

LC *talk*

VOL. **98**



2016 October

酵素活性を LC で分析

ハウス食品グループ本社株式会社
中央研究所
神山 和夫



■私とLCの出会い、入社後すぐに分析部門に配属され、食品中の有機成分を分析したときでした。大学では無機分析化学を学びましたが、クロマトグラフに触るのは初めてで、複数の成分をLCカラムで分離できることに大変感動しました。当時は、LC-10ADシリーズを用いて、アミノ酸をポストカラム蛍光誘導体化検出法で分析しました。分離カラムの後の配管に、誘導体化試薬であるo-フタルアルデヒドをペリスタポンプで送液すると、移動相側の圧力に負けて液漏れさせてしまうことが度々ありました。LCの初心者の方にとっては手ごわいシステムでしたが、LCの原理や装置を理解する上でとても良い教材でもありました。同時期には、GCやGC/MSを用いた分析法を習得するため、GC-17AシリーズやQP-5000シリーズを愛用していました。私の会社人生は、島津製作所の分析機器で始まったと言えます。

■食品会社は、新製品の企画に始まり、研究所での製品開発、工場での生産、消費者の反響、というサイクルを回しています。それぞれの場面で分析技術は活用されています。私は、十数年来、有機化合物の分析法開発や、その分析法を利用して製品開発の理論的裏付けをとる研究に携わってきました。分析法の開発には、いわゆる“お申し出品の分析”も含まれます。2000年頃から、食品会社が販売した製品に対して、消費者から異物、風味、外観についてのご指摘が全国的に増えました。消費者が食品に対する感度は年々高まっていると感じています。

■話はそれますが、食事のメニューとしての「カレー」は国民食とも言えます。インド式カレーは、香辛料を用いた煮込み料理です。これに対して、日本式カレーは、香辛料の他に、トマトやタマネギなどの野菜、肉やチーズで幾つもの風味を重ね合わせています。特に、油で焙煎した小麦粉によって“とろみ”すなわち粘度を付けることが特徴です。これは小麦粉の澱粉が糊化することによります。具体的には、小麦粉中の澱粉を加水加熱することで澱粉粒から溶出したアミロースが、ソースの粘度を発現します。弊社は日本式カレーを濃縮した固形ルウを製造販売しています。家庭などで、具材を炒め、加水し、固形ルウを加えて更に加熱することで、カレーソース（調理品）が出来上がります。

■稀な例ですが、カレーソースの様な液状澱粉食品の粘度は、澱粉分子を消化する酵素であるアミラーゼが意図せずに混入して作用すると、急速に低下します（図1）。10 mU/mLのアミラーゼ活性とは、例えば、唾液が付着したスプーンで鍋のカレーソースを攪拌したとき、鍋中の活性に相当します。実際、弊社には、「カレーソースの粘度が低い」とのお申し出が寄せられます。粘度が低い原因には、澱粉の糊化不足、又は糊化した澱粉の分解が想定されます。私は、後者を特定するために、カレーソース中のアミラーゼを分析してみようと思い立ちました。今回開発したカレーソースに混入したアミラーゼの活性の分析法を以下に記します。

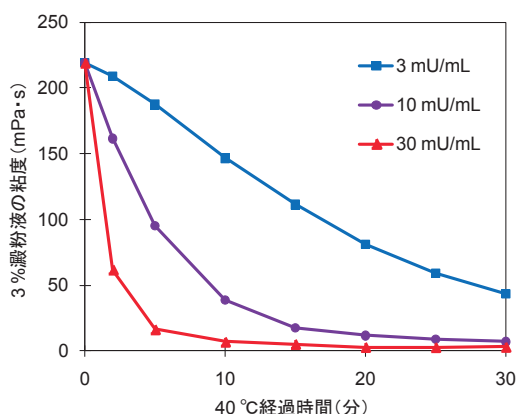


図1 アミラーゼ添加による3% 澱粉液の粘度低下

■既存のアミラーゼ活性の分析法には、血清や尿を対象とした対外診断用医薬品のキットが多種あります。これらの既存法は、オリゴ糖に発色基を修飾した基質に1 U/mL 以上のアミラーゼを作用させ、遊離した発色成分を分光光度計で測定します。一方、混入を想定したカレーソース中のアミラーゼ活性は10～100 mU/mL もの低量であるため、高感度化を要しました。さらに、粘度を発現させた可溶性の澱粉類は、発色基質に比べて高濃度に共存するため、アミラーゼと発色基質の反応を阻害することが分かり、既存法では太刀打ちできませんでした。

■開発した分析法の概要は、澱粉モデル食品の粘度低下を起こす100 mU/ml 以下の α -アミラーゼ活性を定量するものです¹⁾。試料中の α -アミラーゼと蛍光基質を反応させ、基質反応生成物を検出します。食品試料中に存在する (i) 蛍光基質反応を阻害する可溶性の澱粉や澱粉分解物をゲルろ過クロマトグラフィー及び陰イオン交換クロマトグラフィーで、(ii) LC 検出を阻害する疎水性の夾雑成分を逆相クロマトグラフィーで、精製除去しました。

■実験では、モデル食品として食塩含有3% 澱粉液又はカレーソースに、入手しやすい枯草菌由来 α -アミラーゼを3～100mU/mL となる様に添加し、40℃で30分間処理後、粘度が低下した懸濁液を試料としました。

(i) プレ精製として、試料をゲルろ過カラム (G-25, 3.5 mL) で脱塩後、陰イオン交換樹カラム (DEAE, 1.5 mL) で澱粉類を溶出除去後に α -アミラーゼを溶出しました。この分画に、蛍光基質であるDQ スターチを反応させ、BODIPY 基の配糖体である発色物を得ました。

(ii) ポスト精製として、アセトニトリルを加えて反応を停止後、逆相カラム (C18, 100 mg) で精製し、逆相LCで分離、蛍光検出器で測定しました (図2)。2段階の逆相クロマトグラフィーにより、カレーソースに由来する色素を分離除去することができました。

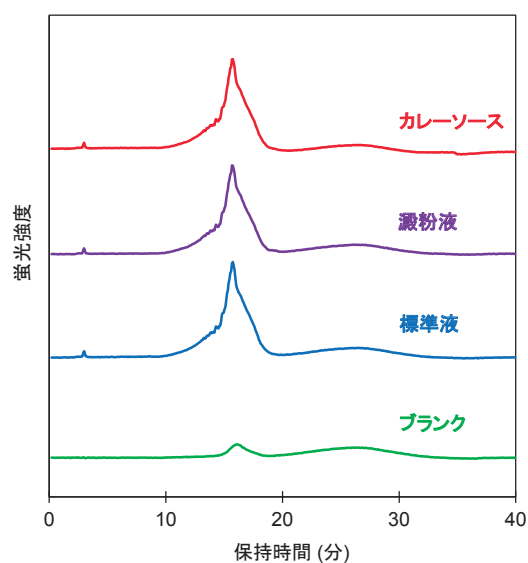


図2 新分析法のLC クロマトグラム

■図3は、3 %澱粉液中の α -アミラーゼを従来法、プレ精製の無い新分析法、新分析法で分析した場合の α -アミラーゼの相対活性です。従来法では1～100 mU/mLの活性を検出できなかったのに対し、新分析法では粘度低下を起こす最小量の α -アミラーゼ活性を定量することができました。カレーソースでも同様の結果でした。

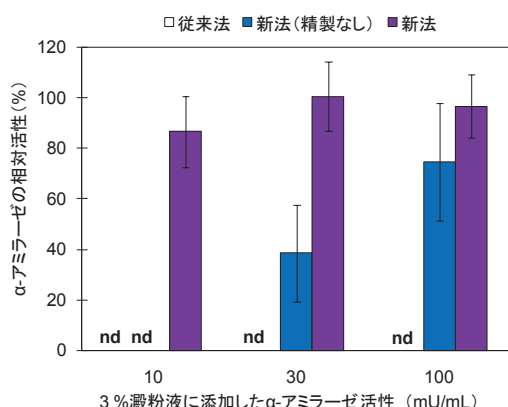


図3 新分析法による α -アミラーゼの相対活性

■お客様から「カレーのとろみがない」とのお申出を頂いた場合は、回収品を顕微鏡で観察し、澱粉粒が消失しているときには、アミラーゼが作用したと推測できます。今回の分析法では、一歩進んで、アミラーゼの活性が残存していたことを数字で示せることができました。カレーソースに混入する可能性のあるアミラーゼの起源は？というと、調理時において、風味付けに加える蜂蜜や味見のときに食器を介して混入した唾液などがあると推測しています。

■カレーソースの調理時を想定して、高温時でのアミラーゼの作用の程度を調べました。ヒト唾液 α -アミラーゼを60～80℃のカレーソースに添加した場合、80℃ではほぼ作用せず、70℃では

作用、60℃では作用後も残存しました²⁾。一方、蜂蜜の場合、粘性液から分離精製されたアミラーゼは80℃以上で失活と言われていますが³⁾、粘性液である蜂蜜のままでカレーソースに大匙1杯を加えると、酵素失活させるには100℃で20分間を要しました。アミラーゼの作用には、温度だけでなく、共存物質などが影響することが分かりました。

■カレーのとろみは、人によって好みの粘度があるようです。固形ルウに配合されていた小麦澱粉の他、ジャガイモなどの野菜からの澱粉や繊維質が加水加熱により粘度を発現します。野菜の品種や切り方、煮込む時間にも影響されます。そして、ごく稀に混入したアミラーゼが作用することもあり、分析法を開発しましたが、活躍する機会が少ないことを望みます。加工食品の業界では、食材中の酵素は、加熱などにより失活させかつ鮮度を維持することが求められます。今後は、食材中の酵素活性を制御するための研究に取り組んでいきたいと考えています。

参考文献

- 1) Koyama, K. et al., *Biomed. Chromatogr.*, **27**, 583-588 (2013).
- 2) Koyama, K. et al., *Food Sci. Technol. Res.*, **19**, 989-992 (2013).
- 3) Nagai, T. et al., *Int. J. Food Prop.*, **11**, 137-145 (2008).



ハウス食品グループ 千葉研究センター

Introductory

入門

試料導入装置のはなし(その1) … マニュアルインジェクター

今回と次回は、HPLC 装置に試料を導入するための試料導入装置のおはなしです。まず今回は、マニュアルインジェクターについてです。

● マニュアルインジェクターとは

マニュアルインジェクターは、マイクロシリンジなどを用いて手動で一定量の試料溶液をカラムに導入（注入）する装置です。今日では使用することは少なくなりましたが、HPLC 分析を簡便に行いたい場合には欠かせない装置です。また、オートサンプラーで何か問題が生じた時（例えば、ゴーストピークの出現）、原因究明のための確認用として重宝することもあります。

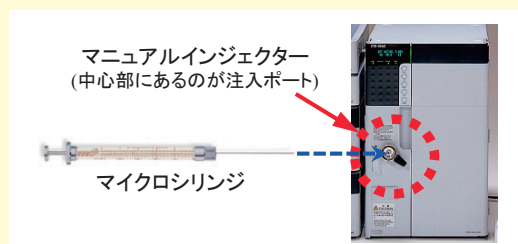


図1 マニュアルインジェクター
(カラムオープンに取り付けた例)

● マニュアルインジェクターの仕組み

マニュアルインジェクターでは、一般に高圧バルブを介して注入ポートおよび試料ループを移動相流路から切り離し、常圧で試料溶液を試料ループに導入後、バルブを切り換えてカラムに導入します。図2に、一般的なマニュアルインジェクター（レオダイン社製）の流路図を示します。

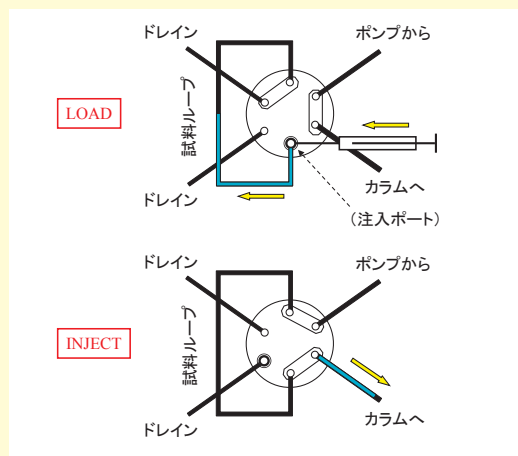


図2 マニュアルインジェクターの流路図

バルブには、「LOAD」と「INJECT」の2つの位置があります。図1で、インジェクターのノブが上向き状態が「LOAD」、下向き状態（写真の状態）が「INJECT」です。

・「LOAD」

試料ループが移動相流路から切り離された状態（常圧）で、試料溶液をマイクロシリンジ（針先を90度カットした HPLC 用）により、注入ポートから試料ループに導入します。

・「INJECT」

ポンプからの移動相流路が試料ループに繋がった状態で、「LOAD」から切り換えて、試料溶液をカラムの方へ送ります。

なお、マニュアルインジェクターによる試料導入方法は、計量方式により次の2つに分類できます。

・ マイクロシリンジで計量する方法

試料ループの一部を使ってマイクロシリンジで計量した任意量（試料ループ容量の概ね 1/2 以下が望ましい）を導入する方式です（図2）。試料溶液毎に導入量を変えることができますので、一般に広く用いられています。

・ 試料ループで計量する方式

試料ループの容量分だけ導入する方式です（実際は試料溶液を試料ループ容量の3倍以上、望ましくは5倍以上導入する必要があります）。マイクロシリンジによる計量より、ばらつきは少ないですが、導入量を変更するには、試料ループを付け替える必要があります。また、試料溶液が少量しかない場合には適しません。

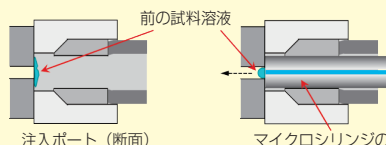
● 一般的な操作手順

一般に、以下の手順で試料溶液をカラムに導入します。

- ① 「INJECT」位置で、マイクロシリンジを注入ポートの奥に差し込み※、「LOAD」位置に素早く切り換える。
- ② マイクロシリンジ内の試料溶液を導入する。
- ③ マイクロシリンジはそのままの状態、「INJECT」位置に素早く切り換える。
- ④ 「INJECT」位置で、マイクロシリンジを抜き、適量の洗浄液（試料溶媒、移動相など）を導入して注入ポートを洗浄する。よりきれいに洗浄するには、専用のニードルポートクリーナー（注射器の先に付ける樹脂製アダプター）を用いる。

マニュアルインジェクターの使用にあたっては、シリンジや注入ポートの洗浄方法や頻度、試料ループへの試料溶液の導入速度（速すぎてもいけない）、バルブの切換え速度（遅すぎてもいけない）など個人差が出やすく、ある程度の慣れ（熟練度）が必要です。次回は、オートサンプラーについてのおはなしです。（MK）

※ 「LOAD」位置でマイクロシリンジを差し込むと、もし注入ポートに前の試料溶液が残っていた場合（下図左）、試料ループに押し出されてしまう可能性があります（下図右）。「INJECT」位置では、残存していたとしてもドレインに排出されます（図2参照）。



高速液体クロマトグラフ メソッドトランスファーシステム *Nexera-i MT*



1 台のシステムで HPLC と UHPLC の両立を実現する一体型高速液体クロマトグラフ “Nexera-i MT” が誕生しました。

Nexera-i MT は、i-Series の使いやすさと優れた基本性能を軸に、既存メソッドの移管や移行作業を強力にサポートするメソッドトランスファーシステムです。UHPLC 流路を用いて迅速なメソッド検討を行い、それを HPLC 流路で既存システム向けに専用ツールを使ってメソッド変換をすることになったことが可能です。

また、ラボ内にある LC システムはそのシステム容量の差により、同じメソッドでも分析結果が異なる場合があります。Nexera-i MT は、システム容量の異なるさまざまな LC システムに対して優れた互換性を示し、装置間のメソッド移管を容易にします。

■ HPLC ⇄ UHPLC の検討が 1 台で可能な 2 流路構成

Nexera-i MT は、HPLC 流路と UHPLC 流路の 2 つの流路を有しており、カラムオープンに内蔵したバルブにより、グラジエントミキサーや分析カラムを含めた HPLC/UHPLC の 2 つの流路を切り換えることができます (図 1)。1 台の Nexera-i MT で 2 システム分の業務が可能のため、従来と比べて LC システムに必要な設置面積が大幅に削減します。

また、本システムには次の 2 つの特長があります。

- ① HPLC と UHPLC の流路を切り換えることで、超高速分析から汎用分析へ、汎用分析から超高速分析への移行をシステム 1 台で達成することができます。
- ② HPLC 流路のシステム容量は異なる LC システムと互換性を有しているため、メソッド移管が容易に可能です。

これらの特長は、Nexera-i MT システムと次に紹介する “ACTO* 機能” の組合せで実現しています。

* ACTO: Analytical Condition Transfer and Optimization

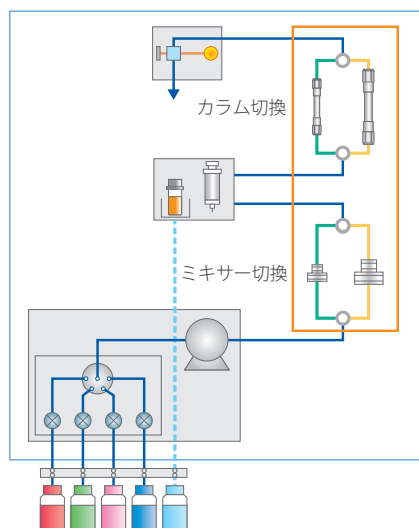


図 1 Nexera-i MT の流路図

■ ACTO 機能 その 1 - グラジエント開始時間の調整

Nexera-i MT は、HPLC 側の流路において、他社システムとの互換性があります。さらに、最新の LabSolutions に搭載された ACTO 機能を用いることで、システム容量に起因する保持時間のずれ（グラジエント分析時）を補正することが可能です。メソッドパラメータに機種間のシステム容量差を入力することで、グラジエント分析のイニシャルホールド時間を容量差の分だけ追加または削減することができ、他のシステムと同等のクロマトグラムが得られます（図 2）。これにより、既存メソッドのグラジエントプログラムを編集することなく、異なるシステム間の再現性を高めることができます。従って、Nexera-i MT と ACTO 機能を使用することで、様々な分野においてより効率良く確実なメソッド移管が可能となります。

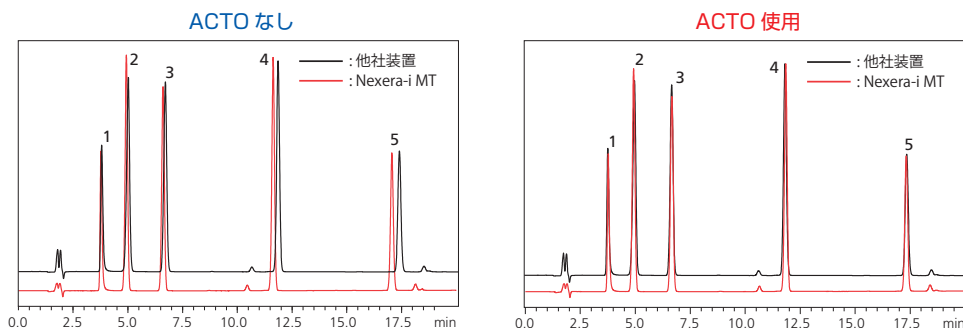


図 2 他社 LC システムから Nexera-i MT への分析メソッド移管例

■ ACTO 機能 その 2 - Method Transfer ツール

既存の HPLC システムで実施した分析を UHPLC システムを用いて高速化したい場合、または UHPLC システムで実施した分析を HPLC 用に汎用化したい場合には、メソッドの変換が必須です。しかしながら、メソッド変換時には、カラム内径や粒子径、長さなどから煩雑な演算を行い、適切な流量やタイムプログラム等を新たに設定する必要があります。このような作業をより簡便にするのが、LabSolutions 内に搭載された “Method Transfer” ツールです。このツールでは、既存のメソッドを選択後、カラム情報とその他必要なパラメータを入力するだけで移行後のメソッドを、他のソフトウェアを介することなく自動作成します。自動作成したメソッドはボタン一つで LabSolutions へ反映させることができ、メソッド変換から分析までを円滑に行うことができます（図 3）。Method Transfer は、様々な場面でのメソッド移行を効率良く実施できる強力なツールです。

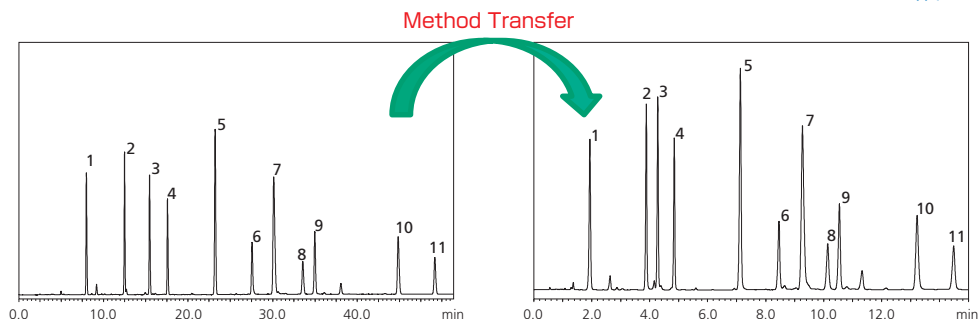
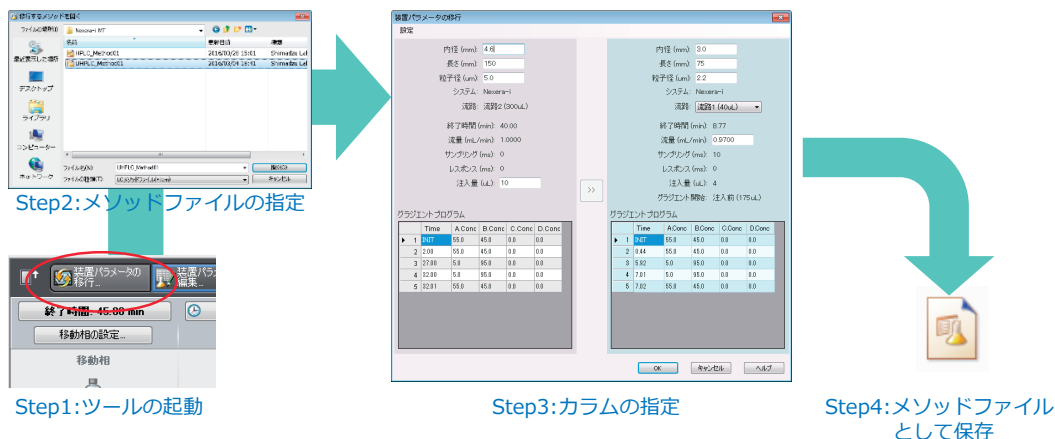
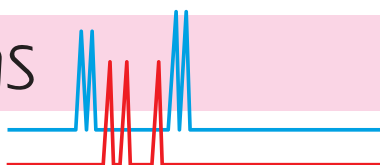


図 3 Method Transfer の流れと HPLC メソッドの高速化例（セフェム系抗生物質の分析）

詳細につきましては、テクニカルレポート (<http://www.an.shimadzu.co.jp/hplc/prominence/tec.htm>, C190-0449/0450) をご参照ください。



合成抗菌剤スクリーニングシステムによる 食肉中の残留合成抗菌剤スクリーニング分析

合成抗菌剤は、動物用医薬品および飼料添加物の一種で、畜水産物に対して疾病の治療や予防のために用いられています。これらは意図せず畜水産物に残留している場合もあり、人が安心して食することができるように人の健康に害を与えない量を考慮して基準値が設定されています^{1), 2)}。近年、各国で違反事例が報告されており、また検査対象成分も多種に渡るため、迅速かつ簡便なスクリーニングが求められています。

ここでは、汎用されているキノロン剤およびサルファ剤を含む合成抗菌剤を対象としたスクリーニング分析例をご紹介します。

■合成抗菌剤スクリーニングシステム

合成抗菌剤スクリーニングシステムは、食肉中残留キノロン系抗菌剤およびサルファ剤のスクリーニング分析を可能とするシステムです。本システムは、高感度蛍光検出器“RF-20Axs”、フォトダイオードアレイ (PDA) 検出器を装備した一体型 HPLC “i-Series” と、前処理法、分析カラム、分析メソッドファイル、データ解析用ファイル、UV スペクトルライブラリをパッケージ化した専用キットから成ります (図 1)。

本システムでは、各国で規制対象成分とされている合成抗菌剤の最大残留基準 (MRL: Maximum Residue Limit) (表 3) を超えているか否かが判定可能で、分析終了後、MRL におけるスクリーニング判定結果を即座に確認できます。また、PDA 検出器で検出する成分については、保持時間に加えて、UV スペクトルによる化合物同定により、精度の高いスクリーニングが行えます。



図 1 合成抗菌剤スクリーニングシステム

■食肉中キノロン剤の分析

前処理法は、HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法^{3), 4)} (畜水産物) を参考にしました。アセトニトリル抽出およびアセトニトリル / ヘキサン分配による脱脂後、濃縮乾固、再溶解により、試料溶液を調製しました。

上記方法で前処理した鶏肉のクロマトグラムを図 2 に、その分析条件を表 1 に示します。マトリクス標準液は、キノロン剤が各 0.01 mg/kg になるように標準液を添加しました。この分析条件では、約 22 分で 12 成分全てを分離、溶出しました。

PDA 検出成分 (ピロミド酸) については、保持時間だけでなく UV スペクトルを用いて定性が可能です。図 3 は基準値濃度の標準液を鶏肉マトリクスに添加した溶液におけるピロミド酸のスペクトルです。ライブラリのスペクトルとの類似度は 0.998 でした。

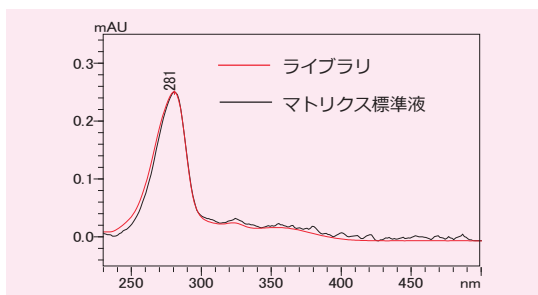
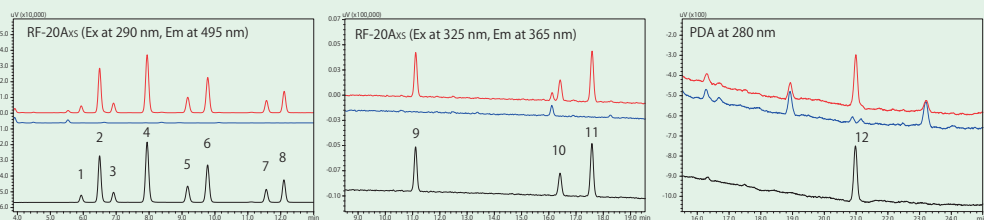


図 3 ピロミド酸のスペクトル

表 1 分析条件 (キノロン剤)

カラム	: Shim-pack FC-ODS (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒子径 3 μm)
移動相	: A) 0.1 mol/L 過塩素酸ナトリウムを含む 20 mmol/L リン酸 (ナトリウム) 緩衝液 B) アセトニトリル / メタノール = 90/10 グラジエント溶離
流量	: 1.0 mL/min
温度	: 40 °C
検出器	: PDA 検出器 280 nm 蛍光検出器 励起 290 nm, 蛍光 495 nm 励起 325 nm, 蛍光 365 nm



■ピーク成分

1. Marbofloxacin, 2. Ofloxacin, 3. Ciprofloxacin, 4. Danofloxacin, 5. Enrofloxacin, 6. Orbifloxacin, 7. Sarafloxacin, 8. Difloxacin, 9. Oxolinic acid, 10. Nalidixic acid, 11. Flumequine, 12. Piromidic acid (各 0.025 mg/L)

図 2 鶏肉のクロマトグラム (赤線) マトリクス標準液, (青線) マトリクス溶液, (黒線) 標準液

■食肉中サルファ剤を含む抗菌剤の分析

液 / 液抽出による (場合によっては、固相抽出を組み合わせた) 前処理法は、手間がかかります。そこで、サルファ剤を含む抗菌剤では、時間短縮などの効率化を図った QuEChERS 法を採用しました。QuEChERS 法は、野菜・果物の残留農薬分析などの前処理法として利用されています。QuEChERS 法による抽出および脱脂後、濃縮乾固、再溶解することにより、試料溶液を調製しました。

上記方法で前処理した鶏肉のクロマトグラムを図 4 に、その分析条件を表 2 に示します。マトリクス標準液は、サルファ剤を含む抗菌剤が 0.01 mg/kg になるよう、標準液を添加しました。いずれの成分も、PDA 検出器 (6 波長) で検出しました。この分析条件では、約 25 分で 12 成分全てを分離、溶出しました。

なお、これら分析の詳細につきましては、アプリケーションニュース No.L509 および No.L510 をご参照ください。
(It)

表 2 分析条件 (サルファ剤を含む抗菌剤)

カラム	: Shim-pack FC-ODS (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒子径 3 μm)
移動相	: A) 0.1 mol/L 過塩素酸ナトリウムを含む 20 mmol/L リン酸 (ナトリウム) 緩衝液 B) アセトニトリル / メタノール = 80/20 グラジエント溶離
流量	: 1.0 mL/min
温度	: 50 °C
検出器	: PDA 検出器 240 nm, 270 nm, 280 nm, 285 nm, 350 nm, 380 nm

表 3 スクリーニング対象成分の MRL と試料溶液濃度

成分名	MRL (mg/kg)	試料溶液濃度 (mg/L)
1 Marbofloxacin	0.01	0.025
2 Ofloxacin	0.01	0.025
3 Ciprofloxacin	0.01	0.025
4 Danofloxacin	0.01	0.025
5 Enrofloxacin	0.01	0.025
6 Orbifloxacin	0.01	0.025
7 Sarafloxacin	0.01	0.025
8 Difloxacin	0.01	0.025
9 Oxolinic acid	0.01	0.025
10 Nalidixic acid	0.01	0.025
11 Flumequine	0.01	0.025
12 Piromidic acid	0.01	0.025
13 Sulfadiazine	0.01	0.025
14 Sulfamerazine	0.01	0.025
15 Sulfadimidine	0.01	0.025
16 Sulfamonomethoxine	0.01	0.025
17 Trimethoprim	0.01	0.025
18 Sulfamethoxazole	0.01	0.025
19 Ormethoprim	0.01	0.025
20 Sulfadimethoxine	0.01	0.025
21 Sulfaquinoxaline	0.01	0.025
22 Pyrimethamine	0.01	0.025
23 Difurazon	0.01	0.025
24 Nicarbazin [※]	0.01	0.025

※: 主成分である N,N'-Bis(4-nitrophenyl)urea としての濃度となります。

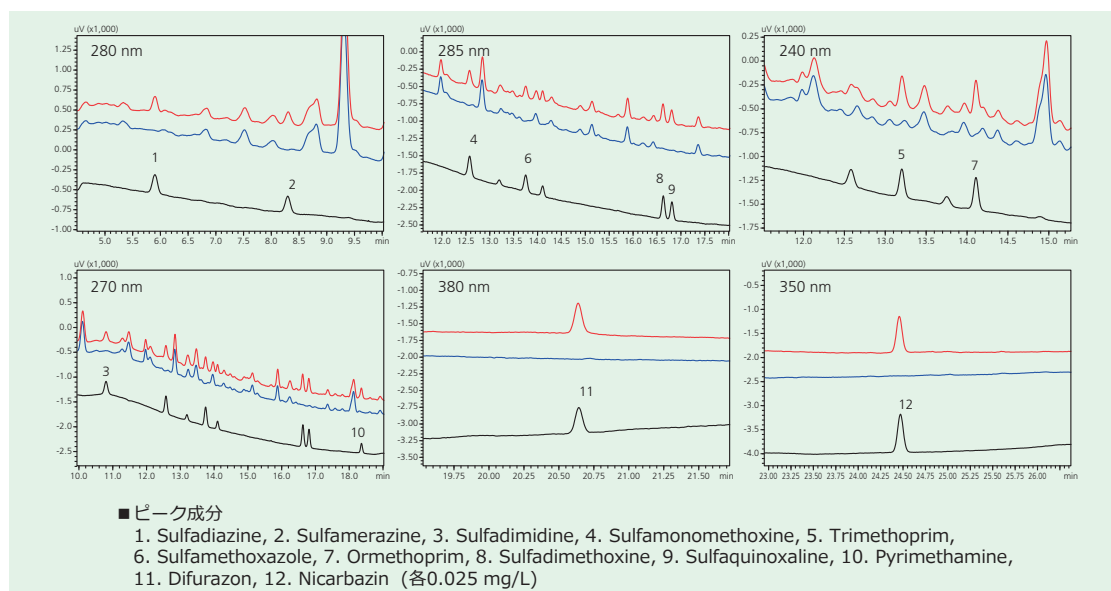
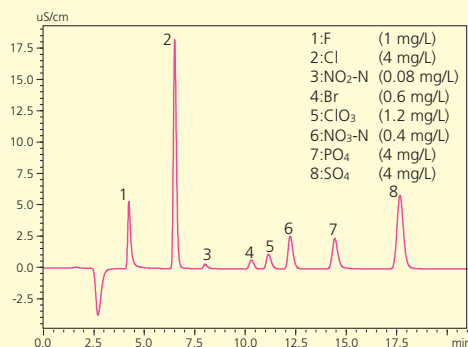


図 4 鶏肉のクロマトグラム (赤線) マトリクス標準液, (青線) マトリクス溶液, (黒線) 標準液

[参考文献]

- 1) 厚生労働省告示第 497 号 (平成 17 年 11 月 29 日)
- 2) 食品衛生法等の一部を改正する法律による改正後の食品衛生法第 11 条第 3 項の施行に伴う関係法令の整備について、食安発第 1129001 号 (平成 17 年 11 月 29 日、最終改正 平成 19 年 5 月 31 日)
- 3) 食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法—HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法I (畜水産物)、食安発第 0124001 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 (平成 17 年 1 月 24 日)
- 4) 厚生労働省監修、食品衛生検査指針 (動物用医薬品・飼料添加物編)、p. 26 ~ 43、(社) 日本食品衛生協会 (2003)

No.L493 水道水質分析用 高性能陰イオン分析カラム
Shim-pack IC-SA4 による水道水分析



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

【分離モード】サイズ排除 【分析種】ポリスチレン, Irganox 1010

【検出】吸光度, 示差屈折率

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

【分離モード】HILIC 【分析種】2-ヒンジアルミノ化オリゴ糖

【検出】蛍光（プレカラム誘導体化）

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

【分離モード】逆相 【分析種】ニバレノール, デオキシニバレノール

【検出】吸光度

HPLC No.L485

有機酸分析システムによるバイオマスの分析

【分離モード】イオン排除 【分析種】酢酸, 乳酸, フルフラール, 5-ヒドロキシメチルフルフラール

【検出】電気伝導度（ポストカラム pH 緩衝化）

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

【分離モード】逆相 【分析種】ポリソルベート 80 【検出】MS

HPLC No.L487

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

【分離モード】逆相 【分析種】ポリソルベート 80 【検出】MS

HPLC No.L488

“Nexera-i” による抗体医薬品のペプチドマッピング

【分離モード】逆相 【分析種】IgG トリプシン消化物 【検出】吸光度

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

【分離モード】配位子交換 【分析種】マンニトール 【検出】示差屈折率

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

【分離モード】イオン排除 【分析種】ヒルビン酸, 乳酸, 酢酸, 乳酸など

【検出】電気伝導度（ポストカラム pH 緩衝化）

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

【分離モード】順相-逆相 【分析種】β-カロテン 【検出】MS

HPLC No.L492A

Nexera-e と ELSD/LCMS-IT-TOF 検出を組み合わせた植物油中トリグリセリドの包括的 2 次元分離

【分離モード】吸着（銀含浸）-逆相 【分析種】トリグリセリド類

【検出】蒸発光散乱, MS

HPLC No.L493

水道水質分析用 高性能陰イオン分析カラム Shim-pack IC-SA4 による水道水分析

【分離モード】イオン交換 【分析種】無機陰イオン類

【検出】電気伝導度（サプレッサー）

HPLC No.L494

“i-Series” による USP および日本薬局方に準拠したオメガラゾールの分析

【分離モード】逆相 【分析種】オメガラゾール 【検出】吸光度

HPLC No.L495

Nexera UC キラルスクリーニングシステムを用いたキラル化合物の分離条件の自動最適化

【分離モード】キラル 【分析種】オメガラゾール 【検出】吸光度

HPLC No.L496A

オンライン SFE-SFC の不安定な化合物の分析への応用

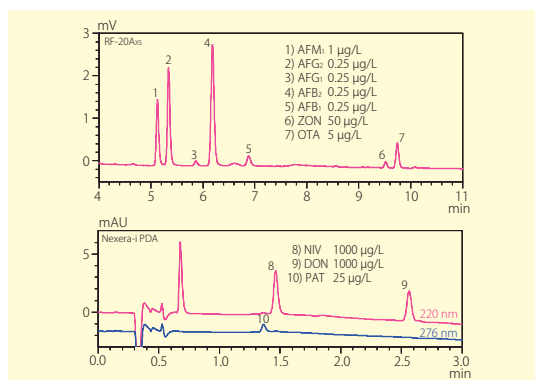
【分離モード】SFC 【分析種】コエンザイム Q10 【検出】吸光度

HPLC No.L497

Nexera UC オンライン SFE-SFC-MS システムの農産物中残留農薬分析への応用

【分離モード】SFC 【分析種】農薬類 【検出】MS

No.L512 マイコトキシンスクリーニングシステム
による穀類中のマイコトキシン分析



HPLC No.L498A

イオンクロマトグラフィーポストカラム法によるミネラルウォーター中のシアン化物および塩化シアンの分析

分離モード: イオン交換 分析種: シアン化物イオンと塩化シアン

検出: 吸光光度 (ポストカラム誘導体化)

HPLC No.L499A

オンライン SFE-SFC-PDA の洗浄バリデーションへの応用

分離モード: SFC 分析種: アルキルベンゼンスルホン酸

検出: 吸光光度

HPLC No.L500

“Nexera-i” と “RF-20Axs” を用いた葛根湯中アフラトキシン B₁, B₂, G₁, G₂ の分析

分離モード: 逆相 分析種: アフラトキシン 検出: 吸光光度

HPLC No.L501

オフライン SFE-SFC-PDA による市販サプリメント中のビタミン E の分析

分離モード: SFC 分析種: α-トコフェロール 検出: 吸光光度

HPLC No.L502

Nexera UC オフライン SFE-GC/MS システムによる農産物中残留農薬の分析

分離モード: 抽出: SFE ー分離: GC 分析種: 農薬 301 成分 検出: MS

HPLC No.L503

Nexera UC SFE 前処理システムの土壌中残留農薬抽出への応用

分離モード: 抽出: SFE ー分離: 逆相 分析種: アトラジンなど農薬 8 成分

検出: MS

HPLC No.L504

医薬品中のイオン分析 (その 5) イオン排除クロマトグラフィーによる有機酸カウンターイオンの分析

分離モード: イオン排除 分析種: ざ酸, 酢酸, マレイン酸, フマル酸

検出: 吸光光度

HPLC No.L505

Nexera-e と LCMS-IT-TOF 検出を組み合わせたムール貝の脂質分子種の包括的二次元分離

分離モード: HILIC/ 逆相 分析種: トリアシルグリセロール, りん脂質など

検出: MS

HPLC No.L506

“Prominence-i” と蛍光検出器 “RF-20Axs” による通知試験法に準拠した牛乳中のアフラトキシン M₁ の分析

分離モード: 逆相 分析種: アフラトキシン M₁ 検出: 蛍光

HPLC No.L507

Prominence-i を用いた低分子水溶性食物繊維の分析

分離モード: 配位子交換 分析種: グルコース, マルトトリアース

検出: 示差屈折率

HPLC No.L508

水質基準に準拠した誘導体化ー高速液体クロマトグラフ法によるホルムアルデヒドの分析

分離モード: 逆相 分析種: ホルムアルデヒド 検出: 吸光光度

HPLC No.L509

合成抗菌剤スクリーニングシステムによる食肉中の残留合成抗菌剤分析 (その 1)

分離モード: 逆相 分析種: キノロン剤 12 成分 検出: 吸光光度

HPLC No.L510

合成抗菌剤スクリーニングシステムによる食肉中の残留合成抗菌剤分析 (その 2)

分離モード: 逆相 分析種: サルファ剤他 12 成分 検出: 吸光光度

HPLC No.L511

“Prominence-i” を用いた電気絶縁油中のベンゾトリアゾールの分析

分離モード: 逆相 分析種: ベンゾトリアゾール 検出: 吸光光度

HPLC No.L512

マイコトキシンスクリーニングシステムによる穀類中のマイコトキシン分析

分離モード: 逆相 分析種: アフラトキシン類, ペズリンなど 10 成分

検出: 吸光光度, 蛍光

HPLC No.L513

肥料中の亜硝酸及び硫酸化物 (チオシアン酸アンモニウム) の分析

分離モード: イオン交換 分析種: 亜硝酸, チオシアン酸 検出: 吸光光度

神山 和夫 先生

『酵素活性をLCで分析』

こうやま かずお=ハウス食品グループ本社株式会社 中央研究所

- ▶ 1997年3月 筑波大学 修士課程修了, 1997年4月 ハウス食品株式会社 ソマテックセンター配属, 2012年4月 グループ長, 2013年3月 金沢大学 博士課程修了(薬学), 2013年10月 ハウス食品グループ本社株式会社 中央研究所 グループ長

専門分野 分析化学

将来の夢 味覚のLC分析

趣味 サッカー観戦



今年の夏の京都は、京都で生まれ育った私でも「暑い〜」となりました…。LCtalkは、間もなく「100号」となります。引き続きご愛読いただきますよう、よろしくお願い申し上げます。

(Mk)

読者のみなさまから・・・

● カラム内径を細くすると感度が向上すると聞きましたが、どうしてでしょうか？

例として、内径が4 mmと2 mmで、長さ、理論段数が等しいカラムを用い、同じ線速度で、同じ量の分析種を注入し、吸光光度検出器で検出した場合を考えましょう(カラム外体積は無視できるとします)。この時、分析種のピーク幅が0.5分だとすると、内径4 mmと2 mmの各カラムにおけるピーク容量は、500 μ L、125 μ Lとなります(下図)。ここで、分析種の量が同じであるため、このピーク容量に含まれる分析種濃度は4倍となり、その結果、検出されるピーク強度も4倍となる(感度が向上する)訳です。

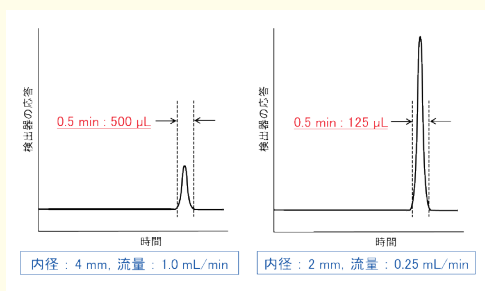


図1 カラム内径とピーク容量

● 「逆逆相クロマトグラフィー」という言葉を耳にしたことがあります、これは一体何でしょうか？

「逆逆相クロマトグラフィー」などという正式な用語は存在しません。逆相クロマトグラフィーの逆、つまり順相クロマトグラフィーということになりますが、親水性相互作用クロマトグラフィー(HILIC)のことを指しているようです。日本工業規格(JIS)などで定義されていない用語は、使わない方が良いでしょう。特に、報告書など公の文書ではご注意ください。なお、HILICの基礎につきましては、LCtalk Special Issue IX「HILICのはなし〜その1,その2」(p.13~15)をご参照ください。

● LC/MS分析の担当になり、まだ日が浅いのですが、実務者向けの参考書を紹介してください。

LC/MS分析(HPLC分析も含む)の実用書として最近発刊された書籍に、以下のものがあります。

- 1) LC/MS, LC/MS/MSの基礎と応用
中村 洋監修, オーム社(2014)
- 2) LC/MS, LC/MS/MSのメンテナンスとトラブル解決
中村 洋企画・監修, オーム社(2015)
- 3) LC/MS, LC/MS/MS Q&A 100 虎の巻
中村 洋企画・監修, オーム社(2016)