

LC *talk*

VOL. **95**



2015 October

超臨界流体抽出分離技術が拓く 新しい分離分析の世界

九州大学
生体防御医学研究所
教授 馬場 健史



■私が超臨界流体クロマトグラフィー (Supercritical Fluid Chromatography, SFC) に出会ったのは、博士課程の学生のときでした。トチュウという植物のイソプレノリマーの解析が博士論文のテーマで、日々HPLCやサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) を用いて分析を行っていました。ポリプレノールといわれる低分子イソプレノイドの分析をしていたときに、HPLCではいろいろなカラム、条件を試したのですが、どうしても分離ができず博士論文研究が思い通りに進まず途方に暮れていました。そのときに、同じ大阪大学の基礎工学研究科の右手浩一先生 (現徳島大学) からSFCをご紹介いただきました。HPLCやSECでは分離できなかった異性体、高分子成分を見事に分離することができ、めでたく博士号を取得することができました。このSFCとの出会いがそのあとの私の人生を大きく変えたと言っても過言ではありません。

■その後、代謝物の網羅的な解析を目的とするメタボロミクスの研究をすることになり、分離手段としてSFCを適用するための研究を始めました。SFCは主として分取に利用されてきたため、装置も分取に特化したもので、メタボロミクスに利用するためには分析用のシステム構築が必要でした。分取においてほとんど利用されていなかった質量分析計との接続はメタボロミクスにおいては必須であったことから、イオン化を含めた質量分析計接続技術の開発からはじめないといけませんでした。イオン化手法、条件の検討に非常に時間を要しましたが、安定してデータが取得できるSFC/MSシステムの構築に成功し、2008年にはSFC/MSを用いた脂質メタボロミクス (リピドミクス) 手法について論文発表することができました¹⁾。この論文がSFC/MSをメタボロミクスに適用したはじめての論文であり、多成分一斉分析におけるSFC/MSの可能性を示したものでありました。

■その後、メタボロミクスをはじめとする代謝物解析におけるSFC/MSの適用技術の開発をさらに進めるべく研究に取り組んだのですが、やはり分取用

の装置では限界がありました。分析スケールにおいてSFCの分離性能を最大限に発揮するためには、やはり分析専用の装置が必須で、なんとか新たな分析用の装置の開発をお願いしたいということで様々な装置メーカーに相談させていただきました。それまでの経験でどのような仕様の装置を開発したら良いかということについては自信がりましたが、その当時UHPLCが登場したこともあり分析用SFC装置にどれだけニーズあるか全くわからない状況で、多くのメーカーが開発に対してポジティブではありませんでした。その中、島津製作所さんにご決断いただき装置開発をはじめることができました。また、幸いなことにJSTの先端計測分析技術・機器開発プログラムにも採択いただき、装置開発をさらに加速することができました。本当に多くの方のご協力のお陰で、短期間でユーザーが必要とする仕様が盛り込まれた素晴らしい装置を開発することができました。実は、プロジェクト提案時の目標はSFCとSFEを開発し、オンライン化に向けた接続を試みるところまででしたが、世界にない新しい装置を世の中に出したいというみなさんの思いからオンライン化についても前倒しで取り組み、SFE-SFC-MS “Nexera UC”を開発し上市することができました。やはり、今回の装置開発では、バックプレッシャーレギュレーター (BPR)の開発が大きいと思います。これまでにない低デットボリューム、低ノイズレベルのBPRは、島津製作所さんの技術レベルの高さを示すものです。SFCはHPLCの後ろにBPRをつけた構成になりますが、移動相が超臨界流体であることから、単なるHPLC装置の開発の延長というわけにはいきません。これが他社も含めて苦労しているところだと思います。しかし、今回の開発では初期の開発から我々ユーザーが関わらせていただき、積極的に意見を取り入れていただいたこ

とにより、真にユーザーが求める実用的な装置を開発できたと思います。

■ SFC を用いた分析技術の開発と応用研究に取り組みながら、常に SFC が他の分離手法と比べてどこが優れているのか、他の分析手法でできないことが何なのかを考えていました。その中で、網羅性と SFE とのオンライン化が SFC の大きな特徴であると確信するようになり、それらの特徴を生かした技術開発に積極的に取り組みました。

■ これまで SFC は移動相の超臨界二酸化炭素が *n*-ヘキサン程度の疎水性であることから疎水性化合物に好適な分離手法として理解されてきましたが、SFC の可能性を追求する過程で様々な化合物についてその適用を試みたところ、これまでの認識を変えられる結果が得られてきました。農薬は親水性から疎水性までの幅広い性質を有するため、その分析には GC、LC など複数種の分離系を利用していますが、SFC を適用することによりそれらを一斉に分析できることを見出しました²⁾。これにより、SFC が親水性化合物を含めた幅広い化合物に適用可能であることがわかり、網羅性の高さも SFC の大きなメリットであることを認識できました。さらに、抱合体を含めた幅広い極性の胆汁酸類の一斉分析系の構築³⁾、ナイアシン類の分析⁴⁾、脂溶性ビタミンから親水性ビタミン類の一斉分析系の構築⁵⁾ などにより、SFC の適用範囲の広さが示されました。その過程で、モディファイヤ〔SFC の移動相において超臨界流体二酸化炭素 (SCCO₂) に添加する溶媒のこと〕の割合が高くなる (ビタミン類の一斉分析においては最終

100 %)、すなわち移動相が超臨界流体ではない、亜臨界、液体になっている状態で SFC と呼ぶことに違和感を持ちました。本来 SFC と呼べるのは移動相として SCCO₂ のみを用いる場合で、一般的に利用されているモディファイヤを添加している状態は Subcritical Fluid Chromatography と呼ぶべきです。そこで、我々のグループでは移動相が超臨界から液体までを連続的に利用することができる特性を持つ新しい分離手段として、Unified Chromatography (UC) を提案しました。UC は、移動相として、*n*-ヘキサンに近い疎水性の SCCO₂ からメタノールや水などの親水性の液体を連続的に用いることができることから、非常に幅広い化合物を一斉に分析できる他にないモードを有する分離系です。限られた成分の分離にフォーカスした分取の分離手段として発展してきた SFC の隠れた特性を見出し、広範囲の化合物を対象とした一斉分析系として新たな一歩を踏み出す切っ掛けを発見できたことに大きな喜びを感じます。

■ SFC のさらなる有効利用を考えた際に、他ではできない部分、すなわち超臨界流体を用いる有意性を示す部分として、SFE とのオンライン化に我々は注目しました。SFE をオンライン化することにより、これまでの試料調製方法では分解したりロスする成分の分析が可能になり、抽出する前のインタクトに近い状態の情報を取得することが可能になります。さらに、オンライン化により自動化も可能となることから、スループットや再現性の向上も期待できます。光合成細菌中の CoQ₁₀ 酸化体、還元体の

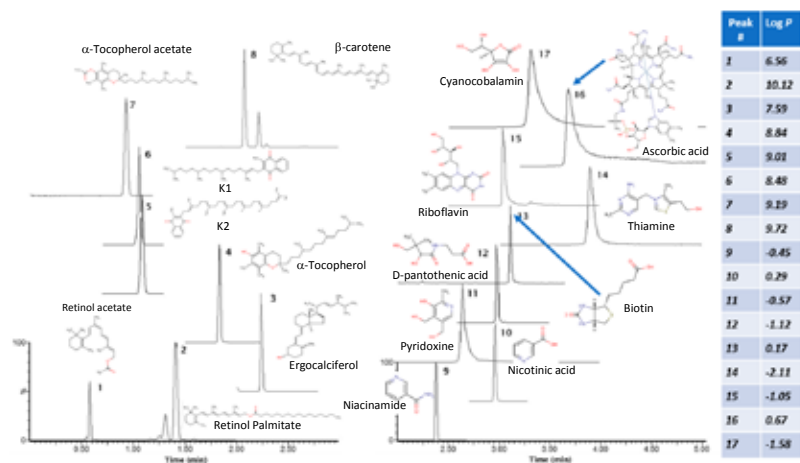


図 1 Unified Chromatography による脂溶性および水溶性ビタミンの一斉分析⁵⁾

同時分析⁶⁾や、血漿中のリン脂質⁷⁾や脂溶性ビタミン類の一斉分析、組換え大腸菌中 β -イオンと β -カロテンの同時分析などオンラインSFE-SFC-MSの有効性を示しました。溶出力を連続的に変化させることが可能なSFEの特性を生かすことにより、目的成分を選択的に溶出することができることから、単なる抽出だけでなく前処理としても利用することができます。SFEを抽出+1次元目の分離(SFC)として考えることにより、幅広い成分の精密分析が効率的に行うことが可能になります。

■さらに、SFC同様、SFEの可能性についても確認するために、どれだけ親水性の化合物に対応できるかについて検討してみました。乾燥ろ紙血(Dried Blood Spot, DBS)からSFEを用いて血液中の成分の抽出を試みたところ、脂質はもちろんのこと、アミノ酸等の親水性代謝物も抽出できることが示されました⁸⁾。これにより、SFEが親水性の化合物についても利用可能な抽出技術であることが示され、UCとの効果的な組み合わせにより幅広い化合物を連続して抽出、分離可能な他にない分析手法となりうるポテンシャルを有していることがわかりました。現在、神戸大学医学研究科の吉田優先生のグループを中心にオンラインSFE-SFC-MSシステムを用いた臨床診断システムの開発を、また、宮崎総合農業試験場の安藤孝部長のグループを中心に、オンラインSFE-SFC-MSシステムを用いた残留農薬分析システムの開発に取り組んでいます。

■SFCは今後UCとして新たな展開を迎えることになると思います。UCはまだ開発途上であり、ユーザーが実際どのように使うかによってさらに発展、進化していくことが考えられます。今回開発した装置も今後予測できない発展を見せるUCに対応してさらに進化をしていく必要があります。“Nexera UC”はこれまでにないユーザー目線で開発された装置であるからこそ、これからもユーザーが積極的に関与してさらに進化していく装置(システム)であってほしいと願っています。是非これまでSFCのユーザーだった方も、これからユーザーになれる方も積極的にUCの開発に関わっていただき、いっしょに日本の誇れるすばらしい技術を世界に発信していきましょう。

参考文献

- 1) Bamba, T., *et al.*, *J. Biosci. Bioeng.*, **105**, 460 (2008)
- 2) Ishibashi, M., *et al.*, *J. Chromatogr. A*, **1266**, 143 (2012)
- 3) Taguchi, K., *et al.*, *J. Chromatogr. A*, **1299**, 103 (2013)
- 4) Taguchi, K., *et al.*, *Mass Spectrom.* (Tokyo), **3**(1), A0029
- 5) Taguchi, K., *et al.*, *J. Chromatogr. A*, **1362**, 270 (2014)
- 6) Matsubara, A., *et al.*, *J. Chromatogr. A*, **1250**, 76 (2012)
- 7) Uchikata, T., *et al.*, *J. Chromatogr. A*, **1250**, 69 (2012)
- 8) Matsubara, A., *et al.*, *J. Chromatogr. B*, **969**, 199 (2014)

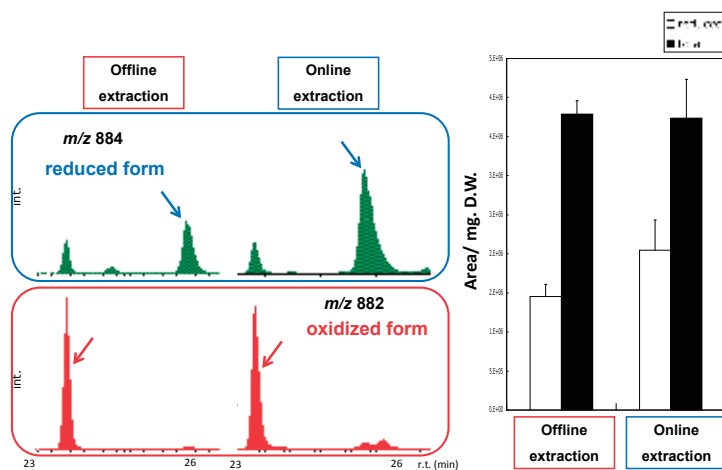


図2 オンラインSFE-SFC-MSを用いたCoQ₁₀酸化体、還元体の分析⁶⁾

Introductory



本号と次号は、HPLC装置の心臓部とも言える送液ポンプの基礎講座です。本号では、送液ポンプの基本構造についてのおはなしです。

● 送液ポンプの仕組み

HPLCで用いられる送液ポンプとしては、往復運動形ポンプ（別名プランジャーポンプ）が最も広く用いられています。図1に、往復運動形ポンプの構造（模式図）を示します。

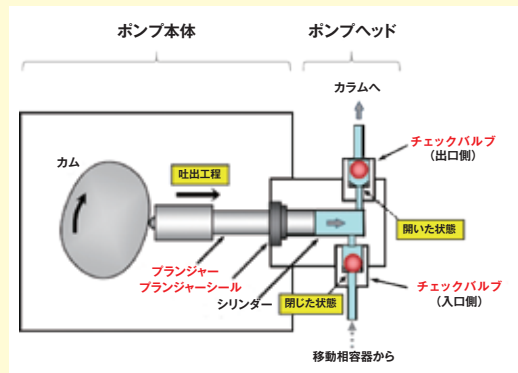


図1 往復運動形ポンプの構造（模式図）

往復運動形ポンプでは、プランジャーがシリンダー内を往復運動し、移動相の吸引・吐出を繰り返して移動相を移動相容器からカラムへと送ります。ポンプのシリンダー容量は、一般に分析用で10～100 μL程度であり、ポンプヘッドは2連のものが主流です。これは、2つのポンプの位相をずらすことにより（片方が吸引している時、もう一方は吐出している）、脈流を低減して安定な送液を可能とするためです。

● プランジャー

プランジャーは、パルスモーターに付けられたカムの回転によりシリンダー内を往復運動し、移動相を移動相容器からカラムへと送り出すためのものです。図2に、プランジャーの例を示します。



図2 プランジャーの例

この写真で左側の半透明の部分が接液部分で、材質としては一般にサファイアが用いられます。プランジャーの太さは、機種や仕様によって異なります。

送液ポンプのはなし その1 - 基本構造

● プランジャーシール

プランジャーシールは、プランジャーとポンプヘッドの後ろ側（ポンプ本体側）をシールして、移動相がポンプ本体側に漏れないようにするためのものです。図3に、プランジャーシールの一例を示します。



図3 プランジャーシールの例

プランジャーシールの材質としては、超高分子ポリエチレン樹脂や添加剤入りふっ素樹脂などが用いられます。プランジャーシールは、送液ポンプ駆動時、プランジャーと常に摩擦状態にありますので、消耗品として定期的な交換が必要です。特に、リン酸塩緩衝液を用いる際には、早目の交換がお勧めです。

● チェックバルブ

チェックバルブは、逆流弁とも呼ばれ、ポンプヘッドの入口と出口に付いており、吸引・吐出工程における移動相の逆流を防いでいます。移動相吸引時には入口側チェックバルブが開き、出口側チェック弁が閉じます。一方、移動相排出時には出口側チェックバルブが開き、入口側チェック弁が閉じるようになっています。

チェックバルブには、図4に示すようなボールとボールシートと呼ばれる部品が入っており、ボールの上下により開閉を行っています。一般に、ボールはルビー、ボールシートはサファイアでできています。

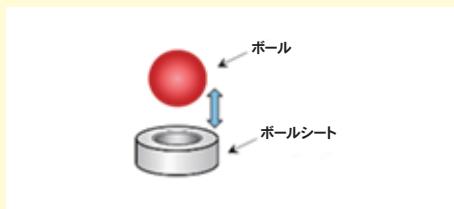


図4 ボールとボールシートの例（模式図）

図4において、上方向から圧力がかかるとボールが下に移動してボールシートに密着し、移動相を止めます。逆に、下方向から圧力がかかるとボールが上方向に移動して移動相を流すわけです。図1は吐出工程ですから、「入口側：閉 - 出口側：開」です。

送液ポンプの基本構造が分かったところで、次号は送液ポンプのメンテナンスとトラブル対処のポイントについておはなししましょう。(MK)

Products

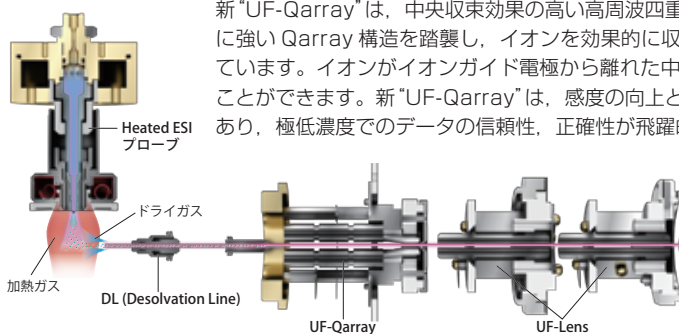
高速液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS-8060



“LCMS-8060”は、最高の感度と最高の測定速度の両立を実現した革新的なトリプル四重極型質量分析計です。ルーチンでの高感度定量に大きなインパクトを与えるだけでなく、定量・定性の高感度高速同時分析を可能にしてLC/MS/MS分析の新たな領域を開きます。「質量分析の限界点を越える」…それが“LCMS-8060”の挑戦であり、コンセプトです。

Sensitivity

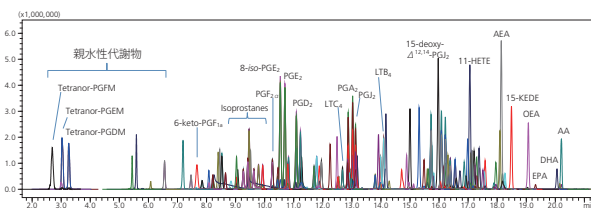
最適化したイオン導入部とそれに続く新技術“UF-Qarray”により、イオンサンプリング効率とイオン収束力が格段に高まり、感度向上を実現しました。世界最高レベルの感度が革新的なアプリケーションを生み出します。



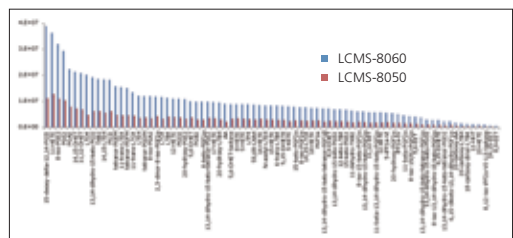
新“UF-Qarray”は、中央収束効果の高い高周波四重極電場を基本とするイオンガイドで、汚れに強いQarray構造を踏襲し、イオンを効果的に収束して、質量分析部へ運ぶように設計されています。イオンがイオンガイド電極から離れた中央部を通過するため、電極汚染を抑制することができます。新“UF-Qarray”は、感度の向上と堅牢性の向上を両立させた画期的な技術であり、極低濃度でのデータの信頼性、正確性が飛躍的に高まります。

◆ヒト血清中の脂質メディエーター高感度一斉分析例◆

“脂質メディエーターメソッドパッケージ ver.2”を用い、市販のヒト血清試料中の脂質メディエーターの定量プロファイリングを行いました。評価した成分のうち、アラキドン酸(AA)およびその代謝物79成分を表記しました。“LCMS-8060”の方が“LCMS-8050”より平均して3.0倍高感度でした。



標準混合液の一斉分析クロマトグラム



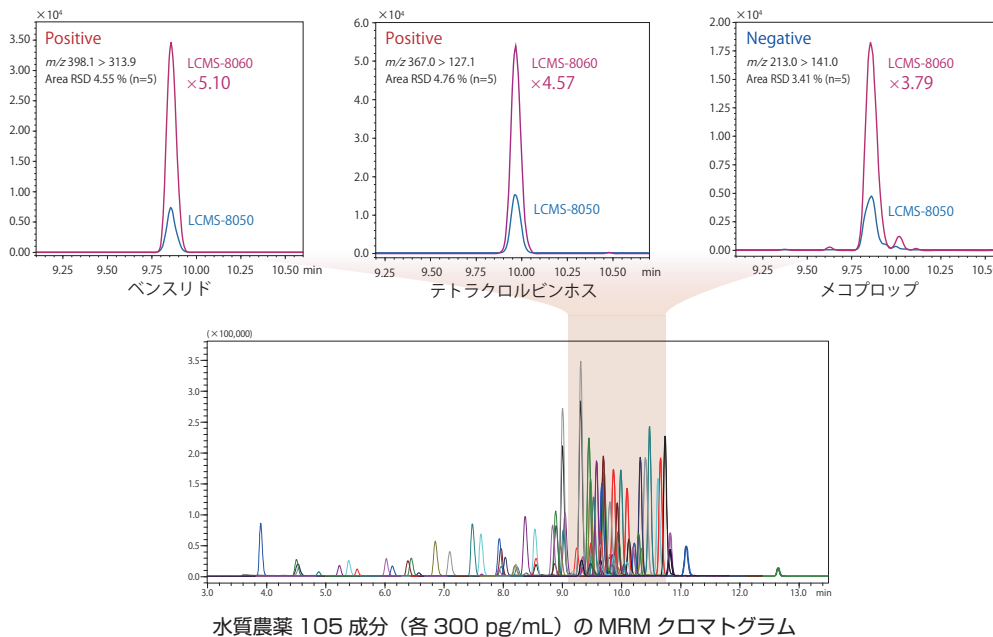
LCMS-8060 と LCMS-8050 のピーク面積比較

Speed

正負イオン化切替時間 5 ms の超高速正負イオン化切替測定 (“UFswitching”), 最高スキャンスピード 30,000 u/s の超高速スキャン (“UFscanning”), 最大 555 ch/s の超高速 MRM 測定 (“UF-MRM”)。 “LCMS-8060” は, “LCMS-8050” から引き継いだ高速性能はそのままに, クラス最高レベルの感度を加え, 高精度な定量と定性の両立を可能にします。

◆水質農薬105成分高感度一斉分析◆

水質農薬 105 成分を高速正負イオン化切替を用いて測定しました。最もクロマトグラムが重なった領域では, 最大 65 成分同時分析しています。この分析例では, データ取込時間は 2 ms と設定し, 最長ループタイムは 400 ms, データポイント数はピーク幅 10 s 程度のピークに対して 20 点以上となります。この領域における “LCMS-8060” の “LCMS-8050” からの感度向上は, 全成分平均の 3.66 倍と同等で, さらに面積再現性 (RSD) は 5 % 未満を達成しています。



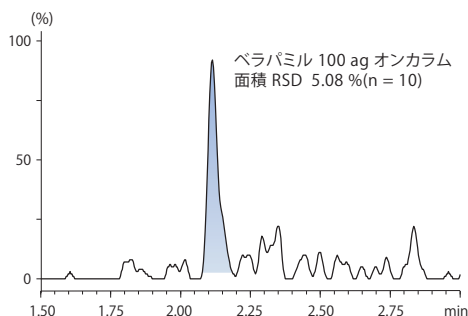
水質農薬 105 成分 (各 300 pg/mL) の MRM クロマトグラム

Solutions

感度の向上は, あらゆる微量定量測定を進化させ, 明確な違いを測定者に提供します。 “LCMS-8060” の感度面での進化は, 前処理の簡略化と試料注入量の削減を実現し, 生産性の高い高感度定量分析を可能にします。

◆血漿中ベラパミルの超高感度定量◆

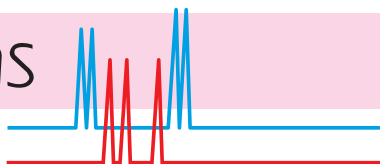
近年, 少量でも高い効果が得られる医薬品が開発されるようになり, 薬物動態評価などのバイオアナリシスにおいて感度への要求が年々高まっています。 “LCMS-8060” によるベラパミルの分析では, 0.1 pg/mL ~ 50 ng/mL において高精度な定量結果が得られました。さらに, 100 ag (ag = 10⁻¹⁸ g) のピーク面積 RSD は 5.08 % (n = 10) という非常に良好な再現性が得られました。



ベラパミルの MRM クロマトグラム

設定濃度 (ng/mL)	算出濃度 (ng/mL)	面積 RSD (%; n=3)	Accuracy (%)
0.0001	0.000100	2.97	100.3
0.0005	0.000508	6.15	101.7
0.001	0.000942	5.32	94.3
0.005	0.00491	3.54	98.9
0.01	0.00949	2.94	95.0
0.05	0.0511	2.14	102.4
0.1	0.0996	1.18	99.8
0.5	0.522	0.63	104.5
1	1.01	0.26	100.8
5	5.28	0.43	105.6
10	10.0	0.60	100.0
50	48.8	0.33	97.8

ベラパミルの定量結果



水道水質分析用陰イオン分析カラム “Shim-pack IC-SA4” による水道水分析

日本の水道水には、水道法により水質基準項目や水質管理目標設定項目等の管理基準が設けられ、それぞれの項目に対して基準値や目標値を設定し管理することにより、品質が維持されています。これらの検査項目には、検査方法が定められており、陰イオン分析においてはイオンクロマトグラフが採用されています。近年では、逐次追加される多くの検査項目を決められた時間内に処理できるよう、イオンクロマトグラフにおいても、分析時間の短縮が求められています。さらに、水道水の水源はさまざまであり、水質基準で定められたイオン種以外にも多数のイオン種が含まれるため、これらのイオン種を分離するための分離カラムや移動相条件の検討も重要となっています。ここでは、水道水質分析専用設計された新規陰イオン分析カラム“Shim-pack IC-SA4”を用いた分析法をご紹介します。

■ ふっ化物イオンの定量

図1に、水質基準項目（5項目）を含めた陰イオン8成分の一斉分析例を、表1にその分析条件を示します。本法では、分析時間を20分以内に短縮しつつ、ふっ化物イオンとその定量にしばしば妨害となるウォーターディップ（検水が通過する際の落ち込み）とを十分に分離することができます。

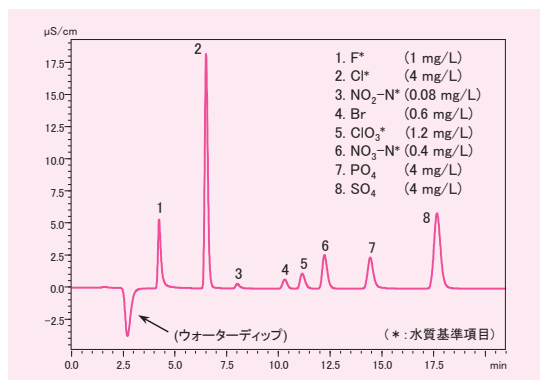


図1 陰イオン8成分標準液の分析例

表1 分析条件

装置:	Prominence イオンクロマトグラフ HIC-SP
カラム:	Shim-pack IC-SA4 (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒子径 3 µm)
移動相:	1.7 mmol/L 炭酸ナトリウム, 5.0 mmol/L 炭酸水素ナトリウム 水溶液
流量:	0.8 mL/min
温度:	50 °C
検出:	電気伝導度検出器 (サブレッサー方式) 吸光度検出器 (210 nm) (図5, 図6)
注入量:	50 µL

また、本法により山間部の河川水等を水源とする水道水に見られるけい酸イオンとふっ化物イオンを分離することが可能です。図2に、けい酸イオンとふっ化物イオンの分離例を示します。けい酸は弱酸であり、移動相 pH により解離状態が変化します。一般に、サブレッサー方式のイオンクロマトグラフでは、pH 10 以上の移動相が使用されるため、けい酸は解離状態となりカラムで保持されます。しかし、サブレッサー通過後、移動相 pH がけい酸の pKa より低い 7 以下となるため、けい酸のイオン化が抑制されて、負ピークとして検出されます（表2）。従来のカラムでは、このけい酸イオンの負ピークがふっ化物イオンの溶出と重なり、ふっ化物イオンの定量に影響していました。“Shim-pack IC-SA4”では、カラム内でけい酸のイオン化を抑制することにより溶出を早め、ふっ化物イオンとの十分な分離を実現しています。

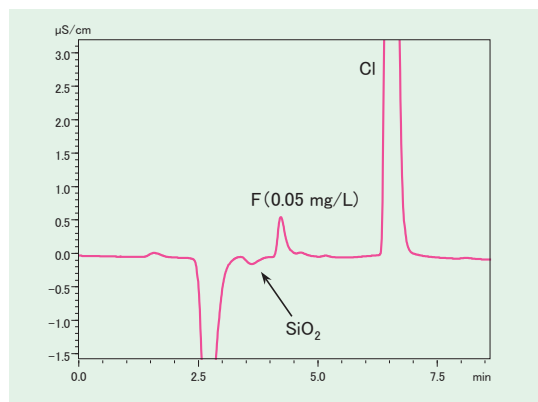


図2 けい酸イオンとふっ化物イオンの分離例

表2 従来カラムと“Shim-pack IC-SA4”の比較

	分析カラム内のけい酸	検出器内のけい酸	けい酸とFの分離
従来カラム	イオン化	イオン化抑制	未分離
IC-SA4	一部イオン化抑制	イオン化抑制	分離

図3に、けい酸イオンを含む水道水の分析例を示します。けい酸イオンがふっ化物イオンと十分に分離しており、ふっ化物イオンの定量に影響を与えないことがわかります。図4には、市販のミネラルウォーターの分析例を示します。この例のようにけい酸イオン濃度が高い場合でも、ふっ化物イオンと良好に分離できます。

以上のように本法を用いることにより、ふっ化物イオンの定量精度を高めることができます。

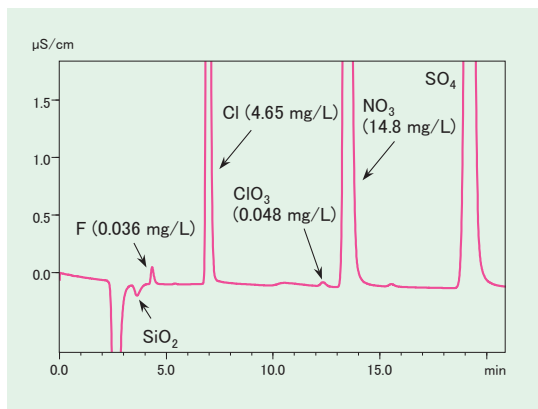


図3 けい酸を含む水道水の分析例

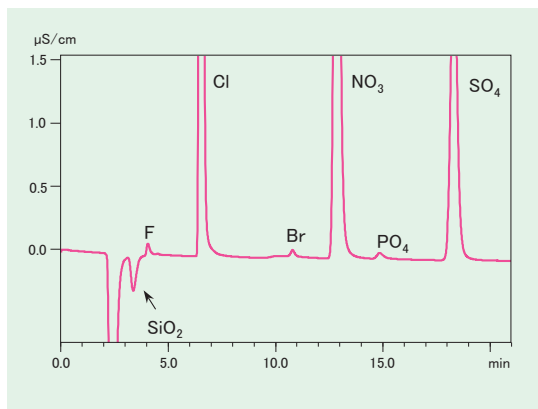


図4 市販ミネラルウォーターの分析例

■ 亜硝酸態窒素の定量

水質基準である亜硝酸態窒素 ($\text{NO}_2\text{-N}$) は、他の項目と比較して濃度が低く、直前に溶出する塩化物イオンの影響を受け易いため、吸光光度検出器 (210 nm) の併用が推奨されます。

図5に、陰イオン標準液を電気伝導度検出器と吸光光度検出器を併用して分析した例(クロマトグラムの一部)を示します。吸光光度検出器を用いることにより、微量の亜硝酸態窒素の検出が可能であることがわかります。

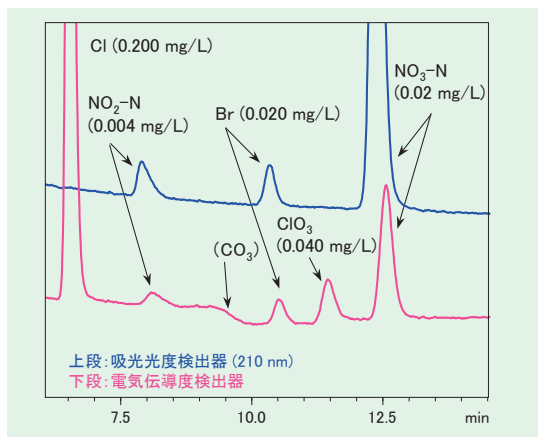


図5 電気伝導度検出器と吸光光度検出器の比較例

図6に、水道水にエチレンジアミンを添加し、さらに亜硝酸態窒素 0.004 mg/L を添加した時の電気伝導度検出器と吸光光度検出器による分析例と回収率を示します。吸光光度検出器により、塩化物イオンの影響を受けることなく亜硝酸態窒素をより正確に定量することができます。

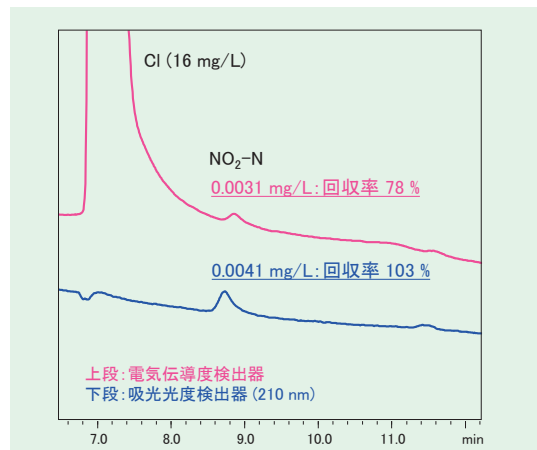


図6 亜硝酸態窒素 0.004 mg/L 添加水道水の分析例と回収率

図7に、上限濃度を基準値の 0.040 mg/L とした時の吸光光度検出器による検量線、表3には検量線より求めた各標準液濃度の誤差率を示します。(1e)

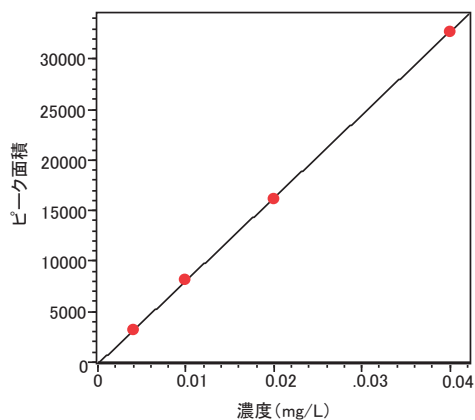


図7 亜硝酸態窒素 (0.004 ~ 0.040 mg/L) の検量線

表3 亜硝酸態窒素の定量誤差

調製濃度	定量値	誤差率 (%)
0.004 mg/L	4.07	1.75
0.010 mg/L	10.04	0.40
0.020 mg/L	19.82	-0.91
0.040 mg/L	40.08	0.20

第 285 回液体クロマトグラフィー研究懇談会 (2015 年 3 月, 東京)

LC-MS の保守・メンテナンス～そのポイントと留意点

八巻 聡

講演主題「HPLC 関連機器の保守・メンテナンス」において、LC-MS 各部の役割、構造から保守・メンテナンスの基本について述べ、さらに日常分析でよくあるトラブルとその対処方法について解説した。

第 286 回液体クロマトグラフィー研究懇談会 (2015 年 4 月, 東京)

HPLC 検出器の基礎と選択のポイント

三上博久

講演主題「HPLC, LC/MS の基礎」において、HPLC で用いられる主要 6 種類の検出器の特長、使用上の留意点について述べ、これら検出器の選択にあたってのポイントを解説した。

第 287 回液体クロマトグラフィー研究懇談会 (2015 年 5 月, 東京)

オンライン超臨界流体抽出による前処理から分析までの効率化

寺田英敏

講演主題「HPLC 分析における効率化 (自動化・時短化・節約化) あれこれ」において、超臨界流体抽出 (SFE) と超臨界流体クロマトグラフィー (SFC) をオンラインで組み合わせた "Nexera UC" システムの原理と応用例を紹介した。

第 22 回クロマトグラフィーシンポジウム (2015 年 5 月, 大阪)

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*, 中西豪, 山口忠行, 塚本多矩, 早川禎宏, 加峯茂行* (*: 株式会社島津ジーエルシー)

リン酸基含有化合物の多くは高極性化合物であり、逆相クロマトグラフィーで十分な保持を得るためには移動相にイオンペア試薬を添加する必要がある。ここでは、イオンペア対試薬なしでリン酸基含有化合物を保持できる新規カラム "Mastro SP" を用いて、糖リン酸やヌクレオチドなどの LC/MS/MS 分析を検討した結果を報告した。

新規包括的 2 次元 LC システムとその天然物中機能性成分解析への応用について

渡部悦幸, 飯田哲生, 早川禎宏, 増田潤一

包括的 2 次元 LC システム "Nexera-e" は、異なる選択性を示す 2 つの分離モードを組み合わせて試料成分の網羅的分析や解析を可能とするシステムであり、特に複雑なマトリックスを有する試料中成分の分析に有効である。ここでは、本システムを天然物試料中の機能性成分分析へ応用した結果について報告した。

オンライン超臨界流体抽出による残留農薬分析の効率化

寺田英敏, 内方崇人, 中山大介, 舟田康裕, 山口忠行

超臨界流体抽出/超臨界流体クロマトグラフシステム "Nexera UC" は、固体試料からの成分抽出 (SFE) と分析 (SFC) までを全自動で行うことができるシステムである。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 CO₂ 抽出から直接分析を行うため、確実な分析が可能である。ここでは、本システムを残留農薬分析に応用した結果について報告した。

塩基性化合物の吸着を抑えた新規低吸着バイアルの性能評価

中島みのり, 佐藤友紀*, 寺田英敏, 中山大介, 山口忠行 (*: 株式会社島津ジーエルシー)

医薬品の主成分には塩基性化合物が多く、HPLC 分析においてしばしばオートサンブラーのキャリアオーバーの原因となっている。近年、低キャリアオーバーのオートサンブラーが種々開発されるに至っているが、一方で試料バイアルにおける吸着が問題となっている。ここでは、ガラス加工方法を工夫した新開発の "LabTotal Vial" について、塩基性化合物を中心に性能評価を行った結果を報告した。

馬場 健史 先生

「超臨界流体抽出分離技術が拓く新しい分離分析の世界」
ばんば たけし=九州大学 生体防御医学研究所 教授

- ▶ 1994年3月 岡山大学農学部総合農業科学科卒業、1996年3月 岡山大学大学院農学研究科修士課程修了、同年4月 株式会社日本生物科学研究所 研究員、1997年5月 株式会社JBDL 主任研究員、2001年3月 大阪大学大学院工学研究科博士後期課程単位取得退学、同年4月 日立造船株式会社 主任研究員 (NEDO プロジェクト博士研究員)、同年11月 大阪大学大学院工学研究科 (工学博士) 取得、2006年4月 大阪大学大学院薬学研究科 助手 (2007年 同助教)、2008年4月 大阪大学大学院工学研究科 准教授、2015年3月 九州大学生体防御医学研究所 教授 (兼任: 大阪大学大学院工学研究科 特任教授、2015年4月より同招へい教授)

専門分野	メタボロミクス、超臨界流体工学
趣味	テニス、お酒
将来の夢	UC の世界普及



昨年秋に創刊30周年を迎えたLCtalk誌ですが、気が付けば、100号まであと5号となりました。一時期、発行ペースが低下し、継続が危ぶまれることもありましたが、皆様からのご声援に支えられ、ここまで続けることができました。今後とも、どうぞよろしく願い申し上げます。(MK)



読者のみなさまから・・・

●先輩に、「全く同じカラムを2本接続したら理論上、理論段数は2倍になるけど、分離度は2倍にならないよ・・・」と言われました。どう考えれば良いのでしょうか？

HPLC で用いられる二つの大切な基本式を思い出しましょう。

一つは、理論段相当高さ (H) を表す式 (1) です。

N は理論段数、L はカラム長さであり、式 (1) より式 (2) が得られます。

$$H = \frac{L}{N} \quad \dots (1)$$

$$N = \frac{L}{H} \quad \dots (2)$$

式 (2) から、理論段相当高さが同じであれば、理論段数がカラム長さに比例することが分かります。つまり、全く同じカラムを2本接続すると理論段数は2倍になります。

もう一つは、分離度 (R) を理論段数、分離係数 (α)、保持係数 (k) で表した式 (3) です。

$$R = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k}{1 + k} \right) \quad \dots (3)$$

全く同じカラムを2本接続して理論段数が2倍になっても、式 (3) から分離度は2の平方根である1.41倍にしかならないことが分かります。

[参考文献]

1) LCtalk, Special Issue IX, p.4 ~ 5, p.9 (2015)

●「dwell volume」とは何でしょうか？

「dwell volume」(ドウェルボリューム、デュエルボリューム) とは、HPLC 装置における複数の移動相の合流地点からカラム入口までの容量のことです。グラジエント溶離時には、このドウェルボリュームがグラジエント遅れの原因となります。

ドウェルボリュームは、高圧グラジエント方式においては図1に示すように、ミキサー以降の容量 (ミキサー容量、試料導入装置内の容量、その他の配管容量) ですが、低圧グラジエント方式においては電磁弁以降となり、ポンプの内容量も加わります。従って、ドウェルボリュームは、一般的に低圧方式の方が大きくなります。また、同じグラジエント方式でも機種間による差もあります。グラジエント溶離を用いた分析メソッドを移管する際には、ドウェルボリュームの違いが分離パターンに影響を与えることを念頭に置いてご注意ください。

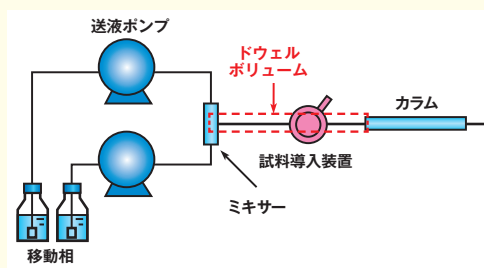


図1 高圧方式におけるドウェルボリューム

[参考文献]

- 1) 中村 洋監修、(公社)日本分析化学会編: LC/MS, LC/MS/MSの基礎と応用, p.90, オーム社 (2014)
- 2) LCtalk, Special Issue IX, p.17 (2015)



講習会のご案内(2015年11月~2016年3月)

● 各講習会の詳細およびお申し込み方法につきましては、以下のサイトでご確認ください。

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

		11月	12月	1月	2月	3月
HPLC入門講習会		11/12~13(東京) 11/19~20(京都)	12/17~18(東京) 12/17~18(京都)	1/14~15(京都) 1/28~29(東京)	2/25~26(京都)	3/17~18(京都)
HPLC スクール	コース I	11/24(東京)	12/4(大阪)			
	コース II			1/21(つくば)	2/8(東京)	
	コース III	11/6(大阪)		1/15(福岡) 1/22(つくば)	2/16(富山) 2/19(名古屋) 2/19(東京)	3/18(大阪)
LC-MSスクール			12/11(東京)			3/18(京都)
LC-MS/MS 操作講習会		11/19~20(秦野)	12/3~4(京都)		2/18~19(秦野)	3/10~11(京都)
LCMS-2020 操作講習会		11/5~6(京都)		1/21~22(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。
- ・ なお、Prominence および LC-2010 のメンテナンス講習会（無料）もございます。上記サイトをご覧ください。

島津製作所は、創業140周年を迎えました。

島津製作所は、1875年近代化へ進む日本の京都で創業し、2015年3月31日で140周年を迎えました。

島津製作所の歴史は、仏具職人の二男に生まれた初代島津源蔵が理化学器械を製造したことにはじまります。その後、初代源蔵の長男で、稀代の発明家と言われた二代島津源蔵により、島津製作所は大きく発展し、科学とともに歩み、技術の練磨を重ねてまいりました。

科学技術で社会に貢献するDNAを脈々と受け継ぎ、世界中に広がった島津グループは、これからも科学への思いを込め、「人と地球の健康」への願いの実現に向けて努めてまいります。



1895年頃の島津本店(京都木屋町二条)
… 現在、創業記念資料館として公開しております。

LC talk
Vol. 95

発行日：2015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