

HPLC Glossary





目次

1	送液ユニット	2
2	バルブ	6
3	試料導入装置	8
4	検出器	
4-1	紫外可視吸光度検出器 (UV-VIS)	12
4-2	フォトダイオードアレイ検出器 (PDA)	14
4-3	蛍光検出器 (RF, FLD)	16
4-4	示差屈折率検出器 (RID)	18
4-5	蒸発光散乱検出器 (ELSD)	20
4-6	電気伝導度検出器 (CDD)	22
5	カラム	24

1 送液ユニット

■ サクションフィルタ

移動相中の微細な粒子や不溶性の塩が流路に入るのを防ぐために使用する部品。

サクションフィルタ内に汚れが溜まり、目詰まりすると、フィルタ内部が引圧になり、送液される移動相に気泡が生じるため、フィルタを洗浄するか、交換する。

■ ポンプヘッド

移動相の送液のため、移動相が導入される箇所。

■ チェックバルブ

ポンプヘッド上下に付属し、ポンプヘッドへの移動相の逆流を防ぐ部品。

チェックバルブに異常が生じると送液に影響を与えるため、洗浄もしくは交換する。

■ プランジャ

ポンプヘッド内にあるピストン状の部品。

モーターカムの連動による往復運動を繰り返して、移動相を吸引吐出する(図1)。

プランジャに傷が入った場合には、送液に不具合が生じるため、交換する。

■ プランジャシール

プランジャとの密閉度を確保するためのシール。

プランジャとの摩擦により、プランジャシールが摩耗するため、メーカーが保証する送液量を超えた場合には交換する。

■ パージ(類:プライム)

移動相などの液置換をする動作。

移動相を交換する際や移動相中の気泡を除去する際に行う。

■ ドレインバルブ

移動相流路と廃液槽への流路を切り換えるためのバルブ。

主に移動相置換の際に用いる。

■ ラインフィルタ

移動相中の微細な粒子や不溶性の塩が試料導入装置やカラムに入ることを防ぐためのフィルタ。

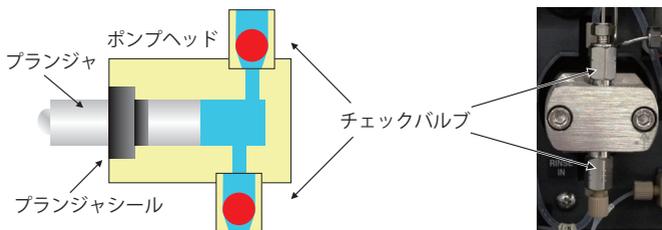
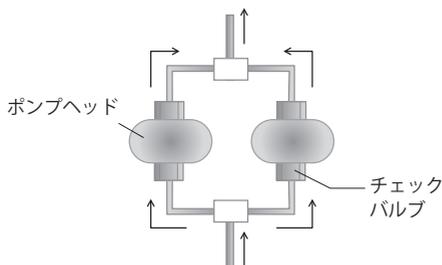


図1 送液ユニットの構造

■ 並列プランジャ方式 (⇔直列プランジャ方式)

1台の送液ユニットの中に2つの同じプランジャを並列に配列し、位相を反転させて移動相を送液する方式の送液ユニット。

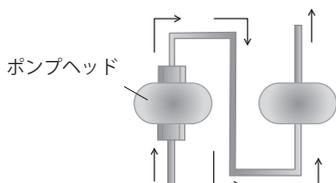


※ 両方のポンプヘッドの容量は同じ

図2 並列プランジャ方式

■ 直列プランジャ方式 (⇔並列プランジャ方式)

1台の送液ユニットの中に容量の異なるプランジャを2つ直列に配置し、移動相を送液する方式の送液ユニット。



※ 左のポンプヘッドの容量は右の2倍

図3 直列プランジャ方式

■ アイソクラティック溶離 (⇔グラジエント溶離)

移動相の組成比率を一定の状態を送液する方法。

グラジエントシステムによって、一定の比率で移動相を送液する方法と、あらかじめ決められた比率で混合した移動相を1台の送液ユニットで送液する方法がある。

■ グラジエント溶離 (⇔アイソクラティック溶離)

1回の分析において、移動相として使用する複数の異なる溶液の混合比率を経時的に変化させながら送液する方法。

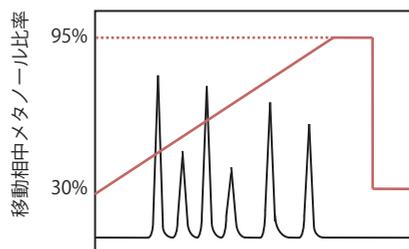


図4 グラジエント溶離の効果

■ 高圧グラジエントシステム (類:バイナリポンプ)

移動相として使用する複数の異なる溶液と同数の送液ユニットを持ち、合計流量が一定の条件下で各送液ユニットの流量比を変えてグラジエント溶離を行うシステム(図5)。

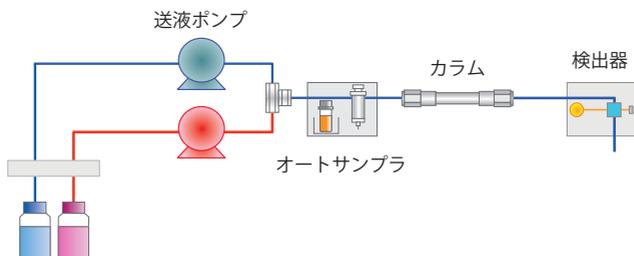


図5 高圧グラジエントシステム

■ 低圧グラジエントシステム (類:クォータナリポンプ)

1台の送液ユニットを用い、移動相として使用する複数の異なる溶液を電磁弁で切り換え、混合してグラジエント溶離を行うシステム(図6)。

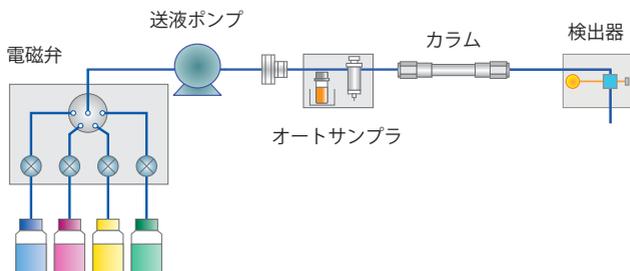


図6 低圧グラジエントシステム

■ グラジエントミキサ

グラジエント溶離を適用する際に用いられる部品。

カラムに流入する移動相組成の不均一をなくし、保持時間再現性を向上させる。

■ 分取ポンプ

分取用に用いられる送液ユニット。

許容送液流量が大きいのが特徴。

■ ナノフローLCポンプ

ナノ流量で移動相を送液する方式の送液ユニット。

一般に、質量分析計 (MS) とナノフローLCを組み合わせて、高感度分析 (微量試料の分析) を目的とする場合に用いられる。

■ 脱気ユニット

移動相中に含まれる微小な溶存空気を除去するための装置。

目に見えるサイズの気泡は除去できない。

■ リザーバトレイ

移動相びん (リザーバボトル) を安全に静置するための容器。

ボトル転倒時に、溶液によって電子基板を搭載した装置の破損を防ぐために使用する。

■ 自動洗浄キット

ポンプヘッド内部で塩の析出を防ぐためにプランジャを洗浄する部品。

高濃度の緩衝液を移動相として使用する場合に自動洗浄キットを使用すると良い。

なお、ポンプヘッドで塩の析出が生じると、プランジャが破損する可能性が高くなる。

■ 圧縮率補正

移動相として使用する溶液は高圧下では圧縮される。その圧縮率を考慮して送液することによって、設定した流量通りに送液することができる。このためのパラメータ設定を圧縮率補正という。

使用する移動相によっては、適切な圧縮率を設定しないと、脈動を起こすことがある。

2 バルブ

■ 自動切換バルブ

コントローラからの電気信号により、バルブポジションが自動で切り換わる形式のバルブ。

■ 手動切換バルブ

手動でポジションを切り換える形式のバルブ。代表例としてマニュアルインジェクタが挙げられる。

■ 高圧バルブ

ポンプヘッドより下流に据え付け、流路を切り換える形式のバルブ。

カラムスイッチング、オンラインSPE、2次元LCなどに使用される。

■ 低圧バルブ

ポンプヘッド、脱気ユニットより上流に据え付け、流路を切り換える形式のバルブ。

一般に耐圧性が低く、リザーバ切換バルブとして用いられる。

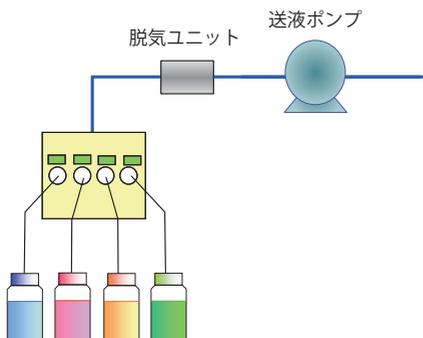


図7 低圧バルブ使用例

■ ロータシール

バルブの流路ポジション切り換え時に回転する側の部品。

ロータシールに傷が入ると、液漏れが生じるため交換が必要となる。

オートサンプラの消耗部品に含まれる。



図8 ロータシール

■ ステータ

回転せずに固定されているバルブの部品。

オートサンプラの消耗部品に含まれる。

■ カラムスイッチング

分析時や前処理時に流路切換バルブを介してカラムの接続を切り換える方法。

分析ごとに分析カラムを切り換えるシステム(図9①)や2種のカラムの接続を変更しながら、

移動相を切り換えるシステム(図9②)が代表例。

自動濃縮や脱塩などの自動前処理を行うシステムも構築できる。

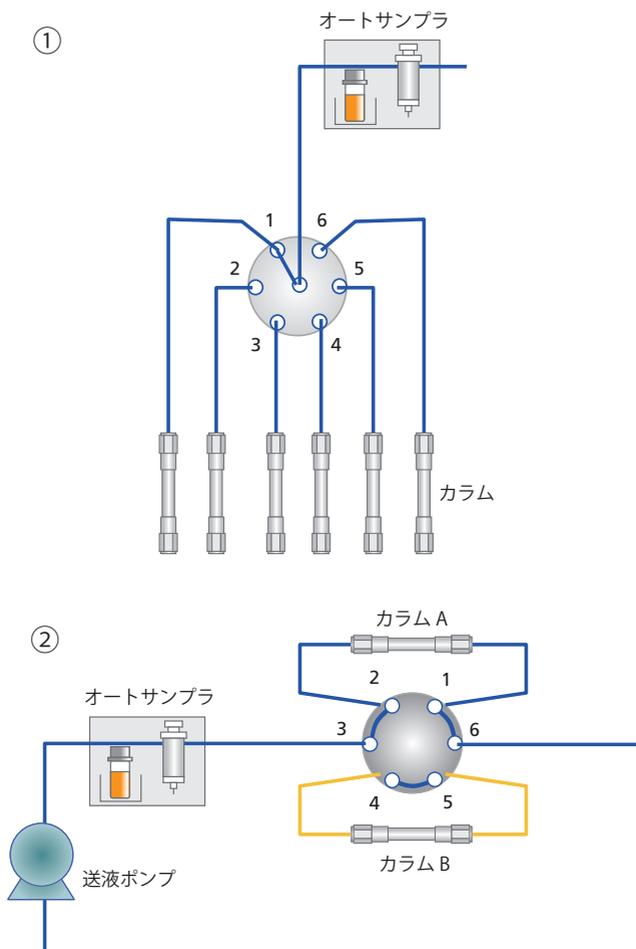


図9 高圧バルブを使ったカラムスイッチング法の例

3 試料導入装置

■ インジェクション (類:アプライ)

試料をカラムに導入すること。

■ ロード

試料をカラムに導入するため、一旦、必要量をサンプルループに溜めること。

■ 注入量

カラムへの試料導入量。

■ ニードル (針)

バイアルから試料を吸引するための計量システムの先端接液部。クロスコンタミネーションを起こすことがあるため、その対策加工が施されている。

■ サンプルループ

試料をカラムに導入する際、一時的に所定の試料量を溜めておく配管。

■ 注入ポート

試料をカラムに導入する際、ニードルが挿入される部分。

■ ニードルシール

注入ポート内にあり、試料注入時にニードルと密着して試料が漏れないようにする樹脂製の部品。

■ バイアル (類:試料管)

試料を入れる容器。多くの場合、ガラス製のバイアルが使用される。

一方、チアミンをはじめとする塩基性化合物の吸着や金属イオンの溶出が起こる可能性があるため、目的成分の性質によって異なる材質のバイアルを使用することがある。

■ セプタム

バイアルの蓋の一部でニードルが貫通する部品。

バイアル内の気密性を保ち、ニードル表面に付着した液滴を払拭する。

試料溶媒とセプタムの材質の組み合わせによっては、ゴーストピークが検出されることもあるので注意が必要。

■ バイアルインサート

少量の試料を分析する際、液面の位置を高め、試料吸引を確実にするために、バイアルに挿入する容器。



図10 バイアルインサート

■ マイクロプレート (類:ウェルプレート)

試料を入れるプレート状の容器。
プレート表面に多数の穴(ウェル)が加工されている。ウェルの数は96、384などがある。



図11 マイクロプレート

■ サンプルラック

オートサンプラに付属するバイアルやマイクロプレートを収めるラック。

■ リンス

ニードルや注入ポートなどを洗浄する動作。
クロスコンタミネーションを低減するために行う。

■ リンス液(類:洗浄液)

ニードルや注入ポートを洗浄する液。
対象成分の性質によって最適な液を選択する必要がある。
リンス液を交換する際やリンス液中の気泡を除去する際には、パージを行う。
移動相と同様、リンス液も定期的なパージが必要である。

■ ニードルストローク

試料吸引時に、ニードルが下がる深さを設定するパラメータ。

バイアルやマイクロプレートの底の位置と、試料の液面の高さに合わせて適切な値を設定する。

■ 試料吸引速度

試料を吸引する速度。
粘性の高い試料は吸引速度が速いと所定の液量が吸引できないことがある。

■ クロスコンタミネーション (類:キャリーオーバー)

試料導入の際、試料中の成分が吸着によってオートサンプラのシステム内に残存し、以降の分析に溶出する現象。

■ マニュアルインジェクタ

手動で試料を注入する装置。

マイクロシリンジで試料を導入する量を調整する方法やサンプルループに満たした全量を導入する方法がある。

■ オートサンプラ

自動で針が試料を吸引し、流路へ注入する装置。

多検体を連続的に分析することができるだけでなく、自動的に試料の希釈やプレカラム誘導体化、内部標準品の添加など前処理機能を持つ機種もある。



図12 オートサンプラ

■ シリンジ計量/ポンプ計量 (⇔ループ計量)

シリンジや計量ポンプによる吸引によって、試料を計量する方法。

■ ループ計量 (⇔シリンジ計量/ポンプ計量)

容量既知のサンプルループを試料で満たし、試料を計量する方法。

■ 試料余剰吸引量 (類: Excess Volume)

設定注入量より余剰に試料を吸引する量。

ループ注入方式では、配管内を試料が移動するため、配管の壁面との摩擦やリンス液との混合が起こる。

その影響が起こる濃度の不均一な部分を廃棄し、設定注入量に相当する試料を確保するため、余剰吸引を行う(図13)。

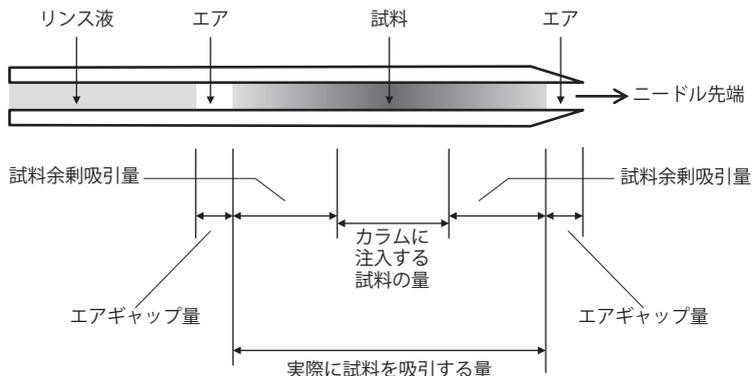


図13 試料余剰吸引量のイメージ

■ 全量注入方式 (⇔ループ注入方式)

分析時にサンプルループおよびサンプルニードルが配管の一部となり、カラムに導入する量だけ試料を吸引する方式。

試料ロスが少なく、キャリーオーバーが起こりにくいという特徴がある。

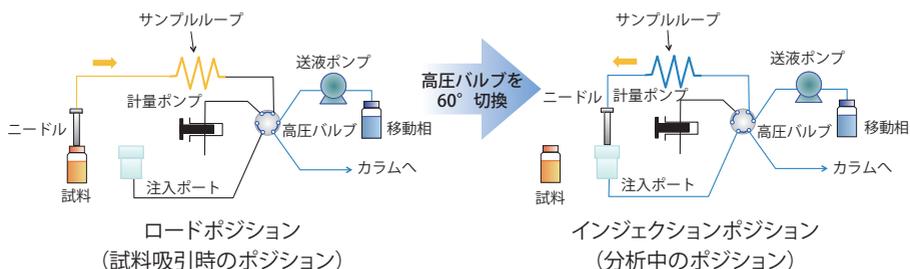


図14 全量注入方式の構造

■ ループ注入方式 (⇔全量注入方式)

バルブに接続されたサンプルループに試料を導入した状態で、バルブを切り換えることによって試料をカラムに導入する方式。

ループまでの配管を試料で満たす必要があるため、実際に注入する試料よりも過剰に試料が必要となる (→参考:P.10 試料余剰吸引量)。

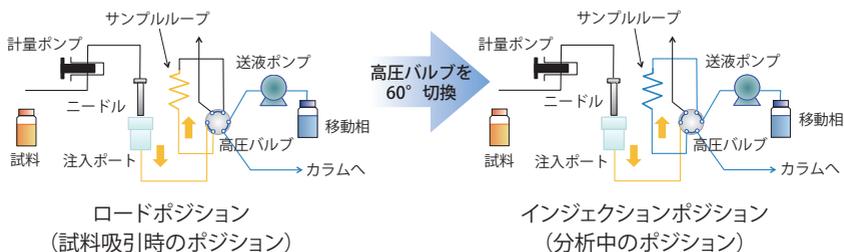


図15 ループ注入方式の構造

4 検出器

4-1 紫外可視吸光度検出器 (UV-VIS)

■ 紫外波長

紫外線の波長範囲。

HPLC分析においては200～350 nm付近の波長域。

■ 可視波長

ヒトの目で認識することができる光の波長。

HPLC分析においては350～800 nm付近の波長域。

■ 吸光度

(類:ランベルト-ベールの法則)

試料溶液に光を照射し、吸収される光の割合。入射光強度を分子、透過光強度を分母にした比の常用対数で表す(図16)。

■ ランベルト-ベールの法則 (類:吸光度)

吸光度は光路長、モル吸光係数、対象成分の濃度に一定の範囲内で比例することを表した公式(図16)。

■ 重水素(D₂)ランプ

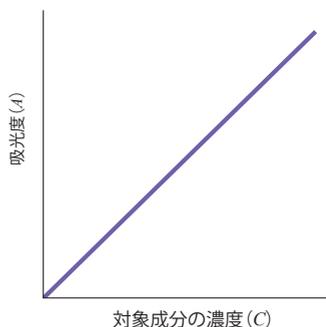
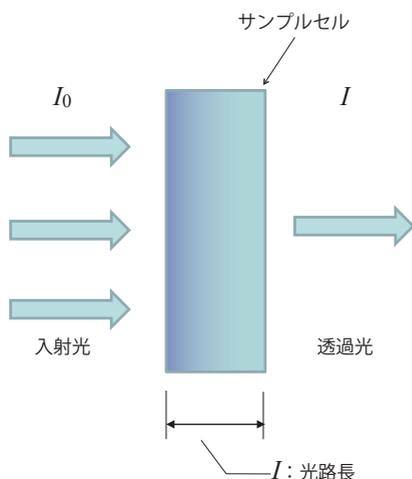
紫外線を発生させるランプ。

190～380 nmの範囲を検出する場合に使用する。

■ タングステン(W)ランプ

可視光線を発生させるためのランプ。

クロロフィルやカロテノイドなどの有色成分はタングステンランプを用いた長波長側の検出により、高感度かつ高選択的に検出することができる。



ランベルト - ベールの法則

$$A = \epsilon Cl = \log(I_0 / I)$$

A : 吸光度、 ϵ : モル吸光係数

l : 光路長、 C : 濃度

I_0 : 入射光の強度、 I : 透過光の強度

図16 ランベルト-ベールの法則

■ 回折格子(グレーティング)

ランプから発せられた光のうち、ある特定の波長を切り出す(分光する)ための素子。

UV検出器では、ランプから発せられた光を回折格子で設定された波長のみを切り出し、サンプルセルに照射する。

■ スリット

回折格子により分光された光を収束させるための部品(図17)。

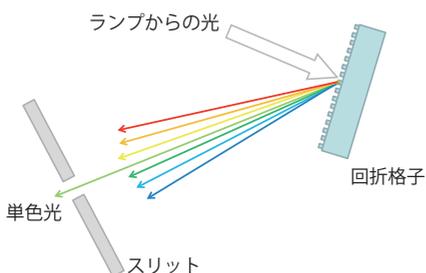


図17 回折格子のしくみ

■ ミラー

回折格子から切り出した特定の波長を持つ光を反射させるための鏡。

■ サンプルセル

検出器に内蔵される部品。移動相などのカラム溶出成分が通過する(図18)。

サンプルセルを通過した光の強度は図16中の透過光の強度に相当する。

■ リファレンスセル

UV検出器において、サンプルセルの対照の目的として内蔵されているセル。

移動相やカラム溶出成分は通過しない(図18)。

リファレンスセルを通過した光の強度は図16中の入射光に相当する。

UV検出器では、サンプルセルを通過した光の強度とリファレンスセルを通過した光の強度の比の常用対数をプロットしている。

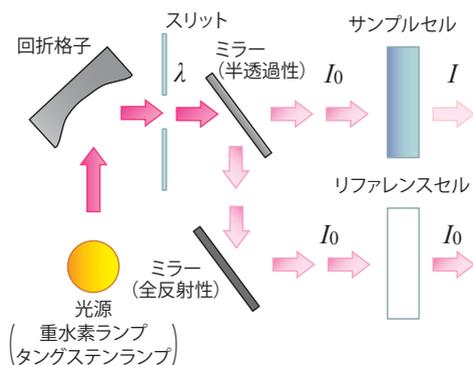


図18 UV検出器の内部図

4-2 フォトダイオードアレイ検出器 (PDA)

■ フォトダイオードアレイ型 紫外可視吸光度検出器 (PDA)

直接、サンプルセルに透過させたランプの光を回折格子で分光し、同時に多数の波長でモニターできる検出器 (図19)。

任意波長のクロマトグラムが得られる他、任意時間でのUVスペクトルを得ることができる (図20)。

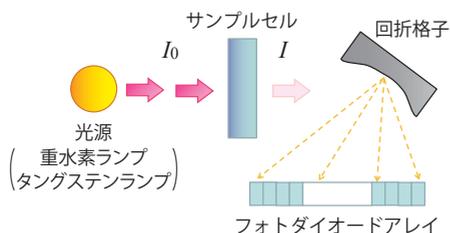


図19 PDA検出器の内部図

■ フォトダイオードアレイ

光を検出するための半導体素子の集合体。

光エネルギーを受け取ると、電流を発生する。

PDA検出器では、回折格子で分光された光を受けるために直線状にフォトダイオードが並べられており、これをフォトダイオードアレイと呼ぶ (図19)。

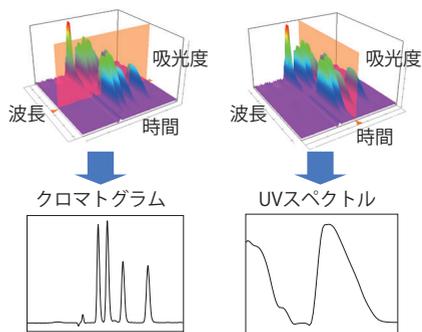


図20 PDA検出器で得られるデータ

■ マックスプロット

設定した波長範囲のスペクトル中で最も高い吸光度をプロットして得られるクロマトグラム。

分析条件検討過程で、極大吸収波長が不明な成分を検出するような場合に有効。

■ マルチクロマトグラム

PDA検出器のデータから得られる特定の波長範囲におけるクロマトグラム。

UV検出器では、データ採取時に設定した波長のクロマトグラムしか得ることができないが、PDA検出器では、データ解析時に任意の波長のクロマトグラムを得ることができる。

また、ひとつのピークに対し、各波長でのピーク形状を比較することでピークの単一性を評価することもできる。

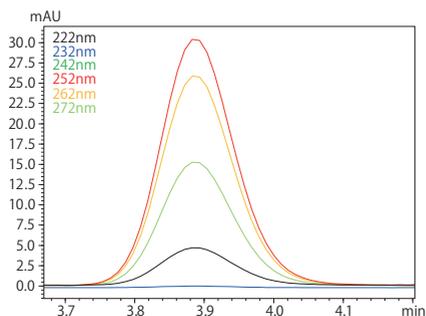


図21 マルチクロマトグラム

■ 類似度 (類:ピークピュリティ)

PDA検出器で得られるUVスペクトルの一致を定量的に表す指標 (図22)。

通常の検出器では保持時間を用いることにより成分を特定しているが、PDA検出器では、試料中の成分と標準品のUVスペクトルの類似度によって、より確実に成分を特定することができる。

■ ピークピュリティ (類:類似度)

PDA検出器で得られるUVスペクトルから、不純物の有無を定量的に確認するための方法のひとつ。

移動相由来のノイズやバックグラウンドの影響を加味するため、類似度曲線から、スペクトル一致の基準となるしきい値曲線を差し引いたもの。

ひとつのピークに含まれる複数のデータポイントでのスペクトルを比較し、類似度を計算する。ひとつのピークの前半、ピークトップ、ピークの後半の3点でスペクトルを比較する3点ピークピュリティ法と、全ポイントにおけるスペクトルを比較するトータルピークピュリティ法の2つの方法がある。

計算結果が0に近いほど、純度が高い。

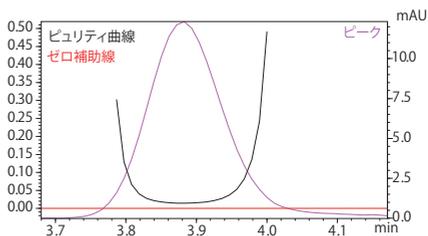


図22 ピークピュリティ

■ UVスペクトルライブラリ

目的成分の同定のために、ある成分のUVスペクトルを予め登録しておくリスト。

これを利用して化合物を同定したり、類似度の高い順から検索できる。

4-3 蛍光検出器 (RF、FLD)

■ 基底状態

ある物質の電子が取り得る状態のうち、最も安定している(エネルギーが低い)状態(図23)。

■ 励起

ある物質が外部エネルギーを吸収した際、その物質が持つ基底状態の軌道に存在する電子が高いエネルギー状態の軌道に遷移すること(図23)。

■ 励起波長 (Excitation Wavelength)

ある物質が外部エネルギーによって励起状態になるための光の波長。

■ 蛍光波長 (Emission Wavelength)

励起状態にある物質のうち、一部は分子内の振動、収縮などによって熱エネルギーを失うことで、最低振動準位の励起状態に落ちる。そこから安定な基底状態に戻る際に放出される光(蛍光)の波長。

一般に励起波長よりも蛍光波長の方が長波長である。

■ 光電子増倍管(フォトマル)

光エネルギーを電気エネルギーに変換する光電管をベースに、電流増幅機能を付加した高感度光検出素子。

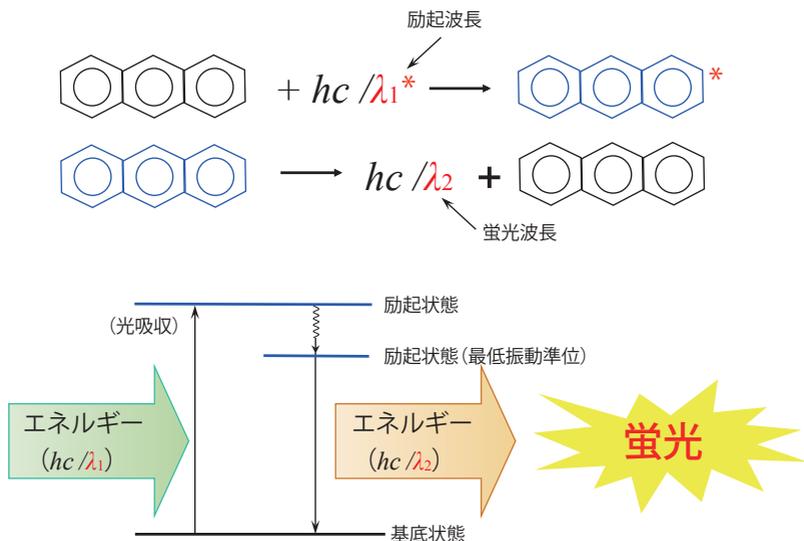


図23 蛍光発光の原理

■ 消光現象(クエンチング)

蛍光物質とその蛍光エネルギーを吸収するようなエネルギー準位を持つ物質が混在する場合、蛍光が消失する現象。

溶存酸素によるピーク強度の低下が消光現象の一例。

■ 誘導体化

官能基の導入、酸化、還元などによって、化合物の構造や性質を変化させること。

蛍光誘導体化とは、検出の選択性が低い化合物を誘導体化試薬との反応により、発蛍光物質に変化させて、高感度かつ高選択的に蛍光検出することを意味する。



図24 誘導体化の例

■ Xe(キセノン)ランプ

蛍光検出器の光源となるランプ。
Xeガス中で放電する。

■ レイリー散乱光

物質に光を照射した際、入射光と同じ波長で散乱される光のひとつ。

■ ラマン散乱光

物質に光を照射し、散乱された光の波長の多くは入射光と同じ波長の光(レイリー散乱光)であるが、散乱された光の中でも入射光と異なる波長の光。

■ ラマンスペクトル

ラマン散乱光を分光し、縦軸を散乱強度、横軸を波長にしてプロットしたスペクトル。
蛍光検出器では水のラマンスペクトルのS/Nを用いて、検出器の感度の指標とする。

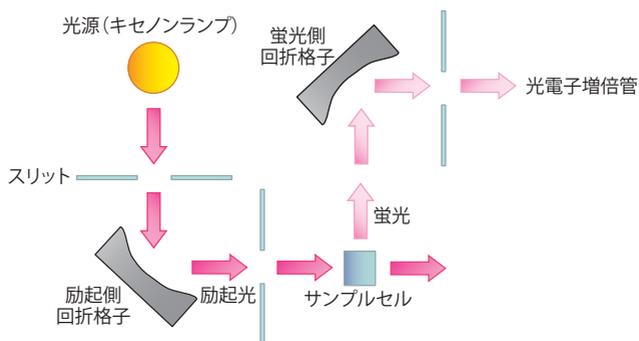


図25 蛍光検出器の内部図

4-4 示差屈折率検出器 (RID)

■ フローセル (サンプルセル)

試料と移動相が通過するセル(図26)。

■ リファレンスセル

フローセルと同じ溶媒、つまり、移動相を封入しておくセル(図26)。

■ バランス

リファレンスセルとフローセルの両方の流路を移動相で置換した後、ベースラインを安定させるために光学的にバランスを調整するための機能。

■ ポラリティ

示差屈折率検出器における検出の極性を設定するパラメータ。

目的成分の屈折率が移動相より大きい場合、正 (+) 側にピークを検出する。

■ 重量応答

検出器の応答がセル中に存在する成分の重量に依存すること。

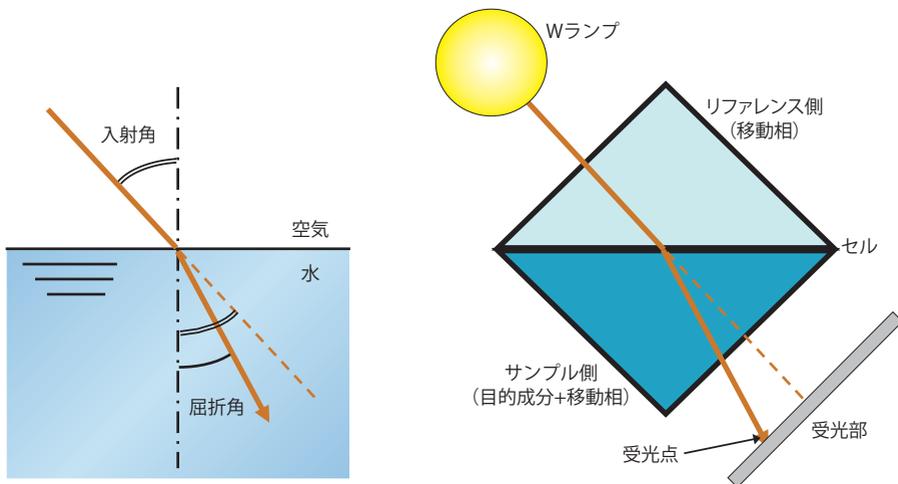


図26 示差屈折率検出器の原理

■ ユニバーサル検出器

多くの物質に対する万能検出器。物質に対する特異性はない(選択性がない)。一般にUV吸収をもたない化合物の検出などに用いられる。

RIDの他、ELSDなどが当てはまる。

■ 溶存酸素

溶液中に存在する酸素。

極性溶媒よりも非極性溶媒を分析に使用している場合に、空気が溶け込みやすい性質を持つ。

示差屈折率検出器使用時には、溶存酸素ピークが検出される。

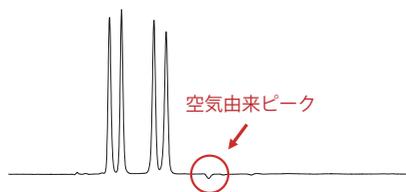


図27 溶存酸素ピーク

■ RIDによる高分子化合物の分析

合成高分子化合物やテルペノイドやフラボノイドなどの天然高分子はUV吸収が乏しい成分が多いため、RIDによる検出が適していることが多い。

一般にサイズ排除クロマトグラフィー(→参考:P.25 サイズ排除クロマトグラフィー)によって、分子量分布を計算するためには検出器にRIDを用いる。

■ RIDによる糖分析

RIDではグラジエント溶離が適用できないため、アイソクラティック溶離法のみで分離する必要がある。

親水性相互作用クロマトグラフィー(HILIC→参考:P.25 親水性相互作用クロマトグラフィー)による糖分析においては、三糖以上の糖類については保持が強いため、単糖との一斉分析は困難になる。

分離にはアミノカラム(NH₂カラム)をはじめとした親水性相互作用クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、配位子交換クロマトグラフィーが用いられる。

4-5 蒸発光散乱検出器 (ELSD)

■ ネブライザ

カラム溶出液を微細な液滴にするための部品(図28②)。

ネブライザガスとして窒素や空気を使用する。

■ ドリフトチューブ

微細液滴を含むガスが通過する管。

ドリフトチューブ内は加熱されているため、移動相成分や揮発性の高い物質がこの管の中で気化される。

不揮発性の化合物は、微粒子の状態のままドリフトチューブを通過する(図28③)。

■ 散乱光

微粒子となったサンプル中の不揮発性化合物と衝突し、散乱した光。

不揮発性化合物の濃度が高いほど散乱光は大きくなる。

■ ELSDで使用可能な移動相

加熱により蒸発する溶液。

ギ酸、酢酸、ギ酸アンモニウム、酢酸アンモニウムの水溶液の他、メタノール、アセトニトリル、THF(安定剤不含)、クロロホルムなどの有機溶媒を対象とする。

加熱しても気化しないりん酸、くえん酸、ほう酸などの水溶液、あるいはそれらを用いた緩衝液はELSD使用時に移動相として使用できない。

LC-MSに使用できる移動相はELSDにも適用できる。

■ 指数応答性検量線 (両対数プロット)

ELSDでは濃度に対して、直線的な応答が得られるわけではない。

散乱光の強度は微粒子の量に対し、べき乗関数の関係にある。

この関係を基に濃度と応答(強度)の両方を対数軸にして作成された検量線は直線性がある。

①HPLCで分離

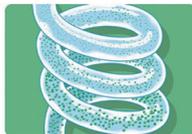


②ネブライズ



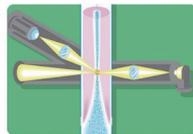
ガス流を利用して、移動相を微小な液滴にして噴霧する

③移動相の蒸発



液滴が加温されたドリフトチューブに導かれ移動相が蒸発して分析対象成分が乾燥、微粒子化する

④検出



ドリフトチューブから出てきた微粒子に当たった光の散乱光を検出する

分析の流れ

図28 蒸発光散乱検出器 (ELSD) の検出原理

■ ブリード

カラム固定相からの分解物や汚れの溶出により生成されるバックグラウンドシグナル。

ODSカラムの場合、一般にオクタデシル(C18)基の化学結合やエンドキャッピング処理が弱いとブリードが大きくなる傾向がある。

■ ELSDによる糖類の分析

アミノカラムによるグラジエント溶離が適用できる。

グラジエント溶離が適用できないRIDでは困難であった単糖、オリゴ糖の一斉分析が可能となる。

■ ELSDによる脂質の分析

脂質は薬品、食品などの分野で重要な役割を担う物質。

揮発性の低いりん脂質、糖脂質、中性脂肪、ステロールエステル(コレステロール)などが脂質類に該当する。

UV検出器では検出が困難で、RIDでは感度が低いため、ELSDが適用される。

■ ELSDによる界面活性剤の分析

界面活性剤はイオン性界面活性剤と非イオン性の界面活性剤に分類することができる。

ひとつの分子内に親水基と疎水基を持つという共通の特性がある界面活性剤には、UV吸収をもたないものが多く、検出にはRIDがよく用いられていたが、検出器としての安定性やグラジエント溶離可能という点ではELSDが優れている。

■ ELSDによる高分子化合物の分析

合成高分子化合物や天然高分子化合物はUV吸収が乏しいため、ELSDによる分析が適している。

ただし、分子量分布計算においては重量に対して検出器の応答が直線的でないため、ELSDは適用できない。

4-6 電気伝導度検出器 (CDD)

■ 伝導率・伝導度

電気の通しやすさを示す。
伝導度が高いほど、イオン性化合物の濃度が高いことを意味する。

■ 電気伝導度検出器 (導電率計・導電率検出器)

イオン性化合物の電気の流れやすさを利用した検出器(図29)。

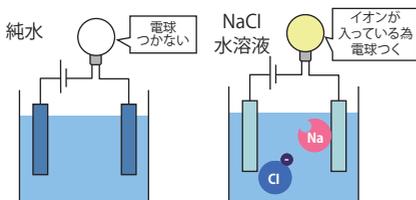


図29 電気伝導度検出器の原理

■ イオンクロマトグラフィー

イオンを分離検出するHPLC。JIS K0127で定義されている。

■ 溶離液 (類:移動相)

カラムに保持されている成分を展開、溶出させる移動相として用いる液体。

■ サプレッサ

溶離液の組成を変化させて電気伝導度を下げ、ノイズの発生を小さくするために用いられるデバイスまたはシステム(図30)。カラムと検出器の間に取り付ける。

一般に溶離液の電気伝導度は高く、ベースラインノイズの原因となる。

■ 除去液 (再生液)

サプレッサを動作させるために必要な水溶液。サプレッサの方式により呼び名が異なる。イオン交換樹脂タイプでは再生液、イオン交換膜を使用する方式では除去液と呼ばれている。陰イオン分析では溶離液として炭酸ナトリウム、水酸化カリウムなどが使用されるが、サプレッサにおいて陽イオンであるナトリウム、カリウムを一時的にトラップ、もしくはイオン交換膜を介して連続的に系外に排出する。

■ 電気透析式

溶離液中の陽イオンを、陽イオン交換膜を介して除去するサプレッサにおいて、膜の外側に配置した電極に通電することで電極近傍の水を電気分解して水素イオンを生成し、同時に、電界による電位差を用いてイオンの除去を行うもの(図31)。

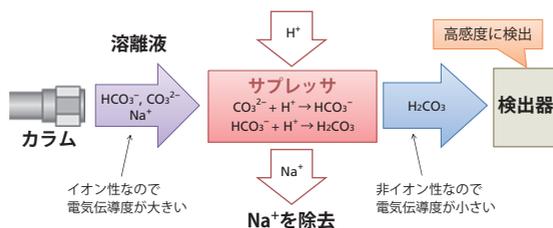


図30 サプレッサの原理

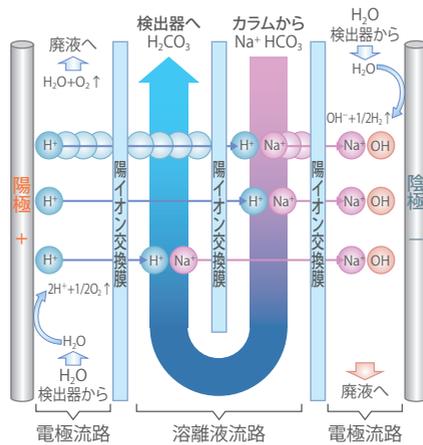


図31 電気透析式サプレッサ

■ 電気化学的再生方式 (類:化学的再生方式)

2本のサプレッサカートリッジを逐次切り換えて使用するサプレッサ固有の再生方式。イオン交換樹脂にトラップされた陽イオンを水の電気分解で生成する水素イオンで洗い流す方式。検出器出口からの溶出液をもう一方のサプレッサカートリッジに通液し、カートリッジ両端の電極に通電することで移動相中の水を電気分解し、再生液として使用する(図32)。

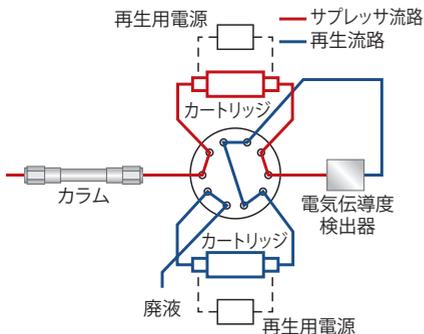


図32 電気化学的再生方式

■ 化学的再生方式 (類:電気化学的再生方式)

サプレッサの動作(再生または除去)に必要なとされる水素イオンの供給を硫酸水溶液で行うもの。

■ ノンサプレッサ方式 (⇔サプレッサ方式)

電気伝導度検出器を用いたイオンクロマトグラフィーにおいて、カラムに電気伝導度検出器を直結する検出方法。サプレッサを使用しないためノンサプレッサ方式と呼ばれている。

5 カラム

■ カラム

クロマトグラフィーにおける分離の場。分析の目的に応じ、最適な分離モードを選択する。

■ ガードカラム

分析カラムを保護するカラム。一般に分析カラムと同じ固定相がついた同種の充填剤が充填されている。通常、分析カラムの直前に付ける。主に、分析カラムが高価な場合や分析カラムの洗浄が難しい場合に使用される。イオン交換クロマトグラフィーやイオン排除クロマトグラフィーで使用されることが多い。

■ HPLC用カラムの充填剤

主にはシリカゲルやポリマー樹脂の粒子に官能基を化学修飾させたもの。これをカラムに充填する。

■ 全多孔性充填剤 (⇔表面多孔性充填剤)

粒子全体に細孔のある充填剤。細孔の中に分離の場が存在する。粒子径および細孔径のラインナップは多岐に渡り、多くのカラムに用いられている。

■ シリカカラム

官能基を化学修飾させたシリカゲル粒子を充填したカラム。代表例としてC18基をシリカゲルに修飾させたODSが挙げられる。ポリマーカラムと比較し、耐圧性に優れており、理論段数が高いという特長があるが、pH6以上の移動相や試料の注入により、シリカゲルが加水分解しカラムの劣化が起こりやすくなる。

■ ポリマーカラム

官能基を化学修飾させたポリマー樹脂を充填したカラム。代表例としてカルボキシル(COO)基や第四級アンモニウム(NR₄)基をポリマー樹脂に修飾したイオン交換カラムが挙げられる。シリカカラムと比較し、高pHの移動相や試料溶媒に強く、高温での耐久性は高いが、高圧での耐久性は低い。また、一般にシリカカラムよりも高価。イオン交換、サイズ排除、イオン排除、配位子交換で適用される。

■ ハイブリッドカラム

炭素鎖による架橋を施したシリカゲルを充填剤に用いたカラム。シリカカラムの弱点である高pHの溶液での耐久性を強化している。

■ ペリキュラー型カラム

硬いコアの表面を分離の場とする充填剤を使用したカラム。物質移動に伴う拡散が小さいため、同じ粒子径の全多孔性カラムよりも高線速度での性能低下が小さく、高速分析に適している。一方、構造上、試料の負荷量(注入量)は小さくなる。

■ モノリスカラム

共連続体構造の一体型充填剤を持つ液体クロマトグラフィー用カラム。骨格内の細孔(メソ孔)と骨格自身が形成するマクロサイズの連通孔を持つ。カラム内の空隙率が高いため、高流量での移動相送液にかかる背圧は、全多孔性充填剤のカラムよりも低く、線速度向上による高速化が可能。

■ コンベンショナルカラム (⇔高速分析用カラム)

カラム圧20 MPa以下で使用する高圧仕様でないカラム。

■ 高速分析用カラム (⇔コンベンショナルカラム)

カラム圧20 MPa以上でも使用できる高圧仕様のカラム。ペリキュラー型カラムや粒子径2 μm程度の全多孔性充填剤を使用したカラムが用いられる。

■ 逆相クロマトグラフィー (RP)

疎水性相互作用を利用した分離方法。ODSといわれるC18基を修飾したシリカゲルを充填したカラムは逆相クロマトグラフィーの代表例である。オクチル(C8)基など炭素鎖が少ないものほど、疎水性化合物の保持が弱い。その他、フェニル基などを修飾したものもある。

■ 順相クロマトグラフィー (類:親水性相互作用クロマトグラフィー)

親水性相互作用を利用した分離方法。ここでは特にヘキサンなどの疎水性の高い移動相と親水性の高い固定相を使う組み合わせを指す。カラムには化学修飾されていないシリカゲルや親水性の官能基が修飾されているシリカゲルを充填剤として用いる。逆相クロマトグラフィーと対をなす性質であるため、逆相クロマトグラフィーで溶出できない成分の分離に用いることがある。

■ 親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC)

アセトニトリルと水のような親水性の高い移動相を使用した逆相クロマトグラフィーの反対の性質を持つ分離方法。逆相クロマトグラフィーで保持しない成分(糖や核酸など)の分析に用いる。アミノ基やアミド基を化学修飾した充填剤がカラムに使用される。

■ イオン交換クロマトグラフィー

静電的な相互作用を利用した分離方法。正に荷電している陽イオンを対象とする場合には、陰イオンを化学修飾した陽イオン交換クロマトグラフィーのカラムを、負に荷電している陰イオンを対象とする場合には、陽イオンを化学修飾した陰イオン交換クロマトグラフィーのカラムを使用する。溶離液には緩衝液を使用し、有機溶媒はあまり使用しない。

■ サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)

高分子化合物のサイズ(溶解状態での大きさ)による分離方法。サイズが大きなものほど早く溶出する。THF、クロロホルムなど非水系溶離液を用いる高分子を対象にしたサイズ排除クロマトグラフィー(GPC)、水系溶離液を用いる水溶性高分子を対象にしたサイズ排除クロマトグラフィー(GFC)と言われる。GPCで分子量分布計算する場合は校正曲線をポリスチレンで、GFCで分子量分布計算する場合はブルランで作成することが多い。

■ イオン排除クロマトグラフィー

電荷を持っている成分と固定相上の官能基のイオン同士の反発力を利用した分離方法。主に有機酸などの弱酸の分離に用いられる。pKaが低い酸ほど溶出が早く、pKaがやや高い酸や疎水性官能基を持つ酸ほど溶出が遅い。

■ キラルクロマトグラフィー

光学異性体を分離するための分離方法。製薬分野で使用されることが多い。光学活性をもった官能基を結合したシリカゲル粒子やポリマー樹脂の粒子を充填剤として使用する。

■ 配位子交換クロマトグラフィー

金属イオンを固定吸着させたスルホン化ポリマー樹脂を充填剤として使用する分離方法。金属イオンと対象成分の錯体形成能の差を利用して分離する。主に糖や糖アルコールの分析に用いられる。移動相には水を用いるが、対象成分と固定相との間で錯形成を促進させるためにカラム温度を高温にする必要がある。

おことわり

- 本書の著作権は、株式会社島津製作所が所有しています。したがって、当社の許可なく内容の一部または全部を転載・複製することはできません。
- 本書の内容は、改良のため予告なく変更することがあります。
- 本書の内容は、作成にあたり万全を期しておりますが、万一、誤りや記載もれなどが発見されても、ただちに修正できないことがあります。
- 本書の内容による運用結果の影響に関しては、責任を負いかねますのでご了承ください。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部 604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1

東京支社 101-8448 東京都千代田区神田錦町1丁目3
(03)3219-(官公庁担当) 5631・(大学担当) 5616・(会社担当) 5622
関西支社 530-0012 大阪市北区芝田1丁目1-4 阪急ターミナルビル14階
(06)6373-(官公庁・大学担当) 6541・(会社担当) 6556
札幌支店 060-0807 札幌市北区北七条西2丁目8-1 札幌北ビル9階 (011)700-6605
東北支店 980-0021 仙台市青葉区中央2丁目9-27 プライムスクエア広瀬通12階 (022)221-6231
郡山営業所 963-8877 郡山市堂前町6-7 郡山アコク生命ビル2階 (024)939-3790
つくば支店 305-0031 つくば市吾妻3丁目17-1
(029)851-(官公庁・大学担当) 8511・(会社担当) 8515
北関東支店 330-0843 さいたま市大宮区吉敷町1-41 明治安田生命大宮吉敷町ビル8階
(048)646-(官公庁・大学担当) 0095・(会社担当) 0081
横浜支店 220-0004 横浜西区北幸2丁目8-29 東武横浜第3ビル7階
(045)311-(官公庁・大学担当) 4106・(会社担当) 4615
静岡支店 422-8062 静岡市駿河区福川12丁目1-1 伊豆静岡駅南ビル2階 (054)285-0124

名古屋支店 450-0001 名古屋市中村区郡古野1丁目47-1 名古屋国際センタービル19階
(052)565-(官公庁・大学担当) 7521・(会社担当) 7531
京都支店 604-8445 京都市中京区西ノ京徳大寺町1
(075)823-(官公庁・大学担当) 1604・(会社担当) 1603
神戸支店 650-0033 神戸市中央区江戸町9-3 栄光ビル9階 (078)331-9665
岡山営業所 700-0826 岡山市北区磨屋町3-10 岡山ニューシティビル6階 (086)221-2511
四国支店 760-0017 高松市番町1丁目6-1 高松NKBビル9階 (087)823-6623
広島支店 732-0057 広島市東区二葉の里3丁目5-7 GRANODE広島5階 (082)236-9652
九州支店 812-0039 福岡市博多区冷泉町4-20 島津博多ビル4階
(092)283-(官公庁・大学担当) 3332・(会社担当) 3334

島津コーンセンター (操作・分析に関する電話相談窓口)  0120-131691
伊豆電話所: (075)813-1691

<https://www.an.shimadzu.co.jp/>