

LC *talk*

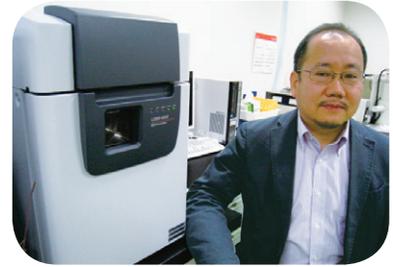
VOL. **92**



2014 October

アオコが生産する毒素について

信州大学 理学部 物質循環学科
大学院 理工学研究科
教授 朴 虎東



■ LCtalk 誌が創刊 30 周年を迎えられたとのこと、誠におめでとうございます。今後のますますのご発展をお祈りします。

■アオコの研究を始めて 20 年が過ぎた。諏訪湖のアオコの研究を始めた院生の頃は、日本の研究者がアオコ研究の様々な分野で世界トップの研究業績を発表されていたので、国内に居ながら最先端の情報と指導を受ける幸運な時代だったと思う。1996 年 2 月にブラジルのカルアルでは、アオコ毒によって 88 人の透析患者さんが亡くなり、世界保健機関 (WHO) から飲料水におけるガイドライン値 ($1.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) が制定された。そもそも「アオコ」とは富栄養化した湖沼やダム湖の水面が着色する現象を指した言葉だったが、研究分野によっては藻類の大量発生 (主に藍藻類) や原因藻類を指す言葉へと変わったようだ。アオコによって生成されている毒素は、大きく神経毒素 (anatoxin-a, anatoxin-a (s), saxitoxin) と肝臓毒素 (microcystin, nodularin, cylindrospermopsin) に分けられる。その中で日本の湖沼で検出されているアオコ毒素は、肝臓毒ミクロシスチン (microcystin, 以下 MC と略す)、神経毒のアナトクシンおよび肝臓・腎臓・脾臓に壊死を起こすシンドロスポモプシンである。現在、MC を生産すると報告されている藍藻は、*Microcystis aeruginosa* をはじめ 10 種以上が知られている。MC の構造は 7 つのアミノ酸からなる環状ペプチドであり、構成アミノ酸の違いなどにより今まで 90 種類 (分子量 909 ~ 1,115) 以上の MC が構造決定されている。

■アオコの毒素ミクロシスチン (半致死量が $50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) は、青酸ナトリウム (半致死量が $10,000 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) の 200 倍も毒性が強い。アオコ毒素による野生動物の死亡例は、1870 年代にオーストラリアでのノジュリア (*Nodularia spumigena*) による被害報告を初めとして、最近ではカナダでの野鳥の大量

死まで数多くの事例が報告されている。それにもかかわらず、これら毒性物質による被害防止のために良い対策を立てている国はまだないというのが現状である。日本でも 2007 年夏に琵琶湖の磯漁港でアイガモ 22 匹が死亡し、その肝臓から MC が検出された。その他にもアオコ毒の可能性のある鳥の死亡記事は数件あるが、原因毒素の分析まで行った事例は少ない。

■ミクロシスチンは、藍藻細胞内に存在し、細胞膜が損傷を受けることで外部に放出すると考えられる。飲料水などを通じ、動物の体内に入った MC は肝臓に特異的に毒性発現する。肝細胞に発現するトランスポータータンパク質 OATP (Organic Anion Transporting Polypeptide) が選択的に MC の細胞内取り込みを行い、細胞内に取り込まれた MC は、標的因子プロテインホスファターゼ 1 および 2A に共有結合するため、その働きを阻害する。脱リン酸化を行う酵素プロテインホスファターゼの働きが阻害されたことで、リン酸化を行う酵素プロテインキナーゼの働きが亢進するため、タンパク質の過剰なリン酸化を招く。急性毒性の場合、この過剰リン酸化タンパク質は細胞骨格のケラチン、プレクチンの損傷にともなう細胞骨格の破壊およびアポトーシスを誘発することが報告されている。また過剰リン酸化タンパク質が、がん抑制遺伝子 p53 に影響を与え、発がんプロモーターとして働くことも明らかにされた。MC を長期にわたって曝露されることで発現する慢性毒性では、MC が細胞内のミトコンドリアに毒性影響を示し、活性酸素種を作り出す。活性酸素種は、細胞膜脂質などの過酸化反応を引き起こし、細胞膜を変性させ、アポトーシスおよび肝線維症および肝硬変にともなう肝臓がんを引き起こすことが報告されている。一方、MC は、肝臓の中でシステインおよびグルタチオン (GSH) 抱合体として水溶性を高めて排泄される (図 1)。

■アオコによって生成されたMCが、湖沼・河川・河口域・海洋の水生生物に蓄積される例が国内外で報告されるようになった。長野県諏訪湖では、食物連鎖系を経てMCがどのように他の生物に移行・蓄積していくのか、を確かめるため、水生生物に含まれるMC含量の測定を行った(図2)。その結果、MC-RRと-LRが二枚貝、巻貝および甲殻類から検出された。それ以外の生物に関してのMC含有量は検出限界以下であった。諏訪湖の二枚貝における中腸腺のMC最大蓄積量は、イシガイが $420 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、ラスガイが $297 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、ドブガイが $12.6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ で、貝の種類により大きな差が見られた。哺乳動物を用いた急性・慢性毒性実験でも、MCは強い肝臓毒性を持つことが知られており、MC投与後、そのほとんどが肝臓に集まることから、貝の肝臓に当たる中腸腺に全体の半分以上のMCが存在することは理解できる。また、諏訪湖で採集したイシガイをMCがない水で3か月間飼育すると、そのMC含有量は最初の1割以下までに減少することが分かった。他生物へのMCの蓄積・移行・生物濃縮については、さらに多くの生物について調査を行い、その実態を明らかにすることが必要である。一方、湖沼で発生したアオコは、下流の河川や河口に通じ、やがて海へとたどり着く。その流下の過程でも毒素の生産と移動が起こり各水域の生物への毒性影響と蓄積が懸念されているため、海水魚の食品としての安全性評価も必要である。

■日本でも飲料水源である水域において有毒藍藻類

が発生している例もあり、飲料水を介しての人体への影響が心配される。自然湖沼およびダム湖を上水道の水源としている国々、自然湖沼およびダム湖を上水道の水源としている国々では、水源水域での富栄養化の進行による有毒藍藻類の発生に頭を悩ませているのが現状である。飲料水中の藍藻毒素MCについてのガイドラインを最初に設定した国は、オーストラリアである。同ガイドラインでは、MCの飲料水中濃度で、短期暴露(14日以上暴露)として $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、長期暴露(一生の暴露)として $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (*Microcystis*の細胞数で $500 \text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$)と、二つの基準値を設けている。その後、世界保健機関(WHO)では、成人(60 kg)一人が毎日平均2リットルの水を飲むこととMC-LRの一日摂取許容量($0.04 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ body weight}\cdot\text{day}^{-1}$)の研究結果を考慮し、飲料水中MC-LRの濃度 $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ をガイドライン値として採択した。飲料水中MCのガイドラインは、EUを含めほとんどの先進国がWHO値か独自のガイドラインを設けている。米国では、オレゴン州のみが食品中のガイドライン値を制定している。2013年の夏にオハイオ州オタワ郡では、MCが検出されたことから、住民には水道水の飲用禁止の警告がなされた。先進国でありながら、以上の様なMCのガイドラインを設けていない日本(要検討事項、暫定 $0.8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)でも、これから起こりうる様々な可能性を考慮すると、水道行政に運用可能な独自のアオコ毒ガイドラインについて、その制定が急がれる。

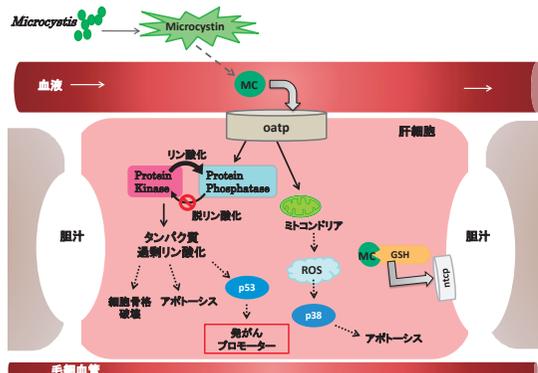


図1 アオコ毒素マイクロシスチンの毒性発現と代謝

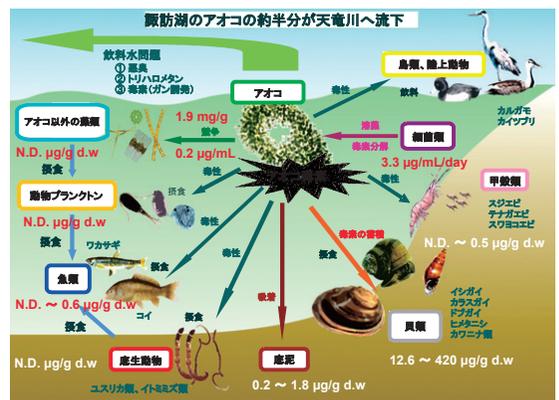


図2 諏訪湖におけるアオコ毒素の動態 (マイクロシスチンの生産・摂食・蓄積・分解及び流下)

in the LAB

このピークの形、おかしいぞ! ピーク形状の異常

HPLC 分析を行っていて、「あれ?このピークの形、おかしいぞ!」という場面に遭遇したことはありませんか?ピーク形状の異常は、日常分析でよく遭遇する問題のひとつです。クロマトグラムを見て、明らかに気が付くピーク形状の異常の例としては、図1に示すようにピークのブロード化(極端なテーリングやリーディングも含む)、肩ピーク(ショルダーピーク)の出現、ピーク割れがあります。

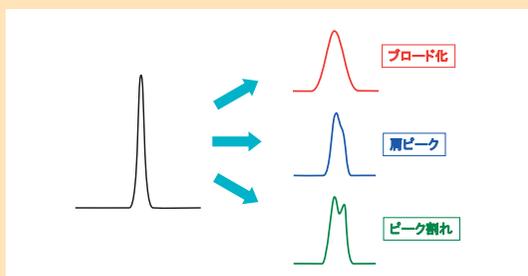


図1 ピーク形状異常の例

これらの異常がクロマトグラム上のどのピークでも見られる場合、図2に示すような原因が考えられます。今回は、これらピーク形状異常の主な原因について解説したいと思います。

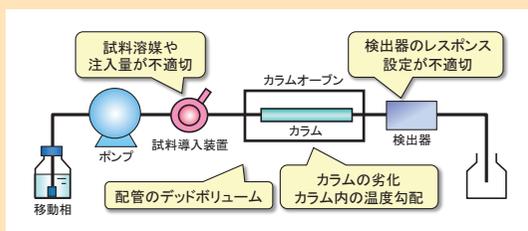


図2 ピーク形状異常の主な原因

※特定のピークだけで異常が起こる場合、カラムや移動相の選択、移動相調製などに問題があることも考えられます。

■カラムの劣化

●いつもと同じように分析しているのに、ある頃からピーク形状が図1のようになった場合、カラムの劣化(汚れも含む)が最も疑われます。分析カラムの前にガードカラムを接続している場合には、ガードカラムを外してピーク形状を確認してください。もし、ピークが正常に戻れば、ガードカラムが犯人です。

●カラムの劣化は、充填状態の変化、夾雑成分の蓄積、微粒子の詰まり、固定相の脱離などによって起こります。充填状態の変化は、長期間の圧力負荷や充填剤基材の劣化(例えば、シリカゲルの溶解)により生じます。多くの場合、カラム入口に充填剤のわずかな隙間ができ、これが肩ピークやピーク割れの原因となります。夾雑成分の蓄積や微粒子(試料溶液、移動相、ポンプ、試料導入装置などに由来)の詰まりは、カラムの入口側フィルターや入口付近の充填剤で起こり、蓄積物への試料成分の吸着や微粒子による試料成分の流れの妨げにより、ピーク形状が変化します。また、固定相の脱離では、ピーク形状の変化以外に、保持時間の減少も起こります。

●カラムの劣化が疑われる場合、カラムの洗浄を行います。カラムの洗浄方法は、使用しているカラムの取扱説明書に従ってください。洗浄で十分な効果が得られない時には、逆洗(カラム出口側から洗浄液を低い流量で送液して洗浄する)することもあります。ただし、逆洗可能かどうかは、必ずカラムの取扱説明書などで確認してください。これら洗浄で回復しなければ、カラムの寿命ということになります。

■試料溶媒や注入量が不適切

●前処理や分析種濃度の関係で、試料溶媒組成や注入量を変更したらピークの形がおかしくなった…という場合です。まずは、従来の試料溶媒と注入量でピーク形状を確認してください。

●図3に、試料溶媒組成がピーク形状に与える影響の例を示します。(a)と(b)のクロマトグラムは、2種類の試料溶媒で調製した標準混合液を同一装置で分析した結果です。(b)のクロマトグラムだけを見ていると気が付きませんが、(a)と比較すると(b)のピークが明らかにブロードになっていることがわかります。(a)の試料溶媒「水/アセトニトリル=3/1」は、移動相である「くえん酸緩衝液/アセトニトリル=3/1」と同じ有機溶媒比率ですが、(b)の試料溶媒は逆相モードにおける強溶媒であるアセトニトリルのみです。この例のように、試料溶媒中



の強溶媒比率が高くなると、ピーク形状に影響を与えることがあります。

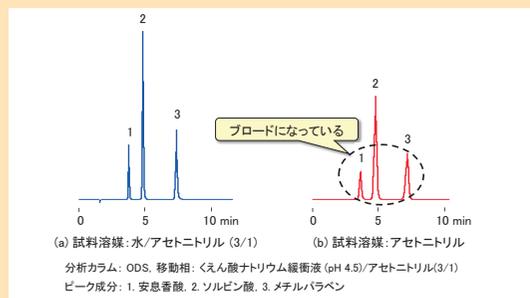


図3 試料溶媒がピーク形状に与える影響

● 試料注入量は、カラム分離の「一段目」における試料ゾーンの広がりに関係しますので、注入量の増加はピークのプロード化につながります。特に、試料溶媒中の強溶媒比率が高いほど、その影響は大きくなります。

■配管のデッドボリューム

● いつもと違う配管（内径は同じ）を使ったらピークがブロードになった・・・という場合、試料が通過する配管接続部（試料導入装置～カラム～検出器）でのデッドボリュームが疑われます。図4に、デッドボリュームの例を示します。

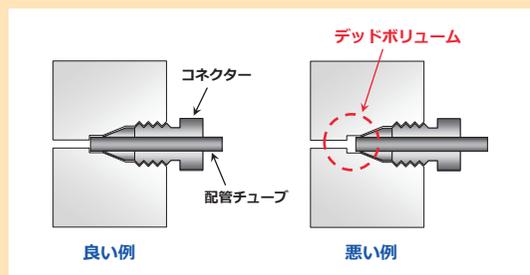


図4 配管接続部のデッドボリューム

● コネクターの先から出る配管チューブの長さは、メーカーによって異なることがあります。特に、カラムとの接続部は重要です。新たに配管を接続する

際には、配管チューブを受け側の奥に押し当てながらコネクターを締めるようにしましょう。

■カラム内の温度勾配

● カラム内径が大きい時、流量がはやい時、カラム温度が高い時などで、移動相が十分熱せられないままカラム内を流れると、カラムの断面方向に温度勾配（カラム中心部温度がカラム内壁付近より低くなる）ができます。これがピークプロード化の原因になることがあります。

● 温度勾配の影響は、試料導入装置からカラムまでの配管チューブ（SUS）を長くして、カラムオープン内で移動相を予熱することにより抑えることができます。ただし、この予熱チューブにおけるピークの広がりもありますので、内径と長さを最適化する必要があります。

■検出器のレスポンス設定が不適切

● 一般に検出器は、レスポンス（時定数とも呼ぶ）の設定を変えることにより、ノイズを低減できるようになっています。このレスポンスは、遅くするとノイズが小さくなり高感度分析に有利ですが、反面ピークがブロードになります。図5に、レスポンスがピーク形状に与える影響の例を示します。

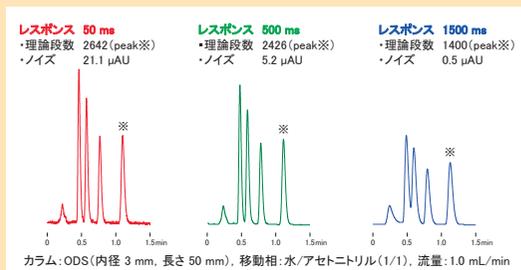


図5 レスポンスがピーク形状に与える影響

● 図5を見ると、溶出のはやいピークほどレスポンス設定の影響を受けているのがわかります。念のため、分析前にはレスポンスの設定値も確認しましょう。
(MK)

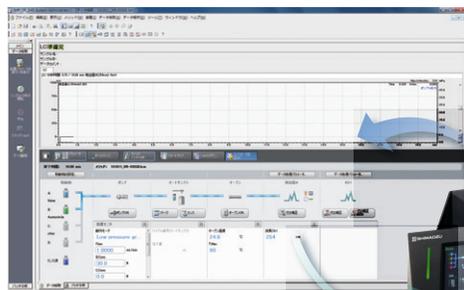


分析作業の生産性向上と、分析装置の制御や測定結果の確認に用いるコンピューターをラボに置かない環境 (PC レスの近未来ラボ環境) を実現する一体型高速液体クロマトグラフ, それが “i-Series” です。
“i-Series” には, 超高速・高分離分析に対応した “Nexera-i” と汎用分析から高速分析をカバーする “Prominence-i” をラインナップしました。PC レスラボによる生産性の向上 (innovative), 信頼性と安全性の追求 (innovative), 簡単に分析可能 (intuitive), 操作の自動化と省エネルギー (intelligent) を特長とした i-Series は, 医薬品・化学・食品など各種分野での業務効率向上に貢献することが可能です。

※ “i-Series” の “i” は, 生産性, 信頼性の向上を示す “innovative”, シンプルな装置構成と簡便な操作を示す “intuitive”, 操作を含めた一体化と省エネルギーを示す “intelligent” の頭文字の “i” を基調とした次世代液体クロマトグラフシステムという意味を込めています。

innovative 近未来ラボを実現

“i-Series” は, 装置側で分析の準備を含めてすべての操作が可能, オペレーターのミスの防止, ラボ外からでも装置状況が確認できるなどにより, 未来型ラボを目指しています。本体のカラー液晶タッチパネルによるシンプルな操作と, 新機能である ICM (Interactive Communication Mode) により, 装置立ち上げ時のコンディショニング操作を容易にし, また装置側でバッチファイルを生成, ワークステーション LabSolutions と連携してデータ取得, 解析を行うことが可能です。また, スマートデバイスからの装置制御により, PC レスとラボ区画の厳格な管理が実現可能です。これは, これまで島津が培ってきた高再現性, 低キャリアオーバーなどの高い基本性能に加えて, 二重温調機能 (光学系と温調フローセル) によるベースライン安定性向上, 大容量カラムオープンの採用, 分析中でも試料のセットが可能なダイレクトアクセス機能など分析結果を支える基本機能・性能も改良されています。



装置からの分析開始と同期して, LabSolutionsでデータの採取と解析が実行されます。

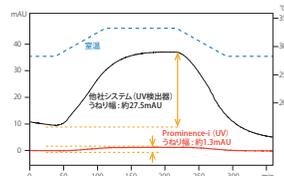
- ・メソッドの編集
- ・オートバッチの実行
- ・バッチの作成
- ・分析開始

装置からの分析操作を可能にする ICM や GxP 規制対応モードなどラボの運用に合わせた装置管理が可能です。

- ・フルコントロール
- ・操作キーロック



分析中でも任意に試料セットを可能にするダイレクトアクセス機能

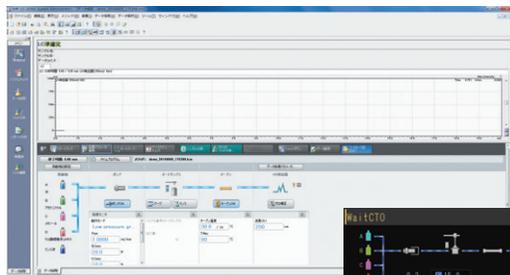


二重温調によるベースライン安定性

ラボの効率的な運用に貢献する ICM (Interactive Communication Mode)

i intuitive 簡便操作での分析オペレーション

装置とワークステーションの画面デザインを統一し、視覚的にシステム稼働状況の把握を可能にしました。これにより、オペレーターの習熟度に左右されない分析操作が可能です。また、バッチシーケンスの作成もグラフィカルに行うことが可能となりました。このクイックバッチ機能により、バイアルの位置を確認しながら容易にバッチシーケンスの作成ができます。定量ブラウザによる複数データの一括表示など解析をサポートする機能も充実しています。

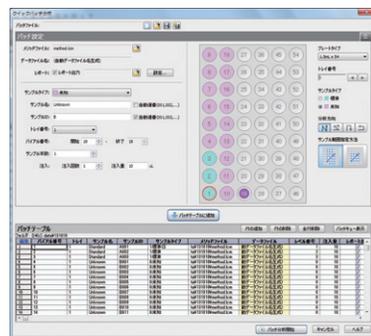


LabSolutionsの分析画面



i-Seriesの液晶タッチパネル

i-Seriesの簡便な操作を支えるユーザーインターフェイス



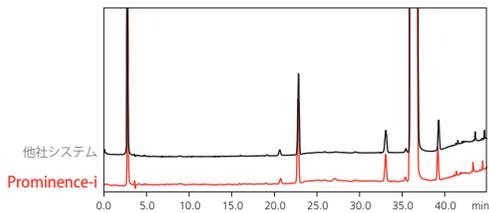
クイックバッチ機能によるバッチシーケンスの作成

i intelligent 業務効率の向上への提案

“i-Series”は、オートバリデーション機能を搭載し、各種装置性能に関するバリデーションを誰でも実行できます。また、装置稼働時の日常点検（システムチェック）とあわせて、常に装置の安定した稼働状態を保証します。点検だけでなく、起動から分析、終了まで、日常的なルーチン分析の自動化も可能です。既存の分析メソッドは、最新の装置へ容易に移行可能です。データ互換性、高速分析への対応だけでなく、従来機種から、あるいは他社 LC システムからのメソッド移管作業も容易に行うことができますので、スムーズな業務運営に貢献します。



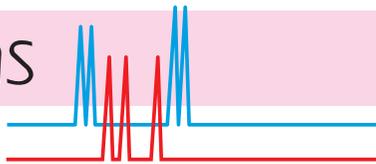
分析操作の流れの自動化（終了時の待機電力を大幅低減）



他社 LC システムから Prominence-i への分析メソッド移管例



分析の信頼性を支えるオートバリデーション機能



水道法水質検査法改正 ～ 亜硝酸態窒素分析と分析精度 ～

水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法（平成 15 年厚生労働省告示第 261 号）は、水質基準の改定により逐次改正されてきました。最新の平成 26 年 4 月 1 日の改正（平成 26 年 3 月 31 日厚生労働省告示第 147 号）では、以前は水質管理目標設定項目であった亜硝酸態窒素が水質基準となり、基準値 0.040 mg/L が設定されました。これに伴い、亜硝酸態窒素の定量下限濃度 0.004 mg/L で 10 % 以下の再現性が求められています。検査法としては、別表第 13 の『イオンクロマトグラフ（陰イオン）による一斉分析法』の対象として、亜硝酸態窒素が新たな項目に追加されています。使用する検出器は、数 μ g/L という微量の亜硝酸態窒素を正確に検出・定量するため、電気伝導度検出器と吸光光度検出器が併記されています。試料の前処理では、従来は任意とされていたふっ化物イオン、塩化物イオン、硝酸態窒素、亜硝酸態窒素の分析に関してもエチレンジアミンの添加が必須となり、イオンクロマトグラフによる陰イオン分析の試料として一本化されています。

図 1 に、水質検査法に示されている検量線作成時の上限濃度標準液（F、Cl、NO₂-N、NO₃-N）を電気伝導度検出器により検出したクロマトグラムを示します。実際の水道水中亜硝酸態窒素は、この 1/100 濃度（0.004 mg/L）まで分析することになるため、亜硝酸態窒素ピーク直前に溶出する塩化物イオンの影響を受けやすくなります。このような場合、塩化物イオンの影響を受けることなく亜硝酸態窒素（亜硝酸イオン）を検出できる吸光光度検出器が有効です。

図 2 に、吸光光度検出器（検出波長 210 nm）を用いた定量下限値（0.004 mg/L）濃度の亜硝酸態窒素を含む陰イオン標準溶液の繰り返し分析のクロマトグラムを、表 2 に亜硝酸態窒素、硝酸態窒素のピーク面積再現性を示します。

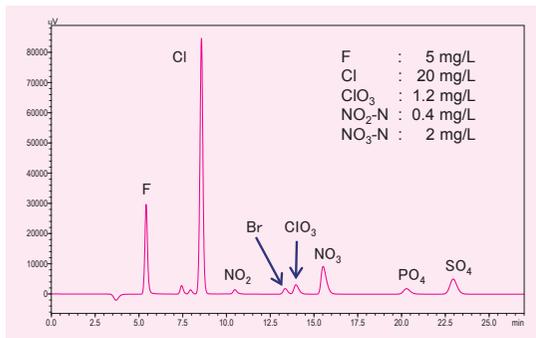


図 1 陰イオン一斉分析例

表 1 分析条件

装置	: Prominence HIC-SP
カラム	: Shim-pack IC-SA3 (250 mm L. × 4.0 mm I.D.)
移動相	: 3.6 mmol/L 炭酸ナトリウム
流量	: 0.8 mL/min
温度	: 45 °C
検出	: 電気伝導度検出（サブレッサ使用） 吸光光度検出（210 nm）
注入量	: 50 μ L

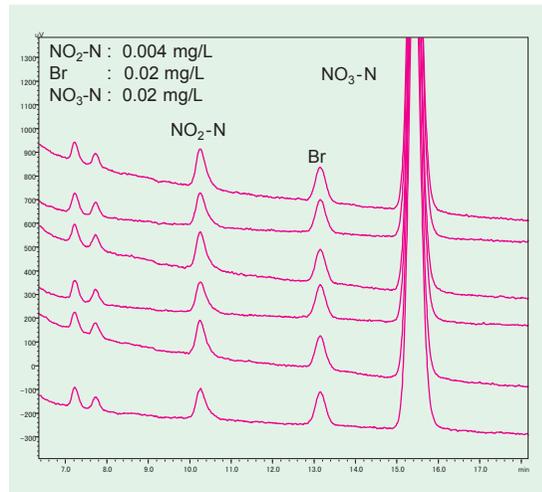


図 2 亜硝酸態窒素 0.004 mg/L の繰り返し分析

表 2 亜硝酸態窒素 0.004 mg/L の繰り返し分析の再現性

面積値	NO ₂ -N	NO ₃ -N
1 st	2776	43539
2 nd	2538	43301
3 rd	2596	43380
4 th	2424	43322
5 th	2479	43594
6 th	2399	43796
平均	2535	43489
%RSD	5.46	0.44

図3に、0.004 mg/L（水質基準の1/10濃度）を添加した水道水と未添加の水道水、および亜硝酸態窒素標準液のクロマトグラムを示します。水道水への亜硝酸態窒素の添加に際しては、検査法で示されているようにエチレンジアミンを添加した水道水に対して亜硝酸態窒素を添加しています。表3には、これらクロマトグラムのピーク面積より求めた亜硝酸態窒素の回収率の計算結果を示します。

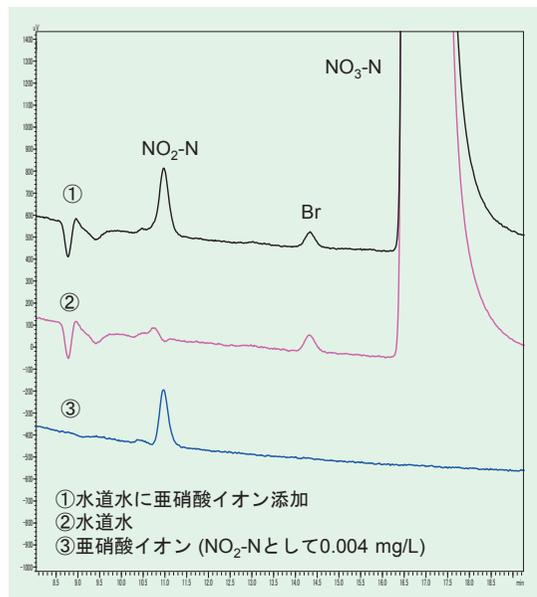


図3 亜硝酸イオンを添加した水道水のクロマトグラム

表3 亜硝酸態窒素の回収率

試料溶液	ピーク面積
亜硝酸態窒素 (0.004 mg/L)	3794
水道水	N.D.
水道水 (NO ₂ -Nとして0.004 mg/L添加)	3815
回収率 (%)	101

検査法では、測定対象とするイオンの検量線作成範囲が定められおり、この濃度範囲を超えて高濃度側、および低濃度側の検量線を作成することは認められていません。亜硝酸態窒素に関しては、0.004 ~ 0.400 mg/Lの濃度範囲内で検量線を作成することとされています。この濃度範囲全域で検量線を作成した場合の検量線①と各濃度における定量誤差を図4と表4に示します。また、濃度範囲の上限を0.040 mg/Lとした場合の検量線②の結果を図5および表5に示します。どちらの検量線も原点不通過の直線近似とした場合、直線性を評価する r^2 （寄与率）はいずれも0.999であり、計算上は直線と判断されますが、0.004 mg/Lの定量誤差は検量線①の場合25%、検量線②の場合5%と大きく異なります。

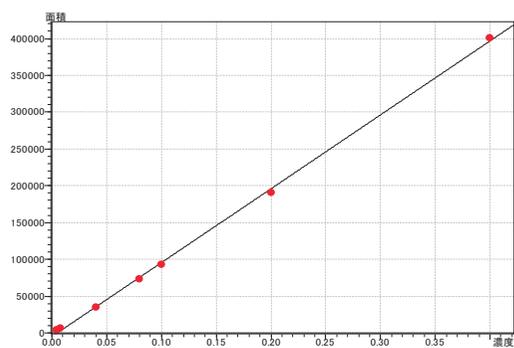


図4 亜硝酸態窒素の検量線① (0.004 ~ 0.400 mg/L)

表4 検量線①における各濃度の定量誤差

調製濃度	自己定量値	誤差率(%)
0.4	0.404	1
0.2	0.195	2.5
0.1	0.097	3
0.08	0.077	3.8
0.04	0.04	0
0.008	0.01	25
0.004	0.005	25

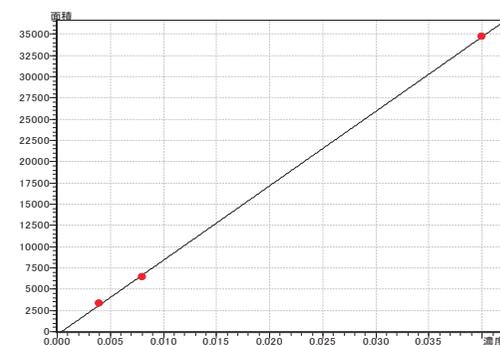


図5 亜硝酸態窒素の検量線② (0.004 ~ 0.040 mg/L)

表5 検量線②における各濃度の定量誤差

調製濃度	自己定量値	誤差率(%)
0.04	0.04	0
0.008	0.0078	2.5
0.004	0.0042	5

検査法では検量線作成の上下限濃度として、全成分一律に100倍の濃度が指定されています。亜硝酸態窒素の例で示したように、検量線の作成濃度範囲を試料中の各イオン濃度に対して最適化することで、分析精度を上げることができます。最新のワークステーションでは検量線作成の自由度が高く、各イオン毎に検量線最適化を容易に行うことが可能なことも分析精度向上のポイントです。(le)

HPLC No.L452A

蛍光検出器 RF-20A_{XS}を用いた抗体医薬品の高感度糖鎖プロファイリング

抗体医薬品中の糖鎖は、抗原性、体内動態、高次構造の安定性等に関与し、医薬品の安全性・有効性に影響を及ぼす可能性があることが知られており、生産工程における管理が必要視されています。ここでは、超高速 LC “Nexera X2” と高感度蛍光検出器 “RF-20A_{XS}” を用い、抗体医薬品中の糖鎖を分析した例をご紹介します。

HPLC No.L453

高感度セルを用いたフォトダイオードアレイ検出器 SPD-M30A による不純物分析

医薬品中の不純物分析では、高濃度の主薬とともに微量不純物を検出する必要があるため、検出器に広い直線性が求められます。また、微量不純物の精度良い定量には、高い SN 比での検出が必要となります。ここでは、新型フォトダイオードアレイ検出器 “SPD-M30A” とオプションの高感度セルを用い、感度・直線性などを評価した例をご紹介します。

HPLC No.L454A

水質汚濁に係る環境基準に基づくチウラムの分析

チウラムは、チオカーバメイト系の農薬で殺菌剤や忌避剤などに使用されています。環境基本法（平成 5 年法律第 91 号）第 16 条による環境基準において、チウラムは 0.006 mg/L 以下とされています（平成 25 年環境省告示 30 号・別表 1「人の健康の保護に関する環境基準」）。ここでは、平成 25 年環境省告示 30 号・付表 4 を参考にしたチウラムの分析例をご紹介します。

HPLC No.L455

イオンクロマトグラフィーによる水道水中の亜硝酸態窒素の分析

水質基準項目において、平成 26 年 4 月 1 日より新たに亜硝酸態窒素の基準値 0.04 mg/L が設定されました。また、亜硝酸態窒素の検査方法については、新たにエチレンジアミンを検水に添加する陰イオン一斉分析が採用されています。ここでは、イオンクロマトグラフ “Prominence HIC-SP” による、亜硝酸態窒素を含む陰イオンの一斉分析例をご紹介します。

HPLC No.L456A

医薬品中のイオン分析(その 3) イオンクロマトグラフィーによるカウンター陽イオンの分析

医薬品有効成分は、カウンターイオンの違いにより物理化学的・薬物動態的な性質が変わるため、医薬品開発段階においては様々なカウンターイオンが検討され、最適な塩が選択されています。ここでは、医薬品中の主なカウンター陽イオンであるナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムの分析例をご紹介します。

HPLC No.L457A

医薬品中のイオン分析(その 4) イオンクロマトグラフィーによるカウンター陰イオンの分析

No.L456A でご紹介しましたカウンター陽イオンと同様、塩基性医薬品に対してはカウンターイオンとして最適な陰イオンが選択されます。ここでは、医薬品中のカウンター陰イオンとして、酢酸、ギ酸、塩化物およびトリフルオロ酢酸イオンをノンサプレッサーイオンクロマトグラフにより分析した例をご紹介します。

HPLC No.L458

高速高分離分析の応用(その 47) オートサンブラ SIL-30AC による自動プレカラム誘導体化アミノ酸の分析(その 3)

反応試薬として *o*-フタルアルデヒド (OPA) /3-メルカプトプロピオン酸とクロロギ酸 9-フルオレニルメチル (FMOC) を用いたアミノ酸の自動プレカラム誘導体化超高速 LC 分析法については、No.L432, No.L437 でご紹介してきました。ここでは、本法によるアンジオテンシン I 加水分解物およびウシ血清アルブミン加水分解物中のアミノ酸分析例をご紹介します。

HPLC No.L459

新規カラム “Shim-pack MAqC-ODS I” による水溶性ビタミンの一斉分析

“Shim-pack MAqC-ODS I” は、金属を含有させたシリカゲルにオクタデシルシリル基を導入した逆相カラムで、ODS による疎水性相互作用に加え、陽イオン交換作用を有します。このため、高極性塩基性化合物をイオン対試薬の添加なしで分析することが可能になります。ここでは、“Shim-pack MAqC-ODS I” を用いた水溶性ビタミン 8 成分の一斉分析例をご紹介します。

HPLC No.L460

新規カラム “Shim-pack MAqC-ODS I” による感冒薬の分析

“Shim-pack MAqC-ODS I” では、イオン対試薬の添加なしでも高極性塩基性化合物を保持できるため、イオン対逆相モードでは使いづらいグラジエント溶離による多成分の一斉分析が可能になります。ここでは、“Shim-pack MAqC-ODS I” を用いて、りん酸緩衝液とアセトニトリルのグラジエント溶離により、市販感冒薬中の 7 成分を一斉分析した例をご紹介します。

HPLC No.L461

新規カラム “Shim-pack MAqC-ODS I” による医薬品不純物の分析

医薬品やその不純物である原料、副生成物、分解物などの多くは塩基性化合物です。“Shim-pack MAqC-ODS I” を用いると、このような不純物もイオン対試薬の添加なしで分析でき、さらにグラジエント溶離による分離の効率化もはかれます。ここでは、“Shim-pack MAqC-ODS I” を用いたファモチジンの不純物分析例をご紹介します。

talk 執筆者

朴 虎東 先生

「アオコが生産する毒素について」

Ho-Dong Park=信州大学 理学部 物質循環学科 教授

信州大学大学院理工学研究科 地球生物圏科学
専攻 生態システム解析講座 環境毒性学研究室
教授

- ▶ 1986年韓国国立江原大学環境学科卒業、1994年信州大学大学院医学研究科修了 医学博士取得、1994年信州大学理学部助手、1999年信州大学理学部助教授、2012年信州大学理学部教授および大学院理工学研究科教授、現在に至る。医学博士。

専門分野	環境毒性学、陸水学
将来の夢	家族と世界一周
趣味	映画鑑賞



LCtalk誌がいよいよ創刊30周年を迎えました。創刊号から関わっている私としては、大変感慨深いものがあります。引き続きご愛読いただきますよう、よろしくお願ひ申し上げます。
(Mk)



読者のみなさまから・・・

- 「食品分析に関するデータをまとめた資料はないでしょうか?冊子になっていれば使いやすいのですが。」

「島津高速液体クロマトグラフ食品分析応用データ集 (C190-0156)」という冊子を発行しています。糖、有機酸、アミノ酸など各成分の分析方法と代表的なデータを収録しています。



最寄りの支店・営業所にご請求ください。また、以下の弊社サイト(分析機器お問い合わせフォーム)もご利用ください。<https://solutions.shimadzu.co.jp/form/ana/analytic.htm>

- HILIC(親水性相互作用クロマトグラフィ)がよくわかりません。HILICについて、超簡単な(?)解説を希望します。

本誌 Vol.70(2008年春号)と Vol.71(2009年冬号)の「入門」で、HILICの基礎についてわかりやすく解説しています。ぜひ一度ご覧ください。バックナンバーをお持ちでない場合は、本誌裏面記載の事務局までメールでご請求ください。

- LC/MS分析に関する入門書には、どのようなものがあるでしょうか? LC/MS分析に必要な基礎知識についても解説されているとありがたいのですが。

今年9月に発刊されたばかりの入門書として、「LC/MS, LC/MS/MSの基礎と応用」(中村 洋監修)があります。LC/MS(/MS)の基本に加えて、試薬、前処理、分離モードなどに関する基礎的な解説もあります。

- ポンプやオートサンプラーなどHPLC装置各部の原理や構造に関して、初心者向けの解説記事をお願いします。取扱説明書を見ても、初心者にはよくわかりません。

確かにそうですね。HPLC装置の細部構造は、各メーカーによって少しずつ異なりますが、最低限知っておくべき基本原理や構造についての解説があればよいですね。今後、「入門」コーナーなどで取り上げるように検討します。

- 公益社団法人日本分析化学会が行っている分析士認証試験の解説書があるそうですが、一般に書店で販売されているのでしょうか?

分析士認証試験の試験解説書につきましては、以下の液体クロマトグラフィー研究懇談会のサイトをご覧ください。<http://www.lckon.org/book.html> 本解説書には、過去に出題された問題について、その解答と詳しい解説が書かれています。ほとんどが日本分析化学会直販です。お問い合わせは、日本分析化学会へお願いします。



講習会予定のご案内(2014年11~2015年3月)

● 以下のWebサイトで、各種講習会の詳細情報がご覧いただけます。

<http://www.an.shimadzu.co.jp/hplc/support/training/lc-tr.htm>

		11月	12月	1月	2月	9月
HPLC入門講習会		11/13~14(東京) 11/20~21(京都)	12/18~19(京都)	1/15~16(東京) 1/15~16(京都)	2/19~20(京都)	3/12~13(京都)
HPLC スクール	コースⅠ		12/5(大阪)		2/6(東京)	
	コースⅡ	11/14(静岡)		1/22(つくば)		
	コースⅢ	11/14(広島)	12/12(静岡)	1/16(福岡) 1/23(つくば) 1/27(東京)	2/17(富山) 2/24(名古屋)	3/19(大阪)
LC-MSスクール			12/19(東京)			3/6(京都)
LC-MSMS 操作講習会		11/20~21(秦野)	12/4~5(京都)		2/19~20(秦野)	3/12~13(京都)
LCMS-2020 操作講習会		11/6~7(京都)		1/22~23(秦野)		

・ いずれも有料講習会です。入門講習会および操作講習会は、実機を用いた実習です。各スクールは、講義のみです。

情報コーナー

公益社団法人日本分析化学会「分析士認証試験」について

■ 液体クロマトグラフィー分析士・・・2014年度は、五段から初段まで終了しました。

■ LC/MS分析士・・・四段が終了しました。

三段 2014年10月22日(水), 五反田文化会館

二段 2014年11月20日(木), 五反田文化会館

初段 2014年12月25日(木), 島津製作所東京支社

■ イオンクロマトグラフィー分析士・・・二段が終了しました。

初段 2015年 1月25日(日), 五反田Kビル

・ 詳細につきましては、公益社団法人日本分析化学会の分析士認証試験専用サイトをご覧ください。

<http://www.jsac.jp/ja/node/29>

LC talk
Vol. 92

発行日：2014年10月15日

編集・発行：株式会社島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター
“LC talk club” 編集長 三上 博久

連絡先：分析計測事業部 “LC talk club” 事務局
〒604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1

E-mail : analytic@group.shimadzu.co.jp