

LC TALK

Vol. 113
October 2020



Talk LC、LC/MS関連の用語 …… P. 2

Applications 蛍光検出HPLCによるヒト血漿中ファビピラビルの定量 …… P. 4

TEC ネットワークやM2Mを活用したテレワーク・リモートワーク支援 …… P. 7

Products 高速液体クロマトグラフ 蒸発光散乱検出器 ELSD-LT III …… P. 10

Talk

LC、LC/MS 関連の用語

東京理科大学
中村 洋

● はじめに

広辞苑によると、用語 (term) は「使用する言語・語句。特定の部門や人に特に使われることば。」と説明されている。従って、様々な学問や産業ごとに特有の用語が存在する事になる。用語の主な機能は、概念を言語や略号にして他人に伝える事に在るので、新しく誕生したり、発展が著しかったりする分野ほど、新規用語や修正用語が生まれる確率が高い。

さて、ご承知の様に LC (液体クロマトグラフィー) は 1906 年に誕生し、大気圧イオン化法を利用した LC/MS (液体クロマトグラフィー質量分析) は 1990 年代に一般化された。どちらも最近誕生した訳ではないが、産業界における実用的な価値が極めて高い為、既存用語の修正や新規用語の誕生事例が多い。以下、この分野の用語に関する最近の話題を取り上げ、ご紹介したい。

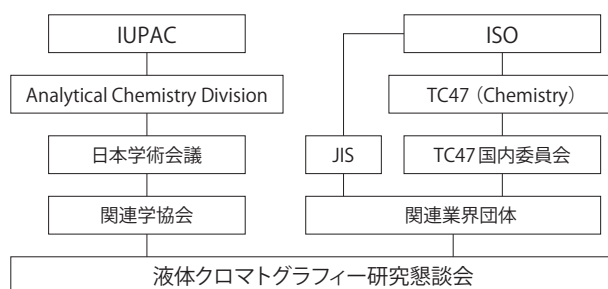
表1 用語に求められる主な特性

特性	特性の説明
正確性	意味する内容に誤りが無い事
的確性	意味する内容を的確に表している事
一義性	意味する内容が曖昧でなく、明確である事
簡潔性	用語の文言が簡潔である事
円熟性	用語 (日本語と対応英語) が熟れている事

● 用語の決まり方

化学用語に関する最上位の学術的な決定機関は、国際純正・応用化学連合 (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) である。ここを通して加盟各国の代表機関 (我が国は日本学術会議) から傘下の学会に情報が伝達される一方、日本では日本薬局方 (Japanese Pharmacopoeia, JP) などの公定法にも反映される事になる (図1)。一方、産業界では国際標準化機構 (International Organization for Standardization, ISO) から各国の加盟機関、例えば日本では日本産業標準調査会 (Japanese Industrial Standards Committee,

JISC) に決定内容が伝えられ、日本産業規格 (Japanese Industrial Standards, JIS)、日本農林規格 (Japanese Agricultural Standards, JAS) などに反映される仕組みとなっている。

図1 LC、LC/MS 関連用語の遵守・普及に関する系統図例¹⁾

● 推奨用語と非推奨用語

一度決められた用語も、表現や内容が修正される事が珍しくない。学問や技術が発展期に在る分野では、新規用語の誕生に加えて用語の修正が多く見られる。LCやLC/MSに関連する分野の最新用語については、分析化学の基礎用語²⁾、クロマトグラフィー関係用語の JIS³⁾⁻⁵⁾、LC/MS 関係の JIS⁶⁾、MS 関連用語に関する IUPAC の推奨⁷⁾、日本質量分析学会の MS 用語集⁸⁾ 及びその追補版⁹⁾ などが参考になる。なお、文献⁷⁾ で並列的に推奨された ion (ization) suppression 及び ion (ization) enhancement は、用語の趣旨を考えるとどちらもカッコ内を活かした用語が真つ当であり、日本語訳としてはそれぞれイオン化抑制、イオン化促進に統一すべきと思われる。

LC 及び LC/MS 分野における、その他の主な新旧用語の例を表2に示す。学術的な観点からの修正が多いが、商品名の忌避、ジェンダーレス用語への変換などの例もある。工学分野では、コンピュータ、プリンタなど音引きをしない用語が使われる事が多いが、LC 及び LC/MS 分野では音引きの用語が殆どである¹⁰⁾。用語の読み方も年々変化しているので、学会発表等では最新の読み方をしたいものである。主な例を表3に示す。

● おわりに

用語は学問や技術の進歩を反映しており、謂わば時代と共に変わる生き物の様なものである。従って、常々用語の変化に細心の注意を払い、最新の用語を正しく使う事が大事である。そうは言っても、最新用語の表記と読み方（区切り方）を把握しておくには相当の努力が要る。

それには、（公社）日本分析化学会液体クロマトグラフィー

研究懇談会（LC懇）の例会や、本誌を始めとする関連情報誌などで情報を収集し、分析士認証試験で腕試しする事が有効であり自信にも繋がる。又、用語に関する質問や提言をお持ちの場合は、LC懇の電子ジャーナル『LCとLC/MSの知恵』に投稿戴ければ幸いである。紙面の都合で触れる事が出来なかった科学用語の問題点については、啓育講演要旨¹¹⁾を参照願いたい。

表2 LC, LC/MS及び関連分野における推奨用語と非推奨用語の比較例

分野	推奨用語	英語	略号	非推奨用語	英語	略号
LC	イオン形	ionic form		イオン型	ioninc form	
	解離形	dissociation form		解離型	dissociation form	
	クロマトグラフィー管	chromatographic tube		クロマト管	chromatographic tube	
	分子形	molecular form		分子型	molecular form	
	保持係数	retention factor	k	キャパシティーファクター	capacity factor	k'
	ホールドアップタイム	holdup time		デッドタイム	dead time	
LC/MS	ポリテトラフルオロエチレン	poly(tetrafluoro)ethylene	PTFE	テフロン®	Teflon®	
	インターフェイス	interface		インターフェース	interface	
	m/z	m over z		質量電荷比	mass-to-charge ratio	m/z
	キングドントラップ	Kingdon trap		オービトラップ®	Orbitrap®	
	衝突ガス	collision gas		ターゲットガス、標的ガス	target gas	
	選択イオンモニタリング	selected ion monitoring	SIM	選択イオン検出	selected ion detection	SID
	選択反応モニタリング	selected reaction monitoring	SRM	多重反応モニタリング	multiple reaction monitoring	MRM
	全イオン電流クロマトグラム	total ion current chromatogram	TICC	全イオンクロマトグラム	total ion chromatogram	TIC
	全イオンモニタリング	total ion monitoring	TIM	全イオン検出	total ion detection	TID
	電子イオン化	electron ionization	EI	電子衝撃イオン化	electron impact ionization	
	抽出イオンクロマトグラム	extracted ion chromatogram	EIC	再構成イオンクロマトグラム	reconstructed ion chromatogram	
	抽出イオンクロマトグラム	extracted ion chromatogram	EIC	マスコクロマトグラム	mass chromatogram	
	統一原子質量単位	unified atomic mass unit	u	原子質量単位	atomic mass unit	amu
	二次プロダクトイオン	2 nd -generation product ion		孫娘イオン	granddaughter ion	
	プリカーサーイオン	precursor ion		親イオン	parent ion	
	プロダクトイオン	product ion		娘イオン	daughter ion	
	プロトン付加分子	protonated molecule		プロトン化分子イオン	protonated molecular ion	
	ラジカルアニオン	radical anion		アニオンラジカル	anion radical	
	ラジカルカチオン	radical cation		カチオンラジカル	cation radical	

表3 読み方が変更されている主な用語・略号

用語・略号	新しい読み方	推奨されない読み方
MS	エムエス	マス
MS ⁿ	エムエスエヌじょう	エムエスのエヌじょう
m/z	エムオーバースィー	エムバーゼッド
LC-MS	エルシーエムエス	エルシーマス
LC/MS	エルシーエムエス	エルシーマス
MS-MS	エムエスエムエス	マスマス
MS/MS	エムエスエムエス	マスマス
LC-MS-MS	エルシーエムエスエムエス	エルシーマスマス
LC-MS/MS	エルシーエムエスエムエス	エルシーマスマス
LC/MS/MS	エルシーエムエスエムエス	エルシーマスマス
pH	ピーエイチ	ペーハー
t ₀	ホールドアップタイム	ティーゼロ
TOF-MS	トフエムエス	トフマス
MALDI	マルディー	モルディー

引用文献

- 1) 中村 洋企画・監修、LC/MS, LC/MS/MS 虎の巻 Q&A100, 38, オーム社 (2016)
- 2) JIS K 0211: 2005 分析化学用語 (基礎部門), 日本規格協会 (2005)
- 3) JIS K 0214: 2013 分析化学用語 (クロマトグラフィー部門), 日本規格協会 (2013)
- 4) JIS K 0124: 2011 高速液体クロマトグラフィー通則, 日本規格協会 (2011)
- 5) JIS K 0127: 2013 イオンクロマトグラフィー通則, 日本規格協会 (2013)
- 6) JIS K 0136: 2015 高速液体クロマトグラフィー質量分析通則, 日本規格協会 (2015)
- 7) K. K. Murrayら, Pure Appl. Chem., 85, 1515-1609 (2013)
- 8) 日本質量分析学会編, マススペクトロメトリー関係用語集, 第3版, 国際文献印刷社 (2009)
- 9) 吉野健一ら, J. Mass Spectrom. Soc. Jpn., 65, 76-90 (2017)
- 10) 中村 洋, 2013 年度分析士会総会研修講演要旨集, 1-5 (2014)
- 11) 中村 洋, 第25回LC & LC/MSテクノプラザ講演要旨集, 69-72 (2020)

執筆者紹介

東京大学薬学部製薬化学科卒業、修士課程修了、博士課程中退後、教務職員、助手、NIH Research Fellow、助教授を経て東京理科大学薬学部教授、評議員、理事、名誉教授。現在、（公社）日本分析化学会・分析士会会長、同・液体クロマトグラフィー研究懇談会委員長。

専門分野

分析化学

将来の夢

LC懇電子ジャーナルのマンスリー化

趣味

植物栽培、古代史の謎

Applications

蛍光検出 HPLC による ヒト血漿中ファビピラビルの定量

グローバルアプリケーション開発センター
鈴木 里沙、尾坂 裕輔

2020年現在、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は猛威を振るい、感染者は日々増加、経済や生活様式にも多大なる影響を及ぼしています。そのため、治療薬やワクチンの開発が世界的急務となっています。治療薬候補の一つであるファビピラビル（商品名：アビガン®、図1）は、新型または再興型インフルエンザウイルス感染症に対して研究・創薬された抗インフルエンザウイルス薬として知られています^{1), 2)}。

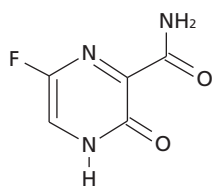


図1 ファビピラビルの構造式

ファビピラビルは、ウイルスのRNA塩基の前駆物質と類似構造を取っているため、RNA依存性RNA合成酵素（RdRp）が誤認して取り込むことでRNA伸長阻害を起こし、インフルエンザウイルスの増殖を止めることができます。ファビピラビルが候補薬となっている理由の一つに、この阻害活性がインフルエンザウイルスに限らず、ほとんどのRdRpに対して有効であることが挙げられ、新型コロナウイルスにも効果があるのではないかと考えられています^{1), 2), 3)}。しかし、ファビピラビルは水酸化物として尿中へと速やかに排泄されやすいため、ファビピラビルの血中濃度を正しくモニタリングし、投与量やタイミングをコントロールする必要があります。

血漿中ファビピラビルの定量法には、LC/MS/MSシステムによる方法^{4), 5)}がありますが、本稿では蛍光検出HPLCを用いた定量法についてご紹介します。

1. ファビピラビルの検出

図2に、ファビピラビルの吸収スペクトルを示します。ファビピラビルは360 nmに吸収極大波長をもつため、励起波長を360 nmに設定すると図3に示す433 nmに極大をもつ蛍光スペクトルが得られます。このことから、蛍光検出器を用いることができるため、吸光光度検出器より高い感度での定量分析が期待できます。実際、蛍光検出器でファビピラビルを測定した場合、吸光光度検出器に比べて約240倍の高い感度が得られ、より低濃度域までの測定が可能になります。

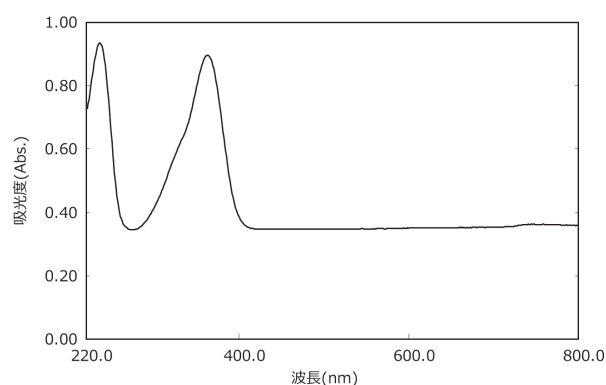


図2 ファビピラビルの吸収スペクトル（装置：UV-2600）

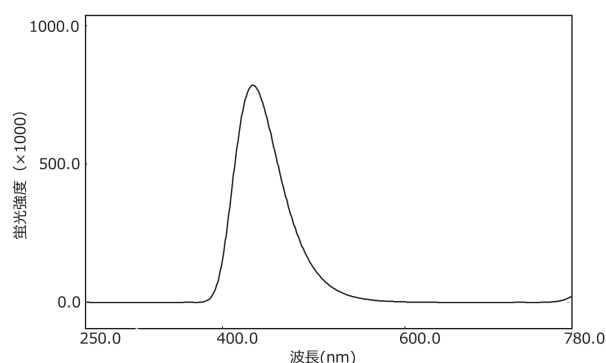


図3 ファビピラビルの蛍光スペクトル（装置：RF-6000）

2. 血漿の前処理

HPLCによる血漿中低分子化合物の分析では、カラム詰まりや劣化を低減させるために、一般に血漿中のタンパク質を除去する前処理を行います。ここでは、血漿25 μ Lにメタノール100 μ Lを添加して攪拌、遠心分離後の上清を回収することによる除タンパク処理を行いました。図4に、前処理フローを示します。

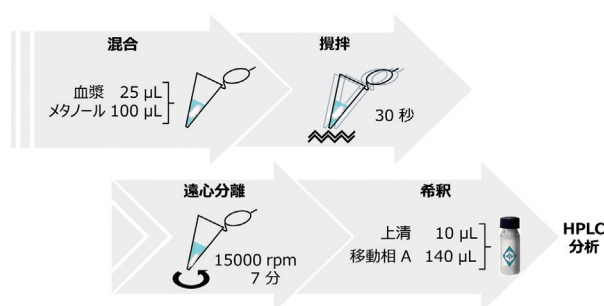


図4 除タンパク前処理フロー

3. 分析条件

ファビピラビル標準品は、Alsachim社から購入しました^{*}。市販されている正常ヒト血漿EDTA-2Naにファビピラビルを添加し、検量線用およびQC用サンプルの調製を行いました。分析カラムにはShim-pack Scepter™ C18-120、ガードカラムにはShim-pack Scepter C18-120 (G) を使用しました。分析条件の詳細を表1に示します。また、グラジエント溶離のタイムプログラムを表2示します。

図5は、血漿中ファビピラビルのクロマトグラム（検量線用）です。ファビピラビルは1、10、25、50、100 μ g/mLを検量点とし、n=6で測定を行いました。血漿添加サンプルは、図4のフローに示す除タンパク処理を施し、得られた上清を移動相Aで15倍希釈後、HPLC分析に供しました。

^{*} P/N C8720（島津ジーエルシーおよびAlsachim製品番号）

表1 分析条件

装 置	: Nexera™ XR
カラム	: Shim-pack Scepter C18-120 ^{*1} (150 mm x 4.6 mm I.D., 5.0 μ m)
ガードカラム	: Shim-pack Scepter C18-120 (G) ^{*2} (10 mm x 4.0 mm I.D., 5.0 μ m)
移動相	: A) 10 mmol/L リン酸（ナトリウム）緩衝液 (pH 6.9) B) メタノール、グラジエント溶離
流 量	: 1.0 mL/min
温 度	: 30 °C
注入量	: 1.0 μ L
試料バイアル	: TORAST-H Glass Vial（島津ジーエルシー） ^{*3}
検 出	: 蛍光検出器（RF-20A） 励起 360 nm ¹⁾ 、蛍光 433 nm

^{*1} P/N 227-31020-05、^{*2} P/N 227-31126-01、^{*3} P/N 370-04301-01

表2 タイムプログラム

時間 (分)	A 濃度	B 濃度
0	100	0
2.5	100	0
7.5	30	70
9.5	30	70
9.51	100	0

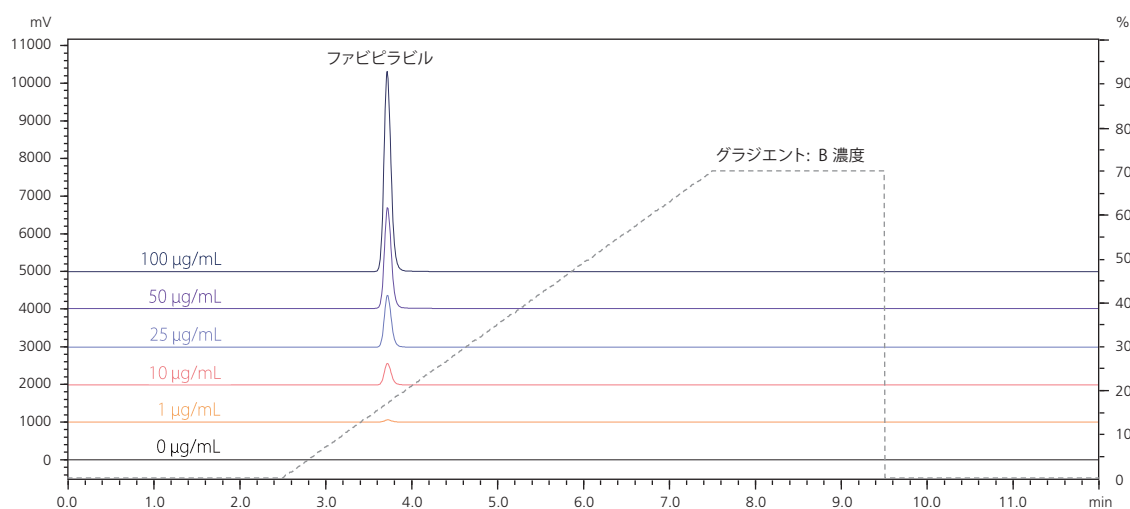


図5 血漿中ファビピラビルのクロマトグラム

4. 検量線

図6に、得られた検量線を示します。設定した定量範囲において、良好な直線性 ($R^2=0.999$, Weighting; $(1/C)$) が得られました。表3に、真度（正確さ）および精度（再現性）を評価した結果を示します。定量下限を含む全濃度範囲において、ファビピラビルの精度は%RSD 0.21 %–0.31 %でした。また、正確さは92.1 %–106 %であり、 100 ± 8 %以内となりました。

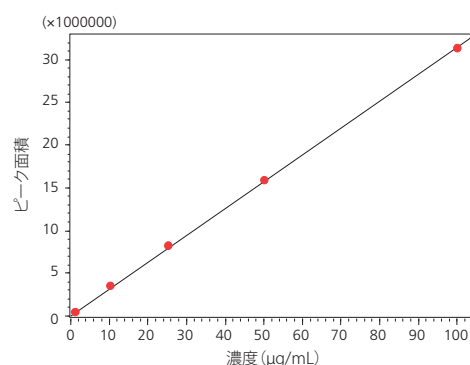


図6 検量線

表3 血漿中ファビピラビルのHPLC分析における真度および精度

ID	Spiked Conc. (μg/mL)	Intra-Assay (n=6)		
		Measured Conc. (μg/mL)	Precision %RSD	Accuracy %
Blank	---	---	—	---
Level 1	1	0.921	0.25	92.1
Level 2	10	10.6	0.31	106
Level 3	25	25.8	0.26	103
Level 4	50	49.8	0.21	100
Level 5	100	98.8	0.24	98.8

5. QCサンプルを用いた妥当性評価

ファビピラビルの血漿中濃度を2、45、90 μg/mLに調製した試料をQCサンプルとし、併行精度を評価しました。表4に、その結果を示します。

ファビピラビルの精度は、%RSD 0.18 %–0.35 %でした。また、ファビピラビルの正確さは96.5 %–100 %と 100 ± 4 %以内になりました。

表4 血漿中ファビピラビル分析の併行精度

Compound	QC Sample	Spiked Conc. (μg/mL)	Intra-Assay (n=6)		
			Average Conc. (μg/mL)	Precision %RSD	Accuracy %
Favipiravir	Low	2	1.93	0.18	96.5
	Medium	45	45.1	0.20	100
	High	90	88.7	0.35	98.5

6. まとめ

ファビピラビルの血漿に添加し、HPLCによるファビピラビルの定量分析系を構築しました。検出器に蛍光検出器を用いることで感度良く定量することが可能となり、QCサンプルを用いた併行精度評価では、良好な正確さと再現性を得ました。

未だにコロナウイルス感染症が猛威を振るっている中で、ファビピラビルが使用される可能性もあり、血中濃度評価系の需要は増加傾向にあります。今回ご紹介しました手法は、質量分析計を必要とせず、HPLCと蛍光検出器の組み合わせで省スペースかつ感度の高い評価が可能です。

今後評価検体数の増加を見込み、同系で更なる高速化を目指していく予定です。

参考文献

- 1) Brian B. Gowen et. al., *Antiviral Res.*, 121, 132-13 (2015)
- 2) E. Takashita et. al., *Antiviral Res.*, 132, 170-177 (2016)
- 3) K. Shiraki et. al., *Pharmacol. Ther.*, 209, 107512 (2020)
- 4) 島津アプリケーションニュース No.C229 (2020)
- 5) 島津アプリケーションニュース No.C230 (2020)

本文書に記載されている製品は、医薬品医療機器法に基づく医療機器として承認・認証を受けておりません。
治療診断目的およびその手続き上での使用はできません。

Shim-pack ScepterおよびNexeraは、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

アビガンは、富士フイルム富山化学株式会社の登録商標です。

その他、本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。

本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

TEC

ネットワークやM2Mを活用した テレワーク・リモートワーク支援

ITソリューションビジネスユニット
大野 浩司、吉田 剛

新型コロナウイルス感染症の感染拡大を受け、その対策として在宅での勤務形態が急速に拡大しました。今後の感染拡大防止に向け政府が示した「新しい生活様式」の中でもテレワークやローテーション勤務が推奨されています。また、通勤や事業所間の移動に充てていた時間を有効活用できる、子育てや介護との両立ができるなど、働き方改革・業務の効率化の観点からも、テレワークやリモートワーク環境の導入を検討する企業が増えており、遠隔化環境を整備することが不可欠となってきました。この「新しい生活様式」の流れは、分析業務においても普及が期待されますが、在宅勤務の導入により分析関連業務が滞る、遠隔でデータの共有や閲覧環境の構築方法が分からない、といった課題が出て来ています。

そこで、本稿では「ニューノーマルな分析ラボでの働き方」の実現を支援する、テレワーク・リモートワークに役立つ島津製作所のソリューションをご紹介します。

1. 在宅勤務支援ソリューション

島津ワークステーション「LabSolutions」には、大きく分けてスタンドアロン、ネットワークの2つのシステム形態があります。

スタンドアロンシステムは、各PCに接続した装置を制御し制御用PC内にデータを保存する形態です。LabSolutions LC/GCというエディションをご用意しています。それぞれのPC上で作業をする必要があるため、同時に複数人で使用することはできませんが、シンプルで安価に導入することができます。

ネットワークシステムであるLabSolutions CSは、クライアントとサーバーを用意し、各クライアント端末から分析指示/モニタリング、データ解析といった処理を同時に行うことができるシステムです。データはサーバー上のデータベースで一元管理されるためどのクライアント端末からでも閲覧することが可能です。

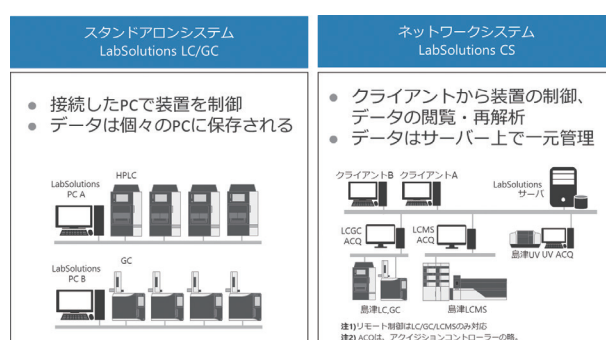


図1 LabSolutionsのエディション

また、LabSolutionsとは独立したLC装置のリモートモニタリングシステムとして、LabTotal Smart Service Netがあります。M2M/IoT技術を活用することで、M2Mルータ（M2M Gateway）が分析装置から、稼働情報、消耗品情報、エラー情報を収集し、Webブラウザ上で閲覧したり、メールで通知を受け取ることができます。

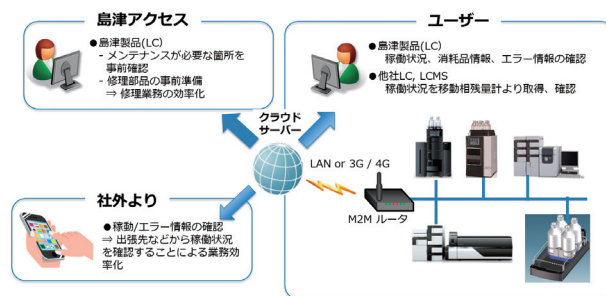


図2 LabTotal Smart Service Net

次に、スタンドアロン、ネットワーク、装置のリモートモニタリングの各システムの利用例について述べます。

2. スタンドアロンシステム

① 再解析を自宅にあるPCで実施

まず1つ目は、各個人のPCでLabSolutionsを利用するパターンです。お手持ちのPCとLabSolutionsの再解析専用ライセンスを利用することで、手軽にデータの解析やレポートの作成等を行う環境をご用意いただけます。

会社のワークステーション環境の変更は必要なく、簡単に導入できるという点がメリットです。

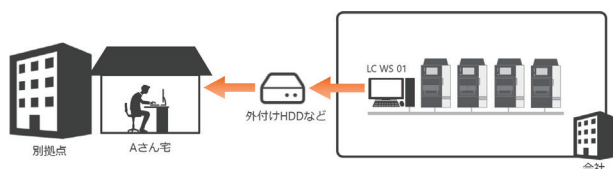


図3 LabSolutions再解析ライセンスの利用

デメリットとしては、各個人のPCに会社の業務で利用しているLabSolutionsと同じバージョンをインストールする必要があり、人数が多いラボでは手間がかかる可能性があります。また、データを外付けHDD等に保存して持ち出すため、データを守るためのセキュリティ対策や、どのデータが最新版か等の管理を適切にする必要があります。

② LabSolutions Directに遠隔モニタリングと操作

2つ目は、LabSolutions LC/GCに搭載されているLabSolutions Directを利用するパターンです。LabSolutions Directは、スマートデバイスや、WebブラウザでHPLC/GCの制御やモニターが可能なLabSolutions LC/GCのリモートアクセスツールです。



図4 LabSolutions Directの基本構成

LabSolutions LC/GCが簡易Webサーバーになりますので、VPNで社内ネットワークに接続できる場合は、自宅のPCからWebブラウザ経由で、装置の制御・モニタが可能になります。LabSolutionsを自宅のPCにインストールする必要がありません。



図5 LabSolutions Directを在宅勤務で利用する例

LabSolutions Directでは、Webブラウザやスマートデバイスから分析に使用するメソッドファイルとバッチファイルを簡単に選んで指定できます。装置のモニター値や、検出器ベースライン等をモニターし、良い状態を確認できたら分析をスタートします。また、分析中のクロマトをモニターすることができ、分析終了後は分析結果レポートのPDFファイルを閲覧することが可能です。



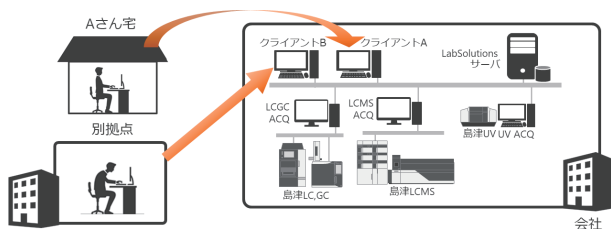
図6 LabSolutions Directの提供機能

3. ネットワークシステム

① LabSolutions CSを自宅からリモートデスクトップで利用

3つ目は、ネットワークシステムLabSolutions CSを利用するパターンです。LabSolutions CSのクライアントPCにリモートデスクトップ機能を使用して接続します。

スタンドアロンシステムでは、特定の人にPCを占有されてしまうとそのPCに保存されたデータの閲覧や接続された装置のモニタリング等ができない状態になってしまいます。しかし、ネットワークシステムを利用することにより、どのPCからでも全ての装置・データに対してアクセスすることができるようになります。



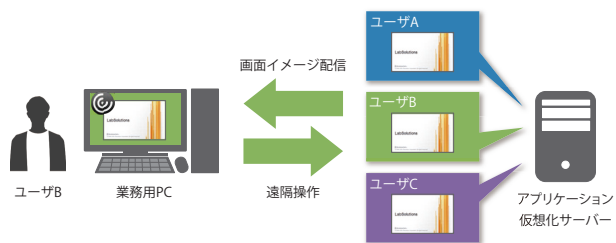
デメリットは、リモートデスクトップ機能を使用するため、PCスペックや回線速度によっては操作が非常に遅く感じられることが挙げられます。また、自宅など外部から接続するため、適切なセキュリティ対策が必要になります。

② LabSolutions CS (アプリケーション仮想化技術)

4つ目は、LabSolutions CS仮想化基盤ソフトウェアを組み合わせて利用する方法です。

アプリケーション仮想化技術は、サーバー上で実行しているアプリケーションの画面イメージのみを業務用PCに配信できるシステムです。LabSolutionsのアプリケーションのみを遠隔操作し、独自のデータ圧縮技術を利用するため、リモートデスクトップ機能よりもネットワークへの負荷が低く、セキュリティ上のリスクも低くなります。

アプリケーション仮想化技術を利用する場合は、アプリケーション仮想化サーバーを用意します。各個人のPCからWebブラウザを使ってアプリケーション仮想化サーバーに接続することで、クライアントアプリケーションを利用することができます。全ての方がいつでもLC/GC等の装置制御やデータ解析、レポート作成等の業務を行うことが可能であり、また、データはサーバー上で一元管理されるため、リモートワークへの柔軟な対応はもちろん、普段の業務の効率化にも大きな効果が期待できます。アプリケーション仮想化で利用できるのは、LC/GCの分析・再解析、全機種の結果情報とPDFレポートの閲覧です。



4. 装置のリモートモニタリング

最後にLabTotal Smart Service Netをご紹介します。本サービスは、M2M / IoTを活用してラボの装置の稼働状況をクラウドサーバーに集約し、迅速かつ効率的にラボの装置の管理を

行えるサービスです。収集したデータを閲覧するためのWebアプリケーションをご提供していますので、テレワーク・リモートワークでは、以下のようなケースで活用することができます。

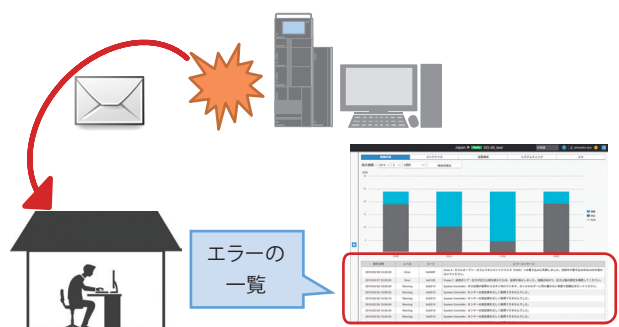
① 分析が順調に進んでいるかどうかを確認

装置一覧画面に、現在の装置状態が表示されますので、自宅から分析が順調に進んでいるかを簡単に確認することができます。また、スマートフォンでも確認できます。



② エラーが発生した場合には迅速に内容を把握

エラーが発生した場合は、メールが送信されます。また、画面上でエラーの履歴を確認できますので、自宅から出社している同僚にサポートを依頼したり、出社勤務に切り替えて対処したりと柔軟な働き方が可能になります。



③トラブルを防止するため適切なタイミングで消耗品を交換

装置トラブルによる急な出社を減らすために、適切なタイミングでの消耗品交換など装置のメンテナンスは大切です。LabTotal Smart Service Netでは、これまでの使用状況から消耗品が交換目安に達する日を予測してメールが通知されるので計画的なメンテナンスが可能です。



図11 消耗品の管理

Products

高速液体クロマトグラフ 蒸発光散乱検出器 ELSD-LT III

LCビジネスユニット
秋田 知志、田中 宏

ELSD-LT III



蒸発光散乱検出器（ELSD）は、不揮発性分析種を含むカラム溶出液を噴霧、加熱して移動相だけを蒸発させ、残った分析種に光を照射してその散乱光を検出します。移動相よりも揮発しにくいほとんど全ての物質を検出することができる点、極めて検出汎用性が高い検出器です。また、高い検出汎用性をもつ検出器として広く用いられている示差屈折率検出器（RID）と比べ、感度に優れ、グラジエント溶離が適用できるという大きな利点があります。さらに、イオン化しにくい物質も検出可能なため、LCMSの補助として用いることができます。

ELSD-LT IIIは、最新の技術により感度の向上を実現するとともに、物質の濃度に応じたゲイン設定が不要でユーザビリティの高いELSDです。ELSD-LT IIIは、製薬、化学、食品などの分野において、糖、脂質、脂肪酸、界面活性剤、天然高分子、合成高分子などの紫外吸収性の乏しい物質の分析に幅広くお使いいただける検出器です。

1. ELSDによる検出の流れと利点

図1に、ELSDによる検出の流れを示します。カラムにより分離された分析種は、移動相とともにネブライザで噴霧されミスト状になり、ドリフトチューブへと導かれます。ドリフトチューブ内においては、加熱により移動相のみを蒸発させ、蒸発せずに残った移動相中の分析種が固体微粒子となって検出部へと運ばれます。検出部では、光源からの光が微粒子化した分析種により散乱され、散乱光が発生します。その散乱光強度を光検出器により測定して、分析種の検出を行います。

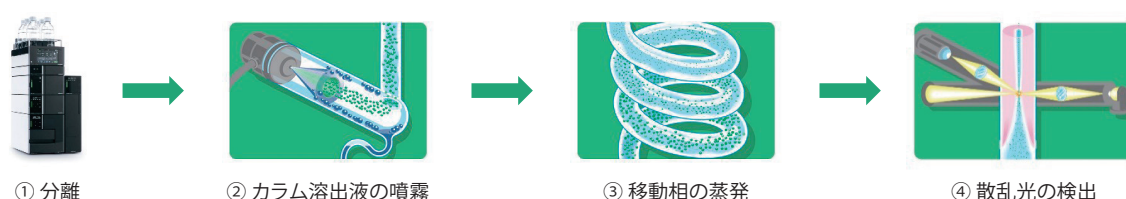


図1 ELSDによる検出の流れ

● 高い検出汎用性

ELSDは原理上、検出汎用性が高い検出器であり、短波長にしか吸収がなく、移動相バックグラウンド吸収の影響を避けられない物質の検出に有効です。図2に、紫外吸収が乏しいポリエチレングリコール（PEG 1000）のクロマトグラムを示します。ここでは、グラジエント溶離によりPEGを重合度別に分離・検出しています。

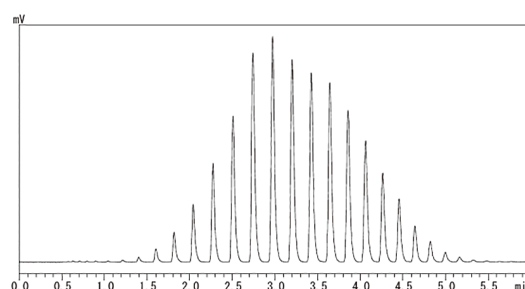


図2 ポリエチレングリコールのクロマトグラム

● グラジエント溶離による効率化

ELSDはRIDでは不可能なグラジエント溶離が適用できるため、紫外吸収性の乏しい物質の多成分一斉分析の効率化が図れる大きな利点があります。図3に、オリゴ糖標準混合液のグラジエント溶離とイソクラティック溶離の比較クロマトグラムを示します。

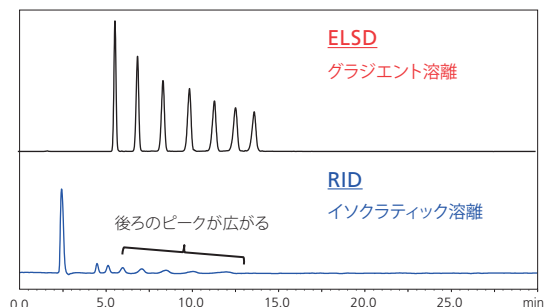


図3 オリゴ糖標準混合液のクロマトグラム

2. ELSD-LT IIIの特長

● 移動相の低温蒸発機構

ELSDにおいて低い温度で分析を行うと、蒸発し切れない大きな液滴が散乱光を発生させノイズの原因となります。ELSD-LT IIIでは、ユニークな構造をしたガラスセルによりこの問題を解決しました。ELSD-LT IIIのネブライザから出る微細な液滴は、ネブライザガスの気流に乗ってガラスセルを通過しドリフトチューブに導かれますが、大きな液滴はネブライザガスの気流に乗り切れずにガラス管表面に付着し、液体となってサイフォン管に溜まり排出されます。サイフォン部は常に排液が溜っているため、ネブライザガスは全てドリフトチューブに流れ込んでいきます（サイフォンスプリット方式、図4）。このようにしてノイズの原因になる大きな液滴を選択的にスプリットし、小さな液滴だけを効率良くドリフトチューブ内に導入します（図5）。ELSD-LT IIIでは、この技術によって低温蒸発でもノイズを低く抑えることができるため、35℃（有機溶媒系移動相）～40℃（水系移動相）という低いドリフトチューブの温度設定で移動相を気化することにより、ほとんどの不揮発性物質について効率の良い高感度な分析が可能となります。

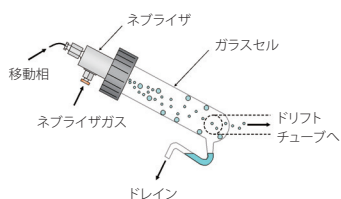


図4 サイフォンスプリット方式

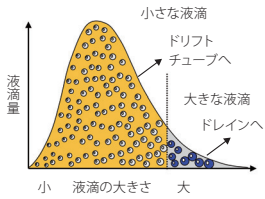


図5 ドリフトチューブに導入される液滴イメージ

● レーザー光源の採用による高感度化

ELSDでは、高出力なレーザー光源を採用することにより、従来のELSDにない高感度を実現しました。図6にスルファニルアミドのクロマトグラムを示します。サブppmオーダーの低濃度スルファニルアミドを検出できています。また、光量が制御されたレーザーを用いていますので、長期間使用時でも感度が安定しています。

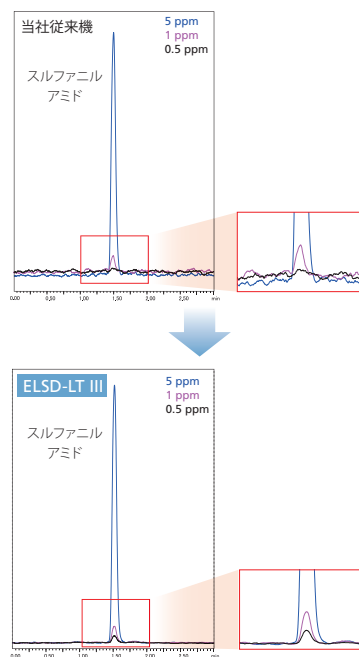


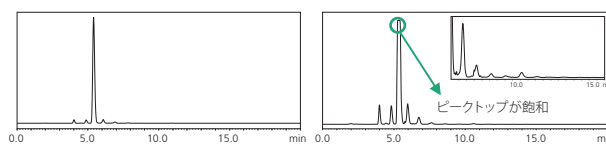
図6 低濃度スルファニルアミドのクロマトグラム

● 広範なダイナミックレンジの実現



ELSD-LT IIIは、独自のダイナミックレンジ拡張機能を有し、最大5桁の信号強度をゲイン切替することなく検出可能です。従来、単一のゲインで分析することが難しかった高濃度と微量成分が混在するサンプルを一度の分析で行うことができ、分析時間の効率化と省溶媒を実現します。

当社従来機 ゲインを変更して2回分析



ELSD-LTIII 1回の分析で高濃度成分と微量成分を一斉分析

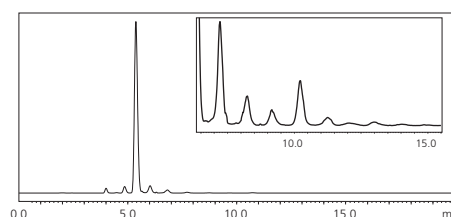


図7 濃度差があるオリゴ糖のクロマトグラム

3. 応用例

● 糖のUHPLC分析

糖類は190～195 nmという短波長域のみでしか紫外吸収が得られずRIDが用いられることが一般的ですが、RIDではグラジエント溶離が適用できないため、一斉分析には時間がかかります。図8はELSD-LT IIIとUHPLCカラムを用い、グラジエント溶離によって、従来25分間を要していた糖5成分の分析を5分に短縮した例です。

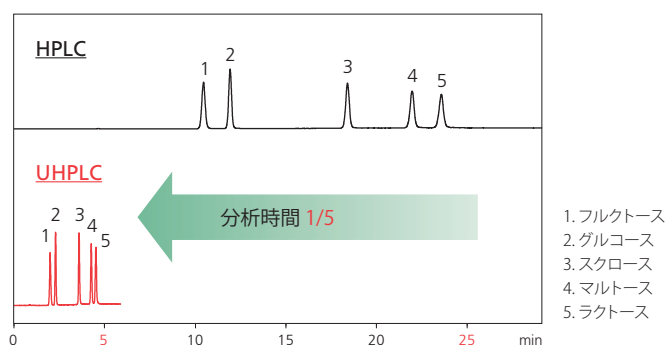


図8 糖5成分標準混合液のクロマトグラム

● コンドロイチンの分析

コンドロイチン硫酸はムコ多糖の一種であり、コンドロイチン硫酸エステルナトリウム（一般名、総称はコンドロイチン硫酸ナトリウム、以下SCS）として目薬やサプリメント中にしばしば含まれています。図9にSCS標準液のクロマトグラム、図10に市販目薬のクロマトグラムを示します。逆相モードでグラジエント溶離を用いることにより、短時間で定量性に優れたピーク形状を得ることができています。

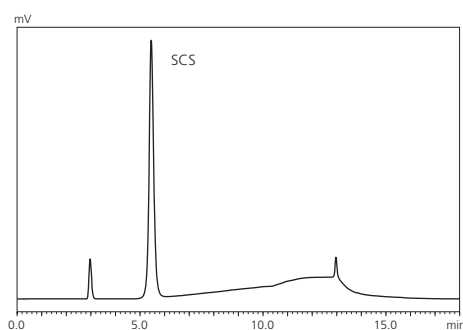


図9 SCS標準液のクロマトグラム

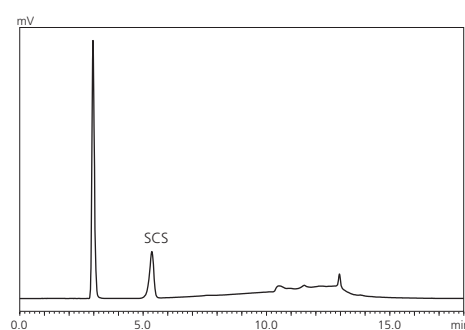


図10 市販目薬のクロマトグラム

● オリゴ糖の一斉分析

食品に含まれる糖類は、成分によって含有量に差があることが多くあります。図11にマルトオリゴ糖（G1～G7）標準混合液のクロマトグラム、図12に清涼飲料水のクロマトグラムを示します。この清涼飲料水のようにG1（グルコース）に対して微量のオリゴ糖を含む試料でも、ダイナミックレンジ拡張機能を用いることにより、特別なパラメータ設定をすることなく一度にデータを採取することが可能になります。

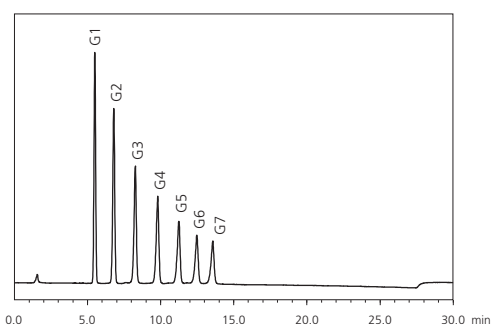


図11 マルトオリゴ糖標準混合液のクロマトグラム

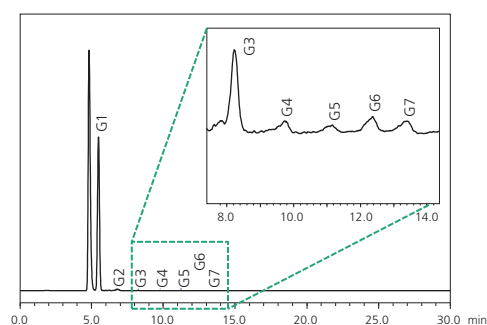


図12 清涼飲料水のクロマトグラム