

機器紹介

高速液体クロマトグラフィー

福島和昭* 内田和秀*

はじめに

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) はその汎用性の高さから、化学、薬学のみならず、医学の各分野においても用いられている分析手段である。その原理、装置及び麻酔科領域への応用に関して簡単に紹介する。

原理と装置

HPLC はカラム内の充填剤 (固定相) と溶離液 (移動相) 間で、分析対象物の分離を行う技法である。最も単純な装置の模式図を図1に示す。ポンプにより送液される溶離液中に、サンプルインジェクターにより試料を導入後、カラムで分離し、検出器で測定する。

カラムでは固定相と試料中各成分間の相互作用の差異により分離が行われ、その様式により分配・吸着クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、ゲルクロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー等に大別される。また、充填剤の材質によりシリカゲル系、ポリマー系及びヒドロキシアパタイト系の3種類に分類され、各々機械的強度が高い、広い pH 範囲で安定及び、蛋白質等の生体高分子に対し独特の選択性を示す等の特長がある。

検出器には種々の分析装置が用いられ、複数の検出器の接続も可能である。各種検出器を表1に示す。表以外にも使用可能な検出器はまだ数種あるが、実際に多用されているのは表中1), 2) であり、超高感度分析に5), 6), 7) 等が注目されている。

ポンプは高圧での定流量送液が、最低限必要とされる。耐圧性能向上の為、プランジャー型が通常用いられるが、その構造上、脈流が生ずる。これに対し、プランジャーの増設、駆動機構の改良、ダンパーの接続等の対応がなされ、良好な結果が一般的に得られている。

サンプルインジェクターは高圧六方バルブ型が通常使用されているが、多検体処理にはオートサンプラーが最適である。また、近年導入以前の試料反応操作 (プレカラム法) の自動化にも使用出来るオートサンプラーが開発されていることは、注目に値する。

表1 HPLC に用いられる各種検出器

- 1) 紫外分光光度計 (UV)*
- 2) 蛍光分光光度計 (FD)
- 3) 示差屈折計 (RI)
- 4) 電気伝導度 (EC)
- 5) 電気化学検出器 (ECD)
- 6) 化学発光検出器 (CL)
- 7) 質量分析計 (MS)
- 8) 誘導結合高周波プラズマ発光分析計 (ICP)
- 9) 核磁気共鳴分析計 (NMR)
- 10) フーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR)
- 11) 電子スピン共鳴分析計 (ESR)

* 多波長検出器及び紫外/可視分光光度計 (UV-VIS) を含む。

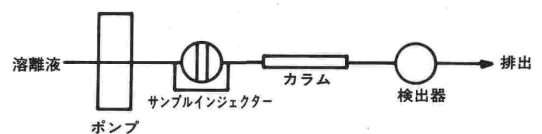


図1 HPLC 装置の模式図

*防衛医科大学校麻酔学教室

特 長

汎用性が高く、微量測定、同時定量、迅速分析が可能で、再現性が良好かつ、自動分析が可能であることが特長として挙げられるが、汎用性の高さを除外としてはガスクロマトグラフィーと同様である。しかし難揮発性物質や一般に分離が困難な異性体、類似化合物の分離等、ガスクロマトグラフィーでは測定が困難な物質の測定が可能なのは、HPLC の最大の特長である。

麻酔科領域への応用

生体内物質としてはカテコールアミン¹⁾、ヒスタミン²⁾、アセチルコリン³⁾、糖⁴⁾、電解質、蛋白質⁵⁾、フリーラジカル⁶⁾、等が測定されている。

薬剤では局所麻酔薬、静脈麻酔薬、麻薬（モルフィン⁷⁻¹⁰⁾、合成麻薬性鎮痛剤¹¹⁾）、非脱分極性筋弛緩薬¹²⁾、抗不整脈薬等が定量されている。

おわりに

上述のごとく HPLC は種々の研究に寄与するところが大きく、今後益々使用されて行く分析技術である。

文 献

- 1) 大和谷 厚, 和田 博: カテコールアミンの分画・精製操作を含む全自動血中カテコールアミン分析装置の開発と応用. 蛋白質核酸酵素 26: 1108-1113, 1981.
- 2) 福島和昭, 内田和秀: ヒスタミンの定量法. 臨床麻酔 12: 629-637, 1988.
- 3) 福島和昭, 内田和秀: アセチルコリン及びコリンの最新定量法. 臨床検査印刷中.
- 4) 掛樋一晃, 本田 進: 臨床化学的に興味もたれる糖質. 臨床検査 32: 1006-1011, 1988.
- 5) 加藤弘真, 吉岡正則: 蛋白質およびペプチドの分析. 臨床検査 32: 1132-1141, 1988.
- 6) 岩橋秀夫: HPLC-ESR スペクトロメトリー. 循環制御 9: 387-388, 1988.
- 7) 福島和昭, 内田和秀: モルヒネ定量法概説. 臨床麻酔 12: 909-914, 1988.
- 8) 福島和昭, 内田和秀: モルフィンの定量法(第1報). 医学と薬学 19: 1487-1496, 1988.
- 9) 福島和昭, 内田和秀: モルフィンの定量法(第2報). 医学と薬学 19: 1497-1507, 1988.
- 10) 福島和昭, 内田和秀: モルフィンの化学発光検出. 臨床検査 32: 1647, 1988.
- 11) 福島和昭, 内田和秀: 合成麻薬性鎮痛薬の最近の定量法—文献の紹介—. 日本歯科麻酔学誌 16: 691-695, 1988.
- 12) 福島和昭, 内田和秀: 非脱分極性筋弛緩薬の定量法—高速液体クロマトグラフィーによる—. 臨床麻酔 12: 145-150, 1988.

* * * * *

* * * * *

* * * * *