

コレステロール及びエステル型コレステロールの分離

胆汁酸やステロイドホルモンの前駆体であるコレステロールは、血中では遊離型が 30% とリノール酸などの脂肪酸と結合したエステル型が 70% の割合で存在しています。これらは、他の脂質と同様にタンパク質とゆるく結合してリポタンパク質を形成しています。

コレステロール類は脂溶性が高いために逆相クロマトグラフィーで分析する場合には、溶離液組成は主として有機溶媒になります。図 1 に、アセトニトリルを溶離液として TSKgel ODS-80Ts と TSKgel Octyl-80Ts を用いたときのコレステロールのクロマトグラムの比較を示します。14.7 分と 4.8 分付近に溶出しているピークが、それぞれ ODS- 及び Octyl-80Ts に相当します。また、Octyl-80Ts を用いて溶離液を CH₃CN/H₂O=95/5 とするとほぼ中間の 9.4 分付近に溶出しました。図 2 は、コレステロールと脂肪酸のエステル結合型のクロマトグラムで、カラムに TSKgel ODS-120T を用い、溶離液としてアセトニトリルとイソプロパノールの等量混合液を用いています。

測定条件 (図 1)

カラム : TSKgel ODS-80Ts
(4.6mm I. D. x15cm)
TSKgel Octyl-80Ts
(4.6mm I. D. x15cm)
溶離液 : CH₃CN, CH₃CN/H₂O=95/5
流速 : 1.0 ml/min 温度 : 40°C
注入量 : 10ul 試料 : コレステロール
濃度 : 0.5, 0.2, 0.05mg/ml
検出 : UV (210nm)

測定条件 (図 2)

カラム : TSKgel ODS-120T
(4.6mm I. D. x15cm)
溶離液 : CH₃CN/(CH₃)₂CHOH=50/50
(CH₃)₂CHOH:iso-propanol
流速 : 1.0 ml/min 温度 : 40°C 注入量 : 10ul
試料 : 1 コレステロール 2 コレステロールリノレート
3 コレステロールオレート 4 コレステロールパルミテート
5 コレステロールステアテート
濃度 : 0.5mg/ml 検出 : UV (210nm)

装置構成

CCPS, UV-8020, CO-8020, AS-8020, SC-8020

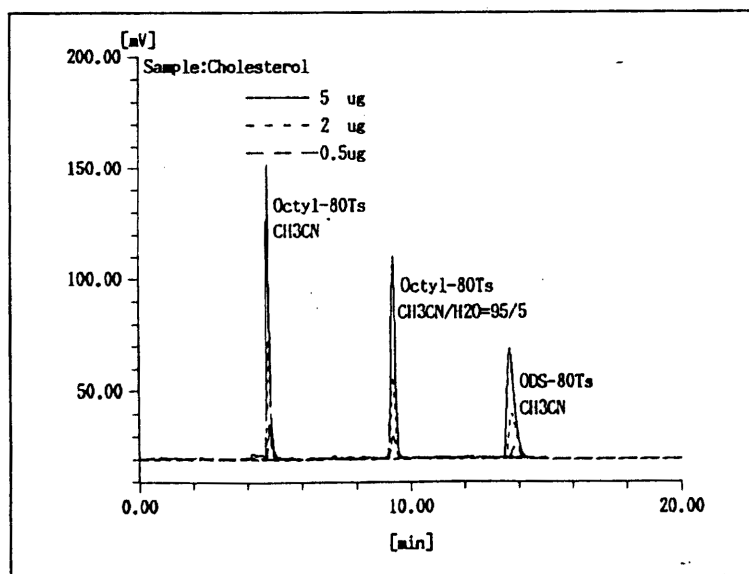


図 1

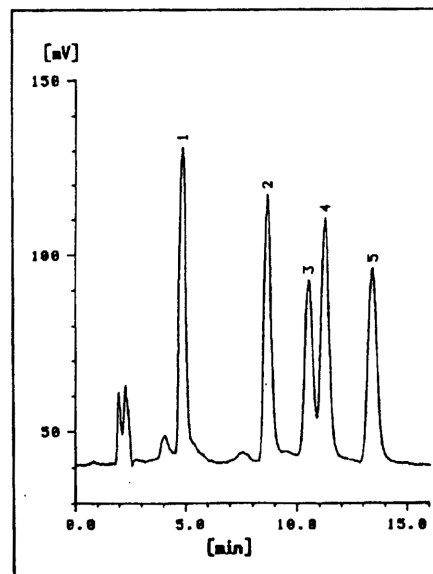


図 2