 本発明は、分析方法に関するものである。

背景技術

[0002] 例えば、下記特許文献1で開示される液体クロマトグラフでは、複数のカラムを用いた分析処理を同時に実行可能に構成される。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：国際公開第2020/183663号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 本願発明者は、例えば食肉（魚を含む。）等の食品の鮮度及び腐敗の両方を短時間で分析するために、上記のような液体クロマトグラフを用いて分析を行うことを検討した。食品の鮮度は、イノシン酸を含むATP関連物質を分析することにより測定可能である。一方、食品の腐敗は、ヒスタミンを分析することにより測定可能である。ヒスタミン及びグルタミン酸を含む特定のアミノ酸（以下、「ヒスタミン・アミノ酸」という。）を分析する際には、それらを誘導体化した上で、検出器により検出する。

[0005] ATP関連物質及びヒスタミン・アミノ酸の両方の分析を行う場合、誘導体化を行わないATP関連物質と、誘導体化を行うヒスタミン・アミノ酸とで、異なる分析系統で分析を行う必要がある。この場合、ATP関連物質を分析するための分析装置と、ヒスタミン・アミノ酸を分析するための分析装置とを準備することも考えられるが、装置の設置スペースの問題等が生じる。そこで、上記のような液体クロマトグラフを用いて、2つのカラムの一方のカラムでATP関連物質を分析し、他方のカラムでヒスタミン・アミノ酸を分析することが考えられる。

[0006] このような検討の過程で、本願発明者は、食品に含まれるイノシン酸、グルタミン酸とともにうま味成分の一例であるグアニル酸を、ＡＴＰ関連物質及びヒスタミン・アミノ酸と同時に分析することを試みるに至った。この場合、グアニル酸を分析するためのカラムを別途設けて、３つのカラムで分析を行うことも考えられるが、誘導体化を行わないＡＴＰ関連物質と同じカラムを用いて分析すれば効率的である。

[0007] しかしながら、ＡＴＰ関連物質に含まれるイノシン酸は、グアニル酸と保持時間が近い。そのため、イノシン酸及びグアニル酸に対応する各ピークが分離されたクロマトグラムを取得することは困難であることが分かった。

[0008] 本発明は、上記実情に鑑みてなされたものであり、誘導化されていない第１試料及び誘導化された第２試料のそれぞれに含まれる成分の分析を並行して行う場合に、第１試料に含まれるイノシン酸及びグアニル酸に対応する各ピークを分離することができる分析方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明の第１の態様は、それぞれＯＤＳカラムにより構成される第１カラム及び第２カラムを用いて、誘導体化されていない第１試料を第１移動相とともに前記第１カラム内に導入し、前記第１試料に含まれる成分を分析する第１分析工程と、誘導体化された第２試料を第２移動相とともに前記第２カラム内に導入し、前記第２試料に含まれる成分を分析する第２分析工程とを並行して行うための分析方法であって、前記第１試料には、イノシン酸及びグアニル酸が含まれ、前記第１分析工程では、１８５ｍｍ以上の長さを有する前記第１カラムで前記第１試料に含まれる成分を分離することにより、１．５以上の分離度でイノシン酸及びグアニル酸に対応する各ピークが分離されたクロマトグラムを取得する。

発明の効果

[0010] 本発明によれば、誘導化されていない第１試料及び誘導化された第２試料のそれぞれに含まれる成分の分析を並行して行う場合に、第１試料に含まれるイノシン酸及びグアニル酸に対応する各ピークを分離することができる。

図面の簡単な説明

- [0011] [図1]本実施形態の液体クロマトグラフの構成の一例を示すブロック図である。
- [図2]本実施形態のオートサンプラの構成の一例を示す概略図である。
- [図3]本実施形態の液体クロマトグラフの電氣的構成の一例を示すブロック図である。
- [図4]本実施形態の分注工程を説明するための概略図である。
- [図5]本実施形態の分注工程を説明するための概略図である。
- [図6]本実施形態の分注工程を説明するための概略図である。
- [図7]本実施形態の分注工程を説明するための概略図である。
- [図8]本実施形態の第1分析工程及び第2分析工程を説明するための概略図である。
- [図9]比較例における第1クロマトグラムを示す図である。
- [図10]図9の第1クロマトグラムの一部を拡大して示す図である。
- [図11]実施例における第1クロマトグラムを示す図である。
- [図12]実施例における他の第1クロマトグラムを示す図である。
- [図13]図11及び図12に対応する実施例におけるUVスペクトルの一例を示す図である。
- [図14]本実施形態の液体クロマトグラフの電氣的構成を具体的に示すブロック図である。

発明を実施するための形態

[0012] 1. 液体クロマトグラフの構成

図1は、本実施形態の液体クロマトグラフ10の構成の一例を示すブロック図である。図1に示すように、液体クロマトグラフ10は、第1分析系統20及び第2分析系統60を備える。

- [0013] 第1分析系統20は、容器22、流路管24、第1ポンプ26、流路管28、容器30、流路管32、第2ポンプ34、流路管36、第1ミキサ38、流路管40、第1切替バルブ102、流路管42、第1カラム44、流路

管 4 6 及び第 1 検出器 4 8 等を備える。

[0014] 第 2 分析系統 6 0 は、容器 6 2、流路管 6 4、第 3 ポンプ 6 6、流路管 6 8、容器 7 0、流路管 7 2、第 4 ポンプ 7 4、流路管 7 6、第 2 ミキサ 7 8、流路管 8 0、第 2 切替バルブ 1 1 0、流路管 8 2、第 2 カラム 8 4、流路管 8 6 及び第 2 検出器 8 8 等を備える。

[0015] 第 1 分析系統 2 0 では、流路管 2 4 の上流側端部は、容器 2 2 に挿入され、下流側端部は、第 1 ポンプ 2 6 に接続される。流路管 2 8 の上流側端部は、第 1 ポンプ 2 6 に接続され、下流側端部は、第 1 ミキサ 3 8 に接続される。

[0016] 流路管 3 2 の上流側端部は、容器 3 0 に挿入され、下流側端部は、第 2 ポンプ 3 4 に接続される。流路管 3 6 の上流側端部は、第 2 ポンプ 3 4 に接続され、下流側端部は、第 1 ミキサ 3 8 に接続される。

[0017] 流路管 4 0 の上流側端部は、第 1 ミキサ 3 8 に接続され、下流側端部は、第 1 切替バルブ 1 0 2 に接続される。流路管 4 2 の上流側端部は、第 1 切替バルブ 1 0 2 に接続され、下流側端部は、第 1 カラム 4 4 に接続される。流路管 4 6 の上流側端部は、第 1 カラム 4 4 に接続され、下流側端部は、第 1 検出器 4 8 に接続される。

[0018] また、容器 2 2 には、第 1 液 5 0 が収容され、容器 3 0 には、第 2 液 5 2 が収容される。第 1 液 5 0 及び第 2 液 5 2 は、具体的に、移動相を構成する溶媒であって、第 2 液 5 2 は、第 1 液 5 0 よりも有機溶媒の含有比率が高い。

[0019] 第 2 分析系統 6 0 では、流路管 6 4 の上流側端部は、容器 6 2 に挿入され、下流側端部は、第 3 ポンプ 6 6 に接続される。流路管 6 8 の上流側端部は、第 3 ポンプ 6 6 に接続され、下流側端部は、第 2 ミキサ 7 8 に接続される。

[0020] 流路管 7 2 の上流側端部は、容器 7 0 に挿入され、下流側端部は、第 4 ポンプ 7 4 に接続される。流路管 7 6 の上流側端部は、第 4 ポンプ 7 4 に接続され、下流側端部は、第 2 ミキサ 7 8 に接続される。

- [0021] 流路管 80 の上流側端部は、第 2 ミキサ 78 に接続され、下流側端部は、第 2 切替バルブ 110 に接続される。流路管 82 の上流側端部は、第 2 切替バルブ 110 に接続され、下流側端部は、第 2 カラム 84 に接続される。流路管 86 の上流側端部は、第 2 カラム 84 に接続され、下流側端部は、第 2 検出器 88 に接続される。
- [0022] また、容器 62 には、第 3 液 90 が収容され、容器 70 には、第 4 液 92 が収容される。第 3 液 90 及び第 4 液 92 は、具体的に、移動相を構成する溶媒であって、第 4 液 92 は、第 3 液 90 よりも有機溶媒の含有比率が高い。
- [0023] 第 1 切替バルブ 102 及び第 2 切替バルブ 110 は、オートサンプラ 100 の一部を構成している。オートサンプラ 100 については、第 1 分析系統 20 及び第 2 分析系統 60 で共用される。
- [0024] 第 1 分析系統 20 では、たとえば、第 1 ポンプ 26 及び第 2 ポンプ 34 を駆動させると、第 1 液 50 及び第 2 液 52 が第 1 ミキサ 38 で混合されて第 1 移動相 54 が生成され、その第 1 ミキサ 38 から流路管 40 に第 1 移動相 54 が導出される。すなわち、この場合、第 1 移動相 54 は、第 1 液 50 及び第 2 液 52 を含む。
- [0025] また、たとえば、第 1 ポンプ 26 だけを駆動させると、第 2 液 52 が第 1 ミキサ 38 に導入されないため、第 1 液 50 のみを含む第 1 移動相 54 が第 1 ミキサ 38 から流路管 40 に導出される。
- [0026] さらに、第 2 ポンプ 34 だけを駆動させると、第 1 液 50 が第 1 ミキサ 38 に導入されないため、第 2 液 52 のみを含む第 1 移動相 54 が第 1 ミキサ 38 から流路管 40 に導出される。
- [0027] したがって、第 1 分析系統 20 では、第 1 ポンプ 26 及び第 2 ポンプ 34 を適宜に駆動し、第 1 液 50 及び第 2 液 52 の流量を調整することで、第 1 移動相 54 における第 1 液 50 及び第 2 液 52 の混合比率を調整してグラジエント分析を行うことができる。
- [0028] また、第 1 移動相 54 には、オートサンプラ 100 の第 1 切替バルブ 10

2を用いて、試料が注入される。さらに、試料が注入された第1移動相54が、第1カラム44を通過した後に、第1検出器48に導入されることで、第1カラム44を通過する過程で分離された試料中の各成分に対応するピークを含むクロマトグラムが取得される。

[0029] 第2分析系統60については、第1分析系統20と同様に、第3ポンプ66及び第4ポンプ74を適宜に駆動することで、第3液90及び第4液92の混合比率を調整してグラジエント分析を行うことができる。第3液90及び第4液92の混合比率が調整された第2移動相94は、第2ミキサ78から流路管80に導出される。

[0030] また、第2移動相94には、オートサンプラ100の第2切替バルブ110を用いて、試料が注入される。さらに、試料が注入された第2移動相94が、第2カラム84を通過した後に、第2検出器88に導入されることで、第2カラム84を通過する過程で分離された試料中の各成分に対応するピークを含むクロマトグラムが取得される。

[0031] 2. オートサンプラの構成

図2は、本実施形態のオートサンプラ100の構成の一例を示す概略図である。図2に示すように、オートサンプラ100は、上述した第1切替バルブ102及び第2切替バルブ110の他に、第1サンプルループ104、第1注入ポート106、開閉バルブ108、第2サンプルループ112、第2注入ポート114、第3切替バルブ116、洗浄ポート118、計量ポンプ120、ニードルループ122及びニードル124等を備える。

[0032] 第1切替バルブ102は、6つのポートA1～A6を有する六方バルブである。ポートA1は、第1注入ポート106と接続される。ポートA2は、開閉バルブ108と接続される。ポートA3は、第1サンプルループ104を介してポートA6と接続される。ポートA4は、流路管40と接続される。ポートA5は、流路管42と接続される。

[0033] さらに、第1切替バルブ102のロータシール（図示は省略）は、隣り合うポートを互いに接続する流路を3つ有している。第1切替バルブ102は

、ロータシールが回転することで第1状態及び第2状態間で切り替わる。第1状態と第2状態とでは、互いに接続されるポートの組み合わせが異なる。

[0034] 第1切替バルブ102が第1状態の場合は、図2に示すように、ポートA1及びポートA2が接続され、ポートA3及びポートA4が接続され、ポートA5及びポートA6が接続される。

[0035] つまり、第1切替バルブ102が第1状態の場合、流路管40は、ポートA4、ポートA3、第1サンプルループ104、ポートA6及びポートA5等を介して流路管42と接続される。また、第1注入ポート106は、ポートA1及びポートA2等を介して開閉バルブ108と接続される。

[0036] 一方で、第1切替バルブ102が第2状態の場合は、ポートA2及びポートA3が接続され、ポートA4及びポートA5が接続され、ポートA6及びポートA1が接続される。

[0037] つまり、第1切替バルブ102が第2状態（図5参照）の場合、流路管40は、ポートA4及びポートA5等を介して流路管42と接続される。また、第1注入ポート106は、ポートA1、ポートA6、第1サンプルループ104、ポートA3、ポートA2等を介して開閉バルブ108と接続される。

[0038] 第2切替バルブ110は、6つのポートB1～B6を有する六方バルブである。ポートB1は、第2サンプルループ112を介してポートB4と接続される。ポートB2は、流路管80と接続される。ポートB3は、流路管82と接続される。ポートB5は、第2注入ポート114と接続される。ポートB6は、排液流路と接続される。

[0039] さらに、第2切替バルブ110のロータシール（図示は省略）は、隣り合うポートを互いに接続する流路を3つ有し、第1切替バルブ102と同様に、ロータシールが回転することで第1状態及び第2状態間で切り替わる。

[0040] 第2切替バルブ110が第1状態の場合は、図2に示すように、ポートB1及びポートB2が接続され、ポートB3及びポートB4が接続され、ポートB5及びポートB6が接続される。

- [0041] つまり、第2切替バルブ110が第1状態の場合、流路管80は、ポートB2、ポートB1、第2サンプルループ112、ポートB4及びポートB3等を介して流路管82と接続される。また、第2注入ポート114は、ポートB5及びポートB6等を介して排液流路と接続される。
- [0042] 一方で、第2切替バルブ110が第2状態（図7参照）の場合は、ポートB2及びポートB3が接続され、ポートB4及びポートB5が接続され、ポートB6及びポートB1が接続される。
- [0043] つまり、第2切替バルブ110が第2状態の場合、流路管80は、ポートB2及びポートB3等を介して流路管82と接続される。また、第2注入ポート114は、ポートB5、ポートB4、第2サンプルループ112、ポートB1、ポートB6等を介して排液流路と接続される。
- [0044] 第3切替バルブ116は、5つのポートC1～C5を有するロータリバルブである。ポートC1は、洗浄ポート118と接続される。ポートC2は、オートサンプラ100の外部に配置され、洗浄液128を収容する容器126と接続される。ポートC3は、計量ポンプ120の吸込側に接続される。ポートC4は、計量ポンプ120の吹出側に接続される。ポートC5は、ニードルループ122を介してニードル124と接続される。
- [0045] また、第3切替バルブ116のロータシール（図示は省略）は、ポートC1、ポートC2、ポートC3又はポートC4のいずれかをポートC5と互いに接続する流路、及び、隣り合うポートを互いに接続する流路を有している。
- [0046] 第3切替バルブ116では、ロータシールが回転することで、第1状態、第2状態、第3状態、第4状態、第5状態又は第6状態に切り替え可能であって、第1状態から第6状態の各々では、互いに接続されるポートの組み合わせが異なる。
- [0047] 第3切替バルブ116が第1状態の場合は、図2に示すように、ポートC3及びポートC5が接続される。つまり、第3切替バルブ116が第1状態の場合は、計量ポンプ120の吸込側が、ポートC3、ポートC5及びニードルループ122を介してニードル124と接続される。

ドルループ 1 2 2 等を介して、ニードル 1 2 4 と接続される。

[0048] 第 3 切替バルブ 1 1 6 が第 2 状態の場合は、ポート C 4 及びポート C 1 が接続される。つまり、第 3 切替バルブ 1 1 6 が第 2 状態の場合は、計量ポンプ 1 2 0 の吹出側が、ポート C 4 及びポート C 1 等を介して、洗浄ポート 1 1 8 と接続される。

[0049] 第 3 切替バルブ 1 1 6 が第 3 状態の場合は、ポート C 2 及びポート C 3 が接続される。つまり、第 3 切替バルブ 1 1 6 が第 3 状態の場合は、計量ポンプ 1 2 0 の吸込側が、ポート C 3、及びポート C 2 等を介して、容器 1 2 6 と接続される。

[0050] 第 3 切替バルブ 1 1 6 が第 4 状態（図 5 参照）の場合は、ポート C 4 及びポート C 5 が接続される。つまり、第 3 切替バルブ 1 1 6 が第 4 状態の場合は、計量ポンプ 1 2 0 の吹出側が、ポート C 4、ポート C 5、ニードルループ 1 2 2 等を介して、ニードル 1 2 4 と接続される。

[0051] 第 3 切替バルブ 1 1 6 が第 5 状態の場合は、ポート C 1 及びポート C 5 が接続される。つまり、第 3 切替バルブ 1 1 6 が第 5 状態の場合は、洗浄ポート 1 1 8 が、ポート C 1、ポート C 5、ニードルループ 1 2 2 等を介して、ニードル 1 2 4 と接続される。

[0052] 第 3 切替バルブ 1 1 6 が第 6 状態の場合は、ポート C 2 及びポート C 5 が接続される。つまり、第 3 切替バルブ 1 1 6 が第 6 状態の場合は、容器 1 2 6 が、ポート C 2、ポート C 5、ニードルループ 1 2 2 等を介して、ニードル 1 2 4 と接続される。

[0053] なお、図示は省略するが、オートサンブラ 1 0 0 は、ニードル 1 2 4 を移動可能に支持し、電氣的に制御可能な移動機構を備える。また、第 1 切替バルブ 1 0 2、開閉バルブ 1 0 8、第 2 切替バルブ 1 1 0、第 3 切替バルブ 1 1 6 及び計量ポンプ 1 2 0 等は、電氣的に制御可能である。

[0054] 3. 液体クロマトグラフの電氣的構成

図 3 は、本実施形態の液体クロマトグラフ 1 0 の電氣的構成の一例を示すブロック図である。図 3 に示すように、液体クロマトグラフ 1 0 は、第 1 ポ

ンプ２６、第２ポンプ３４、第１検出器４８、第３ポンプ６６、第４ポンプ７４、第２検出器８８及びオートサンプラ１００等以外に、制御部２００、動作制御回路２１０、表示制御回路２１２、表示部２１４、操作検出回路２１６及び操作部２１８等を備える。

[0055] また、第１検出器４８、第２検出器８８、制御部２００、動作制御回路２１０、表示制御回路２１２、操作検出回路２１６の各々は、バス等の配線２０８を介して、互いに電氣的に接続される。

[0056] さらに、動作制御回路２１０は、第１ポンプ２６、第２ポンプ３４、第３ポンプ６６、第４ポンプ７４及びオートサンプラ１００に電氣的に接続される。さらにまた、表示制御回路２１２は、表示部２１４と電氣的に接続され、操作検出回路２１６は、操作部２１８と電氣的に接続される。

[0057] 制御部２００は、液体クロマトグラフ１０の全体的な制御を担う。制御部２００は、ＣＰＵ（Central Processing Unit）２０２を備える。また、制御部２００は、ＣＰＵ２０２が直接的にアクセス可能なＲＡＭ（Random Access Memory）２０４および記憶部２０６を備える。

[0058] ＣＰＵ２０２は、液体クロマトグラフ１０の各コンポーネントを制御する。ＲＡＭ２０４は、ＣＰＵ２０２のワーク領域およびバッファ領域として用いられる。記憶部２０６は、不揮発性メモリであり、たとえば、記憶部２０６としてＨＤＤ（Hard Disc Drive）またはＳＳＤ（Solid State Drive）等が用いられる。

[0059] 記憶部２０６には、液体クロマトグラフ１０の各コンポーネントを制御するための制御プログラムおよび制御プログラムの実行に必要とされる実行用データ等が記憶される。なお、記憶部２０６がＲＡＭ２０４を含むように構成されてもよい。

[0060] 動作制御回路２１０は、第１ポンプ２６、第２ポンプ３４、第３ポンプ６６、第４ポンプ７４及びオートサンプラ１００等を駆動させるための電圧を生成し、電圧をこれらに適宜に印加する。

[0061] 表示制御回路２１２は、ＧＰＵ（Graphics Processing Unit）およびＶＲ

AM (Video Random Access Memory) などを含み、GPUは、CPU202の指示の下、表示部214に種々の画面を表示するための表示画像をVRAMに生成し、生成した表示画像を表示部214に出力する。

[0062] 表示部214は、LCD (Liquid Crystal Display) 又はEL (Electro-Luminescence) ディスプレイなどの汎用の表示装置である。

[0063] 操作検出回路216は、操作部218への操作に応じた信号ないしデータを制御部200、具体的には、CPU202に出力する。

[0064] 操作部218は、ハードウェアキー（操作キー）を含む。操作キーとしては、たとえば、電源キー等が挙げられる。また、操作部218は、入力装置を含む。入力装置としては、たとえば、キーボード及びマウス等が挙げられる。

[0065] さらに、入力装置には、タッチパネルが含まれても良い。なお、この場合、タッチパネルは、表示部214の表示面上に設けられる。また、タッチパネルと表示部214は、一体的に形成されてもよい。

[0066] 4. 液体クロマトグラフの動作

このような液体クロマトグラフ10では、任意のタイミングで分注工程を行うことができる。たとえば、操作部218への所定の操作が検出されると、分注工程が行われる。

[0067] 分注工程は、試料を吸引及び吐出する工程である。また、本実施形態では、分注工程中は、第1カラム44への第1移動相54の導入及び第2カラム84への第2移動相94の導入が行われる。

[0068] 図4～図7は、本実施形態の分注工程を説明するための概略図である。なお、図4～図7に示すように、オートサンプラ100には、第1試料132を収容する容器130及び第2試料136を収容する容器134が予めセットされている。

[0069] 本実施形態において、第2試料136は、容器131に収容されている誘導体化試薬133を用いて誘導体化される。具体的には、空の容器135に、容器131から誘導体化試薬133が注入されるとともに、容器134か

ら第2試料136が注入されることにより、容器135内に、誘導体化された第2試料137が収容される。誘導体化の一例としては、蛍光誘導体化が挙げられる。誘導体化試薬133の種類は特に限定されるものではなく、複数種類（たとえば2種類）の誘導体化試薬が混合されたものであってもよいし、1種類の誘導体化試薬であってもよい。一方、第1試料132については、誘導体化されない。

[0070] 上記のようにして第2試料136の誘導体化が開始された後、第1試料132を吸引するための第1吸引動作が実施される。第1吸引動作が実施される際は、図4に示すように、ニードル124が容器130に挿入される。また、第1吸引動作が実施される際は、第1切替バルブ102、第2切替バルブ110及び第3切替バルブ116は、第1状態とされる。

[0071] 第1吸引動作では、計量ポンプ120が制御され、第1試料132がニードル124を介してニードルループ122に導入される。また、ニードルループ122に導入された第1試料132は、そのニードルループ122に貯留される。

[0072] 第1吸引動作が行われると、次に、第1試料132を吐出するための第1吐出動作が実施される。第1吐出動作が実施される際は、図5に示すように、ニードル124が第1注入ポート106に挿入される。また、第1吐出動作が実施される際は、第1切替バルブ102が第1状態から第2状態に切り替わり、第3切替バルブ116が第1状態から第4状態に切り替わる。さらに、第1吐出動作が実施される際は、開閉バルブ108が開かれる。

[0073] 第1吐出動作では、計量ポンプ120が制御され、ニードルループ122内の第1試料132が第1注入ポート106を介して第1サンプルループ104に導入される。また、第1吐出動作が行われると、第1サンプルループ104内の第1試料132が流れ出ないように、開閉バルブ108が閉じられる。これにより、第1サンプルループ104に導入された第1試料132は、その第1サンプルループ104内に貯留される。

[0074] 第1吐出動作が実施されると、次に、ニードル124を洗浄するための洗

浄動作が実施される。図示は省略するが、洗浄動作が開始されると、第3切替バルブ116が第4状態から第3状態に切り替わることにより、計量ポンプ120の吸込側がポートC3及びポートC2等を介して容器126と接続され、容器126内の洗浄液128が吸引される。

[0075] また、容器126内の洗浄液128が吸引されると、第3切替バルブ116が第3状態から第2状態に切り替わることにより、計量ポンプ120の吹出側がポートC4及びポートC1等を介して洗浄ポート118と接続され、洗浄液128が洗浄ポート118内に導入される。

[0076] さらに、洗浄ポート118内に洗浄液128が導入されると、ニードル124が洗浄ポート118内に挿入され、そのニードル124が洗浄される。本実施形態では、空の容器135に誘導体化試薬133及び第2試料136が注入された後に、上記のような第1吸引動作、第1吐出動作及び洗浄動作が実施されるため、その時間を利用して第2試料136の誘導体化を効率よく行うことができる。

[0077] このように洗浄動作が実施されると、次に、誘導体化された第2試料137を吸引するための第2吸引動作が実施される。第2吸引動作が実施される際は、図6に示すように、ニードル124が容器135に挿入される。また、第2吸引動作が実施される際は、第3切替バルブ116が第2状態から第1状態に切り替わる。

[0078] 第2吸引動作では、計量ポンプ120が制御され、誘導体化された第2試料137がニードル124を介してニードルループ122に導入される。また、ニードルループ122に導入された誘導体化された第2試料137は、そのニードルループ122に貯留される。

[0079] 第2吸引動作が行われると、次に、誘導体化された第2試料137を吐出するための第2吐出動作が実施される。第2吐出動作が実施される際は、図7に示すように、ニードル124が第2注入ポート114に挿入される。また、第2吐出動作が実施される際は、第2切替バルブ110が第1状態から第2状態に切り替わり、第3切替バルブ116が第1状態から第4状態に切

り替わる。

- [0080] 第2吐出動作では、計量ポンプ120が制御され、ニードルループ122内の誘導体化された第2試料137が第2注入ポート114を介して第2サンプルループ112に導入される。また、このとき、排液流路がポートB6及びポートC4等を介して計量ポンプ120の吹出側と接続され、計量ポンプ120の吸込側と接続されるポートC3が封止されている。これにより、第2サンプルループ112に導入された誘導体化された第2試料137は、その第2サンプルループ112内に貯留される。
- [0081] 本実施形態では、このように分注工程が行われると、次に、第1分析工程及び第2分析工程が並行して行われる。第1分析工程は、第1試料132を第1移動相54とともに第1カラム44に導入し、当該第1試料132に含まれる成分を分析する工程である。第2分析工程は、誘導体化された第2試料137を第2移動相94とともに第2カラム84に導入し、当該第2試料137に含まれる成分を分析する工程である。なお、「並行」とは、第1分析工程及び第2分析工程が同時に開始される場合に限らず、第1分析工程及び第2分析工程の少なくとも一部が同時に実施される場合を含む概念である。したがって、第1分析工程及び第2分析工程の開始タイミング又は終了タイミングの少なくとも一方が同時でなくてもよい。
- [0082] 図8は、本実施形態の第1分析工程及び第2分析工程を説明するための概略図である。第1分析工程及び第2分析工程が行われる際は、図8に示すように、第1切替バルブ102及び第2切替バルブ110は、第2状態から第1状態に切り替わる。
- [0083] 第1切替バルブ102が第2状態から第1状態に切り替わると、流路管40から導入される第1移動相54に対して、第1サンプルループ104内の第1試料132が導入される。したがって、第1試料132が第1移動相54とともに第1カラム44に導入される。
- [0084] また、第2切替バルブ110が第2状態から第1状態に切り替わると、流路管80から導入される第2移動相94に対して、第2サンプルループ11

2内の誘導体化された第2試料137が導入される。したがって、誘導体化された第2試料137が第2移動相94とともに第2カラム84に導入される。

[0085] 第1試料132が第1カラム44を通過すると、当該第1試料132中の各成分が分離され、分離された各成分が第1検出器48で検出される。また、第1検出器48で各成分が検出されると、その検出結果に基づいて第1クロマトグラムが取得される。

[0086] 一方で、誘導体化された第2試料137が第2カラム84を通過すると、当該第2試料137中の各成分が分離され、分離された各成分が第2検出器88で検出される。また、第2検出器88で各成分が検出されると、その検出結果に基づいて第2クロマトグラムが取得される。

[0087] なお、第1移動相54の第1カラム44への導入及び第2移動相94の第2カラム84への導入については、第1分析工程及び第2分析工程の両方が終了するまで継続される。また、第1クロマトグラムにおける各成分の分離度は、第1カラム44の形状及び種類に応じて変化し、第2クロマトグラムにおける各成分の分離度は、第2カラム84の形状及び種類に応じて変化する。

[0088] さらに、オートサンプラ100の構成は、上述したように第1分析工程及び第2分析工程を並行して行うことができるのであれば、特に限定されない。たとえば、第1試料132が全量注入方式に沿って第1カラム44に導入され、誘導体化された第2試料137がループ注入方式に沿って第2カラム84に導入されるように構成されてもよい。

[0089] 4. 実施例

以下では、上記のような液体クロマトグラフ10を用いて第1試料132及び第2試料136の分析を行う場合の実施例について説明する。この実施例では、食肉（魚を含む。）等の食品の鮮度及び腐敗の両方を1つの液体クロマトグラフ10で分析するとともに、さらに、食品に含まれるうま味成分も同時に液体クロマトグラフ10で分析する場合の分析条件について検討し

た。

[0090] 食品の鮮度は、A T P 関連物質を分析することにより測定可能である。A T P 関連物質には、ヒポキサンチン (H x)、イノシン酸 (I M P)、イノシン (H x R)、アデノシンーリン酸 (A M P)、アデノシンニリン酸 (A D P) 及びアデノシン三リン酸 (A T P) 等の核酸関連物質が含まれる。第 1 試料 1 3 2 には、上記のような A T P 関連物質 6 成分のうち少なくともイノシン酸 (I M P) が含まれる。また、第 1 試料 1 3 2 には、A T P 関連物質以外に、食品に含まれるうま味成分の一例であるグアニル酸 (G M P) が含まれる。なお、第 1 試料 1 3 2 には、前処理が施される。

[0091] 食品の腐敗は、ヒスタミン (H i m) を分析することにより測定可能である。その他の分析対象として、栄養成分 (うま味成分を含む。) として知られる特定のアミノ酸が含まれていてもよい。具体的に、特定のアミノ酸としては、アスパラギン酸 (A s p)、グルタミン酸 (G l u)、アスパラギン (A s n)、セリン (S e r)、グルタミン (G l n)、グリシン (G l y)、ヒスチジン (H i s)、スレオニン (T h r)、 β -アラニン (β -A l a)、アルギニン (A r g)、アラニン (A l a)、タウリン (T a u)、アンセリン (A n s)、カルノシン (C a r)、チロシン (T y r)、バリン (V a l)、メチオニン (M e t)、シスチン (C y s)、トリプトファン (T r p)、フェニルアラニン (P h e)、イソロイシン (I l e)、ロイシン (L e u)、リジン (L y s)、プロリン (P r o) 等が挙げられる。第 2 試料 1 3 6 には、ヒスタミン (H i m) 及び特定のアミノ酸 2 4 成分のうち少なくとも 1 つが含まれる。なお、第 2 試料 1 3 6 には、前処理が施される。第 2 試料 1 3 6 に施される前処理は、第 1 試料 1 3 2 に施される前処理と同じであってもよい。

[0092] 第 1 カラム 4 4 及び第 2 カラム 8 4 としては、O D S (Octal Decyl Silyl) カラムを用いた。O D S カラムは、シルカゲル担体に、オクタデシルシリル基を化学結合した充填剤が充填されたカラムである。第 1 カラム 4 4 は、内径が 3. 0 m m であり、分離の対象となる粒子の粒子径は 3 μ m である。

一方、第2カラム84は、内径が3.0mmであり、分離の対象となる粒子の粒子径は2.7 μ mである。

[0093] 第1カラム44内での第1移動相54の流量は、0.8mL/minであり、30℃に加熱した状態で第1カラム44を使用した。また、第1移動相54には、第1試料132を5 μ L注入した。第1検出器48としては、測定波長260nmのフォトダイオードアレイ検出器を使用した。

[0094] 第2カラム84内での第2移動相94の流量は、0.8mL/minであり、第1カラム44内での第1移動相54の流量と同一である。第2カラム84は、35℃に加熱した状態で使用した。また、第2移動相94には、誘導体化された第2試料137を1 μ L注入した。第2検出器88としては、蛍光検出器を使用した。より具体的には、蛍光検出器として、350nmの励起波長で450nmの蛍光を検出するチャンネルと、266nmの励起波長で305nmの蛍光を検出するチャンネルとを有するマルチチャンネル検出器を用いた。

[0095] 第2カラム84の長さは、100mmである。第1カラム44についても、第2カラム84と同様に長さが100mmのものをを用いたところ、得られた第1クロマトグラムにおいて、十分な分離度で分離できないピークが存在した。そこで、長さが100mmの第1カラム44を用いた場合を比較例として以下に説明する。

[0096] 図9は、比較例における第1クロマトグラムを示す図である。また、図10は、図9の第1クロマトグラムの一部を拡大して示す図である。

[0097] 図9では、第1試料132に含まれるATP関連物質等に対応する複数のピークが現れている。これらの複数のピークのうち、保持時間2.3min近傍に現れた最も高いピークを拡大して図10に示している。このピークは、図10に付加的に示すように、イノシン酸（IMP）に対応するピークと、グアニル酸（GMP）に対応するピークに分割することができる。つまり、第1クロマトグラムでは、イノシン酸及びグアニル酸の保持時間が近いことから、イノシン酸に対応するピークとグアニル酸に対応するピークを十分

に分離することができず、1つのピークとして現れていることを意味している。

[0098] 図9及び図10の例において、イノシン酸に対応するピークとグアニル酸に対応するピークとの分離度は、下記式(1)を用いて算出することができる。なお、式(1)におけるRは分離度、 t_1 はグアニル酸の保持時間、 t_2 はイノシン酸の保持時間、 W_1 はグアニル酸のピーク幅、 W_2 はイノシン酸のピーク幅である。

[数1]

$$R = \frac{t_2 - t_1}{\frac{1}{2}(W_1 + W_2)} \quad \dots (1)$$

[0099] 上記式(1)を用いて、イノシン酸に対応するピークとグアニル酸に対応するピークとの分離度を算出したところ、その分離度は1.1であった。つまり、第1カラム44として、長さが100mmのものを用いた場合、イノシン酸に対応するピークとグアニル酸に対応するピークはほとんど分離できない。また、イノシン酸とグアニル酸とでは、検出波長が同じであるため、波長で分離することもできない。

[0100] そこで、実施例では、第1カラム44として、長さが所定の閾値以上のものを用いて、イノシン酸に対応するピークとグアニル酸に対応するピークを十分に分離させる。つまり、イノシン酸に対応するピークとグアニル酸に対応するピークとの分離度を1.5以上にする。

[0101] 以下、第1カラム44の長さに係る上記所定の閾値について説明する。隣接するピークの幅が等しいとき、分離度は、下記式(2)で表される。なお、式(2)におけるRは分離度、Nは理論段数、 α は分離係数、kは保持係数である。

[0102]

[数2]

$$R = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{\alpha-1}{\alpha} \right) \left(\frac{k}{1+k} \right) \quad \dots (2)$$

[0103] 上記式(2)によれば、分離度は、理論段数の平方根に比例する。したがって、分離度をRから R_1 に向上、つまり、 R_1/R 倍するのであれば、理論段数を $(R_1^2)/(R^2)$ 倍する必要がある。

[0104] また、カラムの長さは、理論段数に比例するため、分離度Rに対応するカラムの長さLを $(R_1^2)/(R^2)$ 倍すれば、分離度 R_1 とするのに必要とされるカラムの長さ L_1 が算出される。したがって、カラムの長さ L_1 は下記式(3)で表される。

[0105] [数3]

$$L_1 = L \times \frac{R_1^2}{R^2} \quad \dots (3)$$

[0106] 上述の比較例の通り、第1カラム44の長さが100mmのとき、その第1カラム44を用いて得られた第1クロマトグラムにおいて、イノシン酸に対応するピークとグアニル酸に対応するピークとの分離度は、1.1であった。また、イノシン酸に対応するピークとグアニル酸に対応するピークを十分に分離させるのに必要とされる分離度は、1.5以上である。

[0107] そこで、上記式(3)において、Lを100とし、Rを1.1とし、 R_1 を1.5とすれば、分離度1.5を得るのに必要な第1カラム44の長さ L_1 は、185mmと算出される。したがって、実施例において、第1カラム44の長さは、185mm以上である。

[0108] たとえば、第1カラム44の長さを250mmとした場合、図11及び図12に示すような第1クロマトグラムが得られる。図11は、実施例におけ

る第1クロマトグラムを示す図である。図12は、実施例における他の第1クロマトグラムを示す図である。図11に示す第1クロマトグラムは、標準溶液を混合して第1カラム44で分離した場合に対応し、図12に示す第1クロマトグラムは、マグロから抽出した試料を第1カラム44で分離した場合に対応する。なお、ここでの標準溶液は、第1試料132に含まれる各成分と同じ成分を同量ずつ（各 $50\mu\text{mol/L}$ ）混合した溶液である。

[0109] 図11に示すように、標準溶液を混合して第1カラム44で分離した場合に得られる第1クロマトグラムにおいて、イノシン酸（IMP）に対応するピークとグアニル酸（GMP）に対応するピークは完全に分離されている。図12に示す実際の試料を用いた第1クロマトグラムにおいても、イノシン酸（IMP）に対応するピークとグアニル酸（GMP）に対応するピークは、各ピーク高さは異なるものの、完全に分離されている。図11及び図12に示す第1クロマトグラムにおいて、イノシン酸に対応するピークとグアニル酸に対応するピークとの分離度は、上記式（1）を用いて算出したところ、1.9であった。

[0110] なお、図12に示す第1クロマトグラムにおいて、保持時間が約5.7minのピークがグアニル酸に対応するピークである根拠を図13に示す。図13は、図11及び図12の実施例におけるUVスペクトルの一例を示す図である。図13では、図11の実施例において保持時間が約5.7minであるグアニル酸（GMP）に対応するピークのスペクトルAと、図12の実施例において保持時間が約5.7minであるピークのスペクトルBが、同一のグラフ上に示されている。この図13に示すように、スペクトルAとスペクトルBとは、ほぼ一致する。すなわち、図11に示す第1クロマトグラムにおいて、保持時間が約5.7minのピークが、グアニル酸に対応するピークであることが分かる。

[0111] このように、185mm以上の長さを有する第1カラム44で第1試料132に含まれる成分を分離することにより、イノシン酸（IMP）に対応するピーク及びグアニル酸（GMP）に対応するピークが分離度1.5以上の

分離度で分離された第1クロマトグラムが得られる。

[0112] 上記実施例では、第1分析工程中に、第1ポンプ26及び第2ポンプ34の駆動を制御することによりグラジエント工程を行う。すなわち、第1分析工程には、グラジエント工程が含まれる。第1分析工程中のグラジエント工程では、第1液50及び第2液52の混合比率を変化させることで、第1移動相54における有機溶媒の比率を徐々に増加させる。

[0113] 第1液50は、水とアセトニトリルを体積比100：1で混合したものであり、第2液52は、水とアセトニトリルを体積比80：20で混合したものである。第1液50及び第2液52のいずれにおいても、0.15mol/Lのリン酸及び0.225mol/Lのトリエチルアミンが含まれている。

[0114] 第1分析工程中のグラジエント工程では、第1移動相54における第1液50の比率を徐々に減らし、第2液52の比率を徐々に増加させる。具体的には、第1分析工程開始から5min経過するまでは、第1液50のみを第1移動相54として導入し、その後は第1移動相54における第2液52の比率を徐々に増加させる。これにより、第1分析工程開始から19min経過した時点で、第1移動相54における第2液52の比率が24%となる。185mm以上の長さを有する第1カラム44では保持時間が長くなるため、上記のように第2液52における有機溶媒の含有比率を高めて、かつ、高い勾配で第2液52の比率を増加させることにより、第1移動相54を高圧で第1カラム44に導入することができる。

[0115] また、第1分析工程と並行して行われる第2分析工程中にも、第3ポンプ66及び第4ポンプ74の駆動を制御することによりグラジエント工程を行う。すなわち、第2分析工程には、グラジエント工程が含まれる。グラジエント工程では、第3液90及び第4液92の混合比率を変化させることで、第2移動相94における有機溶媒の比率を徐々に増加させる。

[0116] 第3液90は、20mol/Lのリン酸を含むpH6.5のリン酸緩衝液であり、第4液92は、アセトニトリルとメタノールと水を体積比45：

40 : 15で混合したものである。

- [0117] 第2分析工程中のグラジエント工程では、第2移動相94における第3液90の比率を徐々に減らし、第4液92の比率を徐々に増加させる。具体的には、第2分析工程開始から8min経過するまでは、第2移動相94における第4液92の比率を5%から13%まで徐々に増加させる。その後は、第2分析工程開始から15min経過するまで、第2移動相94における第4液92の比率を13%から25%まで徐々に増加させる。その後さらに、第2分析工程開始から21.5min経過するまで、第2移動相94における第4液92の比率を25%から52%まで徐々に増加させる。
- [0118] グラジエント工程によれば、第1試料132又は誘導体化された第2試料137に含まれる各成分のうちの保持時間が短い成分のピークにおける分離度を悪化させることなく、各成分の溶出が完了するまでの時間を短くすることができる。つまり、第1カラム44又は第2カラム84の長さが長くなるにつれて、第1試料132又は誘導体化された第2試料137に含まれる各成分の溶出が完了するまでの時間が長くなるのを抑制することができる。
- [0119] さらに、第1分析工程及び第2分析工程には、洗浄工程が含まれている。なお、洗浄工程は、グラジエント工程の後に行われる。
- [0120] 第1分析工程中の洗浄工程は、第1分析工程開始から19.10min～25.00minの間、第2液52のみを第1移動相54として第1カラム44に導入し、その第1カラム44内を洗浄する工程である。その後は、第1分析工程開始から25.10min～32.00minの間、第1液50のみを第1移動相54として第1カラム44に導入する。
- [0121] 第2分析工程中の洗浄工程は、第2分析工程開始から21.51min～27.50minの間、第4液92のみを第2移動相94として第2カラム84に導入し、その第2カラム84内を洗浄する工程である。その後は、第2分析工程開始から27.51min～32.00minの間、第3液90のみを第2移動相94として第2カラム84に導入する。
- [0122] 洗浄工程によれば、第1カラム44内又は第2カラム84内に夾雑成分が

蓄積されないため、第1カラム44又は第2カラム84内への負荷が大きくなるのを抑制することができる。つまり、第1カラム44又は第2カラム84が劣化するのを抑制することができる。

[0123] また、このような液体クロマトグラフ10では、上述したように、第1移動相54の第1カラム44への導入及び第2移動相94の第2カラム84への導入は、第1分析工程及び第2分析工程の両方が終了するまで継続されるため、第1試料132に含まれる各成分が第1検出器48で既に検出されたとしても、誘導体化された第2試料137に含まれる各成分が第2検出器88で検出されるまで、第1移動相54が第1カラム44に継続して導入される。なお、第1分析工程では、第1分析工程開始から19min経過するまでの間に、第1試料132に含まれる各成分が第1検出器48で検出される。

[0124] このように、誘導体化された第2試料137に含まれる各成分の分析が完了するよりも先に、第1試料132に含まれる各成分の分析が完了するため、第1分析工程及び第2分析工程の両方が終了するまでに、第1分析工程中の洗浄工程を比較的長時間かけて行うことにより、185mm以上の長さを有する第1カラム44を十分に洗浄することができる。

[0125] 5. 液体クロマトグラフの具体的な電氣的構成

図14は、本実施形態の液体クロマトグラフ10の電氣的構成を具体的に示すブロック図である。なお、図14では、記憶部206の図示は省略する。

[0126] RAM204には、記憶部206から予め読み出された実行用データが記憶される。また、機器及びセンサ等を用いて取得した取得データが記憶部206に記憶される際に、その取得データがRAM204に一時的に記憶される。

[0127] 図14に示す例では、RAM204には、制御用データ220、第1クロマトグラムデータ222、第2クロマトグラムデータ224、表示画像データ226及び操作データ228が記憶されている。

- [0128] 制御用データ220は、液体クロマトグラフ10における動作を制御するのに必要な各種データである。第1クロマトグラムデータ222は、第1クロマトグラムに対応するデータである。第2クロマトグラムデータ224は、第2クロマトグラムに対応するデータである。表示画像データ226は、表示画像に対応するデータである。操作データ228は、操作部218に対する操作状態を表すデータである。
- [0129] 図示は省略するが、RAM204には、記憶部206から予め読み出された制御プログラムが記憶され、CPU202がその制御プログラムを実行すると、制御部200は、分注処理部230、第1分析処理部232、第2分析処理部238、第1取得処理部240、第2取得処理部242、表示処理部244及び操作検出処理部246として機能する。また、第1分析処理部232は、グラジエント処理部234及び洗浄処理部236を含む。なお、図示は省略するが、第2分析処理部238にもグラジエント処理部及び洗浄処理部が含まれる。
- [0130] 分注処理部230は、制御用データ220を用いて、オートサンプラ100を制御することで、分注工程を行う。第1分析処理部232は、制御用データ220を用いて、第1ポンプ26、第2ポンプ34及びオートサンプラ100を制御することで、第1分析工程を行う。
- [0131] グラジエント処理部234は、制御用データ220を用いて、第1ポンプ26及び第2ポンプ34を制御することで、グラジエント工程を行う。洗浄処理部236は、グラジエント工程が行われた後に、制御用データ220を用いて、第2ポンプ34を制御することで、洗浄工程を行う。
- [0132] 第2分析処理部238は、第3ポンプ66、第4ポンプ74及びオートサンプラ100を制御することで、第2分析工程を行う。
- [0133] 第1取得処理部240は、第1検出器48からの信号に基づいて第1クロマトグラムデータ222を取得し、RAM204に記憶する。第2取得処理部242は、第2検出器88からの信号に基づいて第2クロマトグラムデータ224を取得し、RAM204に記憶する。

[0134] 表示処理部 244 は、表示画像データ 226 を表示部 214 に出力する。
操作検出処理部 246 は、操作部 218 への操作を検出し、時系列に従って
操作データ 228 として RAM 204 に記憶する。

[0135] 6. 態様

上述した複数の例示的な実施形態は、以下の態様の具体例であることが当業者により理解される。

[0136] (第 1 項) 一態様に係る分析方法は、

それぞれ ODS カラムにより構成される第 1 カラム及び第 2 カラムを用いて、誘導体化されていない第 1 試料を第 1 移動相とともに前記第 1 カラム内に導入し、前記第 1 試料に含まれる成分を分析する第 1 分析工程と、誘導体化された第 2 試料を第 2 移動相とともに前記第 2 カラム内に導入し、前記第 2 試料に含まれる成分を分析する第 2 分析工程とを並行して行うための分析方法であって、

前記第 1 試料には、イノシン酸及びグアニル酸が含まれ、

前記第 1 分析工程では、185 mm 以上の長さを有する前記第 1 カラムで前記第 1 試料に含まれる成分を分離することにより、1.5 以上の分離度でイノシン酸及びグアニル酸に対応する各ピークが分離されたクロマトグラムを取得してもよい。

[0137] 第 1 項に記載の分析方法によれば、誘導化されていない第 1 試料及び誘導化された第 2 試料のそれぞれに含まれる成分の分析を並行して行いつつ、第 1 試料に含まれるイノシン酸及びグアニル酸に対応する各ピークが十分に分離されたクロマトグラムを取得することができる。つまり、カラムを別途設けなくても、食品に含まれるうま味成分の一例であるグアニル酸に対応するピークをイノシン酸に対応するピークと分離することができる。

[0138] (第 2 項) 第 1 項に記載の分析方法において、

前記第 1 分析工程には、第 1 液と、当該第 1 液よりも有機溶媒の含有比率が高い第 2 液との混合比率を変化させることにより、前記第 1 カラム内に導入する第 1 移動相中の有機溶媒の比率を徐々に増加させるグラジエント工程

が含まれてもよい。

[0139] 第2項に記載の分析方法によれば、第1試料に含まれる各成分のうちの保持時間が短い成分のピークにおける分離度を悪化させることなく、各成分の溶出が完了するまでの時間を短くすることができる。つまり、第1カラムの長さが長くなるにつれて、第1試料に含まれる各成分の溶出が完了するまでの時間が長くなるのを抑制することができる。

[0140] (第3項) 第2項に記載の分析方法において、

前記第1分析工程には、前記グラジエント工程後に、前記第2液のみを前記第1カラム内に導入することにより当該第1カラム内を洗浄する洗浄工程が含まれてもよい。

[0141] 第3項に記載の分析方法によれば、第1カラム内に夾雑成分が蓄積されないため、第1カラムへの負荷が大きくなるのを抑制することができる。つまり、第1カラムが劣化するのを抑制することができる。

[0142] また、誘導体化された第2試料に含まれる各成分の分析が完了するよりも先に、第1試料に含まれる各成分の分析が完了するのであれば、第1分析工程及び第2分析工程の両方が終了するまでに、第1分析工程中の洗浄工程を比較的長時間かけて行うことにより、第1カラムを十分に洗浄することができる。

符号の説明

- [0143] 4 4 第1カラム
5 0 第1液
5 2 第2液
5 4 第1移動相
8 4 第2カラム
9 4 第2移動相
1 3 2 第1試料
1 3 6 第2試料
1 3 7 誘導体化された第2試料

- 2 2 2 第 1 クロマトグラムデータ
- 2 3 2 第 1 分析処理部
- 2 3 4 グラジエント処理部
- 2 3 6 洗浄処理部
- 2 3 8 第 2 分析処理部
- 2 4 0 第 1 取得処理部

請求の範囲

- [請求項1] それぞれODSカラムにより構成される第1カラム及び第2カラムを用いて、誘導体化されていない第1試料を第1移動相とともに前記第1カラム内に導入し、前記第1試料に含まれる成分を分析する第1分析工程と、誘導体化された第2試料を第2移動相とともに前記第2カラム内に導入し、前記第2試料に含まれる成分を分析する第2分析工程とを並行して行うための分析方法であって、
- 前記第1試料には、イノシン酸及びグアニル酸が含まれ、
- 前記第1分析工程では、185mm以上の長さを有する前記第1カラムで前記第1試料に含まれる成分を分離することにより、1.5以上の分離度でイノシン酸及びグアニル酸に対応する各ピークが分離されたクロマトグラムを取得する、分析方法。
- [請求項2] 前記第1分析工程には、第1液と、当該第1液よりも有機溶媒の含有比率が高い第2液との混合比率を変化させることにより、前記第1カラム内に導入する第1移動相中の有機溶媒の比率を徐々に増加させるグラジエント工程が含まれる、請求項1に記載の分析方法。
- [請求項3] 前記第1分析工程には、前記グラジエント工程後に、前記第2液のみを前記第1カラム内に導入することにより当該第1カラム内を洗浄する洗浄工程が含まれる、請求項2に記載の分析方法。