



# 目 次

まえがき..... i

## 1 クロマトグラフィーの発展小史 ..... 原 昭二... 1

- |                      |                    |
|----------------------|--------------------|
| 1 「クロマトグラフィー分離」の展開 1 | 分離の進展 3            |
| 2 クロマトグラフィーの理論の構築 2  | 5 クロマトグラフィーの進歩における |
| 3 クロマトグラフィーの機器化の過程 3 | 「技術」と「科学」 6        |
| 4 生体高分子のクロマトグラフィー    | 文 献 7              |

## I 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

## 2 HPLC をめぐる諸問題と到達点 ..... 寺部 茂...10

- |                                     |                  |
|-------------------------------------|------------------|
| 1 液体クロマトグラフィー分離過程の<br>理論および分離の限界 10 | 2.1 全 般 17       |
| 1.1 分離効率および分離度 10                   | 2.2 検 出 器 17     |
| 1.2 ピーク広がり (充填カラム) 13               | 3 分離カラムおよび充填剤 20 |
| 1.3 ピーク広がり (中空カラム) 14               | 4 分取・調製用 LC 22   |
| 2 装 置 17                            | 文 献 24           |

## <新しいフェーズシステム>

## 3 新しい分子認識に基づく分離——クロマトグラフィーと分子認識 ..... 土橋 朗, 原 昭二...25

- |   |  |
|---|--|
| 1 アフィニティークロマトグラフィーと<br>その展開 25                    | な分子会合 33   |
| 2 Molecule-specific な人工アフィニテ<br>ィークロマトグラフィーの展開 29 | 3.3 タンパク質の高次構造から低次構造へ<br>——水素結合に基づく光学分割を中心<br>に 36 |
| 3 Group-specific な人工アフィニティー<br>クロマトグラフィーの展開 31    | 3.4 疎水性相互作用に基づく光学分割を中<br>心に 38                     |
| 3.1 金属錯体を固定化リガンドとするクロマ<br>トグラフィー 31               | 3.5 DNA から塩基対へ 38                                  |
| 3.2 光学分割におけるジアステレオメリック                            | 文 献 40   |

#### 4 移動相の修飾.....中川照眞, 渋谷明正...43

- |     |                                  |                              |
|-----|----------------------------------|------------------------------|
| 1   | ホスト-ゲスト相互作用を利用する逆相 HPLC 44       | 試料直接注入分析 48                  |
| 1.1 | 保持モデル 44                         | 2.1 保持時間の調整 49               |
| 1.2 | 未修飾シクロデキストリン溶液を移動相とする逆相系 HPLC 44 | 移動相中のミセル濃度の影響 49 / pH の影響 49 |
| 1.3 | CD 誘導体溶液を移動相とする逆相 HPLC 46        | 2.2 有機溶媒添加によるカラム効率の改善 49     |
| 2   | ミセルクロマトグラフィーによる血清                | 2.3 タンパク結合の影響 50             |
|     |                                  | 文献 50                        |

#### 5 新しい逆相クロマトグラフィー充填剤.....田中信男...52

- |     |  |                       |
|-----|--|-----------------------|
| 1   | アルキルシリル化シリカゲル充填剤 52                      | 剤 56                  |
| 1.1 | 最近の C <sub>18</sub> 充填剤とそのキャラクターゼーション 52 | 3 内面逆相型 (ISRP) 充填剤 57 |
| 1.2 | 充填剤の構造と溶質に対する保持特性 54                     | 4 ポリマーゲル充填剤 59        |
| 2   | 高選択性逆相クロマトグラフィー充填                        | 5 ポリペプチド分離用充填剤 60     |
|     |  | 文献 61                 |

### <新しい検出法>

#### 6 誘導化試薬の利用.....合屋周次郎...65

- |   |                            |                           |
|---|----------------------------|---------------------------|
| 1 | アミンおよびアミノ酸のラベル化剤 65        | 化剤 69                     |
| 2 | チオール基のラベル化剤 66             | 6 蛍光ラベル化剤としてのキノキサリン誘導体 69 |
| 3 | カルボン酸のラベル化剤 67             | 7 光学活性ラベル化剤 70            |
| 4 | 水酸基のラベル化剤 68               | 文献 70                     |
| 5 | カルボニルおよび $\alpha$ -ケト酸のラベル |                           |

#### 7 高感度錯体化試薬の利用.....四ツ柳隆夫, 星野 仁...73

- |     |                         |                           |
|-----|-------------------------|---------------------------|
| 1   | 金属錯体のクロマトグラフィー 73       | 3.2 KD-HPLC 75            |
| 2   | 錯体化試薬 (誘導体化試薬) とその機能 74 | 4 選択性から特異性へ 76            |
| 3   | プレカラム誘導体化法と錯体化試薬の機能 75  | 5 KD-HPLC 用の錯体化試薬の分子設計 76 |
| 3.1 | 溶離液に錯体化試薬を添加する方法 75     | 文献 78                     |

#### 8 化学発光検出法.....今井一洋...80

- |   |                |                      |
|---|----------------|----------------------|
| 1 | CL 反応 80       | 2.1 過シュウ酸エステル化学発光 81 |
| 2 | HPLC-CL 検出法 81 | 2.2 ルミノール化学発光 82     |

2.3 ルシゲニン化学発光 83

2.4 気相化学発光法 83

2.5 その他 84

文献 84

## 9 レーザー光を利用した検出法 .....今坂藤太郎...86

1 高感度吸光検出器 86

88

2 キャピラリーゾーン電気泳動検出器  
864 近赤外・可視半導体レーザー蛍光検  
出器 89

3 超音速分子ジェット分光法との結合

文献 90

## 10 電極反応を利用した検出法 .....島田和武...91

1 ECD について 91

による検出 93

2 ECD の応用 92

2.2 誘導体化による検出 94

2.1 化合物自身がつもつ電気化学活性基の利  
用 93プレカラム誘導体化法 94 / ポスト  
カラム誘導体化法 94

酸化反応による検出 93 / 還元反応

文献 97

## 11 間接検出 .....石井大道, 竹内豊英...98

1 間接検出法の類別 98

2.4 ポストカラムイオン置換法 103

2 検出原理 99

2.5 ポストカラム酵素反応を用いる間接検  
出法 103

2.1 イオン置換法 99

2.2 試料成分による添加剤成分の分配平衡  
の乱れを利用する検出法 99

3 検出系の問題 103

2.3 包接錯体形成によるシクロデキストリ  
ンの間接検出 102

3.1 ダイナミックリザーブ 103

3.2 検出限界 104

文献 104

## II ガスクロマトグラフィー

## 12 ガスクロマトグラフィーの進歩 .....柘植 新, 大谷 肇... 108

1 分離カラムの高性能化と高分解能 GC  
の進歩 108

2 HRGC における試料導入方法 114

1.1 溶融シリカキャピラリーカラムの登場  
とその特性 108

3 検出方法の新展開 119

1.2 FSCC の基本特性の改良と適用領域の  
拡大 110

4 応用の進歩 121

1.3 FSCC の多様化とワイドポアー FSCC  
111

4.1 光学活性物質の GC 分離 121

4.2 ヘッドスペース法 122

4.3 熱分解 GC 124

文献 125

### III 超臨界流体クロマトグラフィー

- 13 超臨界流体クロマトグラフィー.....平田幸夫... 130
- 1 SFC と GC, HPLC の比較 130
  - 2 超臨界流体の特徴 131
    - 2.1 超臨界流体の物理的性質 131
    - 2.2 超臨界流体の溶媒強度 133
  - 3 保持と選択性 134
  - 4 装置と周辺技術 136
    - 4.1 装置 136
      - 充填カラム SFC 136 / キャピラリー  
- SFC 137 / 各種のプログラミン  
グ法 137
    - 4.2 分離カラム 137
    - 4.3 試料導入法 141
    - 4.4 検出器 142
      - 汎用検出器 142 / FID 143 / リ  
ストリクター 143
  - 5 応用 144
  - 6 超臨界流体抽出と多次元クロマトグラ  
フィー 146
- 文献 147

### IV クロマトグラフィーにおける複合技術

- 14 クロマトグラフィーと質量分析法の複合システム  
.....石井大道, 竹内豊英... 150
- 1 クロマトグラフィーの類別 150
  - 2 質量分析計の比較 151
  - 3 GC/MS 152
    - 3.1 インターフェース 152
    - 3.2 イオン化法 152
  - 4 LC/MS 152
    - 4.1 インターフェースおよびイオン化法の  
比較 152
    - 4.2 サーマスプレー法 153
    - 4.3 大気圧イオン化法 154
    - 4.4 エレクトロスプレー, イオンスプレー  
イオン化法 154
    - 4.5 パーティクルビームイオン化法 156
    - 4.6 フロー FAB イオン化法 157
  - 5 SFC/MS 157
    - 5.1 インターフェース 157
    - 5.2 SFC/MS の位置づけ 158
- 文献 158
- 15 クロマトグラフィーとスペクトロスコピーの直結システム .....神野清勝... 160
- 1 GC/FTIR 160
  - 2 LC/FTIR 161
  - 3 SFC/FTIR 163
- 文献 164
- 16 多次元クロマトグラフィー .....塩見紘一... 165
- 1 GC/GC 166
    - GC/GC の分析例 168
  - 2 LC/GC 169
    - LC/GC の分析例 171
  - 3 SFC/GC, SFC/SFC, LC/SFC 173
- 文献 173

## V クロマトグラフィーの限界と新しい補完分離法

17 フィールドフローフラクショネーション .....	森 定雄... 178
1 理論 178	
1.1 原理 178	
1.2 保持パラメーターと保持比 180	
1.3 理論段高 181	
2 Thermal FFF 181	
3 Sedimentation FFF 183	
4 Flow FFF 185	
5 Electrical FFF 185	
6 その他の FFF 186	
文献 187	
18 キャピラリー電気泳動 .....	寺部 茂... 188
1 HPCE の利点と問題点 189	
2 理論 189	
3 装置 192	
3.1 基本構成 192	
3.2 検出法 193	
4 分離選択性 195	
4.1 中空キャピラリー電気泳動 195	
4.2 ゲル充填キャピラリー電気泳動 196	
4.3 動電クロマトグラフィー 197	
4.4 等電点電気泳動 199	
文献 200	
19 フローサイトメトリー .....	野口義夫... 203
1 フローサイトメトリーとは 203	
2 セルソーターの仕組み 204	
2.1 水流の仕組み 204	
2.2 蛍光を測る仕組み 205	
2.3 水滴を安定にする仕組み 205	
2.4 水滴を振り分ける仕組み 205	
3 散乱光で測るもの 206	
4 蛍光プローブの選択が大切 206	
5 分子生物学への応用 207	
5.1 遺伝子ライブラリーと染色体地図 207	
5.2 DNA 診断 207	
6 新しい方法とフローサイトメトリー 209	
文献 209	

LC/SFC/GC の一体化/石井大道・竹内豊英 8

固相クロマトグラフィー/波多野博行 63

新しい薄層クロマトグラフィー/原 昭二 105

マイクロカラムと大口径カラム/竹内豊英 127

イオンクロマトグラフィーの拡張——吸光度検出法の展開/宮崎元一 175

向流クロマトグラフィー/谷村憲徳 176

HPLC インテリジェントシステム/神野清勝 210

索引.....211

ADVANCES IN CHROMATOGRAPHY : ABSTRACTS .....214

著者紹介 62, 72, 159, 202