

# LC *talk*

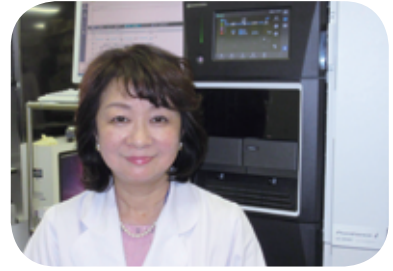
VOL. **96**



2016 *January*

## 『温度応答性クロマトグラフィー』 — Biomimetic な分離法をめざして—

慶應義塾大学  
薬学部  
教授 金澤 秀子



■「LCtalk」誌の読者は、何らかの形でLCと関わっていらっしゃる方だと思います。もし、その中で『温度応答性クロマトグラフィー』という言葉を知っている方が少しでもいらっしゃれば幸いです。

■私が『温度応答性クロマトグラフィー』という概念を提唱して20年になりました<sup>1-3)</sup>。一般にHPLCの専門家といえば、試料を見て、カラムと移動相の選択が瞬時に浮かぶような方というイメージですが、『温度応答性クロマトグラフィー』では、そのような知識を必要とせず、温度すなわちボタン一つで自由に保持時間をコントロールできるという全く新しい概念のクロマトグラフィーです。

■当時、共同研究者でもある東京女子医大の岡野光夫教授が、温度応答性培養皿を開発しており温度によって培養皿の表面の性質を変化させて、酵素を使わずに細胞をはがすことができるという研究をされておりました。その独創的な発想に惹かれて、クロマトグラフィーの充填剤にも応用しようというのが、この研究の始まりです。これまでのHPLCのように移動相の組成を変化させて分離選択性の制御を行う方法と異なり、温度応答性高分子を修飾した固定相表面の性質が温度によって変化することを利用して分離選択性の制御を行うというものです(図1)。したがって移動相は最も単純な純水を用いて医薬品の分離を行うことができました。

■私自身は、画期的な方法が発明できたと考えておりましたが、当初は専門家の方たちには、なかなか受け入れてもらうことができませんでした。実際、クロマトグラフィーの移動相に水のみを使うという発想も私どもが初めてであったと思います。現在で

は、水100%の移動相を使用可能なカラムはたくさん出ておりますが、水を使うところは同じですが、温度によって充填剤の表面の性質を変化させ自由に保持のコントロールが可能であるというところが、それらのカラムと『温度応答性クロマトグラフィー』との大きな違いです。

■その後、島津製作所のProminenceがPittconに出展される際に高性能のカラムオープンであるということで共同研究することになり、私どもの温度応答性カラムを用いて温度グラジエントを行いました。市販のカラムオープンを使用し、イソクラティックな条件(単一水移動相)で有機溶媒を用いた時と同様な効果が得られることを証明することができました(図2)。

■私がHPLCと出会ったのは、大学院生の時でした。当時は、HPLCといってもご存じない方も多く、HPLC(高速液体クロマトグラフィー)と必ず注釈をいれなくてはいけない時代でした。検出器もフォトダイオードアレイが出始めてきて、3次元のデータ処理のソフトなどを東大の研究者が開発している頃でした。今やHPLCは大学のどこの研究室にもあり、学生実習でも使用するような汎用機器になっています。私自身は、大学院の博士課程でポアサイズ50nmのガラスODS充填剤を使った「超高速HPLC」という研究を行っておりました。「超高速HPLC」という言葉は、今では普通に使っていますが、当時は現在のシステムとは少し異なりますが、耳新しい言葉でした。驚くべきことにHPLCの装置や充填剤が大きく進歩した現在でも当時の分離に追いついていない物質も実際にあります。

■逆相クロマトグラフィーは、医薬品について学ぶ薬学部において大変有用な分離システムです。私はよく学生に「逆相カラムは皆さんの身体に似ている」と例えています。一般に逆相カラムから早く溶出する薬物は、水溶性であり身体からも速やかに排泄されますが、カラムに長く保持されるような薬物は脂溶性が高く、排泄されずに身体にとどまるといふ具合です。つまりHPLCで分析することで、薬の体内での動きがある程度推測できるということになります。低学年で薬の性質を学ぶのに大変わかりやすいと思います。

■温度応答性クロマトグラフィーに使用している機能性高分子 Poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) は、下限臨界溶解温度 (lower critical solution temperature, LCST) を有し、LCST 以下ではポリマー鎖が伸展し水和構造をとりますが、LCST 以上ではポリマー鎖が収縮し脱水するというように温度によって親水性と疎水性が変化します。生体高分子と同様にコイル-グロビュール転移をします。このような性質をもった機能性高分子は、Biomimetic な材料として大変興味深い研究対象です。

■例えば我々の身体の薬物受容体における薬物の認識には、複数の分子間相互作用すなわち、ファーマコフォア pharmacophore (疎水性相互作用, 水素結合, 静電的相互作用,  $\pi - \pi$  相互作用など) が重要であると考えられています。新規医薬品をデザインする際

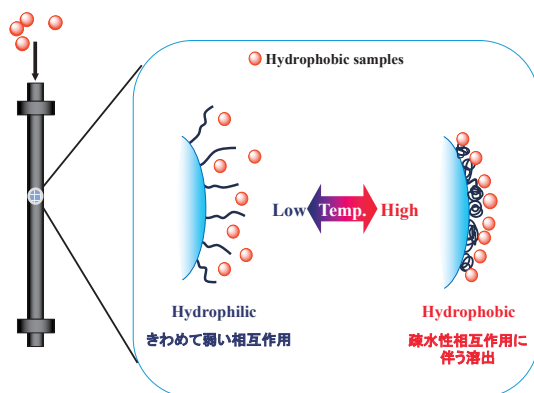


図1 温度応答性クロマトグラフィー概念図

にも用いられる概念です。クロマトグラフィー分離にもこの概念を取り入れたいと考え、複数の相互作用を高分子設計により構築し、それらを温度などの信号によって外部から制御できるようなカラムを作製しています。現在では、PNIPAAm にアミノ酸誘導体を共重合した高分子を用いて分子認識能を向上させた充填剤を開発し<sup>4)</sup>、究極的には生体が分子を見分けるように分子認識ができるクロマトグラフィーの構築を目指しています。

■PNIPAAm などの Biomimetic な刺激応答性高分子は、細胞との相互作用も大変興味深く、クロマトグラフィー以外の分野についても機能性高分子を用いた研究を進めています。例えば細胞内外の微小な物理化学的変化が追跡可能な生体可視化のための環境応答型機能性蛍光プローブを開発しています<sup>5)</sup>。また標的部位において物理化学的刺激に応答した薬物放出制御が可能となる温度応答性ナノキャリアによるドラッグデリバリーシステム (DDS) も構築しています<sup>6)</sup>。

参考文献

- 1) Kanazawa, H., *et al.*, *Anal.Chem.*, **68**, 100-105 (1996).
- 2) Kanazawa, H., *et al.*, *Anal.Chem.*, **69**, 823-830 (1997).
- 3) Kanazawa, H., *et al.*, *Anal.Chem.*, **72**, 5961-5966 (2000).
- 4) Hiruta, Y., *et al.*, *Analyst.*, in press. (2016).
- 5) Yamada, A., *et al.*, *Biomacromolecules*, **16**, 2356-2362 (2015).
- 6) Ayano, E., *et al.*, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **99**, 67-73 (2012).

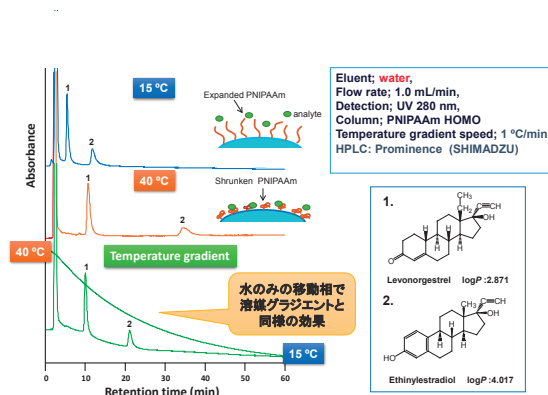
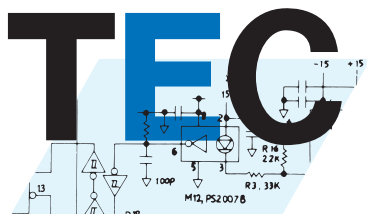


図2 温度グラジエントによる水移動相を用いたステロイド医薬品の分離



## 恐ろしい…試料の容器吸着（前編）

島津製作所 技術顧問 浅川直樹

●近年のLC/MSは、装置開発および分離技術の目覚ましい進歩と共に、生命現象の解明、病態の診断、医薬品開発、環境および食品関連などの分野で魅力ある分析手段として広範に用いられてきている。中でも、高選択性および高感度検出に威力を発揮することから、試料中の微量成分の定量法として不可欠な分析手段になってきている。

●反面、このLC/MSを微量成分の定量法に適用する際に、本質的な一つの課題が浮かび上がってくる。それは、LC/MSが高感度検出力を有するがために、試料は極めて低濃度となる。この低濃度試料であるがゆえに生じる試料の容器・器具への吸着は、定量結果の信頼性を損なう致命的な要因になり得ると言う点である。分析化学に携わる者の使命として、“信頼性の高い分析結果を、如何に簡便かつ迅速に確保するかを追究する”との立場であるならば、どれほどの分析者がこの容器への吸着に配慮しているかは極めて疑問である。

●今後、LC/MSが高感度定量法として重要な役割を果たすことは、誰もが容易に予想できる。そのためにはLC/MSによる高感度定量法の信頼性を高めることは極めて意義深い。本誌では、多くの分析者が見過ごし易い試料の容器への吸着に焦点を当て、これからのLC/MS分析の一助になれば幸いである。

●今回の寄稿にあたり、試料の容器への吸着で苦い経験を思い起こす。今から35年前に遡る。20残基程のペプチド製剤の分析をHPLCで行っていた時のことである。当時のHPLC装置は、現在のような自動化された高性能のHPLC装置とはほど遠く、マイクロシリンジ（内面はガラスの擦り状）で一定量の試料（数 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を採り、手動でインジェクターに注入していた。その際の分析結果は何度繰り返してもバラツキは大きく、結果を見るたびに愕然とした。試行錯誤での原因究明の中、マイクロシリンジを洗浄すればするほど、さらに採った試料を秒刻みで放置すればするほど検出されるピークは小さくなることに着目した。

●このバラツキの原因がマイクロシリンジへの吸着であることにやっと辿り着いた。たかがマイクロシリンジへの吸着でさえ、分析結果の信頼性に極めて大きな影響を及ぼすと言う“恐ろしさ”を実感し、試料調製からHPLC注入に至るプロセスの吸着対策の必要性を痛感した。昨今の自動化されたHPLC装置では、

吸着現象を見過ぎていたかも知れないことを憶えば、この苦い経験は、私の吸着に対する意識を高め、容器・器具への吸着対策の貴重な機会へと化した。これを機に容器や器具への吸着を意識するようになり、試料調製時の容器・器具への試料の吸着現象を、まず把握することを常としてきた。

●さらに、最近になってLC/MS分析者から“血漿試料溶液では目的成分ピークは検出されるが、標準試料溶液はピークが検出されない”とか、“調製した標準試料溶液を翌日に分析すると、ピークが検出されない”とか、何度か耳にすることがある。このような現象は、試料の安定性に基づく分解も考えられるが、大半は容器への吸着であると容易に推察できる。特に血漿試料溶液の場合、試料中の夾雑物が優先的に容器に吸着し、目的成分の吸着を抑制する役割をしているとの理解であり、BSA (bovine serum albumin) を吸着防止剤として用いるのと同じである。いずれにせよ、これからのLC/MSによる分析評価が重要な役割と大きな期待を担う以上、試料の容器への吸着現象を十分に把握し、信頼性の高い結果の獲得に向けて努力する必要がある。

●私は、この一連の経験から試料の吸着メカニズムをHPLCの分離メカニズムに置き換えて解釈してきた。すなわち、HPLCによる分離メカニズムは固定相への溶質の吸着強度を移動相で制御しているに他ならない。これを試料の容器への吸着現象に置き換えると、固定相を容器の材質に、移動相を試料調製溶液に、また保持挙動を吸着強度にそれぞれ対応すると考えた。

●一般に、試料調製に用いる容器は主に2種類ある。その容器の材質として一つはガラス容器、もう一つはポリ容器（PP：ポリプロピレン、PE：ポリエチレン）が相当する。ガラス容器の表面は、親水性の高いシラノール基と疎水性のシロキサン（シリカゲルを高温で溶融・成形する際のシラノール基の脱水）で覆われている。従って、ガラス容器ではシラノール基によるイオンの吸着（陽イオン交換モード）とシロキサンによる疎水的吸着（逆相モード）が同時に引き起こされる。このイオンの吸着現象は、塩基性化合物がHPLCカラムの残存シラノールによりピークのテーリングや保持の増大を引き起こす現象と同じ解釈である。一方、ポリ容器では高分子ポリマーに基づく疎水的吸着のみが生じる。すなわち、容器への吸着メカニズムは容器

の材質によりそれぞれ異なる(図1)。このことから、 $pK_a$ (酸解離定数)の高い塩基性化合物などはガラス(シラノール基)に吸着し易く、 $\log P$ (オクタノール/水分係数)の大きい化合物はガラスにもポリ容器にも吸着し易いことになる。試料調製の際には、試料の物性情報(化合物の $pK_a$ と $\log P$ )に基づいて容器を選択することは吸着対策の一つになる。

● 以上のように、かつての苦い経験を振り返れば、容器への吸着現象は低濃度試料において顕著に現れるため、この際の容器・器具への吸着を抑制する試料調製条件を見いだすことは分析法の信頼性を確保する上で極めて重要となる。

● そこで、私の容器への吸着を抑制する試料調製法を以下に紹介する。まず、目的成分が塩基性化合物、酸性あるいは中性化合物に該当するかを確認する。次に、用いる試料調製容器はガラス容器あるいはPP容器なのかにより、それぞれ異なった試料調製を行う。

### 1) 酸性化合物および中性化合物

酸性化合物および中性化合物のガラスおよびPP容器への吸着は、疎水的吸着が主となる。従って、これら吸着の抑制には、試料調製液に有機溶媒(メタノール、アセトニトリルなど)あるいは非イオン性界面活性剤を添加する。目的成分の $\log P$ によるが、有機溶媒の場合の添加量は、一般的に10~50%、界面活性剤の場合では、0.1%程度の添加が効果的な吸着抑制の試料調製となる。

### 2) 塩基性化合物

塩基性化合物はガラス容器およびPP容器により、それぞれ吸着メカニズムが異なるため、試料調製容器の材質の選択には留意する必要がある。例として、塩基性化合物の吸着抑制法の概要を図2に示す。

#### a) ガラス容器

ガラス容器では、イオンの吸着および疎水的吸着が同時に生じるため、それぞれの吸着メカニズム

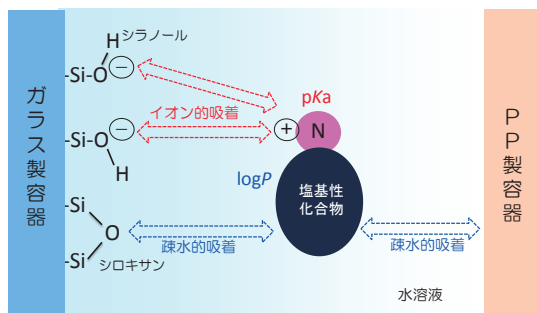


図1 塩基性化合物の容器への吸着メカニズム

に対応した試料調製が必要となる。イオンの吸着の抑制には、シラノールとの相互作用を抑制するために、塩(NaClなど)を添加し、塩の陽イオン( $Na^+$ など)でシラノールをブロックする。あるいはシラノールの解離を抑制するために、試料調製液を酸性条件(りん酸および酢酸などの添加)にする。一方、疎水的吸着の抑制には、酸性・中性化合物と同様に、試料調製液に有機溶媒や非イオン性界面活性剤を添加する。

#### b) PP容器

PP容器では疎水的吸着が生じるため、この疎水性吸着を抑制するために、試料調製液に有機溶媒や非イオン性界面活性剤を添加する。

従って、試料調製液中に塩と有機溶媒あるいは非イオン性界面活性剤を共存させることは、ガラスおよびPP容器双方の吸着抑制法として効果的である。

● とは言え、HPLCおよびLC/MSによる高感度定量には、吸着抑制した試料調製液に由来する分離への影響やMSでのイオンサプレッションに対する影響を考慮する必要がある。また、最近ではHPLCおよびLC/MSのパフォーマンスの向上を図るために、充填剤の粒径と内径を小さくした分析カラムが汎用されてきているため、試料溶液(注入溶液)の有機溶媒量が分離に及ぼす影響についての配慮も併せて求められる。このように高感度定量における容器への吸着を抑制する試料調製液の最適化条件の設定には、多くの検討を要するのが実態である。

● そこで、容器表面で生じる試料のイオンの吸着と疎水的吸着を抑制する容器表面の処理条件の最適化に向け、汎用性に優れたHPLCオートサンプラーに適用可能な低吸着バイアルの開発に注力してきた。後編では、開発したバイアルの吸着抑制効果の具体例として、ペプチドおよび塩基性化合物などを取り上げて紹介する。

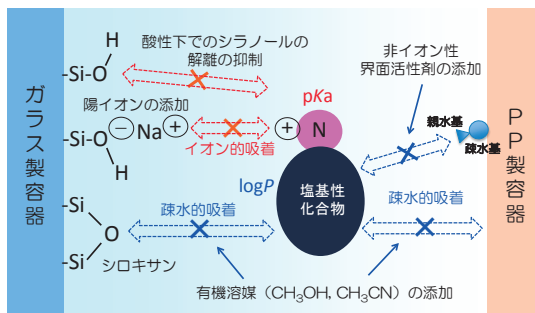


図2 塩基性化合物の容器への吸着抑制法

## 超臨界流体抽出前処理システム Nexera UC SFE前処理システム



超臨界流体二酸化炭素を抽出溶媒として使用する超臨界流体抽出 (Supercritical Fluid Extraction: SFE) は、気体並みの低粘性と高拡散性、液体並みの高溶解性で抽出効率が良いため、短時間での抽出が可能です。また、従来の有機溶媒による抽出に比べ、使用する有機溶媒量が少なく、環境に優しい抽出法です。“Nexera UC SFE 前処理システム”では、専用ラックチェンジャーを使用することにより、最大 48 検体の連続自動抽出が可能です。回収した試料は LC-MS や GC-MS, SFC-MS, NMR など分析することができます。

### ■ オフライン SFE 抽出の流れ

Nexera UC SFE 前処理システムによる抽出の流れは、次の通りです (右図)。(A) 試料を充填した抽出容器を SFE ユニットにセットし、容器が 40℃に達するまで温調します。(B) 抽出容器内を超臨界流体二酸化炭素で満たした後、通液を行わず、静的に目的成分を抽出します。(C) 静的抽出後、抽出容器内を超臨界流体二酸化炭素で通液しながら動的に抽出します。(D) 抽出物をトラップカラムによってトラップした後、目的成分を含む溶出液をフラクションコレクターにて回収します。

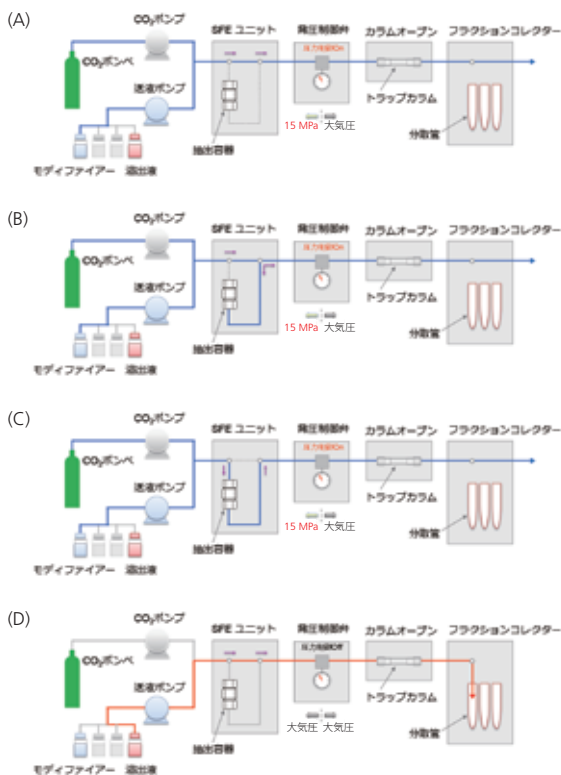
本システムでは、試料を抽出容器に詰める工程のみとなります。そのため、分析における生産性が向上し、環境負荷を低減するだけでなく、前処理工程における人為的ミスの回避にもつながります。



抽出容器



専用ラックチェンジャー  
(最大 48 検体, オプション)



## ■ 農産物からの残留農薬の抽出

農産物中の残留農薬分析のための前処理では、簡便さと迅速性を優先させた QuEChERS 法が広く知られています。QuEChERS 法では、専用のキットが用意されていますが、試薬添加や溶媒抽出、分散型固相抽出による精製、遠心分離など数多くの工程が必要となります。一方で、Nexera UC SFE 前処理システムでは、ミキサーで粉砕した農産物 1 g と脱水剤\* 1 g を混ぜ合わせ、抽出容器に詰める工程のみとなります。そのため、分析における生産性が向上し、環境負荷を低減するだけでなく、前処理工程における人為的ミスの回避にもつながります。

以下に、粉砕した玄米に GC/MS 対象農薬の混合標準溶液を添加し、SFE を実施した例を示します。得られた抽出液は、GC-MS/MS により分析しました。その結果、301 成分において、良好な再現性（定量値の相対標準偏差 %RSD (n=6) が 10 % 未満）と、良好な回収率（70 ~ 120 %）が得られました。本システムは、1 試料あたり約 30 分で抽出可能であり、前処理の簡便性において優れています。

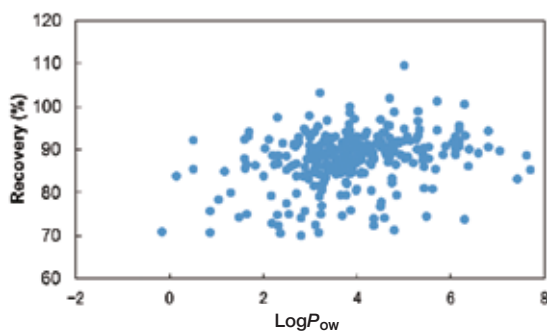
### 従来法 (QuEChERS 法)



### Nexera UC の前処理



農産物と脱水剤の混合

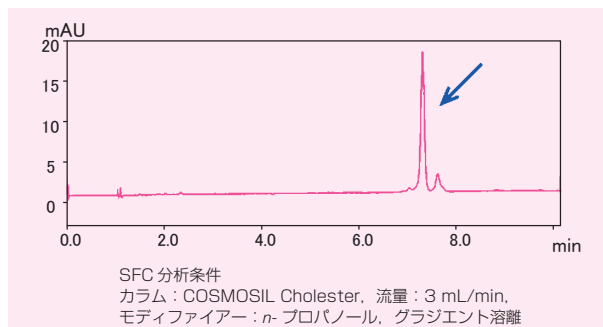


玄米における農薬の疎水性 (LogPow) と回収率

## ■ 市販サプリメントからの脂溶性ビタミンの抽出

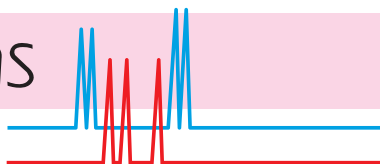
ビタミン E は、脂溶性ビタミンの一つで、トコフェロールとも呼ばれ、特にヒトの体内で抗酸化作用を発現する重要な化学物質です。トコフェロールには、メチル基の数と位置によって  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$  の 4 種があります。抗酸化作用の活性は、 $\alpha$ -トコフェロールが最も強く、市販のビタミン剤などの多くのサプリメントにはビタミン E として  $\alpha$ -トコフェロールが配合されています。脂溶性の高い成分であることから、超臨界流体二酸化炭素を用いた迅速、簡便な抽出法の適用が期待されます。

以下に、市販のサプリメントからの  $\alpha$ -トコフェロールの SFE 抽出例をご紹介します。市販サプリメントはカプセルの中身がペースト状であり、吸湿している可能性もあるため、ペースト状サプリメント 275 mg と脱水剤\* 1 g を混和し、抽出容器に詰め、SFE により抽出しました。抽出液は、Nexera UC PDA システムを用いて分析しました。その結果、定量値の %RSD (n=6) は 1.5 %、理論値に対する回収率 100 % となり、オフライン SFE がビタミン E 類の抽出に有効であることが確認できました。



オフライン SFE 抽出物の SFC 分析結果

\* 脱水剤: "Miyazaki Hydro-Protect"



## 生薬中アフラトキシンの分析

カビ毒の一種であるアフラトキシンは、強い急性毒性や発がん性を有しており、食品中のアフラトキシンは食品衛生法に基づき厳しく規制されています。このような中、天然の植物から生産される生薬や生薬を原料とする製剤においても、アフラトキシンの試験検査を実施することが求められており、第十七改正日本薬局方改正案として「生薬および生薬製剤のアフラトキシン試験法」がJPフォーラムに掲載されました(2015年7月現在)。基準値に関しては、食品衛生法における総アフラトキシン(アフラトキシンB<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>及びG<sub>2</sub>の総和)規制値10 µg/kg以下が参考情報として記載されています。ここでは、この情報に基づき、生薬中アフラトキシンの感度確認を行った結果をご紹介します。

極性溶媒中のアフラトキシンB<sub>1</sub>およびG<sub>1</sub>は、B<sub>2</sub>およびG<sub>2</sub>と比べて蛍光強度が減少することが知られています。そのため、蛍光強度を増加させる方法として、TFA(トリフルオロ酢酸)によるプレカラム誘導体化法、フォトケミカルリアクターを用いるポストカラム誘導体化法、電気化学的ポストカラム誘導体化法などがあります。今回は、TFA誘導体化法により検討しました。さらに、高感度蛍光検出器を用いた直接蛍光検出法の比較も試みました。

### ■ TFAによるプレカラム誘導体化法

本法では、分析試料をHPLCに供する前にTFAで処理してアフラトキシンB<sub>1</sub>およびG<sub>1</sub>を誘導体化します。図1に、第十七改正日本薬局方改正案を参考にした試料前処理手順を示します。試料には複合生薬である葛根湯を用いました。試料にアフラトキシン標準液を各々0.25 µg/kg(総量1 µg/kg)となるように添加後、前処理を行いました。この濃度は、上記食品衛生法で定められている基準値の1/10濃度に相当します。なお、夾雑成分の除去には、イムノアフィニティカラム“AFLAKING”(堀場製作所製)を用いました。表1に、HPLC分析条件を示します。図2には、葛根湯のクロマトグラムを示します。図中下段は、アフラトキシン標準液未添加試料のクロマトグラムです。なお、アフラトキシンB<sub>2</sub>溶出後も夾雑成分のピークが確認されたため、カラム洗浄工程を追加しています。

表1 HPLC分析条件

装置	: Nexera-i
カラム	: Shim-pack FC-ODS (内径 4.6 mm x 長さ 150 mm, 粒子径 3 µm)
移動相	: A: 水 / メタノール / アセトニトリル (6 / 3 / 1, v/v/v) B: アセトニトリル A/B = 100/0(0.00-15.00 min) → 10/90(16.00-23.0 min) → 100/0(24.00-34.00 min)
流量	: 0.80 mL/min
温度	: 40 °C
注入量	: 20 µL
検出	: RF-20Axs, 励起波長 365 nm, 蛍光波長 450 nm
セル温度	: 25 °C

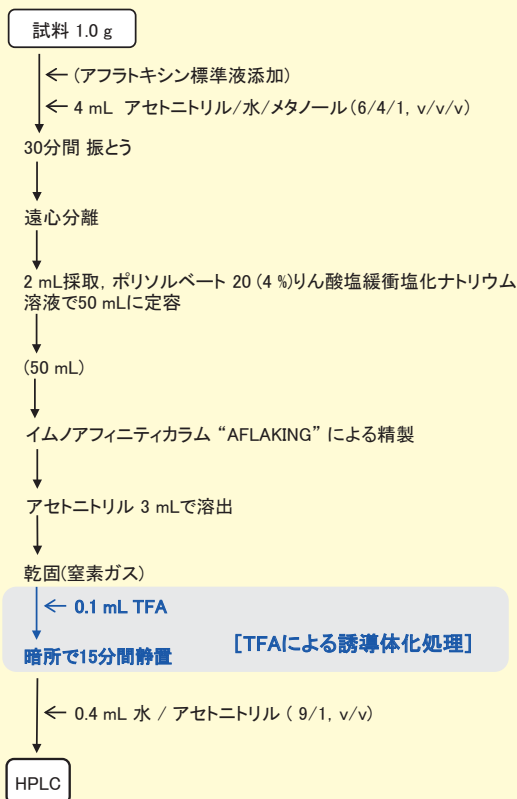


図1 試料前処理手順 (TFA誘導体化法)

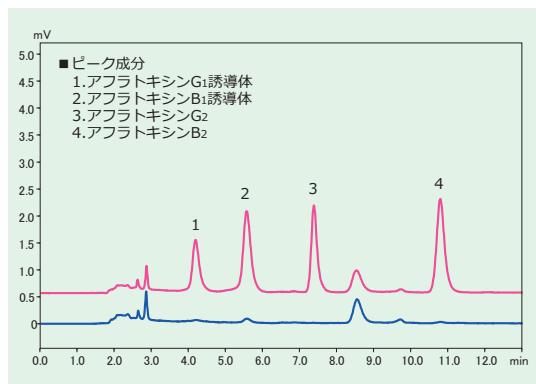


図2 TFA誘導体化法による葛根湯のクロマトグラム  
(上段: 標準液添加あり, 下段: 添加なし)



## ■ 直接蛍光検出法

TFAによるプレカラム誘導体化法は、手作業により揮発性の強酸であるTFAを取り扱わねばならない煩雑さや反応の待ち時間が必要などの難点があります。そこで、高感度蛍光検出器“RF-20Axs”を用いて直接検出するとともに、超高速液体クロマトグラフィー（UHPLC）により分析時間の短縮を検討しました。

表2に、UHPLC分析条件を示します。UHPLCカラムには、“Shim-pack XR-ODS II”を用いました。図3に、アフラトキシン標準液（各アフラトキシン濃度：0.1 µg/L）を10 µL注入したクロマトグラムを示します。この時、アフラトキシンB<sub>1</sub>のピーク面積の相対標準偏差（n=6）は、2.6%でした。また、各アフラトキシン濃度が0.1～20 µg/Lの範囲で、各成分ともR<sup>2</sup>=0.9999以上の良好な直線性が得られました。これらの結果から、RF-20Axsを用いることにより、TFAによる誘導体化を行わなくても十分な感度が得られることがわかりました。また、表2のUHPLC分析条件では、洗浄工程を含めた分析時間が、TFA誘導体化法による表1のHPLC条件に比べて約1/3に短縮できました。

表2 UHPLC分析条件

装置	Nexera-i
カラム	Shim-pack XR-ODS II (内径 3.0 mm x 長さ 100 mm, 粒子径 2.2 µm)
移動相	A: 水, B: メタノール, C: アセトニトリル A/B/C = 65/30/5 (0.00-5.50 min) → 15/5/80 (5.51-7.0 min) → 20/80/0 (7.01-9.00 min) → 65/30/5 (9.01-12.00 min)
流量	1.00 mL/min
温度	50 °C
注入量	10 µL
検出	RF-20Axs, 励起波長 365 nm, 蛍光波長 450 nm
セル温度	25°C

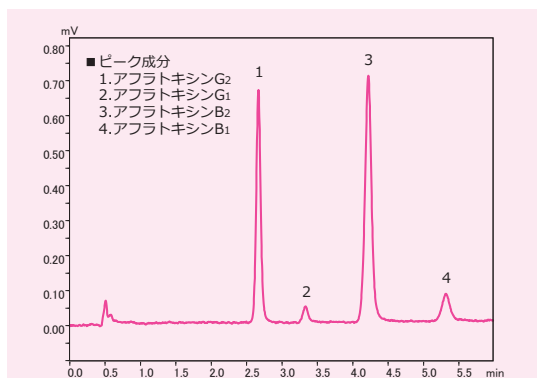


図3 直接蛍光検出法によるアフラトキシン標準液のクロマトグラム（各 0.1 µg/L）

次に、本UHPLC分析条件により葛根湯の分析を行いました。図4に、前処理手順を示します。図1の手順と同様、試料にアフラトキシン標準液を各々0.25 µg/kg（総量 1 µg/kg）となるように添加しました。本手順では、図1で青く囲ったTFAによる誘導体化処理を行っていません。図5に、葛根湯のクロマトグラムを示します。本法により、アフラトキシン分析が迅速に行えることがわかりました。（Nm）

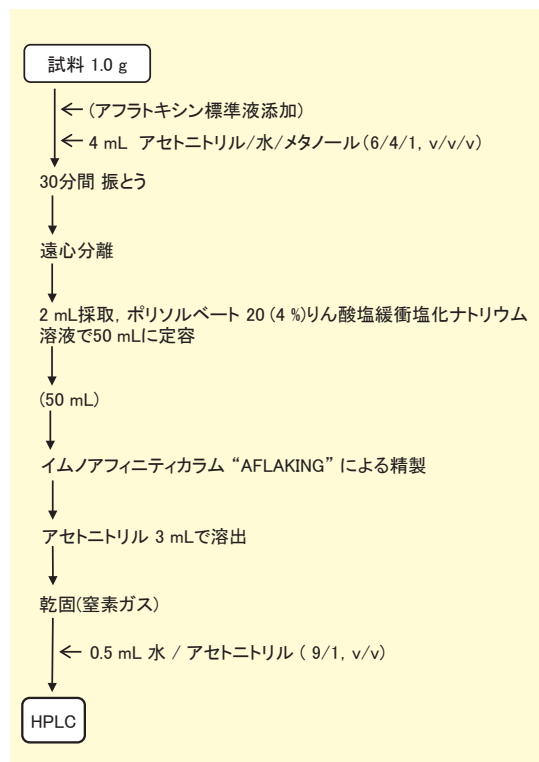


図4 試料前処理手順（直接蛍光検出法）

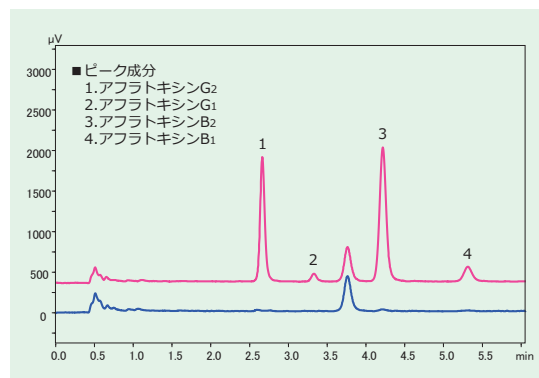


図5 直接蛍光検出法による葛根湯のクロマトグラム（上段：標準液添加あり、下段：添加なし）

(今号は、LC/MS のタイトルのみのご紹介です。)

LCMS No.C95

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いたハロ酢酸類の分析

LCMS No.C96

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いたフェノール類の分析

LCMS No.C97

トラップフリー 2次元 HPLC と LC/MS/MS を用いた薬剤中不純物の分析

LCMS No.C98

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いたステロイド類および非ステロイド性抗炎症薬の同定および定量分析

LCMS No.C99

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた動物用医薬品のスクリーニング分析

LCMS No.C100

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた土壌および底質中のピレスロイド系農薬の定量

LCMS No.C101

血漿中薬剤のトリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた高速高感度分析

LCMS No.C102

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた脂質メディエーター 158 成分の一斉分析法

LCMS No.C103

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた小麦中のデオキシニバレノール関連物質 4 成分の一斉分析

LCMS No.C104

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた下痢性貝毒の分析

LCMS No.C105

LC/MS を用いた肥料中スルファミン酸の分析

LCMS No.C106

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた哺乳動物細胞の培養上清一斉分析

LCMS No.C107

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いたビタミン D 代謝物の定量分析

LCMS No.C108

直接イオン化法 DART の応用 (その 1) LCMS-2020 を用いた食品中の脂肪酸・アミノ酸の迅速分析

LCMS No.C109

直接イオン化法 DART の応用 (その 2) LCMS-2020 を用いた食品中の脂質類の迅速分析

LCMS No.C110

直接イオン化法 DART の応用 (その 3) LCMS-2020 を用いた米ぬか中の脂質類の迅速分析

LCMS No.C111

DART を用いた揮発性成分リアルタイム分析(その 1)

LCMS No.C112

DART を用いた揮発性成分リアルタイム分析(その 2)

LCMS No.C113

トリプル四重極型 LC/MS/MS によるヒト血清の脂質メディエータープロファイリング

LCMS No.C114

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた血漿中カテコールアミンの定量分析

LCMS No.C115

LC/MS と多価イオン解析ソフトウェアを用いた合成ペプチドの分子量確認

LCMS No.C116

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いたステロイドホルモンの定量分析

LCMS No.C119

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた水道水中のカルタップ・ピラクロニル・フェリムゾンの分析

LCMS No.C120

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた水道水中のグルホシネート・グリホサート・AMPA の分析

## talk 執筆者

### 金澤 秀子 先生

「『温度応答性クロマトグラフィー』-Biomimeticな分離法をめざして-」  
かなざわ ひでこ=慶應義塾大学 薬学部 教授

- ▶ 共立薬科大学大学院博士後期課程修了(薬学博士), 日本電信電話公社 研究員, 東京大学生産技術研究所 研究員, 共立薬科大学 講師, 助教授, 教授を経て2008年より現職。2001年 日本分析化学会関東支部新世紀賞「温度応答性クロマトグラフィーの開発」, 2008年 クロマトグラフィー科学学会賞「機能性高分子を用いた温度制御型新規分離システムの開発」。2011年・2012年(社) 日本分析化学会副会長, 2014・2015年 クロマトグラフィー科学会副会長, 2015・2016年(公社) 日本分析化学会「分析化学」編集委員長, 2015・2016年 ライフサポート学会副会長, 2016年 クロマトグラフィー科学会会長, 2016年(公社) 日本分析化学会関東支部長。

専門分野	物理薬剤学, 分析化学
将来の夢	海外で締め切りに追われることの無い, ゆったりとした生活
趣味	模索中



本年もどうぞよろしくお願ひ申し上げます。  
前号の「入門:送液ポンプのはなし」の反響が大きく驚きました。2頁での解説のご希望も多く、今号に間に合いませんでした。次号, 気合を入れて掲載しますので, ご容赦ください。(MK)



## 読者のみなさまから・・・

### ●理論段相当高さは「H」で表されますが,時々「h」という記号を見かけます。「H」との違いは何なのでしょう?

理論段相当高さ「H」(height equivalent to a theoretical plate)は,「カラム効率を理論段一段に相当する長さで表すもの」<sup>1)</sup>と定義されています。この理論段相当高さは,理論段数(N),カラム長さ(L)を用いて,式(1)で表されます。

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

日常,カラム性能を比較する時には,理論段数を用いることが多いですが,カラム長さが2倍になれば理論段数も理論上2倍になります。従って,カラム長さに関わらずカラム効率を比較しようとする,理論段数よりも理論段相当高さの方が適しているということになります。

一方,換算理論段相当高さ「h」(reduced height equivalent to a theoretical plate)は,「理論段相当高さを,充填剤の平均粒子径の値で除したもの」<sup>1)</sup>であり,式(2)で与えられます。

$$h = \frac{H}{d_p} \quad \dots (2)$$

換算理論段相当高さは,充填剤粒子径が異なるカラムの効率を比較する際に用いられます。

[引用文献]

1) JIS K0214:2013 分析化学用語(クロマトグラフィー部門)

### ●現在, HPLC ワークステーションのソフトウェアとして「LabSolutions」を使っています。このソフトウェアの便利な使い方やコツなどを知りたいのですが・・・。

以下の弊社 Web ページに,いくつかの例が掲載されています。ぜひご覧ください。

<http://www.an.shimadzu.co.jp/hplc/support/faq/faq8.htm>  
(または,「島津,ソフトウェア活用術 Q&A」で検索してください。)

### ●単位の表記で,「ms」と「m s」をはっきり区別するように先輩から言われました。違いがよくわからないのですが・・・。

先輩の方のおっしゃる通り,国際単位系(SI)において,これは確かに大きな違いです。ポイントは,「m」と「s」の間の空白(スペース)の有無です。

・「ms」は,「ミリ秒」を表します。「m(ミリ)」は,20個あるSI接頭語のひとつで,「10<sup>-3</sup>」を表します。接頭語を用いる時には,単位記号との間に空白を挿入せず,単位記号の直前に置くと定められています。

・「m s」は,「メートル秒」を表します。この場合の「m」は,SI基本単位の一つである「メートル」です。単位記号の積は,空白または中点で表すことになっており,「m」と「s」の間の空白により「メートル」と「秒」の「積」であることがわかります。空白の代わりに中点を用いて,「m・s」と表すこともできます。

[参考文献]

1) LCtalk, Special Issue IX, p.6 (2015)



## 講習会のご案内(2016年4月~2016年9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>

		4月	5月	6月	7月	8月	9月
HPLC入門講習会			5/12~13(京都) 5/26~27(東京)	6/9~10(京都)	7/7~8(京都) 7/7~8(東京)	8/4~5(京都)	9/8~9(京都) 9/15~16(東京)
HPLC基礎講座			5/11(東京)				
HPLC スクール	コースⅠ	4/12(東京)	5/25(富山) 5/27(福岡)	6/17(大阪)	7/13(札幌) 7/15(仙台)	8/2(つくば) 8/26(名古屋)	
	コースⅡ			6/6(東京)	7/14(札幌) 7/22(福岡) 7/29(大阪)		9/14(富山)
	コースⅢ				7/15(札幌)		9/2(東京)
LC-MSスクール				6/24(東京)		8/26(京都)	
LC-MS/MS 操作講習会			5/19~20(秦野)	6/16~17(京都)			9/8~9/9(京都) 9/29~30(秦野)
LCMS-2020 操作講習会			5/26~27(京都)		7/21~22(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。

・各講習会の申し込みは、2月1日(月)よりの開始となります。

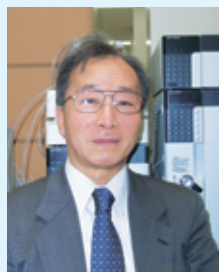
・なお、Prominence および LC-2010 のメンテナンス講習会(無料)もごさいます。上記サイトをご覧ください。

## 「HPLC基礎講座」(5月11日, 東京)のご案内

● 「HPLC基礎講座」は、講師として東京理科大学名誉教授 中村洋先生をお招きし、HPLC分析をはじめのにあたっての知っておくべき基礎知識をじっくり習得していただくための講習会(座学)です。

● 本講習会の内容は、以下の通りです。

- ・テーマ① 高速液体クロマトグラフィー概論  
…東京理科大学 名誉教授 中村洋 先生
- ・テーマ② HPLC分析の準備をしよう …弊社技術員
- ・テーマ③ HPLC分析をはじめよう …弊社技術員



中村先生ご紹介

1968年東京大学薬学部卒業  
1986年東京大学薬学部助教授  
1994年東京理科大学薬学部教授  
2015年6月より現職  
(公社)日本分析化学会会長(2009~2012年度)、液体クロマトグラフィー研究懇談会委員長、「液クロ虎の巻」シリーズ、「ちょっと詳しい液クロのコツ」シリーズなど多数の書籍を監修

**LC talk**  
Vol. 96

発行日：2016年1月20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](mailto:analytic@group.shimadzu.co.jp)