

2025年液体クロマトグラフィー努力賞

標記努力賞は1995年、液体クロマトグラフィー研究懇談会に制定された若手・中堅会員に対する褒賞制度であり、「液体クロマトグラフィーに関する研究・技術が独創的であり、将来を期待される研究者・技術者が受賞の対象」とされている。今回は2024年8月末日を期日として推薦を募った。2024年9月17日より開催された標記授賞候補者選考委員会において協議した結果、アジレント・テクノロジー株式会社所属の林 慶子氏（推薦者：熊谷浩樹氏、LCシニアクラブ）を授賞候補者に決定した。この結果を運営委員会（9月20日）に上申し協議した結果、林氏への授賞を正式に決定した。研究業績名は「HPLC分析の高度化を目指した前処理及び分離、検出手法の開発と応用」である。林氏への授賞対象となった研究業績の概要を、以下に紹介する。

林慶子氏は、アジレント・テクノロジー株式会社に入社後、一貫してHPLC、LC/MS分析のアプリケーション開発に従事して来た。この間、HPLC分析の基本要素である試料前処理及び分離、検出に関して、省力化、効率化に極めて有効な手法を多数開発し、それらを応用する事によって、ワークフローの効率化や分析精度の向上を実現し、HPLC及びLC/MS分析の高度化を図って来た。以下に、その概要を記す。

1) 試料の前処理

① 試料の前処理では、濃縮や精製、希釈などの処理が一般的に行われている。多くの分析ラボでは、手作業による精製と濃縮工程が一般的であり、前処理が完了したサンプルをバイアルに封入しHPLC分析が実施されている。このプロセスは、手間が掛かるだけでなく、処理中の誤操作等分析精度に影響を及ぼす事が少なくない。そこで、林氏はバルブを用いた多段階の分離及び濃縮工程を組み込んだ分取精製システムを用いて、精製と濃縮工程を自動化して試料中の分析種だけを選択的に捕集する手法を開発した。この手法を応用して、微量不純物の高純度かつ高収量での前処理を可能とした。

② 簡易の前処理をオートサンプラー内で注入前に実施するインジェクタープログラムを活用する事により、希釈や内標準添加及び誘導体化を自動化し、分析精度の向上やラボの生産性向上を図った。

③ 近年 Process Analytical Technology (PAT) が実用化され、医薬品、工業製品の生産における合成反応や培養過程の理解促進及び重要品質パラメーターの把握を目的に、生産過程の経時変化を可視化するニーズが高まっている。HPLCは分離や定量性の面で優れているが、一般的なHPLCシステムでは、ユーザーがサンプルをマニュアルでオートサンプラーにセットする必要がある。そこで、林氏は新規開発のバルブ開発を用いて、リアクターから反応液、培養液を直接オートサンプラー内の計量シリンジで吸引し、カラムに注入出来るシステムを開発した。この注入システムを用いたオンラインLCでは、サンプリングのタイ

ミングを設定しておくだけで、反応液や培養液の経時変化を全自動でモニタリングする事が可能と成った。このシステムは、クエンチや希釈といった前処理を自動で実施してから注入する事も可能である。

2) 分離

① 逆相分配では、試料溶媒は移動相組成と同一、或いは類似している事が理想とされる。但し、スループットが求められる場合や化合物の安定性に問題が有る場合には、強溶媒を試料溶媒とせざるを得ない場合が有る。そこで、強溶媒で調製した試料の注入では、移動相と固定相との相互作用の他に、試料溶媒が溶質の分配に寄与してしまう結果、ピーク形状の悪化やブレイクスルー（非保持）が引き起こされる場合が有る。例えば、PFAS は高感度検出が必要とされる分析種であるが、メタノール中では安定して測定出来る。その一方で、水溶液中では回収率の低下を引き起こす事が知られている。アジレント・テクノロジー社が新規に開発した Feed 注入は、サンプル注入時に移動相を用いて試料溶媒の溶出強度を下げる機能が有る。林氏は、この機能を利用する事により、強溶媒中の溶質をカラムの先端に保持させ、試料溶媒によるピーク形状異常を防ぐ手法の開発に成功した。この手法は、グラジエント分離において特に有効であることが示された。

② 高効率なサブ 2 μm カラムの進化によって、逆相分配の分離効率は飛躍的に向上して来た。しかしながら、複雑な混合物サンプルや複数の分離手法を組み合わせる必要が有る化合物など、一般的な HPLC では分離が困難な場合が有る。この様な場合、多次元 LC が有効である事は知られていたが、装置構成の複雑さやデータ解析の煩雑さから、実用的な手法とは成り難い状況であった。そこで、林氏は新たに開発された多次元 LC 用バルブを用い、1次元目の分離カラムからの溶出液の一部若しくは全てを 2次元目に移送し、多次元分離をオンラインで実現出来るシステムを開発した。このシステムは、食品中の多成分一斉分離や、不純物ピークのより詳細な検出、複数の分離手法を組み合わせたサンプルの特性の評価等に有効であった。

3) 検出

① 主成分と不純物の濃度が大きく異なる不純物分析などにおいては、一度の分析で両方の定量結果を得る事が困難で有る。これは、検出器のダイナミックレンジに限界が有る為であるので、主成分の定量と不純物の定量の分析を希釈倍率の異なるサンプルを用意した上で、各々実施していた。そこで林氏は、光路長が異なる 2 つのセルを用いてダイナミックレンジを拡大したハイダイナミックレンジ (HDR) ダイオードアレイ検出器を、微量不純物の分析に応用した。HDR ダイオードアレイ検出器は、従来の紫外可視吸光度検出器のダイナミックレンジが 2000 mAU 前後であるのに対し、6000 mAU 超までの非常に広いダイナミックレンジを有している。この手法を用いる事で、従来 2 回注入して得ていた定量結果を 1 度の注入で得る事が可能に成った。

② HPLC では、移動相にリン酸塩緩衝液が多用されて来た。リン酸塩緩衝液は、緩衝能の強さや UV 透過限界の低さなどの利点がある一方で、不揮発性である為 LC/MS にはそのまま適応する事が出来ない。リン酸塩緩衝液を利用した HPLC 分析を LC/MS に適用する為、ギ酸や酢酸などの揮発性添加剤に変更すると分離の選択性が変化してしまう事が有り、分離と検出を両立する条件の設定が困難である場合が多い。そこで、林氏は多次元 LC を応用し、リン酸塩緩衝液を用いた 1 次元目の分離において、MS で検出したいピーク部分をループに貯留し、2 次元目でリン酸塩を脱塩した後 MS で検出する手法を開発した。これによってリン酸塩緩衝液等の不揮発性移動相を用いた分離と LC/MS 検出を両立する事が可能に成った。

③ UV 検出が困難な化合物には、示差屈折率検出器 (RID) や蒸発光散乱検出器 (ELSD) が一般的に用いられている。しかしながら、RID ではグラジエント溶離が困難な事や、ELSD では検量線のリニアリティとダイナミックレンジに課題がある事などの理由で、LC/MS による検出が必要とされる場合がある。一方、LC/MS は HPLC 用の他の検出器と比較した場合、設定するパラメーターが多く、設定次第では良好な結果が得られない事も有る。そこで林氏は、新たに開発された四重極 MS の自動測定モードを使用する測定を試みた。自動測定モードは、測定したいモード (Scan か SIM)、極性、レンジや m/z を入力するだけで四重極 MS の測定が可能である。UV 検出が困難な化合物の例として、二重結合を有しないグリコール類や脂肪酸類について自動測定モードの評価をした所、良好な結果が得られた。

④ LC/MS で多用されているエレクトロスプレーイオン化 (ESI) は、液滴の噴霧と乾燥ガスによる脱溶媒過程で、揮発性の高い化合物は移動相と共に揮発してしまう事が多く、高揮発性化合物への適応事例は多くはない。高揮発性化合物の分析には一般に GC が用いられて来たが、近年、ヘリウムの供給不安が起り代替分析法のニーズが高まっている。そこで、林氏は移動相組成や乾燥ガス温度の最適化によって、高揮発性化合物の LC/MS 分析を検討した結果、カンフルやメントールを検出する事が出来た。ヘリウムの供給不安が続く中で、高揮発化合物の分析法の一つとして有用で有ると考えられる。

林 慶子氏の上記研究業績は、LC 研究懇談会例会や LC & LC/MS テクノプラザにおける講演のみならず、LC 研究懇談会の電子ジャーナル「LC と LC/MS の知恵」誌上でも広く公開されたものである。林 慶子氏のこのような実用的な業績は、氏の将来性と LC 研究懇談会活動への積極的な参加も相俟って、2025 年液体クロマトグラフィー努力賞授賞に値するものと高く評価された。

なお、林 慶子氏の受賞業績に関する詳細は、「LC と LC/MS の知恵」第 9 号 (2024 年 12 月 15 日発行予定) に掲載し、受賞講演と表彰・副賞の授与は第 30 回 LC & LC/MS テクノプラザの初日 (2025 年 1 月 15 日、大田区産業プラザ PIO) に行う予定である。

[LC 研究懇談会・委員長 中村 洋]