

LC *talk*

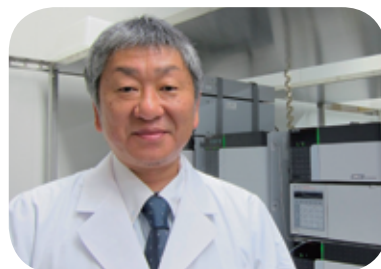
VOL. **94**



2015 July

分析も「運鈍根」と33年

小林製薬株式会社
中央研究所 基盤研究部
評価研究グループ
グループ長 大崎幸彦



■創刊以来30年超の伝統を有するLCtalk誌の巻頭コーナーである「talk」に寄稿させていただける機会をいただきましたことに深く感謝いたします。また、今後もLCtalk誌を末長く読ませていただける身でありつづけられること、すなわち1日でも長く分析化学に携われるよう、日々精進をしたいと考えております。いままで本欄に寄稿されました先生方のような格調高いお話は書けませんが、33年間の現場分析稼業のエピソードと、そこから学んだ人生訓を絡めたお話させていただければと思いますので、お気楽にお付き合いいただければ幸いです。

■さて、私と分析との関わりは今から33年前、21歳の春に遡ります。1982年4月、今となっては時代を感じさせる専攻名²である工学部石油化学科の4年次に進級し、研究室振り分けを経て、機能性高分子研究室に配属されました。そこでは、宮田幹二先生（現在は大阪大学大学院工学研究科名誉教授）のチームで包接現象を利用した包接不斉重合の卒業論文研究をさせていただきました。重合させるモノマーはグリニャール反応やウィットティヒ反応を用いて、自分で合成しなければなりません。そして合成後、得られたモノマーを精製するための分取操作として、GCを用いたのが私と分析、とりわけクロマトグラフィーとの出会いでした。当時の相棒GCには自動分取装置はおろか、自動注入装置も無く、

自分でカラム充填剤を調製して自分で詰めるパックドカラムGCで分取精製をしておりました。日がな一日、漫画本（たまには海外論文）を抱えてGCの前に腰を据えて座り込み、TCD検出器で目的ピークが検出されている間のみ冷却トラップで微量の目的モノマーを凝縮採取していくという、ひたすら「根（気）」が必要とされる分析人生のスタートでした。研究的にはこの後、ガンマー線重合というメインプロセスがあるのですが、私の記憶の中ではこのGCによる分取精製から「根」の必要性を学んだことが強く印象付けられています。

■こうして分析機器とのお付き合いスタートさせた私ですが、大学を出て最初の職場となったのは大阪府警察本部科学捜査研究所でした。ここでは数多くの工業製品、薬毒物、公害に関わるサンプルの検査、鑑定及び研究に携わることをさせていただきました。また、生涯年収級の高価な装置も含めて、数多くの分析機器との出会い経験もさせていただきました。今でこそドラマやメディア露出によって、誰もが知っている科学捜査研究所ですが、昭和末期、私が新米研究員であったころは、世間にもほとんど知られていない、非常に地味でタフな職場でした。そんな職場には、分析化学という専門性に長けた先輩が多くおられ、ある先輩から「分析機器は生きていると思え！機械ごとに性格もある。親身に扱わ

なければ思うように働いてくれんぞ!」と教えられたことは今でも分析者にとっての金言です。そして、裁判上の証拠となる超微量の成分を必死になって追求するときの苦しみと、検出に成功したときの喜び。成功したときの裏には、ある意味で、ときには鈍いくらいの粘り強さでもある「鈍」の必要性を学んだと言えます。

■そして、2000年からは小林製薬において、一般医薬品、医薬部外品の製造販売承認申請書に必要な分析データ取得をメインとする分析業務に携わっております。これは前職で経験した超微量（定性）分析とは毛色の異なる苦労が必要な任務です。読者の皆様にはご承知のことかと思いますが、対外的に説明可能な信頼性の確保された分析手法を用いて、真度、精度、再現性及び頑健性などが満たされた正確な定量分析結果が求められます。分析室に入れば数多くのHPLCが常時運転しており、常にポンプの奏でる心地よいサウンドが鳴り響いています。中には有効成分上の特性や配合される成分との相性などにより、分析化学的に困難な仕事もあります。逆に分析的に高難度な仕事と予想してい

ても、反して案外上手くゴールできるケースもあります。カラム選択、移動相選択、装置の状態などなど、分析理論では説明できないラッキー＆アンラッキーな事象が複雑に絡み合って仕事のアウトプットに影響する。まさに「運」です。良い仕事をする上で分析屋には努力にプラスして「運」の必要性も思い知らされる日々です。

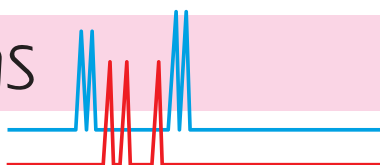
■分析に必要な要素として、現職で学んだ「運」、前職で学んだ「鈍」、そして学生時代に学んだ「根」。これら三つを合わせて「運鈍根」というワードがあります。大辞林によると、「運鈍根」とは「成功するには、幸運と根気と、鈍いくらいの粘り強さの三つが必要であるというたとえ。」と記されています。ここでネタ明かしとなるのですが、私の父は生前「人生は運鈍根や」と、よく口にしておりました。今では非公式?家訓となっており、私と妻はもちろん、息子たちにも、人生の過程で腑落ちさせられる出来事を経て、言葉としても染み伝わっています。人生だけでなく、分析屋稼業においても「運鈍根」を貫き通して、末永くLCtalk誌を読めることを願い、日々の分析業務に励みたいと思います。

"talk" about HPLC

LCtalkの“talk”と“NOW”欄に各方面の先生方からご寄稿いただきました内容は、以下の弊社Webサイトよりご覧いただけます。

<http://www.an.shimadzu.co.jp/hplc/support/lib/lctalk/talk/talk.htm>





ポストカラム pH 緩衝化電気伝導度検出による有機酸分析 ～ Prominence 有機酸分析システムの食品分野への応用～

食品に含まれる有機酸は、食品の風味を決定する重要な成分であり、近年では食品の高付加価値化の研究の場において、機能性成分としても着目されています。

HPLC による有機酸分析には、吸光光度検出器を用いることがありますが、通常、カルボキシル基に基づく 210 nm という選択性が低い波長で検出します（図 1）。このため、複雑なマトリックスである食品分析では、夾雑成分が有機酸と重なるリスクがあります。また、有機酸の構造中に二重結合があれば、吸光係数が大きくなるため（例えば、カルボニル基をもつビルビン酸は、図 1 中で極端に大きなピークとなっている）、試料を希釈する際、倍率の決定が困難になることがあります。

Prominence 有機酸分析システムは、有機酸を高感度かつ選択性よく分析できる島津独自のシステムです。本システムでは、有機酸を酸性移動相を用いるイオン排除クロマトグラフィーで分離し、イオンを選択的に検出できる電気伝導度検出器により検出しますが、検出部に工夫をしています。通常、直接電気伝導度検出器で検出すると、酸性移動相由来のバックグラウンドノイズの増大および有機酸の解離抑制により高感度検出は困難ですが、本システムではカラム溶出液に pH 緩衝液加えて pH を中性付近にすることにより、有機酸を解離状態で検出し、高感度検出を実現しています。

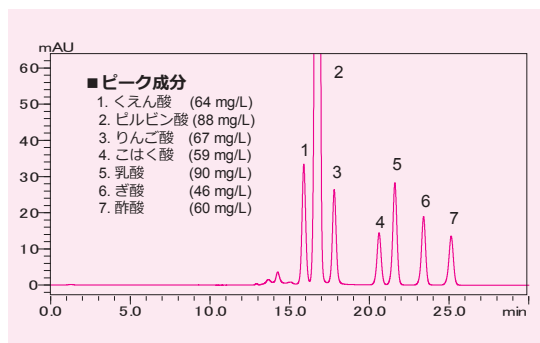


図 1 標準液のクロマトグラム（吸光光度検出器）

図 2 に、Prominence 有機酸分析システムの流路図を、また図 3 に図 1 と同じ標準液を分析した結果を示します。

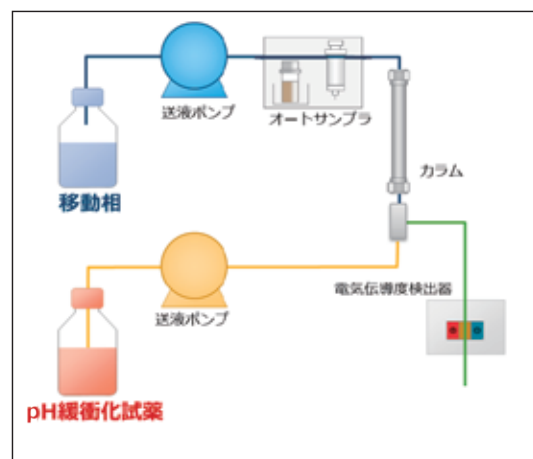


図 2 Prominence 有機酸分析システムの流路図

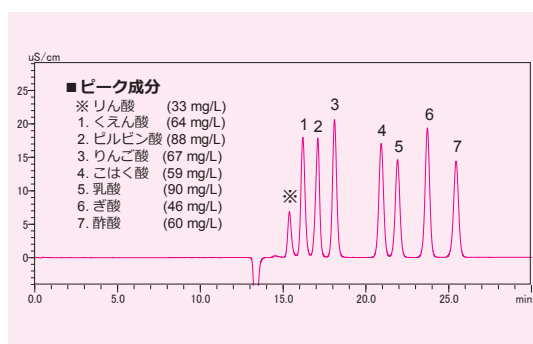


図 3 標準液のクロマトグラム
(Prominence 有機酸分析システム)

表 2 分析条件 (Prominence 有機酸分析システム)

分離カラム	: Shim-pack SCR-102H, 2 本 (内径 8.0 mm, 長さ 300 mm ; 7 μ m)
ガードカラム	: ガードカラム SCR-102H (内径 6.0 mm, 長さ 50 mm)
移動相	: 5 mmol/L p- トルエンスルホン酸水溶液
移動相流量	: 0.8 mL/min
カラム温度	: 40 $^{\circ}$ C
pH 緩衝液	: 20 mmol/L Bis-Tris, 0.1 mmol/L EDTA・4H を含む
pH 緩衝液流量	: 0.8 mL/min
注入量	: 10 μ L
検出	: 電気伝導度検出

表 1 分析条件 (吸光光度検出器)

分離カラム	: Shim-pack SCR-102H, 2 本 (内径 8.0 mm, 長さ 300 mm ; 7 μ m)
ガードカラム	: ガードカラム SCR-102H (内径 6.0 mm, 長さ 50 mm)
移動相	: 5 mmol/L 過塩素酸水溶液
移動相流量	: 0.8 mL/min
カラム温度	: 40 $^{\circ}$ C
注入量	: 10 μ L
検出	: 吸光光度検出 210 nm

吸光光度検出器で有機酸を分析した場合には、吸光係数の違いにより感度の違いが生じましたが、本システムではいずれの成分もほぼ同等の感度で検出できているのがわかります。また、吸光光度検出器では検出されないりん酸（※）も検出されています。

次に、食品分析における Prominence 有機酸分析システムと吸光光度検出器との選択性の比較を行うため、醤油（図 4）、ビール（図 5）、赤ワイン（図 6）を分析しました。吸光光度検出器の 210 nm では、構造中に二重結合がある物質を検出するため、電気伝導度検出器では検出されない夾雑成分を検出してしまいます。そのため、夾雑成分のピークが有機酸のピークと重なり、定量精度が低下します。また、図 6 では溶出の遅い夾雑成分が検出されており（赤の囲み部分）、一分析の時間が長くなります。

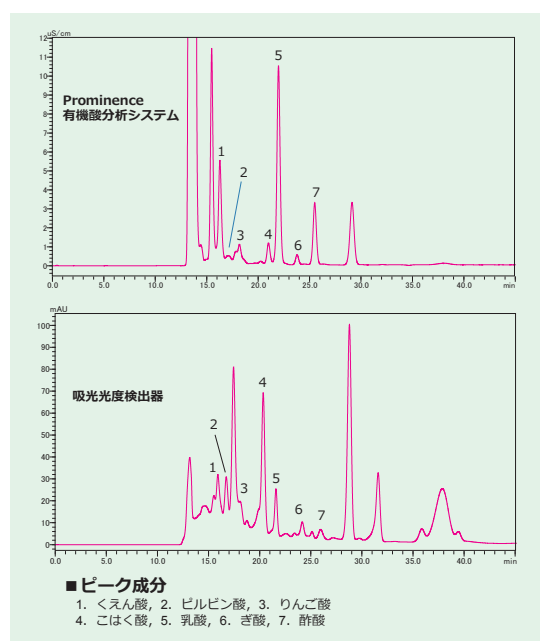


図 4 醤油 (10 倍希釈) のクロマトグラム

有機酸分析移動相試薬セット

Prominence 有機酸分析システム用の調製済み移動相と pH 緩衝液が、各 1000 mL の 3 本セットになっています。封を切って、そのままお使いいただけます。

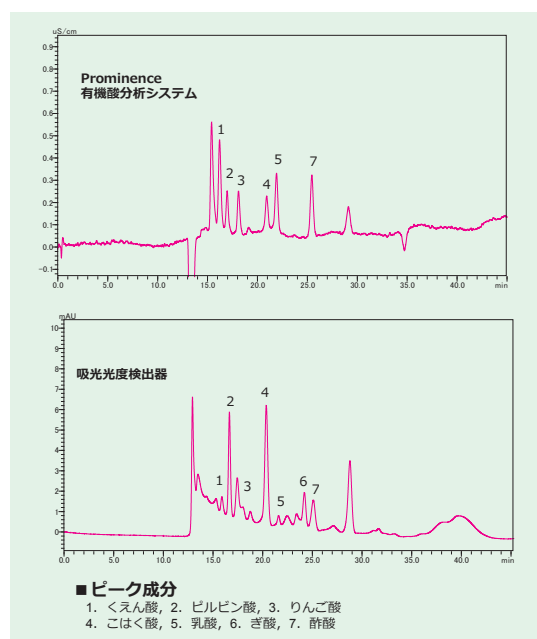


図 5 ビール (10 倍希釈) のクロマトグラム

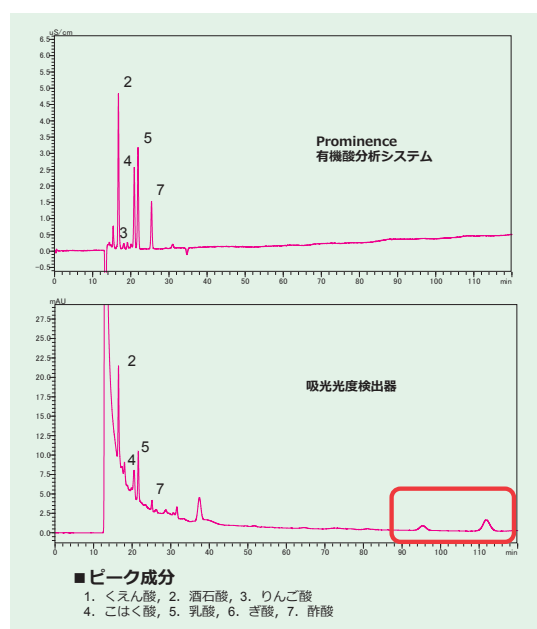


図 6 赤ワイン (10 倍希釈) のクロマトグラム

以上のように、Prominence 有機酸分析システムは、高い感度と選択性をもつため、複雑な前処理なしで食品中の有機酸分析を行うことができます。(Hr)



超臨界流体による成分の抽出（超臨界流体抽出，SFE）と分析（超臨界流体クロマトグラフィー，SFC）を自動化したシステム，それが“Nexera UC”です。

“Nexera UC”では，SFC-UV システム，SFC-MS システム，キラルスクリーニングシステム，オンライン SFE-SFC-MS システムの 4 システムをラインアップしています。オンライン SFE-SFC-MS システムは，SFE と SFC をオンラインで組み合わせた画期的なシステムで，固体試料から目的成分の抽出と分析までを全自動で行うことが可能です。従来の溶媒抽出では前処理工程での熱分解・酸化・溶媒との反応などにより測定が困難な成分も，二酸化炭素（CO₂）抽出から直接分析をおこなうため，確実な分析が可能です。また，低容量の背圧制御弁の採用によりピーク拡散を抑制するとともに，カラム溶出液全量をスプリットすることなく質量分析計に導入できるため，高感度な分析が可能です。

* “Nexera UC”の“UC”は，試料の前処理操作から様々な分離モードによる分析と高感度検出を統合した新しい分析技術である“Unified Chromatography”を意味しています。

■ 目的成分の抽出から分析までを自動化

食品分析や生体分析では，複雑なマトリックスの影響を回避するために試料の前処理が必要になります。従来の前処理では，高度な技術習得とともに多くの時間とコストがかかります。“Nexera UC”のオンライン SFE-SFC-MS システムでは，固体試料から目的成分の抽出，分析を全自動で行うことができます。これにより，前処理工程が大幅に短縮でき，前処理操作の時間・コストの低減，溶媒使用量の削減による環境負荷の低減，前処理操作中の人為的ミスのリスク回避等が期待できます。

例えば，農産物中の残留農薬分析では，通常は試薬の添加や遠心分離など数多くの工程が必要となりますが，オンライン SFE-SFC-MS システムでは，粉碎した試料を脱水剤とともに抽出容器にセットするだけですぐで大幅な効率化が図れます。また，抽出・分析時にモディファイヤーを使用することで，LC/MS/MS では困難であった，疎水性から親水性に至る幅広い極性の農薬成分を一度に分析できます。

従来法 (QuEChERS法) … 分析開始までに **35 分間** の操作が必要



Nexera UC … わずか **5 分間** の操作で分析開始



* “Miyazaki Hydro-Protect” 特許第3645552号

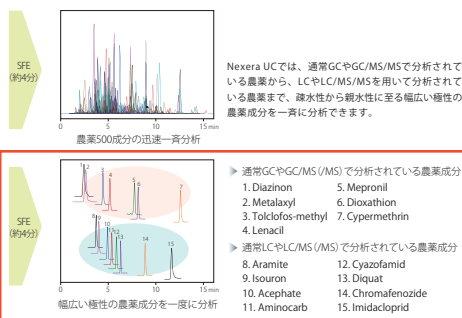


図 1 オンライン SFE-SFC-MS システムによる残留農薬分析

■ 不安定な化合物もそのまま分析

固相抽出や溶媒抽出等の従来の前処理法では、不安定な化合物は酸化や加水分解、光分解することがあります。オンライン SFE-SFC-MS システムでは、抽出から分析まで、遮光無酸素・無水条件下で行なえ、不安定な化合物を安定的に分析できます。図 2 に、還元型コエンザイム Q10 の分析例を示します。従来の溶媒抽出では、還元型コエンザイム Q10 は、抽出中に酸化され、酸化型として分析されます。一方、オンライン SFE-SFC-MS システムでは、試料中の状態を保ったまま抽出・分析されるので、還元型のまま分析できます。

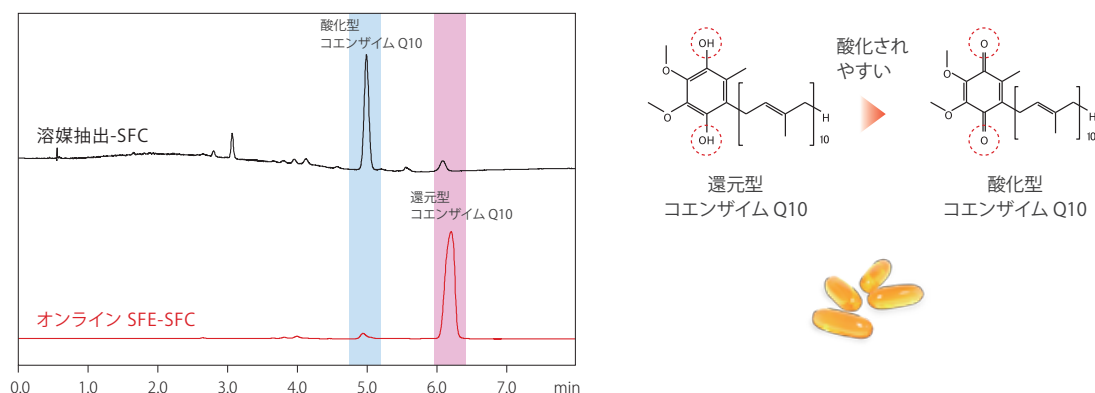
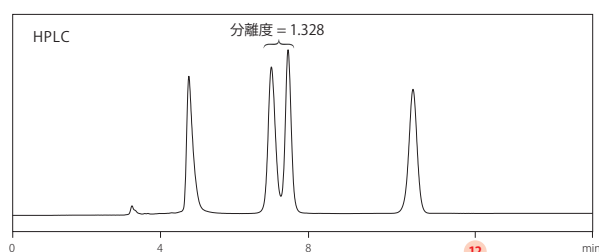


図 2 サプリメント中還元型コエンザイム Q10 の抽出・分析

■ 究極の高速・高分離・高感度を実現

“Nexera UC” では、低粘性・高拡散性の超臨界二酸化炭素を移動相として用いるため、HPLC に比べて流速が速い条件でも分離を損なわず、分析時間を短縮できます。また、高い分離選択性を示すことが多く、これまで分離が難しかった異性体分離に対しても、高分離な結果が得られる可能性があります。図 3 に、SFC-UV システムでトコフェロールの異性体を分析した例を示します。分離の向上とともに、分析時間を約 1/3 に短縮できました。

また、検出器に質量分析計を用いた場合、従来の SFC-MS システムでは背圧制御ユニットでのピーク拡散を回避するため、カラム溶出液をスプリットし、一方にカラム背圧制御ユニット、もう一方に質量分析計を接続することから、カラム溶出液の一部のみが質量分析計に導入されていました。“Nexera UC” では、低拡散背圧制御ユニットの採用により、背圧制御ユニットを質量分析計の前に直列に組み込んでいます。これにより、カラム溶出液を全量質量分析計に導入でき、高感度な分析が可能です。図 4 に、質量分析計へのスプリット導入と全量導入によるピーク強度の比較例を示します。質量分析計への全量導入により、ピーク強度が約 5 倍になりました。



約 1/3

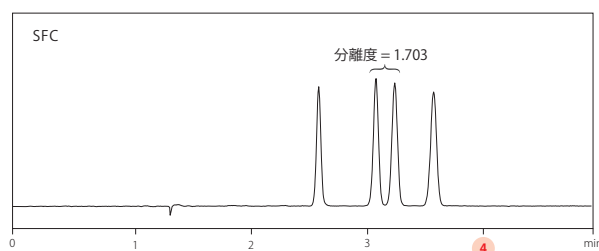
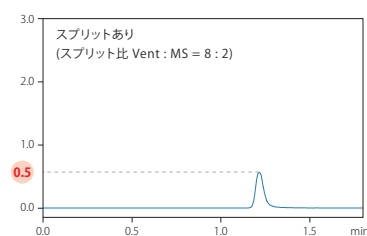


図 3 トコフェロール異性体による LC 条件と SFC 条件の比較



約 5 倍 高感度化

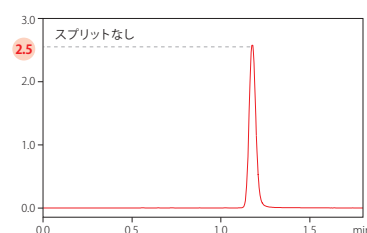


図 4 MS へのスプリットと全量導入によるピーク強度比較
(レセルピン 10 pg 注入)

Introductory

入門

化学発光検出のはなし

今回は、化学発光検出についてのおはなしです。化学発光検出・・・というと、馴染みのない方も多くおられると思います。化学発光検出は、超高感度検出を可能にする方法で、HPLCでの応用例はそれほど多くありませんが、基礎知識としてお読みください。

● 化学発光とは？

物質が電磁波、熱、摩擦、電界、化学反応などから外部エネルギーを吸収した励起状態から、熱放射をとまわずに特定の波長の光を放射（発光）して基底状態に戻る現象を「ルミネッセンス（luminescence）」と呼びます（図1）。この内、吸収するエネルギー源が化学反応である場合が、「化学発光（ケミルミネッセンス）」です。因みに、エネルギーとして光を吸収するのが「フォトルミネッセンス」で、蛍光やりん光が含まれます。また、ホタルや深海生物の発光は「バイオルミネッセンス」に分類されます。

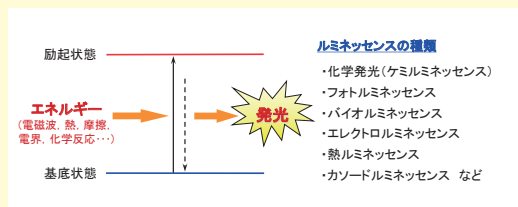


図1 ルミネッセンス

● 化学発光検出の特長

化学発光では、発光試薬による化学反応のエネルギーで物質を励起させるため、蛍光検出のように光源ランプ（キセノンランプなど）を必要としません。図2に、HPLCにおける化学発光検出の基本原則を示します。

化学反応のための発光試薬は、ポストカラム誘導体化と同様、発光試薬送液ポンプによりカラム溶出液に連続的に添加され、混合部で混合されます。生じた発光は、その強度が最も高くなる時点で光電子増倍管により測定されます。化学発光検出のフローセルは、できるだけ多くの光を光電子増倍管で受けられるよう、加工がしやすいフッ素樹脂チューブを渦巻状にしたものが多く用いられます。

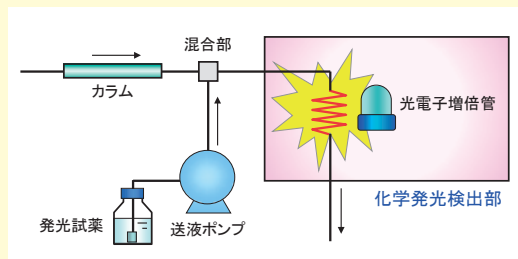


図2 化学発光検出の基本原則（模式図）

● 化学発光試薬の例

化学発光試薬には、励起された物質が自ら発光する直接発光タイプと化学反応により生じたエネルギーが他の物質を励起させる間接発光タイプがあります。

・直接発光タイプ

このタイプの代表例が、古くから血液の鑑識に用いられているルミノールです。図3に、ルミノールによる化学発光反応を示します。ルミノールは、強アルカリ性下、過酸化水素などの酸化剤、熱などの金属触媒の存在により、青色の光（425 nm）を出します。

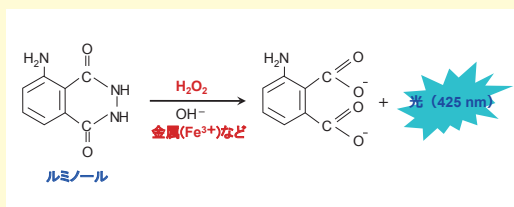


図3 ルミノールによる化学発光反応

HPLCにおいて、ルミノール反応は過酸化物質（過酸化脂質など）や金属含有物質の分析に応用されています。

・間接発光タイプ

このタイプの代表例は、しゅう酸ジエステル-過酸化水素系の化学発光です。図4に、しゅう酸ビス（2,4,6-トリクロロフェニル）（TCPO）による化学発光反応を示します。この反応では、TCPOと過酸化水素の反応により生じる活性中間体（1,2-ジオキセタンジオン）が二酸化炭素に分解する時、蛍光物質に励起エネルギーを与えます。

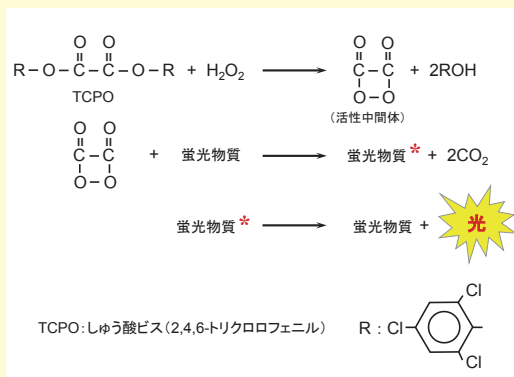


図4 しゅう酸ジエステル（TCPO）-過酸化水素系による化学発光反応

分析種が蛍光物質でない場合には、蛍光誘導体に変換して本法が用いられます。例えば、ダンシル化アミノ酸の例では、fmol（ 10^{-15} mol）あるいは数百 amol（ 10^{-18} mol）の超高感度検出が可能となります。（Mk）

HPLC No.L482B

“Prominence-i GPC システム” による添加剤含有疎水性高分子の分析

フォトダイオードアレイ検出器を内蔵した一体型高速液体クロマトグラフ “Prominence-i” に、示差屈折率検出器を接続した GPC システムを用いると、高分子の分子量測定（示差屈折率検出器）と添加剤の定量（フォトダイオードアレイ検出器）を同時に行うことができます。ここでは、ポリスチレンに Irganox 1010 を微量添加した試料により、本システムの評価を行った例をご紹介します。

HPLC No.L483

蛍光検出器 RF-20Axs を用いた 2-AB 化糖鎖の高感度分析

抗体医薬品中の糖鎖は、医薬品の安全性・有効性に影響を与えるため、含まれる糖鎖の種類・量などを調べることが求められます。一方で、培養条件による糖鎖構造の多様性、不均一性は避けることができないため、これらの生産工程における管理が必要となります。ここでは、2-アミノベンズアミド (2-AB) 化糖鎖を高感度蛍光検出器 “RF-20Axs” により分析した例をご紹介します。

HPLC No.L484

“Prominence-i” による小麦中のニバレノールおよびデオキシニバレノールの分析

ニバレノールおよびデオキシニバレノールは赤かび病菌として知られるフザリウム属真菌が産生するかび毒の一つで、デオキシニバレノールについては、暫定的な基準値 1.1 ppm が設定されています。ここでは、「デオキシニバレノールの試験法について」（食安発第 0717001 号、平成 15 年 7 月 17 日）を参考にし、小麦粉に 2 成分を標準添加した試料の分析例をご紹介します。

HPLC No.L485

有機酸分析システムによるバイオマスの分析

バイオマス資源からバイオエタノールを工業的に製造するには、セルロースやヘミセルロースを糖化酵素により分解し、グルコースやキシロースのような単糖にした後、酵母を働かせますが、この時副生する乙酸、酢酸、フルフラール、ヒドロキシメチルフルフラール等が酵母による発酵を阻害します。ここでは、有機酸分析システムと吸光光度検出器を用いたこれら副生物の同時分析例をご紹介します。

HPLC No.L486

前処理カラム Shim-pack MAYI-ODS を用いた On-line SPE による IgG 水溶液中ポリソルベート 80 の分析 -1

On-line SPE カラム “Shim-pack MAYI-ODS” は、たんぱく質のような生体高分子の充填剤細孔への浸透を抑制し、試料中の低分子化合物を細孔内の ODS 固定相に保持させる浸透制限形カラムです。ここでは、IgG 水溶液（モデル試料）中のポリソルベート 80（界面活性剤）について、本カラムを用いた On-line 自動前処理分析例についてご紹介しています。

HPLC No.L487

前処理カラム Shim-pack MAYI-ODS を用いた On-line SPE による IgG 水溶液中ポリソルベート 80 の分析 -2

ポリソルベートは、たんぱく質の変性を防ぎ安定性を保つため、たんぱく質製剤にしばしば添加されます。No.L486 では、“Shim-pack MAYI-ODS” を用いたポリソルベート 80 の自動前処理分析法をご紹介しましたが、ここではさらに高分離化を図り、ポリソルベート 80 の副生成物と考えられる成分についてのマスペクトル測定を行った例をご紹介します。

HPLC No.L488

“Nexera-i” による抗体医薬品のペプチドマッピング

HPLC によるペプチドマッピングは、抗体医薬品の一次構造を確認する重要な品質試験の一つですが、抗体を酵素消化した後の非常に多くのピークを高分離する必要があります。ここでは、微粒子コアシェルカラムである “Aeris 1.7 μm PEPTIDE XB-C18 100 Å” を用いた IgG のトリプシン消化物の分析例をご紹介します。

HPLC No.L489

示差屈折率検出器 “RID-20A” を用いたマンニトールの分析

糖アルコールの一種であるマンニトールは、低吸湿性、低反応性という特長をもつため、医薬品の賦形剤として利用されており、第十六改正日本薬局方第二追補（2014 年 2 月）では、マンニトールの試験法が追加されました。ここでは、この試験法に基づきシステム適合性試験を行い、医薬品賦形剤の分析に適用した例をご紹介します。

HPLC No.L490

ポストカラム pH 緩衝化有機酸分析システムによる培地中の有機酸分析

近年、化石燃料に代わり、バイオマスを原料として新エネルギーや化学製品を製造するバイオプロダクションの研究が盛んになりつつあります。バイオプロダクションでは、培地中に代謝産物として生産されるビルビン酸、乳酸、酢酸、乙酸、コハク酸などの有機酸分析が重要なファクターとなります。ここでは、有機酸分析システムによるこれら有機酸の分析例をご紹介します。

HPLC No.L491

Nexera-e を用いた赤唐辛子中カロテノイドの包括的 2 次元分離

食品に含まれるカロテノイド種は多岐に渡るため、包括的 2 次元 LC システム “Nexera-e” による分析が有効です。ここでは、赤唐辛子から抽出したカロテノイドに対して、1 次元目に順相モードによる分離、2 次元目に逆相モードによる分離を試み、フォトダイオードアレイ検出器およびトリプル四重極型質量分析計により検出した例をご紹介します。

第 25 回クロマトグラフィー科学会議（25 回記念大会）（2014 年 12 月，京都）

LC/MALDI-MS による糖ペプチドおよび糖鎖の逐次的検出

依田里都子，日置雄策，西風隆司，岩本慎一，田中耕一

新たに構築した on-target 消化とマイクロフロー HPLC / MALDI-MS と組み合わせることにより，一つの試料からペプチド，糖ペプチドおよび糖鎖を逐次的かつ網羅的に解析することが可能となった。

カラムスイッチング技術を利用した抗体医薬品中ポリソルベート 80 の分析

中山大介，田中健一郎，中島みのり，寺田英敏，山口忠行

内面逆相形前処理カラム“Shim-pack MAYI-ODS”を用いるカラムスイッチング自動前処理 HPLC システム“Co-Sense for BA”による抗体医薬品中ポリソルベート 80 の自動前処理分析法について検討した。

高感度セルを用いたフォトダイオードアレイ検出器による不純物分析

中島みのり，田中健一郎，寺田英敏，中山大介，山口忠行

光路長 85 mm の高感度セルを搭載したフォトダイオードアレイ検出器“SPD-M30A”とダイナミックレンジの拡張による高濃度試料へ対応を可能とした新しいデータ解析機能“i-DReC”を用い，医薬品中の不純物分析を検討した。

新しい USP General Chapter 621 に準拠した USP メソッドの高速化

寺田英敏，中島みのり，中山大介，山口忠行，田中健一郎

USP（米国薬局方）General Chapter 621 に示されているパラメーター変更許容範囲に準拠して，粒子径 5 μm の充填剤を使用するメソッドを，2 μm の充填剤を用いて高速化するための諸検討を行った。

ミックスモードカラムによる医薬品有効成分およびカウンターイオンの同時分析法の検討

山口忠行，寺田英敏，中山大介，中島みのり，田中健一郎

ODS 基と弱イオン交換基を同一粒子に修飾したミックスモードカラム“ReDual CX-C18”と蒸発光散乱検出器を用い，医薬品有効成分とそのカウンターイオンの同時分析法を検討した。

第 282 回液体クロマトグラフィー研究懇談会（2014 年 12 月，東京）

ペプチド・タンパク質分析におけるコアシェルカラムの有用性

福島忠将

講演主題「ペプチド，オリゴヌクレオチドを対象とした LC 技術の利用」において，タンパク分析用コアシェルカラム“Aeris WIDEPOR”とペプチド分析用コアシェルカラム“Aeris PEPTIDE”の特長と応用例を紹介した。

第 20 回 LC テクノプラザ（2015 年 1 月，横浜）

金属含有カラム Shim-pack MAqC-ODS I による医薬品分析の分離向上

荒尾洋平，内田あずさ

金属を含有させた逆相カラム“Shim-pack MAqC-ODS I”は，弱イオン交換性を有するため塩基性化合物をイオン対試薬なしで保持させることができる。ここでは，本カラムの医薬品分析への応用を検討した。

新規開発カラムによるイオンペア試薬を用いない糖リン酸およびヌクレオチドの LC/MS/MS 分析

佐藤友紀^{*}，山口忠行，中西豪，塚本多矩，早川禎弘，加峯茂行^{*}

（^{*}：株式会社島津ジーエルシー）

りん酸基含有化合物をイオン対試薬なしで保持できる充填剤を高耐圧メタルフリークロマトグラフィー管に充填し，糖りん酸およびヌクレオチドの LC/MS/MS 分析へ適用性を検討した。

talk 執筆者

大崎 幸彦 先生

「分析も「運鈍根」と33年」

おおさき ゆきひこ=小林製薬株式会社 中央研究所 基盤研究部
評価研究グループ グループ長

- ▶ 1983 年 大阪大学工学部石油化学科 卒業
- 1984 年 大阪大学大学院工学研究科修士課程 中退
- 1984 年 大阪府警察本部科学捜査研究所 入所
- 2000 年 小林製薬株式会社 入社

専門分野 分析化学, 毒性学, 防菌防黴学

趣味 離島探訪, 酒造工場見学, ゴルフ, プロ野球観戦,
蓮栽培

将来の夢 沖縄移住



京都は、祇園祭で賑わう時期です。祇園祭は、八坂神社の祭事で毎年7月1日から31日まで、1か月に渡り行われます。一般には、17日と24日の山鉦巡行とその宵山が広く知られてますが、実は多彩な祭事が行われます。京都の夏の楽しみのひとつです。

(Mk)



読者のみなさまから・・・

● LCtalk 誌は創刊 30 年ということで、私
が生まれた頃(?)の冊子をぜひ見てみたい
のですが、可能でしょうか?

島津製作所 会員制 Web サイト "Solutions Navigator"※で、Vol.1～50 までを PDF でご覧いただけます。もちろん、ダウンロードも可能です。

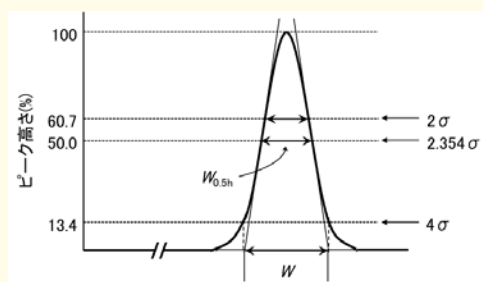


※ "Solutions Navigator" で検索してください。

● 理論段数 (N) の計算式に、 $N = 16 \times (t_R / W)^2$ と $N = 5.54 \times (t_R / W_{0.5h})^2$ があるのですが、どのようにして導かれるのでしょうか?

理論段数は、ピークをガウス分布 (正規分布) として、 $N = (t_R / \sigma)^2$ で与えられます。ここで、 t_R は保持時間、 σ は標準偏差です。ご質問にある式で、 W はピーク幅、 $W_{0.5h}$ はピーク半値幅です。ガウス分布において、標準偏

差とピーク幅には、図に示すような関係があります。



この図から、 $\sigma = W / 4$ 、 $\sigma = W_{0.5h} / 2.354$ が得られますので、 $N = (t_R / \sigma)^2$ に代入すればご質問にある計算式となります。

● HPLC の古株 (!) です。最近、HPLC で用いる用語のことで、部下と話が合わないことが多々あります。(例えば、「キャパシティーファクター」と言っても通じない・・・) この際、最新用語の勉強をしたいのですが、何を見ればよいでしょうか?

HPLC で用いる基本用語は、分野によって若干の違いはありますが、日本工業規格 (JIS) の最新版をご覧になるのがよいと思います。現時点での関連する JIS の最新版は以下の通りです。

- ・ JIS K 0214 : 2013 分析化学用語 (クロマトグラフィー部門)
- ・ JIS K 0124 : 2011 高速液体クロマトグラフィー通則
- ・ JIS K 0136 : 2015 高速液体クロマトグラフィー質量分析通則
- ・ JIS K 0127 : 2013 イオンクロマトグラフィー通則



JASIS 2015

開催日 : 2015年9月2日(水)～4日(金)
場 所 : 幕張メッセ国際展示場(千葉県)

- 島津ブースでは、最新の分析計測機器を展示します。
- 詳細につきましては、弊社Webサイトで順次ご案内します。

■新技術説明会のご案内

島津製作所では、本年も幅広い分野での講演を行う予定です。

以下は、HPLCおよびLC/MS関連テーマです。日時および会場等につきましては、弊社Webサイトでご確認ください。



JASIS 2014

	テーマ	内 容
1	試料の前処理から分析までを自動化ー超臨界流体抽出と超臨界流体クロマトグラフィーによる新たな分析技術のご紹介	試料中の成分抽出と分析を自動化することにより、前処理操作の時間短縮や分析精度の高いデータを得ることができる画期的な超臨界流体抽出/超臨界流体分析システムNexera UCの分析技術とその測定例をご紹介します。
2	簡単操作で分析準備と測定ができる一体型LCアナライザのご紹介	アプリケーションに合わせた分析条件で簡単に測定できる“i-Series”一体型LCアナライザをご紹介します。
3	必見！質量分析に最適な生体サンプル前処理法のご紹介	高感度なトリプル四重極型質量分析計を用いるために、最も重要な血液や尿などの生体サンプルの前処理方法ついて、実際の分析例を交えてご紹介しします。
4	LC/MSメソッドパッケージのオミクス(メタボロミクス・リポミクス・プロテオミクス)への応用	多成分一斉分析をサポートするLC/MSメソッドパッケージを使って、メタボロミクス・リポミクス・プロテオミクスそれぞれの分野に応用した分析例をご紹介します。
5	LC-MS/MSによるバイオ医薬品の定量分析：蛋白質/ペプチド性医薬品の血中濃度測定を中心としたアプリケーションのご紹介	抗体アッセイに頼らないLC-MS/MSによる定量法は、新規バイオ医薬の迅速かつ低コストな系構築を可能にします。生体試料中の蛋白/ペプチド医薬品を高感度、高選択的に分析するためのアプリケーションをご紹介します。
6	これで万全！食品分野における最新LC-MS/MS分析ソリューション～食の安全から機能性成分の分析まで～	超高速技術と優れた感度および安定性が可能にした残留農薬多成分一斉分析や、食品中の一次代謝物および二次代謝物のターゲット分析など、LC-MS/MSを用いた食品分野における最新のソリューションをご紹介します。
7	これで安心！水質分野における最新LC-MS/MS分析ソリューション～水道水中残留農薬分析のためのポイントを紹介～	超高速LC/MS/MS技術と優れた感度が可能にした農薬一斉分析や新規追加成分をLC/MS/MSにて分析するためのポイントなど、水質分析におけるLC/MS/MSの最新ソリューションをご紹介します。
8	現在お使いのバイアルは大丈夫!?測定成分の表面吸着を抑制した新規バイアルのご紹介	塩基性成分のガラス表面への吸着を抑制して定量正確性を高める新しいバイアルLabTotalをご紹介します。
9	新規開発したLC、LC/MS(/MS)用イナートカラムについて※	金属吸着性やC18カラムで保持・分離がしにくい化合物群を対象に開発検討したカラムについてご紹介しします。
10	塩基性物質用に開発されたアルカリ耐性コアシェルカラムKinetex EVO登場！※	困難な分析に有効な選択性をもつ安定性に優れた新しいコアシェルカラムの固定相についてご紹介しします。

※は、株式会社島津ジーエルーシーによる講演です。

LC talk
Vol. 94

発 行 日 : 2015年7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