

Application News

No. L442A

高速液体クロマトグラフィー
High Performance Liquid Chromatography

有機酸分析においてカラム温度が分離に与える影響

Effect of Column Temperature on Organic Acid Separation

島津製作所が提供する有機酸分析システムは、イオン排除クロマトグラフィーにより目的成分を分離したのち、ポストカラムで pH 緩衝液を導入し、電気伝導度検出器を用いて有機酸を選択的に検出するシステムです。この分析法では、より多くの成分を分離するために、カラム 2 本を直列に接続して用いることがあります。通常これらのカラムの温度は同じ値で分析を行いますが、2 本のカラム温度を別々に設定することで、これまで分離困難であった有機酸の分離調整が可能になります。この分析法を用いて、有機酸混合物を分析した結果を報告します。

T. Sakai

■カラム温度変更による有機酸の分離調整 - その 1 - Adjusting Separation by Changing Column Temperature - Part 1

試料中に多成分の有機酸が存在する場合、Table 1 に示す有機酸分析システムの標準分析条件では、全ての成分を分離することが困難な場合があります。このとき、移動相濃度やカラム温度を変更することで有機酸の相互分離を調整することが可能ですが、各有機酸の保持挙動の違いにより、2 本のカラム温度を同時に変更しても完全分離が達成できないこともあります。

Fig. 1 に、カラム温度 25 °C および 48 °C での有機酸混合標準溶液のクロマトグラムを示します。カラム温度 25 °C では、こはく酸と乳酸、フマル酸と酢酸のピークが分離できていません。一方カラム温度 48 °C では、こはく酸と乳酸、フマル酸と酢酸のピークは分離できましたが、りん酸と α -ケトグルタル酸、ギ酸とフマル酸のピークが分離できていません。Table 2 に、それぞれのピークの分離の状況をまとめます。

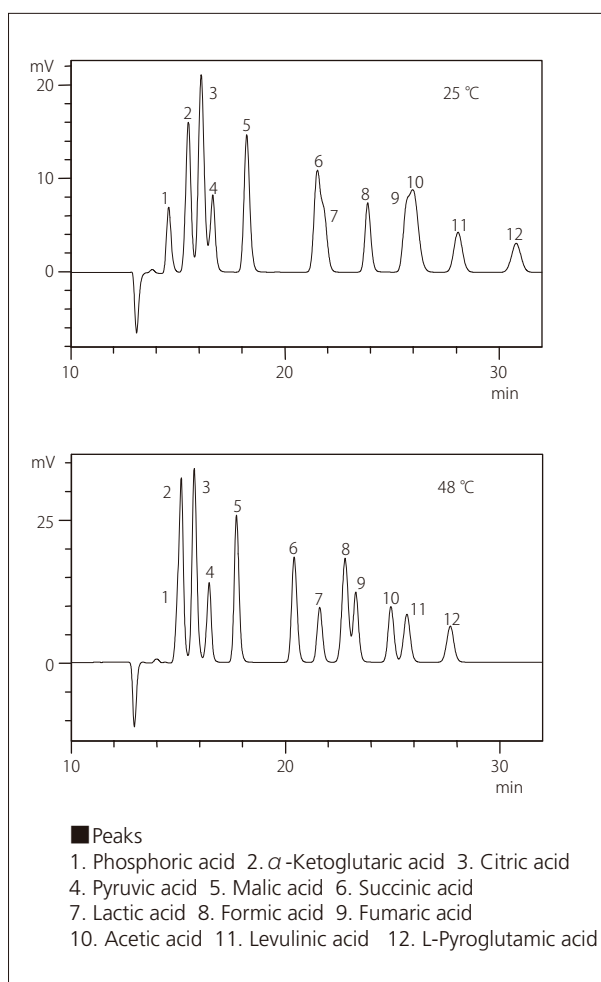


Fig. 1 カラム温度 25 °C と 48 °C における有機酸混合物のクロマトグラム
Chromatograms of Organic Acids Mixture at Column Temperatures of 25 °C and 48 °C

Table 1 標準分析条件
Standard Analytical Conditions

Column	: Shim-pack SCR-102H, 2 columns in series (300 mm L. × 8.0 mm I.D., 7 μm)
Mobile Phase	: 5 mmol/L p-TSA
pH Buffer Solution	: 5 mmol/L p-TSA, 20 mmol/L Bis-Tris, 0.1 mmol/L EDTA-4H
Flow Rate of Mobile Phase	: 0.8 mL/min
Flow Rate of pH Buffer Solution	: 0.8 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Vol.	: 10 μL
Detection	: CDD-10A _{VP}

Table 2 主なピークの分離
Separation of Main Peaks

	Succinic acid and Lactic acid	Fumaric acid and Acetic acid	Phosphoric acid and α -ketoglutaric acid	Formic acid and Fumaric acid
25 °C	Not separated	Not separated	Separated	Separated
48 °C	Separated	Separated	Not separated	Not separated

■カラム温度変更による有機酸の分離調整 - その2- Adjusting Separation by Changing Column Temperature - Part 2

Fig. 2 のようにカラムオープン (CTO-20AC) を 2 台併設し、1 本目のカラム温度を 25 °C、2 本目のカラム温度を 48 °C にして分析を行いました。その結果を Fig. 3 に示します。2 本のカラム温度を両方とも 25 °C、あるいは 48 °C にしたときに比べ、それぞれの成分の分離が良くになっていることが確認できます。

また同様に、1 本目のカラム温度を 48 °C、2 本目のカラム温度を 25 °C にして分析を行いました。この分析でも、2 本のカラムを同じ温度にしたときに比べて分離が良かったことが確認できました。

このように、2 本のカラムの温度を別々に設定することで、より多様に分離挙動をコントロールすることができ、有機酸分析システムの標準条件では分離が困難であった成分同士の分析も可能となることがわかります。

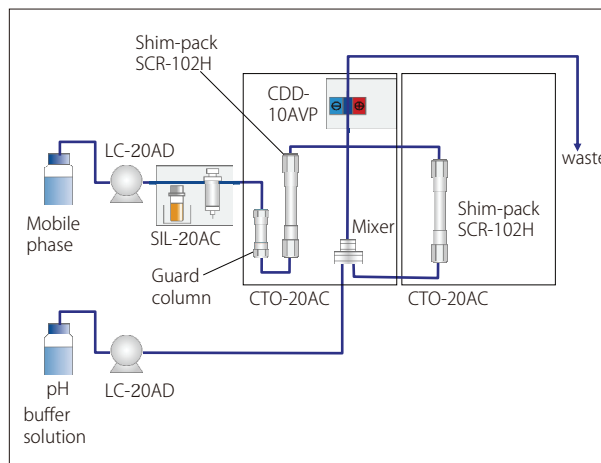


Fig. 2 流路構成
Flow Diagram

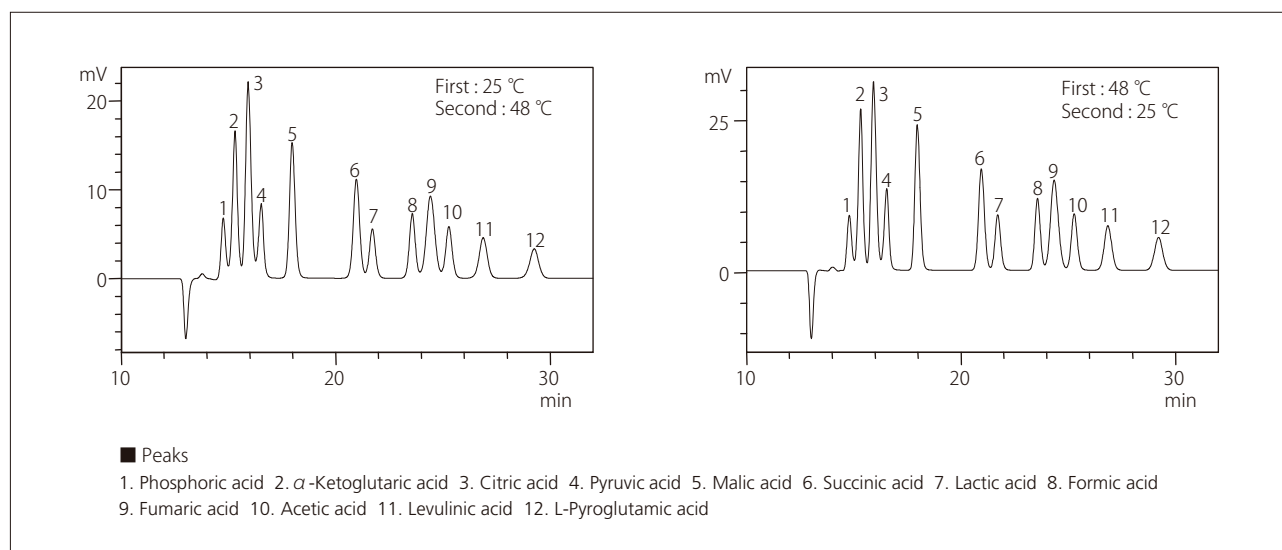


Fig. 3 2 本のカラム温度が異なるときの有機酸混合物のクロマトグラム
Chromatograms of Organic Acid Mixture Analyzed Using Two Columns Set to Different Temperatures