

(19)日本国特許庁(JP)

**(12)特許公報(B2)**

(11)特許番号  
**特許第7388206号**  
**(P7388206)**

(45)発行日 令和5年11月29日(2023.11.29)

(24)登録日 令和5年11月20日(2023.11.20)

(51)国際特許分類

|         |                 |     |         |       |   |
|---------|-----------------|-----|---------|-------|---|
| G 0 1 N | 30/34 (2006.01) | F I | G 0 1 N | 30/34 | A |
| G 0 1 N | 30/26 (2006.01) |     | G 0 1 N | 30/26 | M |
| G 0 1 N | 30/32 (2006.01) |     | G 0 1 N | 30/26 | E |
|         |                 |     | G 0 1 N | 30/32 | C |
|         |                 |     | G 0 1 N | 30/26 | A |

請求項の数 9 (全15頁)

(21)出願番号 特願2020-8537(P2020-8537)  
(22)出願日 令和2年1月22日(2020.1.22)  
(65)公開番号 特開2021-117017(P2021-117017  
A)  
(43)公開日 令和3年8月10日(2021.8.10)  
審査請求日 令和4年7月7日(2022.7.7)

(73)特許権者 000001993  
株式会社島津製作所  
京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地  
(74)代理人 100108523  
弁理士 中川 雅博  
(74)代理人 100098305  
弁理士 福島 祥人  
(74)代理人 100125704  
弁理士 坂根 剛  
(74)代理人 100187931  
弁理士 澤村 英幸  
(72)発明者 大橋 浩志  
京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地  
株式会社島津製作所内  
審査官 黒田 浩一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 液体クロマトグラフおよび分析方法

**(57)【特許請求の範囲】****【請求項1】**

第1の流路と、  
第2の流路と、

送液ポンプを含み、水系溶媒を供給する第1の水系溶媒供給部と、  
前記送液ポンプの上流に設けられ、前記第1の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒  
を前記第1の流路に導く第1の流路状態と前記第1の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒  
を前記第2の流路に導く第2の流路状態とに切り替え可能な流路切替バルブと、

前記第1の流路に設けられ、前記流路切替バルブが前記第1の流路状態にあるときに前記第1の流路を流れる水系溶媒のpHを測定するpHメータと、

前記流路切替バルブよりも下流において分析対象の試料を供給する試料供給部と、  
前記第2の流路を通過した溶媒および前記試料供給部により供給された試料が導入される分離カラムと、

前記分離カラムを通過した試料を検出する検出器とを備える、液体クロマトグラフ。

**【請求項2】**

有機溶媒を供給する有機溶媒供給部と、

前記流路切替バルブが前記第2の流路状態にあるときに前記第2の流路を流れる水系溶媒と前記有機溶媒供給部により供給された有機溶媒とを混合する混合部とをさらに備え、

前記流路切替バルブは、前記混合部の上流に設けられ、

前記分離カラムには、前記混合部により混合された溶媒および前記試料供給部により供

給された試料が導入される、請求項 1 記載の液体クロマトグラフ。

**【請求項 3】**

前記第 1 の水系溶媒供給部は、複数種類の水系溶媒から 1 種類以上の水系溶媒を選択する選択部を含み、

前記送液ポンプは、前記選択部により選択された水系溶媒を圧送し、

前記流路切替バルブは、前記送液ポンプと前記混合部との間に設けられ、前記第 2 の流路状態にあるときに前記送液ポンプにより圧送された水系溶媒を前記第 2 の流路を通して前記混合部に導く、請求項 2 記載の液体クロマトグラフ。

**【請求項 4】**

第 1 の流路と、

第 2 の流路と、

水系溶媒を供給する第 1 の水系溶媒供給部と、

前記第 1 の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を前記第 1 の流路に導く第 1 の流路状態と前記第 1 の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を前記第 2 の流路に導く第 2 の流路状態とに切り替え可能な流路切替バルブと、

前記第 1 の流路に設けられ、前記流路切替バルブが前記第 1 の流路状態にあるときに前記第 1 の流路を流れる水系溶媒の pH を測定する pH メータと、

前記流路切替バルブよりも下流において分析対象の試料を供給する試料供給部と、

前記第 2 の流路を通過した溶媒および前記試料供給部により供給された試料が導入される分離カラムと、

前記分離カラムを通過した試料を検出する検出器とを備え、

前記第 1 の水系溶媒供給部は、

複数種類の水系溶媒から 1 種類以上の水系溶媒を選択する選択部と、

前記選択部により選択された水系溶媒を圧送する送液ポンプとを含み、

前記流路切替バルブは、前記選択部と前記送液ポンプとの間に設けられ、前記第 2 の流路状態にあるときに前記選択部により選択された水系溶媒を前記第 2 の流路を通して前記送液ポンプに導く液体クロマトグラフ。

**【請求項 5】**

前記第 1 の流路内の圧力は、1 MPa 未満である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の液体クロマトグラフ。

**【請求項 6】**

第 1 の流路と、

第 2 の流路と、

水系溶媒を供給する第 1 の水系溶媒供給部と、

前記第 1 の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を前記第 1 の流路に導く第 1 の流路状態と前記第 1 の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を前記第 2 の流路に導く第 2 の流路状態とに切り替え可能な流路切替バルブと、

前記第 1 の流路に設けられ、前記流路切替バルブが前記第 1 の流路状態にあるときに前記第 1 の流路を流れる水系溶媒の pH を測定する pH メータと、

前記流路切替バルブよりも下流において分析対象の試料を供給する試料供給部と、

前記第 2 の流路を通過した溶媒および前記試料供給部により供給された試料が導入される分離カラムと、

前記分離カラムを通過した試料を検出する検出器とを備え、

前記第 1 の流路の断面積は、前記第 2 の流路の断面積よりも大きい、記載の液体クロマトグラフ。

**【請求項 7】**

送液ポンプを含む水系溶媒供給部により水系溶媒を供給するステップと、

前記送液ポンプの上流に設けられた流路切替バルブが第 1 の流路状態にあるときに、前記水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を第 1 の流路に導くステップと、

前記第 1 の流路に導かれた水系溶媒の pH を前記第 1 の流路に設けられた pH メータに

10

20

30

40

50

より測定するステップと、

前記流路切替バルブが第2の流路状態にあるときに、前記水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を第2の流路に導くステップと、

前記流路切替バルブよりも下流において分析対象の試料を供給するステップと、

前記第2の流路を通過した溶媒および供給された試料を分離カラムに導入するステップと、

前記分離カラムを通過した試料を検出するステップとを含む、分析方法。

#### 【請求項8】

水系溶媒供給部により水系溶媒を供給するステップと、

流路切替バルブが第1の流路状態にあるときに、前記水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を第1の流路に導くステップと、

前記第1の流路に導かれた水系溶媒のpHを前記第1の流路に設けられたpHメータにより測定するステップと、

前記流路切替バルブが第2の流路状態にあるときに、前記水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を第2の流路に導くステップと、

前記流路切替バルブよりも下流において分析対象の試料を供給するステップと、

前記第2の流路を通過した溶媒および供給された試料を分離カラムに導入するステップと、

前記分離カラムを通過した試料を検出するステップとを含み、

前記水系溶媒供給部は、

複数種類の水系溶媒から1種類以上の水系溶媒を選択する選択部と、

前記選択部により選択された水系溶媒を圧送する送液ポンプとを含み、

前記流路切替バルブは、前記選択部と前記送液ポンプとの間に設けられ、

前記水系溶媒を第2の流路に導くステップは、前記流路切替バルブが前記第2の流路状態にあるときに前記選択部により選択された水系溶媒を前記第2の流路を通して前記送液ポンプに導くことを含む、分析方法。

#### 【請求項9】

水系溶媒供給部により水系溶媒を供給するステップと、

流路切替バルブが第1の流路状態にあるときに、前記水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を第1の流路に導くステップと、

前記第1の流路に導かれた水系溶媒のpHを前記第1の流路に設けられたpHメータにより測定するステップと、

前記流路切替バルブが第2の流路状態にあるときに、前記水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を第2の流路に導くステップと、

前記流路切替バルブよりも下流において分析対象の試料を供給するステップと、

前記第2の流路を通過した溶媒および供給された試料を分離カラムに導入するステップと、

前記分離カラムを通過した試料を検出するステップとを含み、

前記第1の流路の断面積は、前記第2の流路の断面積よりも大きい、分析方法。

#### 【発明の詳細な説明】

##### 【技術分野】

##### 【0001】

本発明は、液体クロマトグラフおよび分析方法に関する。

##### 【背景技術】

##### 【0002】

試料に含まれる物質を異なる成分ごとに分離する装置として液体クロマトグラフが知られている。例えば、特許文献1に記載された液体クロマトグラフにおいては、分析対象の試料がカラムに導入される。また、水系溶媒と有機溶媒とが混合されつつカラムに供給される。カラムに導入された試料は、化学的性質または組成の違いにより成分ごとに溶離された後、検出器により検出される。検出器による検出結果に基づいて、クロマトグラムが

10

20

30

40

50

作成される。

**【0003】**

液体クロマトグラフにおいては、クロマトグラムのピークが重ならずに分離するよう<sup>10</sup>に、分析対象の試料に応じて分析メソッドのパラメータの各々を適切に選択する必要がある。ここで、分析メソッドのパラメータは、例えば試料の注入量、カラムの種類、カラムの温度、検出波長または移動相のpHを含む。

**【先行技術文献】**

**【特許文献】**

**【0004】**

**【文献】特開2015-17924号公報**

**【発明の概要】**

**【発明が解決しようとする課題】**

**【0005】**

上記のように、移動相のpHは試料の分析結果に影響を与えるので、分析メソッドを適切に設定するために、移動相のpHを正確に測定することが求められる。しかしながら、液体クロマトグラフにおいては、試料の正確な分析を阻害することなく移動相のpHを正確に測定することが困難であることがある。

**【0006】**

本発明の目的は、試料の正確な分析を阻害することなく移動相のpHを正確に測定することが可能な液体クロマトグラフおよび分析方法を提供することである。<sup>20</sup>

**【課題を解決するための手段】**

**【0007】**

本発明の一態様は、第1の流路と、第2の流路と、送液ポンプを含み、水系溶媒を供給する第1の水系溶媒供給部と、前記送液ポンプの上流に設けられ、前記第1の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を前記第1の流路に導く第1の流路状態と前記第1の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を前記第2の流路に導く第2の流路状態とに切り替え可能な流路切替バルブと、前記第1の流路に設けられ、前記流路切替バルブが前記第1の流路状態にあるときに前記第1の流路を流れる水系溶媒のpHを測定するpHメータと、前記流路切替バルブよりも下流において分析対象の試料を供給する試料供給部と、前記第2の流路を通過した溶媒および前記試料供給部により供給された試料が導入される分離カラムと、前記分離カラムを通過した試料を検出する検出器とを備える、液体クロマトグラフに関する。<sup>30</sup>

本発明の他の態様は、第1の流路と、第2の流路と、水系溶媒を供給する第1の水系溶媒供給部と、前記第1の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を前記第1の流路に導く第1の流路状態と前記第1の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を前記第2の流路に導く第2の流路状態とに切り替え可能な流路切替バルブと、前記第1の流路に設けられ、前記流路切替バルブが前記第1の流路状態にあるときに前記第1の流路を流れる水系溶媒のpHを測定するpHメータと、前記流路切替バルブよりも下流において分析対象の試料を供給する試料供給部と、前記第2の流路を通過した溶媒および前記試料供給部により供給された試料が導入される分離カラムと、前記分離カラムを通過した試料を検出する検出器とを備え、前記第1の水系溶媒供給部は、複数種類の水系溶媒から1種類以上の水系溶媒を選択する選択部と、前記選択部により選択された水系溶媒を圧送する送液ポンプとを含み、前記流路切替バルブは、前記選択部と前記送液ポンプとの間に設けられ、前記第2の流路状態にあるときに前記選択部により選択された水系溶媒を前記第2の流路を通して前記送液ポンプに導く、液体クロマトグラフに関する。<sup>40</sup>

本発明のさらに他の態様は、第1の流路と、第2の流路と、水系溶媒を供給する第1の水系溶媒供給部と、前記第1の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を前記第1の流路に導く第1の流路状態と前記第1の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を前記第2の流路に導く第2の流路状態とに切り替え可能な流路切替バルブと、前記第1の流路に設けられ、前記流路切替バルブが前記第1の流路状態にあるときに前記第1の流路を流れ

10

20

30

40

50

る水系溶媒の pH を測定する pH メータと、前記流路切替バルブよりも下流において分析対象の試料を供給する試料供給部と、前記第 2 の流路を通過した溶媒および前記試料供給部により供給された試料が導入される分離カラムと、前記分離カラムを通過した試料を検出する検出器とを備え、前記第 1 の流路の断面積は、前記第 2 の流路の断面積よりも大きい、記載の液体クロマトグラフに関する。

#### 【0008】

本発明のさらに他の態様は、送液ポンプを含む水系溶媒供給部により水系溶媒を供給するステップと、前記送液ポンプの上流に設けられた流路切替バルブが第 1 の流路状態にあるときに、前記水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を第 1 の流路に導くステップと、前記第 1 の流路に導かれた水系溶媒の pH を前記第 1 の流路に設けられた pH メータにより測定するステップと、前記流路切替バルブが第 2 の流路状態にあるときに、前記水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を第 2 の流路に導くステップと、前記流路切替バルブよりも下流において分析対象の試料を供給するステップと、前記第 2 の流路を通過した溶媒および供給された試料を分離カラムに導入するステップと、前記分離カラムを通過した試料を検出するステップとを含む、分析方法に関する。

本発明のさらに他の態様は、水系溶媒供給部により水系溶媒を供給するステップと、流路切替バルブが第 1 の流路状態にあるときに、前記水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を第 1 の流路に導くステップと、前記第 1 の流路に導かれた水系溶媒の pH を前記第 1 の流路に設けられた pH メータにより測定するステップと、前記流路切替バルブが第 2 の流路状態にあるときに、前記水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を第 2 の流路に導くステップと、前記流路切替バルブよりも下流において分析対象の試料を供給するステップと、前記第 2 の流路を通過した溶媒および供給された試料を分離カラムに導入するステップと、前記分離カラムを通過した試料を検出するステップとを含み、前記水系溶媒供給部は、複数種類の水系溶媒から 1 種類以上の水系溶媒を選択する選択部と、前記選択部により選択された水系溶媒を圧送する送液ポンプとを含み、前記流路切替バルブは、前記選択部と前記送液ポンプとの間に設けられ、前記水系溶媒を第 2 の流路に導くステップは、前記流路切替バルブが前記第 2 の流路状態にあるときに前記選択部により選択された水系溶媒を前記第 2 の流路を通して前記送液ポンプに導くことを含む、分析方法に関する。

本発明のさらに他の態様は、水系溶媒供給部により水系溶媒を供給するステップと、流路切替バルブが第 1 の流路状態にあるときに、前記水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を第 1 の流路に導くステップと、前記第 1 の流路に導かれた水系溶媒の pH を前記第 1 の流路に設けられた pH メータにより測定するステップと、前記流路切替バルブが第 2 の流路状態にあるときに、前記水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を第 2 の流路に導くステップと、前記流路切替バルブよりも下流において分析対象の試料を供給するステップと、前記第 2 の流路を通過した溶媒および供給された試料を分離カラムに導入するステップと、前記分離カラムを通過した試料を検出するステップとを含み、前記第 1 の流路の断面積は、前記第 2 の流路の断面積よりも大きい、分析方法に関する。

#### 【発明の効果】

#### 【0009】

本発明によれば、試料の正確な分析を阻害することなく移動相の pH を正確に測定することができる。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0010】

【図 1】本発明の一実施の形態に係る液体クロマトグラフの構成を示す模式図である。

【図 2】変形例に係る液体クロマトグラフの構成を示す模式図である。

【図 3】他の実施の形態に係る液体クロマトグラフの構成を示す模式図である。

【図 4】第 1 の参考例に係る液体クロマトグラフの構成を示す模式図である。

【図 5】第 2 の参考例に係る液体クロマトグラフの構成を示す模式図である。

【図 6】第 3 の参考例に係る液体クロマトグラフの構成を示す模式図である。

【図 7】第 4 の参考例に係る液体クロマトグラフの構成を示す模式図である。

10

20

30

40

50

**【発明を実施するための形態】**

**【0011】**

(1) 液体クロマトグラフの構成

以下、本発明の実施の形態に係る液体クロマトグラフおよび分析方法について図面を参照しながら詳細に説明する。図1は、本発明の一実施の形態に係る液体クロマトグラフの構成を示す模式図である。図1に示すように、本実施の形態においては、液体クロマトグラフ100は、水系溶媒供給部10、有機溶媒供給部20、流路切替バルブ30、pHメータ40、混合部50、試料供給部60、カラムオープン70、検出器80および処理部90を備える。

**【0012】**

水系溶媒供給部10は、複数(本例では4個)の溶媒ボトル11～14、流路切替バルブ15および送液ポンプ16を含む。溶媒ボトル11～14は、それぞれ異なる種類の水系溶媒を貯留する。流路切替バルブ15は、選択部の例であり、当該流路切替バルブ15と溶媒ボトル11～14との間の流路を切り替えることにより、1以上の溶媒ボトルを溶媒ボトル11～14から選択する。送液ポンプ16は、流路切替バルブ15により選択された溶媒ボトルに貯留された水系溶媒を圧送する。

10

**【0013】**

有機溶媒供給部20は、複数(本例では4個)の溶媒ボトル21～24、流路切替バルブ25および送液ポンプ26を含む。溶媒ボトル21～24は、それぞれ異なる種類の有機溶媒を貯留する。流路切替バルブ25は、当該流路切替バルブ25と溶媒ボトル21～24との間の流路を切り替えることにより、1以上の溶媒ボトルを溶媒ボトル21～24から選択する。送液ポンプ26は、流路切替バルブ25により選択された溶媒ボトルに貯留された有機溶媒を圧送する。

20

**【0014】**

流路切替バルブ30は、第1の流路状態と第2の流路状態との間で切り替え可能であり、送液ポンプ16の下流に設けられる。第1の流路状態においては、流路切替バルブ30は、送液ポンプ16により圧送される水系溶媒を一方の流路31を通して図示しない廃液部へ導く。第2の流路状態においては、流路切替バルブ30は、送液ポンプ16により圧送される水系溶媒を他方の流路32を通して混合部50へ導く。

**【0015】**

30

流路切替バルブ30は、水系溶媒のpHの測定時に第1の流路状態に切り替えられ、試料の分析時に第2の流路状態に切り替えられる。pHメータ40は、流路31に設けられ、流路切替バルブ30が第1の流路状態にあるときに流路31を流れる水系溶媒のpHを測定する。pHメータ40により測定された水系溶媒のpHは、分析メソッドのパラメータの1つとして処理部90により保存されてもよい。この場合、最適な分析メソッドを探索するメソッドスカウティングを容易に行うことができる。

**【0016】**

流路31の下流部は大気圧に維持された廃液部に接続されるため、流路31内の圧力は比較的低い。具体的には、流路31内の圧力は1MPa未満であり、本例では0.4MPa～0.2MPaである。一方、流路32の下流部は後述する分離カラムに接続されるため、流路32内の圧力は比較的高い。具体的には、流路32内の圧力は40MPaよりも大きく、本例では100MPa以上である。また、本例では、流路31の断面積は、流路32の断面積よりも大きい。

40

**【0017】**

混合部50は、例えばグラジエントミキサである。混合部50は、流路切替バルブ30が第2の流路状態にあるときに流路32を流れる水系溶媒と、送液ポンプ26により圧送された有機溶媒とを任意の割合で混合することにより種々の溶媒(移動相)を生成する。試料供給部60は、例えばオートサンプラーであり、分析対象の試料を混合部50により混合された溶媒とともに分離カラムに導入する。

**【0018】**

50

カラムオープン 7 0 は、複数（本例では 6 個）の分離カラム 7 1 ~ 7 6 および流路切替バルブ 7 7 , 7 8 を収容し、内部の温度を一定値に調整する。複数の分離カラム 7 1 ~ 7 6 は、流路切替バルブ 7 7 と流路切替バルブ 7 8 との間に並列的に接続される。各分離カラム 7 1 ~ 7 6 は、導入された試料を化学的性質または組成の違いにより成分ごとに分離する。流路切替バルブ 7 7 , 7 8 は、当該流路切替バルブ 7 7 , 7 8 間の流路を切り替えることにより、試料が導入される分離カラムを分離カラム 7 1 ~ 7 6 から選択する。

#### 【 0 0 1 9 】

検出器 8 0 は、例えば吸光度検出器または R I (Refractive Index) 検出器を含み、いずれかのカラムにより分離された試料の成分を検出する。検出器 8 0 を通過した試料および溶媒は、流路 8 1 を通して廃棄される。

10

#### 【 0 0 2 0 】

処理部 9 0 は、C P U およびメモリ、またはマイクロコンピュータ等を含み、水系溶媒供給部 1 0 、有機溶媒供給部 2 0 、流路切替バルブ 3 0 、混合部 5 0 、試料供給部 6 0 、カラムオープン 7 0 および検出器 8 0 の各々の動作を制御する。また、処理部 9 0 は、検出器 8 0 による検出結果を処理することにより、カラムによる各成分の保持時間と検出強度との関係を示すクロマトグラムを生成する。

#### 【 0 0 2 1 】

##### ( 2 ) 効果

本実施の形態に係る液体クロマトグラフ 1 0 0 においては、水系溶媒供給部 1 0 により水系溶媒が供給される。流路切替バルブ 3 0 が第 1 の流路状態にあるときに、水系溶媒供給部 1 0 により供給される水系溶媒が流路 3 1 に導かれる。流路 3 1 に導かれた水系溶媒の pH が、流路 3 1 に設けられた pH メータ 4 0 により測定される。

20

#### 【 0 0 2 2 】

流路切替バルブ 3 0 が第 2 の流路状態にあるときに、水系溶媒供給部 1 0 により供給される水系溶媒が流路 3 2 に導かれる。有機溶媒供給部 2 0 により有機溶媒が供給される。流路 3 2 を流れる水系溶媒と有機溶媒供給部 2 0 により供給された有機溶媒とが混合部 5 0 により混合される。分析対象の試料が試料供給部 6 0 により供給される。混合された溶媒および供給された試料が分離カラム 7 1 ~ 7 6 のいずれかに導入される。分離カラム 7 1 ~ 7 6 のいずれかを通過した試料が検出器 8 0 により検出される。

30

#### 【 0 0 2 3 】

この構成によれば、試料の分析に有機溶媒を用いる場合でも、流路 3 1 には有機溶媒が流れないので、流路 3 1 を流れる水系溶媒には有機溶媒が混ざらない。そのため、流路 3 1 において、移動相の pH を正確に測定することができる。また、pH メータ 4 0 から K C 1 (塩化カリウム) 等の電解質溶液が放出される場合でも、流路 3 2 には当該電解質溶液は流れない。したがって、電解質溶液が検出器 8 0 に流れることはなく、試料の分析に影響を与えることもない。

#### 【 0 0 2 4 】

さらに、流路 3 1 内の圧力は、1 M P a 未満である。このように、流路 3 1 内の圧力は十分に低いので、pH メータ 4 0 を流路 3 1 に設けた場合でも、pH メータ 4 0 が破損することが容易に防止される。また、流路切替バルブ 3 0 は試料供給部 6 0 よりも上流に位置するので、試料供給部 6 0 により供給される試料がタンパク質を含む場合でも、当該タンパク質が pH メータ 4 0 のガラス電極に付着することができない。これらの結果、試料の正確な分析を阻害することなく移動相の pH を正確に測定することができる。

40

#### 【 0 0 2 5 】

また、本実施の形態においては、流路 3 1 の断面積は、流路 3 2 の断面積よりも大きい。この場合、流路切替バルブ 3 0 が第 2 の流路状態から第 1 の流路状態に切り替えられた直後でも、水系溶媒が高い圧力の状態で流路 3 1 に導かれることがない。これにより、流路 3 1 に設けられた pH メータ 4 0 が破損することをより容易に防止することができる。

#### 【 0 0 2 6 】

##### ( 3 ) 変形例

50

本実施の形態において、液体クロマトグラフ 100 は有機溶媒供給部 20 を含むが、実施の形態はこれに限定されない。図 2 は、変形例に係る液体クロマトグラフ 100 の構成を示す模式図である。図 2 に示すように、変形例に係る液体クロマトグラフ 100 は、有機溶媒供給部 20 に代えて水系溶媒供給部 10a を含む。水系溶媒供給部 10a は、水系溶媒供給部 10 と同様の構成を有し、溶媒ボトル 11a ~ 14a 、流路切替バルブ 15a および送液ポンプ 16a を含む。

#### 【 0 0 2 7 】

流路切替バルブ 30 は、混合部 50 と試料供給部 60 との間に配置される。混合部 50 は、水系溶媒供給部 10 の送液ポンプ 16 により圧送された水系溶媒と、水系溶媒供給部 10a の送液ポンプ 16a により圧送された水系溶媒とを任意の割合で混合することにより種々の水系溶媒を移動相として生成する。10

#### 【 0 0 2 8 】

第 1 の流路状態においては、流路切替バルブ 30 は、混合部 50 により生成され水系溶媒を一方の流路 31 を通して図示しない廃液部へ導く。第 2 の流路状態においては、流路切替バルブ 30 は、混合部 50 により生成され水系溶媒を他方の流路 32 を通して試料供給部 60 へ導く。pH メータ 40 は、流路 31 に設けられ、流路切替バルブ 30 が第 1 の流路状態にあるときに流路 31 を流れる水系溶媒の pH を測定する。

#### 【 0 0 2 9 】

この構成においても、流路切替バルブ 30 は試料供給部 60 よりも上流に位置するので、試料供給部 60 により供給される試料がタンパク質を含む場合でも、当該タンパク質が pH メータ 40 のガラス電極に付着することがない。そのため、試料の正確な分析を阻害することなく水系溶媒の pH を正確に測定することができる。20

#### 【 0 0 3 0 】

変形例においては、液体クロマトグラフ 100 は水系溶媒供給部 10a および混合部 50 を含むが、実施の形態はこれに限定されない。液体クロマトグラフ 100 は水系溶媒供給部 10a および混合部 50 を含まなくてもよい。この場合、流路切替バルブ 30 は、水系溶媒供給部 10 と試料供給部 60 との間に配置される。

#### 【 0 0 3 1 】

##### ( 4 ) 他の実施の形態

上記実施の形態においては、流路切替バルブ 30 が送液ポンプ 16 の下流に設けられる。この構成によれば、試料の分析に複数種類の水系溶媒を用いる場合でも、送液ポンプ 16 の下流において複数種類の水系溶媒が十分に混合される。これにより、流路 31 において pH メータ 40 により移動相の pH を正確に測定することができる。一方で、実施の形態はこれに限定されない。流路切替バルブ 30 は、送液ポンプ 16 の上流に設けられてもよい。30

#### 【 0 0 3 2 】

以下、他の実施の形態に係る液体クロマトグラフ 100 について、図 1 の液体クロマトグラフ 100 と異なる点を説明する。図 3 は、他の実施の形態に係る液体クロマトグラフ 100 の構成を示す模式図である。図 3 に示すように、本実施の形態においては、流路切替バルブ 30 は、流路切替バルブ 15 と送液ポンプ 16 との間に配置される。40

#### 【 0 0 3 3 】

第 1 の流路状態においては、流路切替バルブ 30 は、流路切替バルブ 15 により選択された溶媒ボトルに貯留された水系溶媒を一方の流路 31 を通して図示しない廃液部へ導く。第 2 の流路状態においては、流路切替バルブ 30 は、流路切替バルブ 15 により選択された溶媒ボトルに貯留された水系溶媒を他方の流路 32 を通して送液ポンプ 16 へ導く。pH メータ 40 は、流路 31 に設けられ、流路切替バルブ 30 が第 1 の流路状態にあるときに流路 31 を流れる水系溶媒の pH を測定する。

#### 【 0 0 3 4 】

本実施の形態においては、流路 32 内の圧力は比較的低い。したがって、流路切替バルブ 30 が第 2 の流路状態から第 1 の流路状態に切り替えられた直後でも、水系溶媒が高い50

圧力の状態で流路 3 1 に導かれることがない。そのため、流路 3 1 に設けられた pH メータ 4 0 が破損することをより容易に防止することができる。なお、本実施の形態においても、液体クロマトグラフ 1 0 0 は、有機溶媒供給部 2 0 および混合部 5 0 を含むが、実施の形態はこれに限定されない。液体クロマトグラフ 1 0 0 は、有機溶媒供給部 2 0 および混合部 5 0 を含まなくてもよい。

#### 【0035】

##### (5) 参考例

参考例に係る液体クロマトグラフについて、図 1 の液体クロマトグラフ 1 0 0 と異なる点を説明する。図 4 は、第 1 の参考例に係る液体クロマトグラフの構成を示す模式図である。図 4 に示すように、本例に係る液体クロマトグラフ 1 0 0 A は、有機溶媒供給部 2 0 、流路切替バルブ 3 0 および混合部 5 0 を含まない。また、pH メータ 4 0 は、流路 8 1 に設けられ、流路 8 1 を流れる移動相の pH を測定する。

10

#### 【0036】

本例においては、流路 8 1 内の圧力は比較的低い。そのため、pH メータ 4 0 が破損することが防止される。また、pH メータ 4 0 は、検出器 8 0 よりも下流に位置するので、pH メータ 4 0 から放出される電解質溶液が検出器 8 0 に流入することができない。したがって、本例のように、溶媒が有機溶媒を含まない場合には、試料の正確な分析を阻害することなく、流路 8 1 において pH メータ 4 0 により水系溶媒の pH を正確に測定することができる。

20

#### 【0037】

しかしながら、pH メータ 4 0 は試料供給部 6 0 よりも下流に位置するので、試料供給部 6 0 により供給される試料がタンパク質を含む場合には、当該タンパク質が pH メータ 4 0 のガラス電極に付着することとなる。そのため、流路 8 1 において pH メータ 4 0 により水系溶媒の pH を正確に測定することができない。

30

#### 【0038】

図 5 は、第 2 の参考例に係る液体クロマトグラフの構成を示す模式図である。図 5 に示すように、本例に係る液体クロマトグラフ 1 0 0 B は、流路切替バルブ 3 0 を含まない。また、第 1 の変形例と同様に、検出器 8 0 よりも下流に位置しつつ内部の圧力が比較的低い流路 8 1 に pH メータ 4 0 が設けられる。この場合、pH メータ 4 0 が破損することおよび試料の正確な分析を阻害することが防止される。

30

#### 【0039】

しかしながら、有機溶媒を含む溶媒が pH メータ 4 0 を流れるので、水系溶媒の pH を正確に測定することができない。また、試料供給部 6 0 により供給される試料がタンパク質を含む場合にも、当該タンパク質が pH メータ 4 0 のガラス電極に付着することとなるため、水系溶媒の pH を正確に測定することができない。

40

#### 【0040】

図 6 は、第 3 の参考例に係る液体クロマトグラフの構成を示す模式図である。図 6 に示すように、本例に係る液体クロマトグラフ 1 0 0 C は、流路切替バルブ 3 0 を含まず、送液ポンプ 1 6 と混合部 5 0 との間の流路に pH メータ 4 0 が設けられる。この場合、有機溶媒が pH メータ 4 0 を流れることは防止される。しかしながら、上記の流路内の圧力は比較的高いので、pH メータ 4 0 が破損する。そのため、水系溶媒の pH を測定することができない。また、pH メータ 4 0 から放出される電解質溶液が検出器 8 0 に流入する。したがって、試料の正確な分析が阻害される。

40

#### 【0041】

図 7 は、第 4 の参考例に係る液体クロマトグラフの構成を示す模式図である。図 7 に示すように、本例に係る液体クロマトグラフ 1 0 0 D は、流路切替バルブ 3 0 を含まず、流路切替バルブ 1 5 と送液ポンプ 1 6 との間の流路に pH メータ 4 0 が設けられる。この場合、有機溶媒が pH メータ 4 0 を流れることおよび pH メータ 4 0 が破損することは防止される。しかしながら、pH メータ 4 0 から放出される電解質溶液が検出器 8 0 に流入するので、試料の正確な分析が阻害される。

50

**【0042】****(6) 様**

(第1項) 一様に係る液体クロマトグラフは、  
 第1の流路と、  
 第2の流路と、  
 水系溶媒を供給する第1の水系溶媒供給部と、  
 前記第1の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を前記第1の流路に導く第1の流路状態と前記第1の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を前記第2の流路に導く第2の流路状態とに切り替え可能な流路切替バルブと、  
 前記第1の流路に設けられ、前記流路切替バルブが前記第1の流路状態にあるときに前記第1の流路を流れる水系溶媒のpHを測定するpHメータと、  
 前記流路切替バルブよりも下流において分析対象の試料を供給する試料供給部と、  
 前記第2の流路を通過した溶媒および前記試料供給部により供給された試料が導入される分離カラムと、  
 前記分離カラムを通過した試料を検出する検出器とを備えてよい。

**【0043】**

この液体クロマトグラフにおいては、第1の水系溶媒供給部により水系溶媒が供給される。流路切替バルブが第1の流路状態にあるときに、第1の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒が第1の流路に導かれる。第1の流路に導かれた水系溶媒のpHが、第1の流路に設けられたpHメータにより測定される。

**【0044】**

流路切替バルブが第2の流路状態にあるときに、第1の水系溶媒供給部により供給される水系溶媒が第2の流路に導かれる。流路切替バルブよりも下流において分析対象の試料が試料供給部により供給される。第2の流路を通過した溶媒および供給された試料が分離カラムに導入される。分離カラムを通過した試料が検出器により検出される。

**【0045】**

この構成によれば、流路切替バルブは試料供給部よりも上流に位置するので、試料供給部により供給される試料がタンパク質を含む場合でも、当該タンパク質がpHメータのガラス電極に付着することができない。そのため、第1の流路において、移動相のpHを正確に測定することができる。また、pHメータから電解質溶液が放出される場合でも、第2の流路には当該電解質溶液は流れないので、電解質溶液が検出器に流れることはなく、試料の分析に影響を与えることもない。これらの結果、試料の正確な分析を阻害することなく移動相のpHを正確に測定することができる。

**【0046】**

(第2項) 第1項に記載の液体クロマトグラフにおいて、  
 有機溶媒を供給する有機溶媒供給部と、  
 前記流路切替バルブが前記第2の流路状態にあるときに前記第2の流路を流れる水系溶媒と前記有機溶媒供給部により供給された有機溶媒とを混合する混合部とをさらに備え、  
 前記流路切替バルブは、前記混合部の上流に設けられ、  
 前記分離カラムには、前記混合部により混合された溶媒および前記試料供給部により供給された試料が導入されてもよい。

**【0047】**

この構成によれば、試料の分析に有機溶媒を用いる場合でも、第1の流路には有機溶媒が流れないので、第1の流路を流れる水系溶媒には有機溶媒が混ざらない。そのため、第1の流路において、移動相のpHを正確に測定することができる。

**【0048】**

(第3項) 第2項に記載の液体クロマトグラフにおいて、  
 前記第1の水系溶媒供給部は、  
 複数種類の水系溶媒から1種類以上の水系溶媒を選択する選択部と、  
 前記選択部により選択された水系溶媒を圧送する送液ポンプとを含み、

10

20

30

40

50

前記流路切替バルブは、前記送液ポンプと前記混合部との間に設けられ、前記第2の流路状態にあるときに前記送液ポンプにより圧送された水系溶媒を前記第2の流路を通して前記混合部に導いてもよい。

#### 【0049】

この構成によれば、試料の分析に複数種類の水系溶媒を用いる場合でも、送液ポンプの下流において複数種類の水系溶媒が十分に混合される。これにより、移動相のpHを正確に測定することができる。

#### 【0050】

(第4項) 第1項または第2項に記載の液体クロマトグラフにおいて、  
前記第1の水系溶媒供給部は、

複数種類の水系溶媒から1種類以上の水系溶媒を選択する選択部と、  
前記選択部により選択された水系溶媒を圧送する送液ポンプとを含み、

前記流路切替バルブは、前記選択部と前記送液ポンプとの間に設けられ、前記第2の流路状態にあるときに前記選択部により選択された水系溶媒を前記第2の流路を通して前記送液ポンプに導いてもよい

この構成によれば、第2の流路内の圧力は比較的低いので、流路切替バルブが第2の流路状態から第1の流路状態に切り替えられた直後でも、水系溶媒が高い圧力の状態で第1の流路に導かれることがない。これにより、第1の流路に設けられたpHメータが破損することをより容易に防止することができる。

#### 【0051】

(第5項) 第1項に記載の液体クロマトグラフにおいて、  
水系溶媒を供給する第2の水系溶媒供給部と、

前記第1の水系溶媒供給部により供給された水系溶媒と前記第2の水系溶媒供給部により供給された水系溶媒とを混合する混合部とをさらに備え、

前記流路切替バルブは、前記第1の流路状態にあるときに前記混合部により混合された水系溶媒を前記第1の流路に導き、前記第2の流路状態にあるときに前記混合部により混合された水系溶媒を前記第2の流路に導き、

前記分離カラムには、前記第2の流路を通過した溶媒および前記試料供給部により供給された試料が導入されてもよい。

#### 【0052】

この場合、第1および第2の水系溶媒供給部によりそれぞれ供給された水系溶媒が混合部により混合され、混合された水系溶媒が第1の流路に導かれる。これにより、第1の流路において、移動相のpHを正確に測定することができる。

#### 【0053】

(第6項) 第1項～第5項のいずれか一項に記載の液体クロマトグラフにおいて、  
前記第1の流路内の圧力は、1MPa未満であってもよい。

#### 【0054】

この構成によれば、第1の流路内の圧力は十分に低いので、pHメータを第1の流路に設けた場合でも、pHメータが破損することが容易に防止される。これにより、第1の流路において、移動相のpHを正確に測定することができる。

#### 【0055】

(第7項) 第1項～第6項のいずれか一項に記載の液体クロマトグラフにおいて、  
前記第1の流路の断面積は、前記第2の流路の断面積よりも大きくてよい。

#### 【0056】

この場合、流路切替バルブが第2の流路状態から第1の流路状態に切り替えられた直後でも、水系溶媒が高い圧力の状態で第1の流路に導かれることがない。これにより、第1の流路に設けられたpHメータが破損することをより容易に防止することができる。

#### 【0057】

(第8項) 他の態様に係る分析方法は、  
水系溶媒供給部により水系溶媒を供給するステップと、

10

20

30

40

50

流路切替バルブが第1の流路状態にあるときに、前記水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を第1の流路に導くステップと、

前記第1の流路に導かれた水系溶媒のpHを前記第1の流路に設けられたpHメータにより測定するステップと、

流路切替バルブが第2の流路状態にあるときに、前記水系溶媒供給部により供給される水系溶媒を第2の流路に導くステップと、

前記流路切替バルブよりも下流において分析対象の試料を供給するステップと、

前記第2の流路を通過した溶媒および供給された試料を分離カラムに導入するステップと、

前記分離カラムを通過した試料を検出するステップとを含んでもよい。

10

#### 【0058】

この分析方法によれば、流路切替バルブは試料が供給される位置よりも上流に位置するので、供給される試料がタンパク質を含む場合でも、当該タンパク質がpHメータのガラス電極に付着する事がない。そのため、第1の流路において、移動相のpHを正確に測定することができる。また、pHメータから電解質溶液が放出される場合でも、第2の流路には当該電解質溶液は流れない。したがって、電解質溶液は検出器に流れることはなく、試料の分析に影響を与えることもない。これらの結果、試料の正確な分析を阻害することなく移動相のpHを正確に測定することができる。

#### 【符号の説明】

#### 【0059】

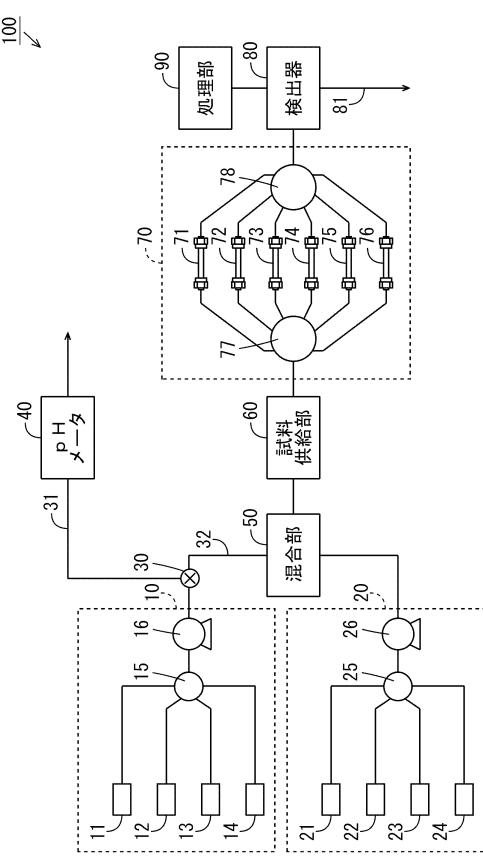
10, 10a...水系溶媒供給部, 11~14, 11a~14a, 21~24...溶媒ボトル, 15, 15a, 25, 30, 77, 78...流路切替バルブ, 16, 16a, 26...送液ポンプ, 20...有機溶媒供給部, 31, 32, 81...流路, 40...pHメータ, 50...混合部, 60...試料供給部, 70...カラムオープン, 71~76...分離カラム, 80...検出器, 90...処理部, 100, 100A~100D...液体クロマトグラフ

20

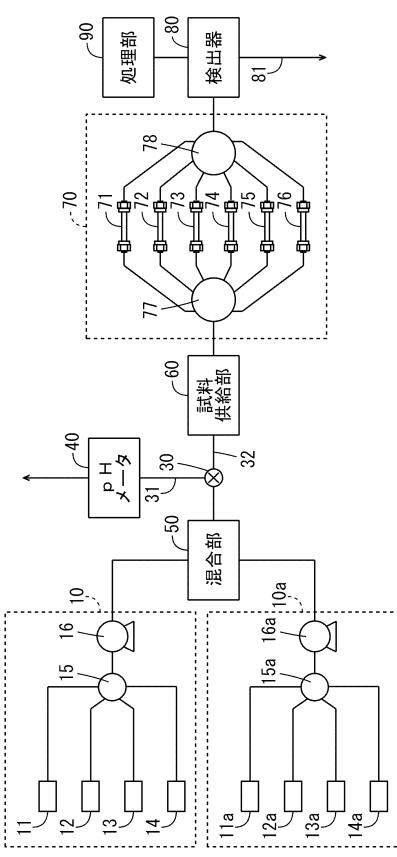
30

40

50

【図面】  
【図 1】

【図 2】



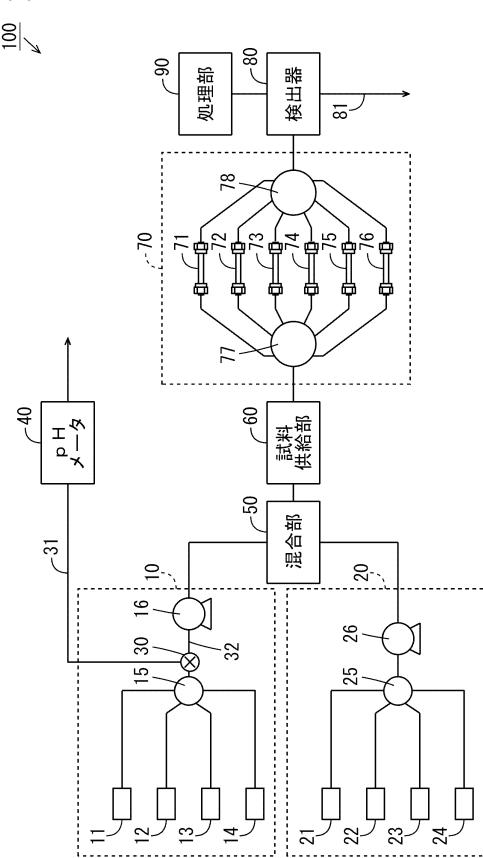
10

20

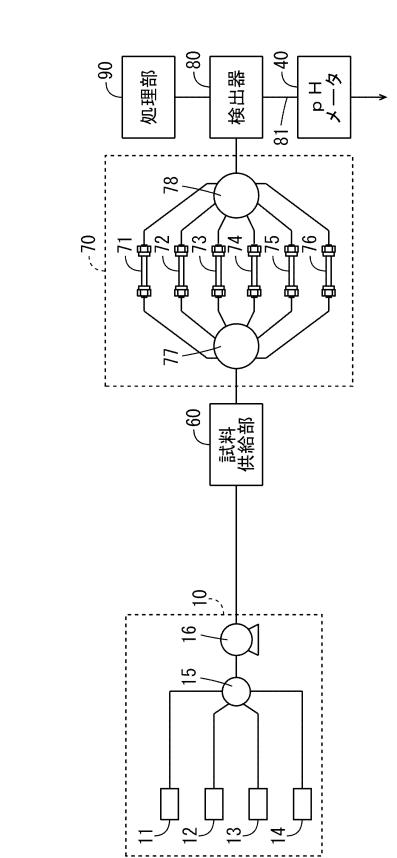
30

40

【図 3】

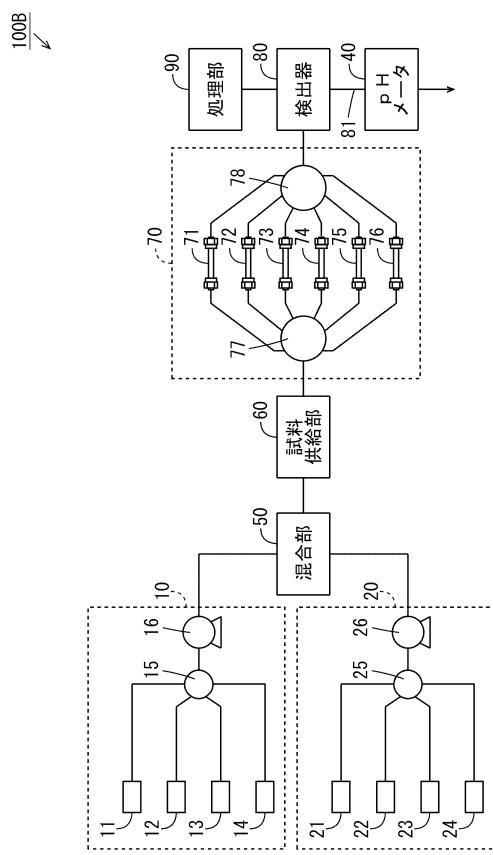


【図 4】

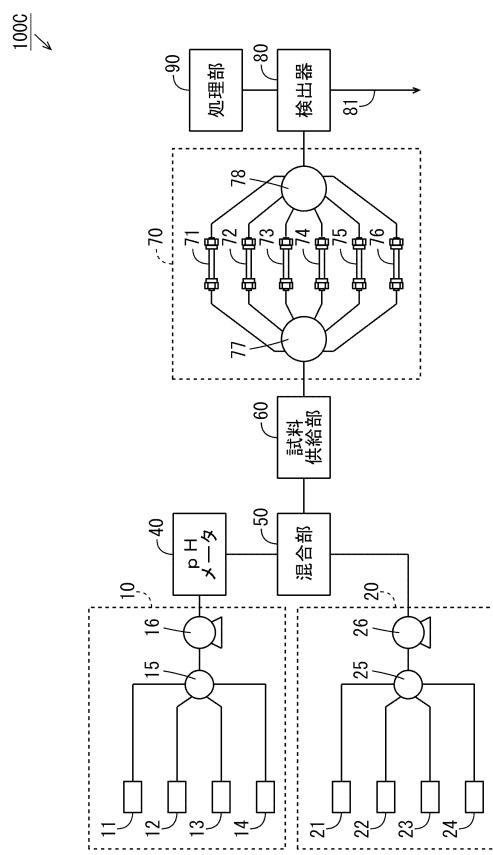


50

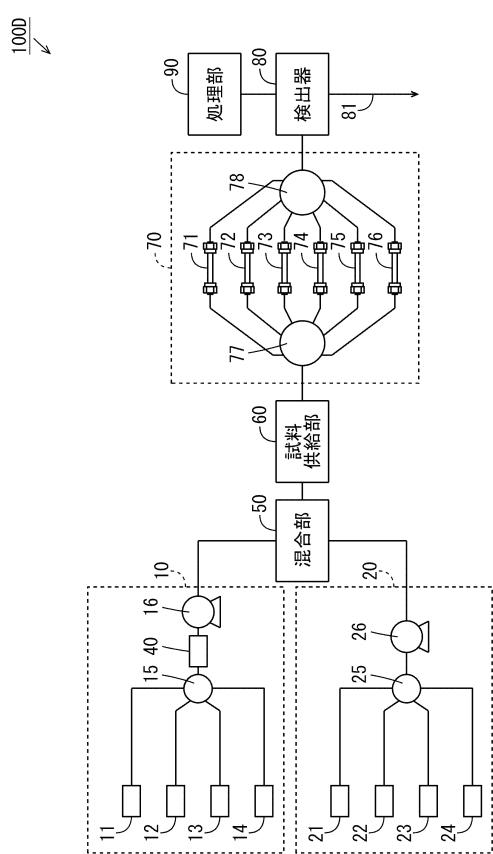
【図 5】



【図 6】



【図 7】



10

20

30

40

50

---

フロントページの続き

- (56)参考文献
- 国際公開第2019/111438 (WO, A1)
  - 特開2015-017924 (JP, A)
  - 国際公開第2018/042529 (WO, A1)
  - 特表2018-503809 (JP, A)
  - 国際公開第2013/011818 (WO, A1)
  - 特表2013-506128 (JP, A)
  - 特表2013-529781 (JP, A)
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
- G 01 N 30/00 - 30/96