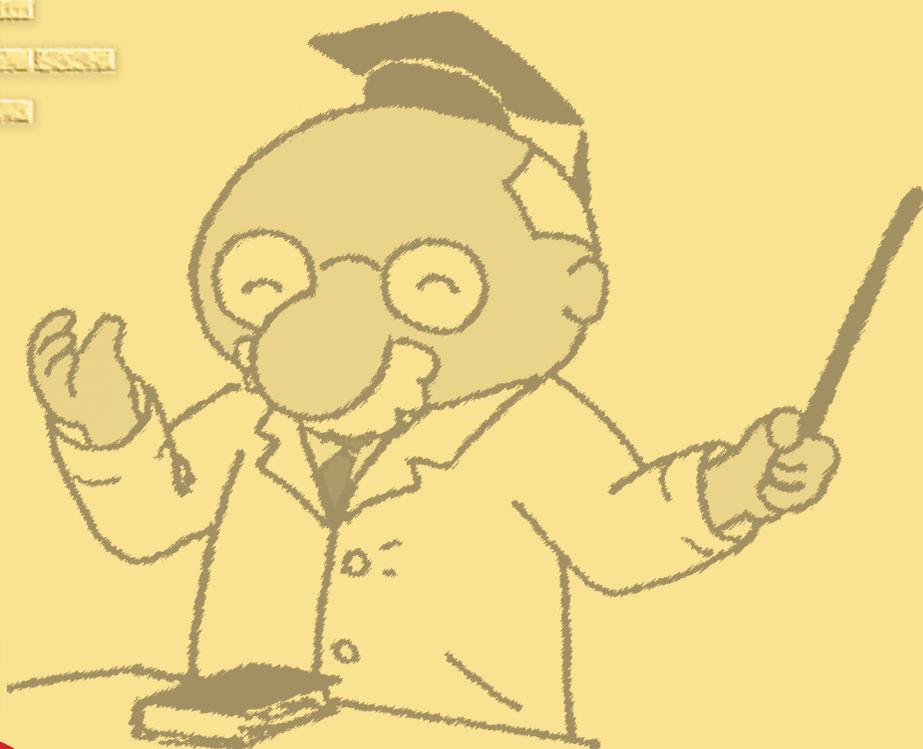


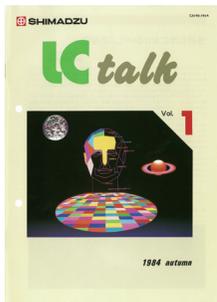
LC talk

特集号 “HPLC入門 – part 2”



2015

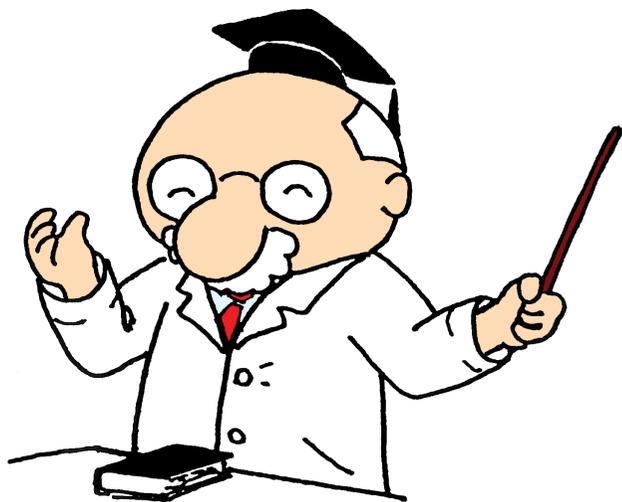
創刊30周年記念



1984年 LCtalk vol.1
(創刊号)



2004年 LCtalk
Special Issue VII
(創刊 20周年記念号)



平素は **LCtalk** 誌をご愛読いただきまして、誠にありがとうございます。
LCtalk 誌は、お陰様で昨年秋に創刊 30 周年を迎えることができました。これもひとえに読者の皆様方の温かいご支援の賜物であり、関係者一同、心より御礼申し上げます。

この創刊 30 周年を記念して、2015 年春号を「Special Issue IX 特集号 “HPLC 入門— part 2”」としてお届けさせていただきます。本号では、既刊 **LCtalk** 誌の「入門」、「in the LAB」から 19 編を選び、内容をアップデートして掲載しております。保存版として、ご活用いただければ幸いです。

今後とも、**LCtalk** 誌をどうぞよろしくお願い申し上げます。

2015 年 4 月

“**LC talk club**” 事務局



目次

内 容	ページ
1. 分離度のはなし～その 1 (Vol.81 P.8 )	4
2. 分離度のはなし～その 2 (Vol.82 P.8 )	5
3. 国際単位系 (SI) のはなし (Vol.84 P.8 )	6
4. 理論段数とシンメトリー係数のはなし (Vol.85 P.9 )	7
5. HPLC で用いる基本用語のはなし (Vol.88 P.8 )	8
6. 続・HPLC で用いる基本用語のはなし (Vol.89 P.3 )	9
7. コアシェル充填剤のはなし (Vol.87 P.8 )	10
8. シリカゲル充填剤に関する基本用語のはなし (Vol.91 P.3 )	11
9. イオン排除クロマトグラフィーのはなし (Vol.59 P.8 )	12
10. HILIC のはなし～その 1 (Vol.70 P.7 )	13
11. HILIC のはなし～その 2 (Vol.71 P.8-9 )	14
12. 逆相クロマトグラフィーと移動相 pH のはなし (Vol.80 P.8 )	16
13. グラジエント溶離のはなし (Vol.93 P.8 )	17
14. リサイクル分取のはなし～その 1 (Vol.76 P.8 )	18
15. リサイクル分取のはなし～その 2 (Vol.77 P.8 )	19
16. 非直線的な応答を与える検出の事例 ・・・吸光光度検出と蒸発光散乱検出における例 (Vol.75 P.4-5 )	20
17. 超高速 LC のためのデータ処理パラメータの基本設定 (Vol.78 P.4-5 )	22
18. このピークの形、おかしいぞ！ピーク形状の異常 (Vol.92 P.4-5 )	24
19. 可燃性有機溶媒使用時の静電気による引火事故にご注意を・・・ (Vol.73 P.4-5 )	26

分離度のはなし～その1

(LCtalk Vol.81 Introductory より)

二つのピークの相互分離状態を数値化して客観的に評価するための指標に「分離度」があります。今回と次回は、分離度に関するおはなしです。

● 分離度とは？

分離度 (Resolution, R または R_s) は、あるピークが隣接するピークからどの程度分離しているかを示すものです。今、図 1 に示す 2 つのピークがある時、分離度は (1) 式あるいは (2) 式のように表されます。

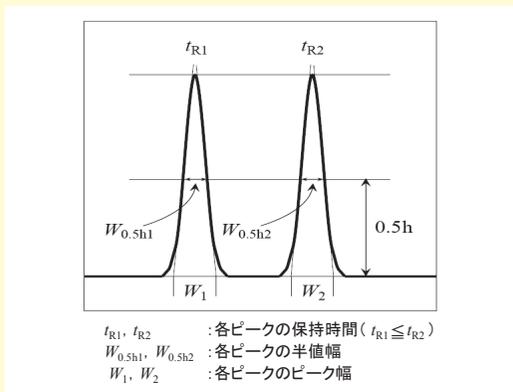


図 1 隣接する 2 つのピーク

$$R = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{1}{2}(W_1 + W_2)} \quad \dots (1)$$

$$R = 1.18 \times \left(\frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{0.5h1} + W_{0.5h2}} \right) \quad \dots (2)$$

(1) 式からは、分離度が 2 つのピークの保持時間の差を各ピーク幅の平均で除したものであることがわかります。ガウス分布ピークでは、ピーク幅 $W = 4\sigma$ (σ : 標準偏差)、ピーク半値幅 $W_{0.5h} = 2.354\sigma$ ですから、(1) 式より (2) 式が導けます。日本薬局方および JIS 高速液体クロマトグラフィー通則では、分離度は (2) 式で定義されています。

● 分離度とピークの間隔状態

分離度は、「0.8」、「1.0」、「3.0」などといった数値で表されますが、では分離度が示す数値と実際のピークの間隔状態はどのようなものなのでしょうか？ 分離度が「1.0」の場合、2 つのピークがガウス分布でありピーク高さ、ピーク幅が等しいとするなら、(1) 式より保持時

間の差が「1.0W」すなわち「 $1.0 \times 4\sigma = 4\sigma$ 」となります。ガウス分布では、 4σ の中に 95.4 % が含まれますので、これは互いに 2.3 % [(100 % - 95.4 %) / 2] が重なり合った状態 (谷間に垂線を引くと 2.3 % が相手ピーク側にはみ出した状態) ということになります。同様に分離度「1.5」では、保持時間の差が「 $1.5 \times 4\sigma = 6\sigma$ 」なので、重なりは 0.15 % [(100 % - 99.7 %) / 2] となります (図 2)。

なお、日本薬局方においてピークの完全分離とは、「分離度 1.5 以上を意味する」とされています。

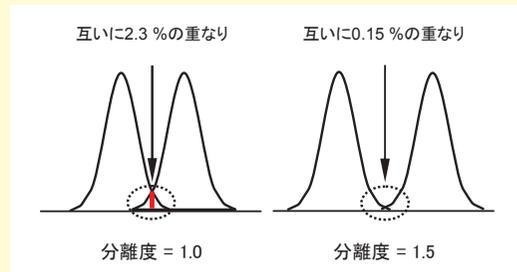


図 2 分離度と分離状態

● 分離度と分離係数、保持係数、理論段数

2 つのピークの間隔状態を評価する指標には、分離度他に分離係数 (Separation factor, α) があります。分離係数は、保持係数 (Retention factor, k) の比として (3) 式のように定義されます。

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{t_{R2} - t_0}{t_{R1} - t_0} \quad \dots (3)$$

(t_0 : ホールドアップタイム)

分離度は、分離係数、保持係数および理論段数 (N) を用いて、(4) 式のように表すことができます。

$$R = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k}{1 + k} \right) \quad \dots (4)$$

次回は、(4) 式を基に分離の最適化についてお話ししたいと思います。それまで、(4) 式の導き方を考えておいてください。

(MK)

[参考文献]

- 1) 第十六改正日本薬局方
- 2) JIS K0124: 2011 高速液体クロマトグラフィー通則

分離度のはなし～その2

(LCtalk Vol.82 Introductory より)

前回は、二つのピークの相互分離を示す指標として、「分離度」について解説しました。今回は、分離度と分離係数、保持係数、理論段数との関係を基にした、分離の最適化についてのおはなしです。

● 分離度と理論段数、分離係数、保持係数との関係式

分離度 (R) と理論段数 (N)、分離係数 (α)、保持係数 (k)、との関係は、(1) 式で表すことができます。(ただし、二つのピークのピーク幅が等しく、 k は後ろのピークの保持係数とします。)

$$R = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k}{1 + k} \right) \dots (1)$$

では、分離度の向上に、理論段数、分離係数、保持係数が具体的にどのように寄与するのでしょうか？(1) 式を基に考えてみましょう。

● 理論段数の寄与

(1) 式より、分離度は理論段数の平方根に比例しますので、理論段数が2倍では分離度は $\sqrt{2}=1.41$ 倍に、また4倍では $\sqrt{4}=2$ 倍になります。

今、理論段数 10,000 段のカラムを用いた時、2本のピークの見分度度が「0.8」であったとします。分析カラムを変更して、分離度を「1.5」(完全分離)に向上させるためには、理論段数をいくらにすればよいのでしょうか？この場合、分離度を $1.5/0.8=1.9$ 倍にすることになりますので、分離係数、保持係数が変わらないとすると、理論段数は $1.9^2=3.6$ 倍、すなわち 36,000 段必要であることがわかります(図1)。理論段数を高めるには、同じ充填剤ではカラム長さを長くすればよいのですが、この例では長さを何と3.6倍にもしなければなりません。

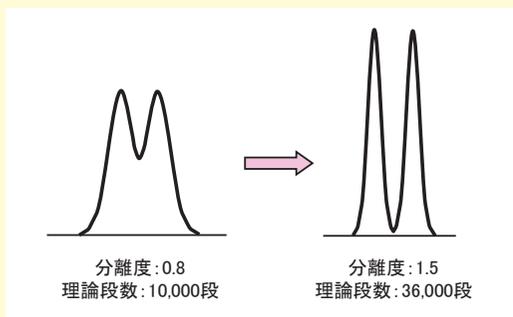


図1 理論段数と分離度

しかし最近では、充填剤粒子径が $2 \mu\text{m}$ 以下のカラムを用いた超高速 LC (UHPLC) により、同じカラム長さでもより高い理論段数が得られるようになってきました。ただし、この場合、カラム圧が高くなるため、高耐圧な HPLC 装置が必要となります。

● 分離係数の寄与

(1) 式における分離係数が分離度に与える影響、すなわち α と $(\alpha - 1) / \alpha$ の関係は、図2・左のようになります。

分離係数は2本のピークの保持係数の比であり、充填剤固定相、移動相 pH (イオン性分析種の場合)、移動相有機溶媒の種類、カラム温度などの条件により変化します。図2より、分離係数は「1.2」程度までほぼ直線的に分離度向上に寄与することがわかります。前出の例において、分離度「0.8」での分離係数を「1.1」とすると、分離度「1.5」を得るには分離係数は「1.2」程度にすればよく、効率的な分離度向上が可能です。ただし、条件を最適化するための検討時間が必要です。

● 保持係数の寄与

分離係数と同様に、(1) 式における k と $k/(1+k)$ の関係は、図2・右のようになります。

保持係数はより溶出力の小さい移動相に変更すれば大きくできますので、例えば逆相クロマトグラフィーにおいては、有機溶媒比率を下げればよいことになります。しかし、図2・右のように、保持係数が分離度向上へ寄与するのは溶出が早いピークの場合であり、例えば保持係数を「3」から「9」にしても、分離度は1.2倍にしかならない反面、分析時間が長くなってしまいます。

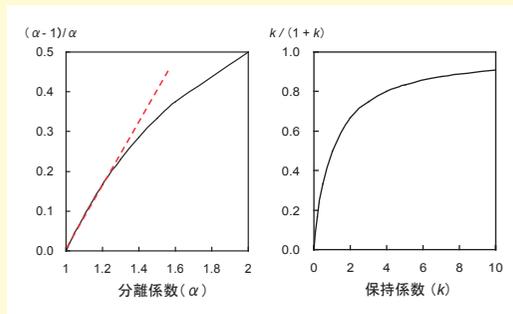


図2 分離係数、保持係数と分離度

以上のように、(1) 式から分離度向上のための基本的な考え方を理解することができます。基本はしっかりとつかみましょう！

(MK)

国際単位系 (SI) のはなし

(IC talk Vol.84 Introductory より)

今回は、量の表し方の基本である「国際単位系 (SI)」についてのおはなしです。

● 国際単位系 (SI) とは？

「国際単位系」(フランス語で "Le Système International d' Unités", 略して SI) は、1960年に国際度量衡総会で正式に採択された世界で共通に使われる単位系の国際ルールです。

SIは、基本量および基本単位、組立量および組立単位、SI接頭語で構成されています。

● SI基本単位

SIでは、7つの基本量と対応する基本単位が定められています。表1に、SI基本量と基本単位を示します。

表1 SI基本量と基本単位

基本量		基本単位	
名称	記号	名称	記号
長さ	l, h, r	メートル	m
質量	m	キログラム	kg
時間	t	秒	s
電流	I, i	アンペア	A
温度	T	ケルビン	K
物質량	n	モル	mol
光度	I_v	カンデラ	cd

● SI組立量と組立単位

すべての量は基本量を組み合わせた組立量として記述でき、基本単位の積で定義される組立単位として計量されます。表2に、SI組立量と組立単位の例を示します。

表2 SI組立量と組立単位の例

組立量		組立単位	
名称	記号	名称	記号
面積	A	平方メートル	m^2
体積	V	立方メートル	m^3
速さ、速度	v	メートル毎秒	m/s
質量密度	ρ	キログラム毎立方メートル	kg/m^3
濃度	c	モル毎立方メートル	mol/m^3
質量濃度	ρ, γ	キログラム毎立方メートル	kg/m^3

なお、SIでは22個の組立量に対して、固有の名称と単位記号が認められています。表3に、その一部を示します。

表3 固有の名称と記号をもつSI組立単位(一部)

組立量	組立単位の名称	単位記号	SI基本単位による表し方
平面角	ラジアン	rad	$m/m=1$
周波数	ヘルツ	Hz	s^{-1}
力	ニュートン	N	$m\ kg\ s^{-2}$
圧力、応力	パスカル	Pa	$N/m^2=m^{-1}\ kg\ s^{-2}$
電荷、電気量	クーロン	C	$s\ A$
セルシウス温度	セルシウス度	$^{\circ}C$	K

● SI接頭語

SI単位の大きさに比べて、はるかに大きい量や小さい量を表すために、表4に示す接頭語をSI単位と組み合わせる用いることが認められています。

表4 SI接頭語

乗数	名称	記号	乗数	名称	記号
10^1	デカ	da	10^{-1}	デシ	d
10^2	ヘクト	h	10^{-2}	センチ	c
10^3	キロ	k	10^{-3}	ミリ	m
10^6	メガ	M	10^{-6}	マイクロ	μ
10^9	ギガ	G	10^{-9}	ナノ	n
10^{12}	テラ	T	10^{-12}	ピコ	p
10^{15}	ペタ	P	10^{-15}	フェムト	f
10^{18}	エクサ	E	10^{-18}	アト	a
10^{21}	ゼタ	Z	10^{-21}	zepto	z
10^{24}	ヨタ	Y	10^{-24}	ヨクト	y

● 注意点

- ・ 数値と単位の間には空白を入れます。空白は数値と単位の積を表します。(例：10 MPa, 4.6 mm, 50 $^{\circ}C$)
- ・ 「リットル」、「分」は非SI単位ですが、SI単位との併用が認められています。「リットル」の単位記号は「L」または「l(Lの小文字)」「(L)を推奨」で、「ℓ」(斜体)は用いることができません。「分」の単位記号は「min」です。(例：1.0 mL/min, 20 mmol/L)
- ・ 「秒」を「s」ではなく、「sec」と表すのは認められていません。

以上、SIについて簡単に解説しましたが、詳しくは下のサイトをご参照ください。

(Mk)

[参考文献]

- 1) 独立行政法人 産業技術総合研究所 計量標準総合センター 監修、国際文書第8版(2006) 国際単位系 (SI) 日本語版 (<http://www.nmij.jp/library/units/si/>)

理論段数とシンメトリー係数のはなし

(LCtalk Vol.85 Introductory より)

カラムの性能を表わす大切な指標に、「理論段数」、「シンメトリー係数」があります。今回は、これら2つの指標に関するおはなしです。

● 理論段数とは？

理論段数 (theoretical plate number, N) は、カラム効率を表す指標の一つで、カラムの取扱説明書や検査成績書などを見ると記載されている数値です。理論段数は、段理論における段の数を表わしており、一般に数値が大きいほど鋭いピークとなり、効率が良いカラムと判断されます。

ガウス分布 (正規分布) において、理論段数は (1) 式で与えられます。

$$N = \left(\frac{t_R}{\sigma} \right)^2 \quad \dots (1)$$

ここで、 t_R は保持時間、 σ は標準偏差です。図1に示しますようにガウス分布においては、ピーク幅 $W = 4\sigma$ 、ピーク半値幅 $W_{0.5h} = 2.354\sigma$ という関係がありますので、これらを (1) 式に代入すると (2) 式、(3) 式が得られます。

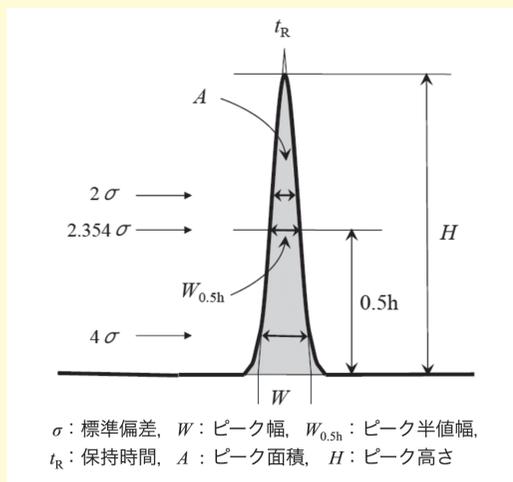


図1

$$N = 16 \times \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 \quad \dots (2)$$

$$N = 5.54 \times \left(\frac{t_R}{W_{0.5h}} \right)^2 \quad \dots (3)$$

また、理論段数はピーク面積 A とピーク高さ H から、(3) 式のように表わすこともできます。

$$N = 2\pi \times \left(\frac{t_R H}{A} \right)^2 \quad \dots (4)$$

「JIS K0124:2011 高速液体クロマトグラフィー通則」には (2) 式、(3) 式、(4) 式が掲載されていますが、一般には (3) 式がよく用いられています。

● シンメトリー係数とは？

シンメトリー係数 (symmetry factor, S) (テーリング係数とも呼ばれる) は、ピークの対称性の度合いを示す係数で、図2に基づき (5) 式で与えられます。

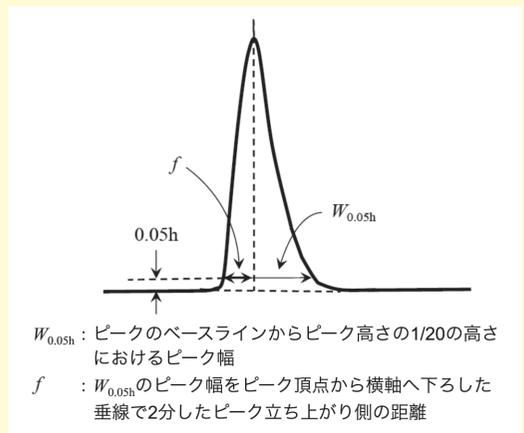


図2

$$S = \frac{W_{0.05h}}{2f} \quad \dots (5)$$

理論段数は、ピークがガウス分布であると見なして、カラム効率を表わします。一方、シンメトリー係数は、以下のようにピークがガウス分布ピークか、テーリングピークか、あるいはリーディングピークかを表わします。

- $S > 1$: テーリングピーク
- $S = 1$: ガウス分布ピーク (左右対称)
- $S < 1$: リーディングピーク

なお、理論段数とシンメトリー係数とも、分析種や分析条件によって変わることがありますので、注意する必要があります。

(MK)

【参考文献】

- 1) JIS K0124:2011 高速液体クロマトグラフィー通則
- 2) JIS K0214:2013 分析化学用語 (クロマトグラフィー部門)

HPLC で用いる基本用語のはなし

(LCtalk Vol.88 Introductory より)

HPLC では、いろいろな専門用語が用いられますが、日常的、慣用的に自分が使っている用語が本当に正式なのか・・・と言われるとちょっと自信がない場合があります。用語の統一は重要で、極端な場合、お互い違う意味で話をしている・・・などということも起こりかねません。今回は、HPLC で用いる基本用語のおはなしです。

● HPLC に関連する日本工業規格 (JIS)

HPLC 全般に関連する JIS には、次のものがあります。

- ・JIS K0124:2011 高速液体クロマトグラフィー通則
- ・JIS K0127:2013 イオンクロマトグラフィー通則
- ・JIS K0136:2015 高速液体クロマトグラフィー質量分析通則
- ・JIS K0214:2013 分析化学用語(クロマトグラフィー部門)

これらの JIS の中では用語が定義されており、基本的にはそこに記載されている用語を使えば JIS に準拠していることになります。用語は時代の流れとともに、新しくなったり、置き換えられたり、あるいは削除されたりします。現時点で、最新の用語を調べるには、2013 年 3 月に改正された上記「JIS K0214」を参照するのがよいでしょう。

以下に、気を付けておきたい基本用語のいくつかについて、「JIS K0214」をベースに解説します。

● クロマトグラフィー (chromatography), クロマトグラフ (chromatograph), クロマトグラム (chromatogram)

これらは、基本中の基本用語ですが、案外間違えて使われているケースがあります。

- ・クロマトグラフィー → 方法
- ・クロマトグラフ → 装置
- ・クロマトグラム → 結果の記録、図

例えば、「高速液体クロマトグラフィーにより、〇〇中の成分 A を定量した。装置には島津製作所製の高速液体クロマトグラフを用い、図に示すクロマトグラムが得られた。」というような使い分けになるわけです。なお、一昔前には、高速液体クロマトグラフを用いる分析 (法) ... の意味で、「高速液体クロマトグラフ分析 (法)」という表現もありましたが、現在では分析法を示す場合、高速液体クロマトグラフィーとなっています。

● クロマトグラフィー管 (chromatographic tube)

「クロマトグラフィーにおいて、充填剤を充填するための管」¹⁾ のことです。つまり・・・

カラム=クロマトグラフィー管+充填剤(固定相)

ということになります。クロマトグラフィー管はしばしば「空カラム」などと呼ばれることがありますが、JIS

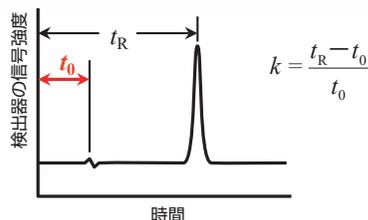
では「空 (から) カラムの用語を用いることは、望ましくない」¹⁾ と明記されています。

● 分析種 (analyte)

英語の「analyte」に対応する日本語で、「分析試料又は試料溶液中の被検査成分。分析対象成分ともいう」¹⁾ と定義されています。日常的には、分析目的成分などとも呼ばれますが、JIS では明確に「分析種」という用語がありますので、この用語を用いるようにしましょう。

● ホールドアップタイム (holdup time)

保持係数 (k) の計算などに用いる「 t_0 」のことで、「試料導入時からカラムに保持されない成分のピークの頂点が現れるまでの時間」¹⁾ と定義されています。



k : 保持係数, t_R : 保持時間, t_0 : ホールドアップタイム

図1 t_0 と保持係数の計算

「 t_0 」に対しては、「ボイドタイム」や「デッドタイム」という言葉が用いられることもありますが、「ホールドアップタイム」の使用が推奨されています。また、これを容量で表す場合には、「ホールドアップボリューム (holdup volume)」を用います。

2013 年 3 月の「JIS K0214」改正では、多くの用語が新規収載されました。例えば、皆さんが最近よく目される以下の用語も、正式に定義されています。

- ・「超高速液体クロマトグラフィー」と略語である「UHPLC」
- ・「親水性相互作用クロマトグラフィー」と略語である「HILIC」
→LCtalk Vol.70, Vol.71 「入門」参照
- ・「包括的二次元クロマトグラフィー」と別称である「コンプリヘンシブ二次元クロマトグラフィー」
→LCtalk Vol.83 「入門」参照
- ・「コアシェル充填剤」
→LCtalk Vol.87 「入門」参照

なお、これら JIS は「日本工業標準調査会」の Web サイトから閲覧することができます。(MK)

[文献]

- 1) JIS K0214:2013 分析化学用語(クロマトグラフィー部門)

前号では、たくさんの方々から「続編」のご要望をいただきました。それなら・・・ということで、今回もHPLCで用いる基本用語についてのおはなしです。本内容は、2013年3月に改正された「JIS K0214:2013 分析化学用語(クロマトグラフィー部門)」に基づいています。

- サイズ排除クロマトグラフィー
(size exclusion chromatography, SEC)
ゲル浸透クロマトグラフィー
(gel permeation chromatography, GPC)
ゲルろ過クロマトグラフィー
(gel filtration chromatography, GFC)

「サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)」は、「固定相として非吸着性多孔質固体を用い、試料成分の分子の大きさによって分離を行うクロマトグラフィー」¹⁾と定義されています。

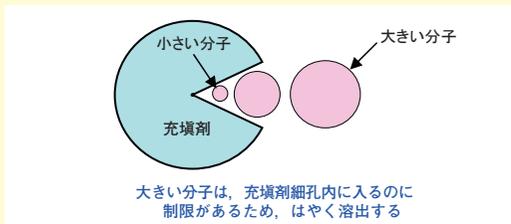


図1 SECのイメージ

SECは、HPLCにおける重要な分離モードのひとつですが、化学工業分野では「ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC)」, 生化学分野では「ゲルろ過クロマトグラフィー (GFC)」という用語も古くから用いられています。JISにおいては、これら用語はSECに含まれ、GPCは移動相に有機溶媒を用いる場合、GFCは移動相に水溶液を用いる場合と定義されています。分離モードの名称としては、SECを用いるのが一般的です。

- 紫外可視吸光度検出器
(ultraviolet-visible absorption detector)

いわゆる、UV 検出器あるいはUV-Vis 検出器の正式な名称です。「紫外可視」を省いた「吸光度検出器」も、別称としてJISに収載されています

- 対(たい)イオン(counter ion)
対(ついで)イオン(counter ion)

「対(たい)イオン」は、イオン交換分離に用いる言葉で、「イオン交換基についているイオン。イオン交換分離において、目的のイオンと同じ符号の電荷をもつイオン」¹⁾です。一方、「対(ついで)イオン」は、「対象とするイオン性の物質と逆の電荷をもち、イオン対を形成するイオン性の物質」¹⁾と定義されています。読み方の違いですが、イオン対(ついで)クロマトグラフィーで用いるのは、対(ついで)イオンですね。

- マトリックス(matrix)

「分析種以外の試料の構成物」¹⁾です。前処理に関連してよく使う言葉です。

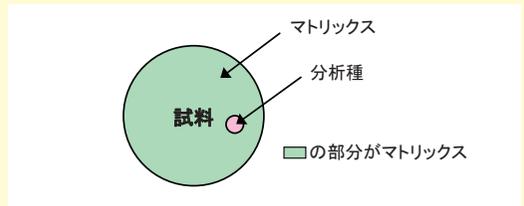


図2 マトリックスのイメージ

- リーディング(leading), テーリング(tailing)

「テーリング」というのは、図3のように「ピーク後部がすそを引いている現象」¹⁾です。「リーディング」は、この逆の現象です。リーディングとテーリングは、クロマトグラムを見ればある程度わかりますが、客観的に数値で表すにはどうすればよいでしょうか?これには、「シンメトリー係数(symmetry factor, S)」(図3)を用います。

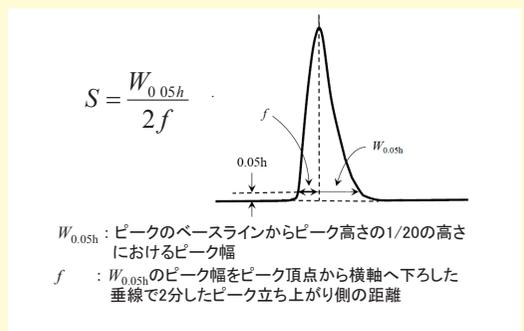


図3 シンメトリー係数(S)

$S > 1$: テーリングピーク, $S = 1$: ガウス分布ピーク(左右対称), $S < 1$: リーディングピークということになります。

- 理論段相当高さ
(height equivalent to a theoretical plate, H)
換算理論段相当高さ
(reduced height equivalent to a theoretical plate, h)

「理論段相当高さ」は、HETPと略され、「カラム効率を理論段1段に相当する長さで表すもの」¹⁾で、 $H = L / N$ (L : カラム長さ, N : 理論段数)となります。「換算理論段相当高さ」は、 H を充填剤粒子径で割ったものです。大文字か小文字で意味が変わってきますので、注意しましょう。

(Mk)

[文献]

1) JIS K0214:2013 分析化学用語(クロマトグラフィー部門)

コアシェル充填剤のはなし

(LCtalk Vol.87 Introductory より)

今回は、充填剤に関するおはなしです。HPLCの充填剤として主に用いられるのは、シリカゲルとポリマー基材ですが、機械的な強度が高い、様々な官能基が修飾しやすいという2つの利点により、シリカゲル基材が多く使用されています。特に、近年の高速化・高分離化に、このシリカゲル基材の微粒子化が大きく寄与しています。

高速・高分離カラムとしては、2 μm程度の微粒子充填カラムとモノリスタイプのカラムとがありますが、今回は微粒子充填剤の中で、最近注目度が高いコアシェル充填剤について、その構造と性能についてご紹介します。

●コアシェル充填剤の構造

図1に、コアシェル充填剤 Phenomenex 社製 "Kinetex" の構造を示します。



図1 コアシェル充填剤の構造

コアシェル充填剤は、細孔を持たない（ノンポラス）中心部の「核-コア (core)」と、その核に官能基を有した多孔質のシリカゲル層を化学的に結合させた「殻-シェル (shell)」の2つの部分から構成されています。「Kinetex」は、1.9 μmのコアと0.35 μmのシェルを持ち、直径は2.6 μmになります。

コアは無孔性であるため、比較的均一な粒子を作成することが可能です。その粒度分布は $< 1 \mu\text{m}$ であり、一般的な多孔性充填剤の1/4程度であるとの報告があります。その上に、均一なシェル層を4~9層重ねて多孔層とするため、粒子径はほぼ均一なものが形成されます。よって、コアシェル充填剤は多孔性充填剤よりも、粒度分布が狭く、これを充填したカラムからは高性能データが得られています。

●コアシェル充填剤の構造と溶質の物質移動について

次に、コアシェル充填剤と一般的に広く使用されている全多孔性充填剤との溶質の物質移動拡散の違いについて説明します。

図2上は、コアシェル充填剤を溶質が移動する様子を

模式的に示したものです。溶質はわずか0.35 μmのシェル部分のみに拡散しながら、官能基との相互作用を受け、移動していきます。

一方、図2下は全多孔性充填剤を溶質が移動する様子を示したものです。溶質は多孔性部分、充填剤の奥深く（模式図では充填剤中心部付近まで）浸透していくため、行路が複雑で長くなり、拡散が大きくなります。よって、結論的にはピークが広がることとなります。

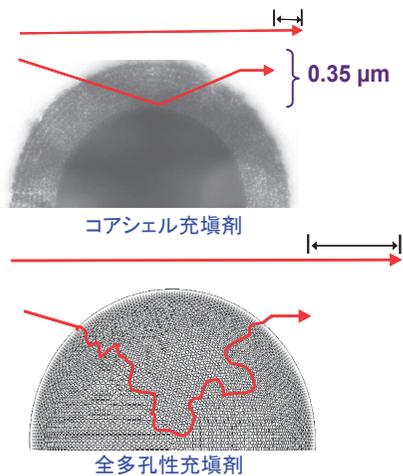


図2 溶質の物質移動拡散の違い

図3に、コアシェル充填剤と全多孔性充填剤の溶質との物質移動拡散とピークの広がりについての模式図を示します。この2.6 μmの「Kinetex」カラムは、粒子径の小さいサブ2 μmクラスの全多孔性充填剤カラムと同等の理論段性能を有していることがわかります。拡散の低減により、粒子径は大きくとも、十分な分離性能が得られるわけです。(Yo)

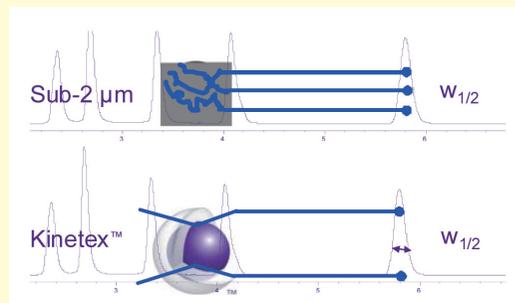


図3 物質移動拡散とピークの広がり

シリカゲル充填剤に関する 基本用語のはなし

(LCtalk Vol.91 Introductory より)

本号では、HPLCで用いる基本用語シリーズとして、シリカゲル充填剤に関連する用語を解説します。カラムの取扱説明書やHPLCに関する実用書などを見ていると、よく目にする言葉を集めてみました。

● シラノール基 (silanol group)

シリカゲルは、非晶質のけい酸重合体で、 $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ で表されます。シラノール基 ($\text{Si}-\text{OH}$) は、このシリカゲル表面に存在するもので、孤立 (isolated)、ビシナル (vicinal: 隣り合うシラノール基が水素結合している)、ジェミナル (geminal) の3つのタイプが知られています (図1)。シラノール基は、個々の状態などによって程度の差はありますが、一般に弱酸性を示します。

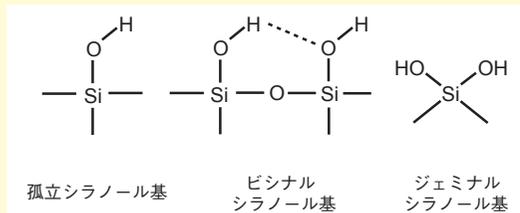


図1 シラノール基

シラノール基は、吸着クロマトグラフィーにおける吸着活性点であり、次に述べます化学結合による固定相官能基導入に不可欠な基です。

● 化学結合形シリカゲル (chemically bonded silica gel)

シリカゲルに、固定相官能基を化学結合 (共有結合) させた充填剤です。通常、シリカゲル表面のシラノール基に種々の官能基をもった有機シラン化合物を反応させて作ります (シリル化と呼びます)。逆相クロマトグラフィーで広く用いられる ODS は、シリカゲルに *n*-オクタデシルシリル (octadecyl silyl) 基を導入した充填剤の略称です。図2に、ODSの調製例を示します。

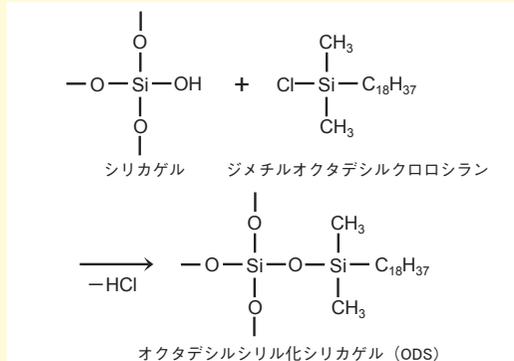


図2 ODSの調製例

● モノメリック固定相 (monomeric stationary phase) / ポリメリック固定相 (polymeric stationary phase)

化学結合形シリカゲルを調製する際、有機シランの反応性官能基が図1のように1個 (ここではCl基) の場合、1個のシラノール基と反応します。これをモノメリック固定相と呼びます。一方、反応性官能基が2個あるいは3個の場合、別のシラノール基との反応や有機シラン同士の間で起こります。こうしてできた固定相をポリメリック固定相と呼びます。合成条件により、化学結合相の様子が異なりますが、図3に3官能性有機シラン (オクタデシルトリクロロシラン) により調製された ODS の一例を示します。これら以外にも、さらにシリル基がつながっているもの、シリカゲルと3箇所まで結合しているものなどがあります。また、図1のようにシラノール基と1箇所まで結合しているモノメリックタイプが混在することもあります。(この場合、残り2個のCl基はOH基となります。)

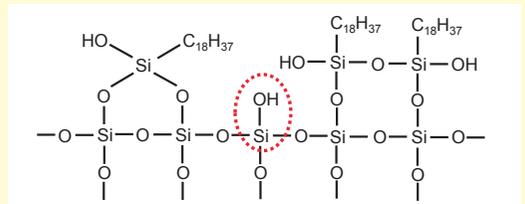


図3 3官能性有機シランにより調製された ODS の一例

一般に、モノメリック固定相は、合成が容易で、合成再現性も優れていますが、耐久性や保持力などに難点があります。一方、ポリメリック固定相は、合成の難易度は高いですが、合成条件によりいろいろな形で固定相官能基を導入することができます。また、保持力が強く、耐食性にも優れています。ただし、分析種によって適不適がありますので、一概にどちらのタイプがよいとは言えません。さらに、メーカーによる特性の違いもありますので、充填剤選択にあたっては、メーカーの技術資料やデータ例を参考にして、ある程度の試行錯誤が必要です。

● エンドキャッピング (endcapping)

化学結合形シリカゲルの調製においては、立体障害などにより、必ず未反応のシラノール基 (図3の赤い点線部分で、残存シラノール基と呼ぶ) が残ります。残存シラノール基は、分離にポジティブな影響を与えることもありますが、多くの場合、塩基性化合物のピークテーリングなどの原因となります。そこで、固定相官能基導入後、さらに残存シラノール基をシリル化します。この操作がエンドキャッピングです。エンドキャッピングを行っても完全に残存シラノール基をなくすことは困難ですが、各メーカーによりいろいろな工夫がなされています。(MK)

[参考文献]

1) JIS K 0214: 2013 分析化学用語(クロマトグラフィー部門)

イオン排除クロマトグラフィーのはなし

(LC talk Vol.59 Introductory より)

今回は、HPLCの分離モードのひとつである「イオン排除クロマトグラフィー (Ion Exclusion Chromatography)」についてお話しします。

● イオン排除クロマトグラフィーとは？

LC talk Vol.54 「有機酸の分析法」の中でもご紹介していますように、基本的にイオン性物質のための分離モードです。ただし、イオン交換クロマトグラフィーのように直接的に充填剤とのイオン交換作用で分離するモードではありません。この分離原理を有機酸（低級脂肪酸）分析を例にとり、以下に説明します。

● イオン排除クロマトグラフィーの原理

有機酸のイオン排除クロマトグラフィーでは、一般にポリスチレンなどの基材にH型スルホン酸基を導入した強酸性陽イオン交換樹脂が充填剤として用いられます。この充填剤表面は、スルホン酸基によって負電荷を帯びていることから、陰イオンは静電的排除 (Donnan 排除) を受けることになり、この斥力の度合いによって分離が起こるので

電荷が強い (pKa が小さい) イオン程この斥力を大きく受け、充填剤細孔内部に浸透できないため溶出がはやくなり、強酸ではほぼ完全に排除されて溶出されます。一方、有機酸のような弱酸では、電荷の大きさ (pKa) により、充填剤細孔内部にどれだけ浸透できるかが決まり、溶出時間の差 (分離) が生じます。

上記のことから、原理的に有機酸は、pKa の小さい順に溶出し、中性物質の溶出位置 (細孔に完全浸透する位置) にすべて溶出することになるのです。(図 1 参照)

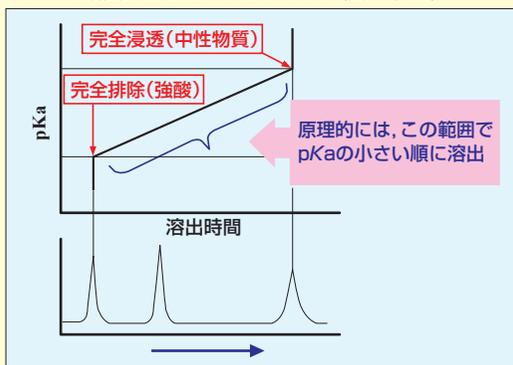


図 1 pKa と溶出時間

● イオン排除クロマトグラフィーによる有機酸の分離例

図 2 に、有機酸標準品 9 成分とりん酸の分離例を示します。各成分名の右側に pKa (pKa₁) を示していますが、上で述べたようにほぼ pKa の小さい順に溶出しています。…が、よく見ると一部の成分で pKa に対して溶出順序が入れ替わっていることがわかりますね。これはどうしてなのでしょう？

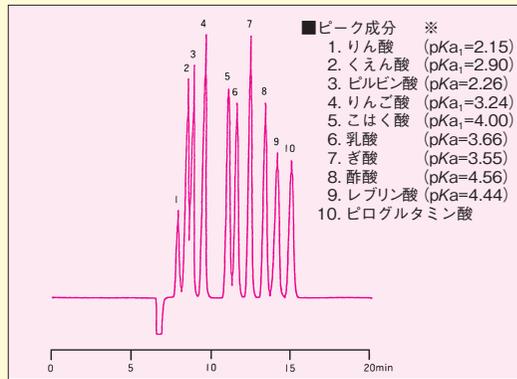


図 2 有機酸標準品とりん酸の分析

(※化学便覧基礎編改訂 4 版より)

● イオン排除クロマトグラフィーの落とし穴？

イオン排除クロマトグラフィーでは、充填剤基材としてポリスチレン (スチレンジビニルベンゼン共重合体) が一般的に用いられることを述べましたが、この樹脂には疎水性の性質があり、有機酸との間に若干ですが逆相クロマトグラフィーのような疎水性相互作用が働きます。

図 3 をご覧ください。脂肪鎖が長く 疎水性が強い成分程、溶出が遅くなるのがわかります。

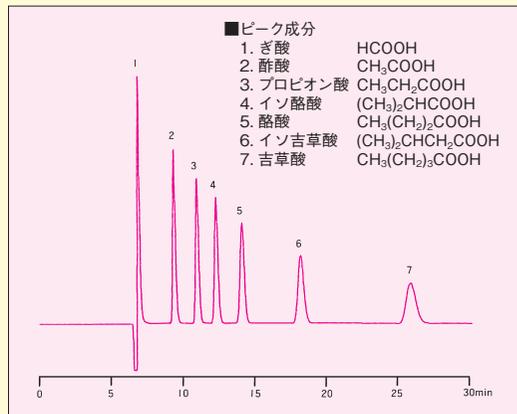


図 3 脂肪族 有機酸標準品の分析

有機酸と充填剤の間には、他の相互作用が働くこともあります。例えば、二重結合をもつ成分の場合、π電子同士で相互作用が働き、保持が強くなる傾向があります。炭素数が同じであるヘプタン酸と安息香酸を比較した場合、ベンゼン骨格を有する安息香酸の方が遥かに強く保持されます。(Nm)

HILIC のはなし～その1

(LCtalk Vol.70 Introductory より)

近年、HILIC と言う分離モードが注目されるようになってきています。これはアメリカの研究者 A.Alpert の論文 [*J.Chromatogr.*, **499**, 177 (1990)] において、初めて発表された名称で、**Hydrophilic Interaction Chromatography** の赤太字のところを省略して HILIC と称されています。日本語では、「親水性相互作用クロマトグラフィー」と紹介されています。彼はこの論文において、アスパラギン酸誘導体化合物を固定相に修飾したカラムと、水-アセトニトリル (ACN) 移動相を用い、アミノ酸、ペプチド、核酸、DNA の親水性化合物を分離しました。このカラムは彼自身が考案した特殊なものであったこと、アメリカ以外では入手しにくかったことなどにより、HILIC は発表当時は普及しませんでした。

その後、他のカラムでも応用できることが判明し、多くのアプリケーションが発表され、さらに、種々の HILIC カラムが近年上市されたのをきっかけに、今では、多くの親水性化合物の分離が試みられるようになってきました。HILIC が注目されるようになったのは、ここ数年のことなのです。

HILIC がこれほど注目されるようになった背景には、LC-MS の性能が安定し、容易に測定できるようになってきたことがあります。HILIC の移動相組成は逆相液体クロマトグラフィー (RPLC) と同様であることから、LC-MS への接続を容易にしていることも HILIC が注目されている最大の理由の一つです。

● HILIC の特徴は？

HPLC の分離モードにおいて主力は、RPLC で、約 80 % の割合で使用されていると言われています。しかしながら、糖やアミノ酸などの親水性化合物は十分に保持しないため、分離することが困難です。対して HILIC は、このような RPLC に保持のない親水性化合物をよく保持し分離することができます。

1975 年頃に、アミノカラムと水-ACN 系移動相を用いて糖を分離した報告が盛んにされていました。この当時は、順相液体クロマトグラフィー (NPLC) と報告されていました。現在では、この手法も HILIC に属すると考えられています。

HILIC の特徴とは、端的に言うと、RPLC とは逆の選択性をもっており、RPLC には保持されないような親水性化合物をよく保持する分離モードである、と言えます。では、もう少し具体的に HILIC を見ていくことにしましょう。

● HILIC で使用される固定相・移動相

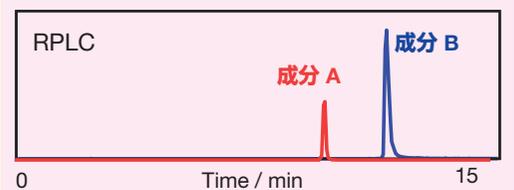
HILIC モードで使用される固定相は極性が高く、移動相には水と混和可能な有機溶媒が使用され、固定相の極性が移動相のそれよりも高いことが特徴です。

固定相の極性	>	移動相の極性
代表的な固定相		代表的な移動相
Silica, Amino, Amide, Sulfobetaine, Diol		ACN/ 水溶液 ≥ 7/3

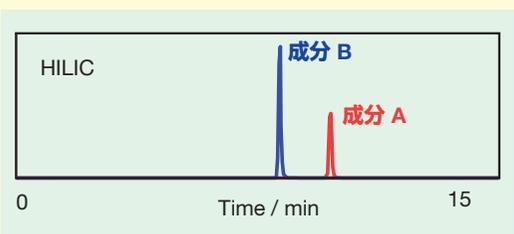
HILIC でも RPLC と同様にイソクラティック溶離、グラジエント溶離が使用できます。

● RPLC と HILIC の分離例の比較

下図に成分 A、B の RPLC 分離と HILIC 分離したクロマトグラムと分析条件を示します。RPLC は ACN 濃度を上げることで薬物を溶出しますが、HILIC は逆に ACN 濃度を下げることで溶出を行います。溶出順序が逆転、すなわち、選択性が逆であることが確認できます。



カラム：オクタデシルシリカ (ODS)
移動相：A, 0.2 % 酢酸水溶液 B, ACN
B 5 % → B 50 % (15 min グラジエント)



カラム：シリカカラム
移動相：A, 0.2 % 酢酸水溶液 B, ACN
B 90 % → B 60 % (15 min グラジエント)

次回は、引き続き HILIC 分離の詳細を見て行くことにしましょう。

(Yo)

HILIC のはなし～その2

(LC talk Vol.71 Introductory より)

この「HILICのはなし」では、最近注目されている分離モードである「HILIC」(Hydrophilic Interaction Chromatography, 親水性相互作用クロマトグラフィー)についてご紹介しています。前回の「HILICのはなし

その1」では、HILICの名称由来、HILICの特徴、HILICで使用される固定相・移動相、逆相液体クロマトグラフィー(RPLC)とHILICの分離例の比較についてご紹介しました。今回は、HILICの保持挙動について、RPLCと比較しながら考察して行くことにします。

● HILIC と RPLC の選択性の比較 (1)

図1に、トルエンとウラシルのHILICとRPLCによる選択性の違いを示します。

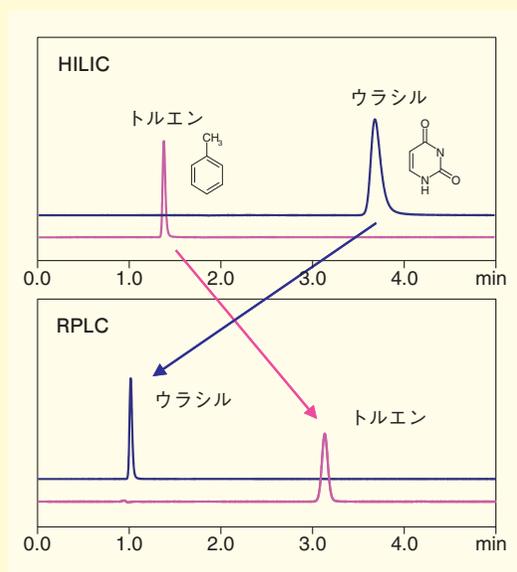


図1 トルエンとウラシルの選択性 (HILIC)

カラム：シリカカラム

移動相：アセトニトリル / 水 / 酢酸 = 99/1/0.2 (RPLC)

カラム：オクタデシルシリカ (ODS)

移動相：アセトニトリル / 水 / 酢酸 = 65/35/0.2

HILICにおける非保持マーカ―には、疎水性の強いトルエンがしばしば使用されます。一方、RPLCの非保持マーカ―には親水性のウラシルが使用されます。HILICでは保持されないトルエンはRPLCでよく保持され、逆にRPLCで保持のないウラシルは、HILICでよく保持されます。このようにこれらのモードは選択性が全く逆の関係にあることがわかります。

● HILIC と RPLC の選択性の比較 (2)

次に、化合物の極性の変化により、保持挙動がどのように変化するかをトルエンと安息香酸を用いて観察します。

図2に示すHILIC分離の場合、安息香酸はトルエンと比べると、極性(親水性)が高いため、保持が大きくなります。一方、RPLCの場合、極性の低い(疎水性の高い)トルエンはよく保持されますが、安息香酸は、極性(親水性)が高くなるため、保持が小さくなります。このようにHILICの保持は、化合物の極性(親水性)に大きく依存することがわかります。よって、水酸基やカルボン基、アミノ基といった極性基を多く有する化合物ほど、保持が大きくなることが理解できます。

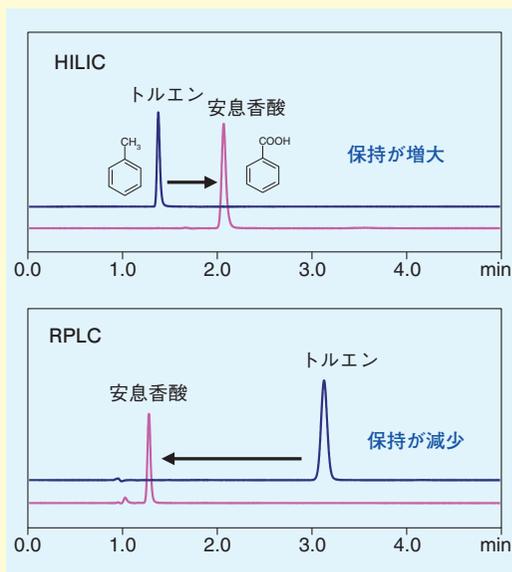


図2 トルエンと安息香酸の選択性 (カラム、移動相は図1と同じ)

● HILIC の溶出挙動

次に、移動相組成と保持時間との関係を見てみましょう。図3上段に、HILICにおけるウラシルの保持挙動を示します。移動相中の水比率が高くなるほど、ウラシルの保持時間が小さくなり、水によりウラシルが溶出されることがわかります。HILICは広義の順相クロマトグラフィーに属します。よって、溶出の強い溶媒には、図3に示した水の他にメタノールやエタノールといった水素結合性溶媒の使用が可能です。また、水の比率と保持時間との間には両対数にて線形関係があることが解明されています。

図3下段にRPLCにおけるトルエンの保持挙動を示し



ます。よく知られているように、移動相中のアセトニトリルの比率が高いほど、保持時間が小さくなります。

このように、HILICもRPLCも同じ移動相組成でありながら、その比率が異なることで保持が調整できることは、非常に興味深く、両者の互換性の良さを示しています。

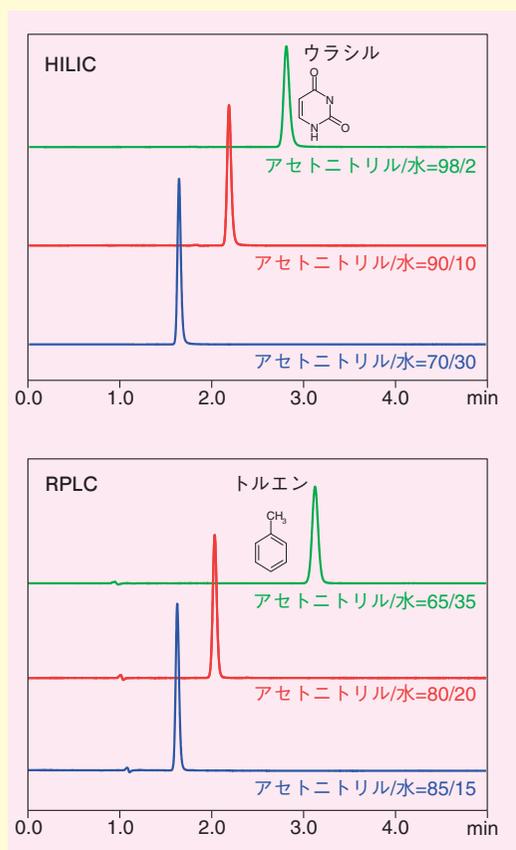


図3 トルエンとウラシルの保持挙動
(カラムは図1と同じ)

● HILIC カラムの違い

前号において、代表的な HILIC カラムとして、シリカ、アミノ、ジオール などがあることをご紹介しました。ここでは、シリカカラム（シリカ基材そのものを充填したカラム）とジオールカラム（グリセロール基をシリカ基材に修飾した充填剤を充填したカラム）の分離比較を図4に示します。

今回使用した3成分では、溶出順序の逆転は観察されませんが、一般的に、HILIC カラムでは溶出順序の逆転がしばしば観察されます。RPLC と比べ選択性の差がより顕著に現れる傾向にあります。また、粒子径や官能基の修飾密度にもよりますが、シリカカラムはジオールカラムより保持力が強い傾向にあります。

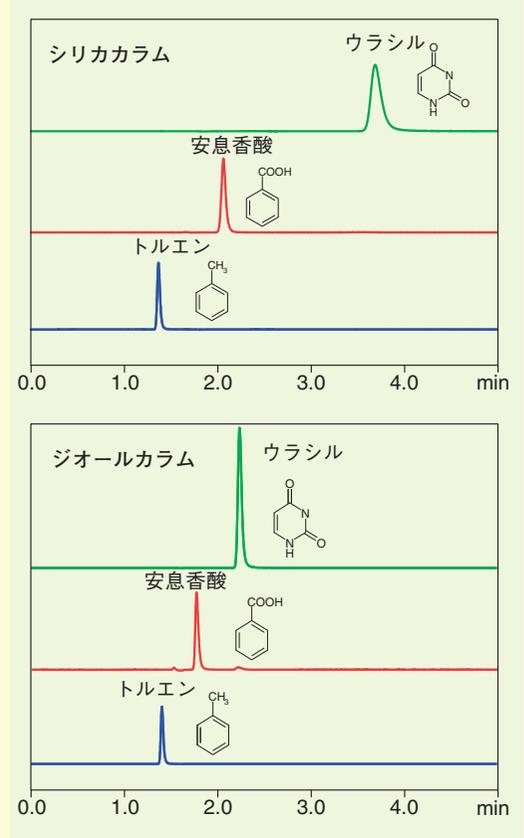


図4 シリカカラムとジオールカラム

●最後に

2回に渡って HILIC の基礎的なおはなしをしました。HILIC は RPLC を補完する選択性を持ち、移動相組成も近似しており、LC-MS への接続も容易であることから、今後、RPLC では難しい分離に試されることが期待されます。(Yo)

逆相クロマトグラフィーと 移動相 pH のはなし

(LCtalk Vol.80 Introductory より)

逆相クロマトグラフィーは、HPLCでもっとも広く用いられている分離モードです。今回は、逆相クロマトグラフィーによる分離条件設定の基本となる移動相 pH のおはなしです。

● pH と pK_a の基礎

pH は、溶液の酸の強さや弱さを表す指標で、水素イオン濃度を用いて (1) 式のように表されます。

$$pH = -\log [H^+] \quad \dots (1)$$

一方、酸解離定数 (K_a) は、物質の酸の強さを定量的に表す指標です。弱酸 (AH) を例にすると、解離状態 (A^-) と非解離状態 (AH) での解離平衡式は (2) 式、酸解離定数 K_a は (3) 式となります。また、一般に K_a は、pH と同様、常用対数を用いて (4) 式のように表されます。



$$K_a = \frac{[A^-][H^+]}{[AH]} \quad \dots (3)$$

$$pK_a = -\log K_a \quad \dots (4)$$

これらの式から、pH と pK_a の関係を表す (5) 式が得られます。

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[AH]} \quad \dots (5)$$

(5) 式より、溶液の pH が酸の pK_a に等しい時、 $[A^-]/[AH]=1$ 、つまり解離状態と非解離状態の存在比がちょうど 1 対 1 になることがわかります。また、 $pH > pK_a$ では解離状態が多く、 $pH < pK_a$ では非解離状態が多くなります。

● 移動相 pH による保持の変化

逆相クロマトグラフィーの保持は、基本的に疎水性相相互作用に基づきます。従って、イオン性化合物では、一

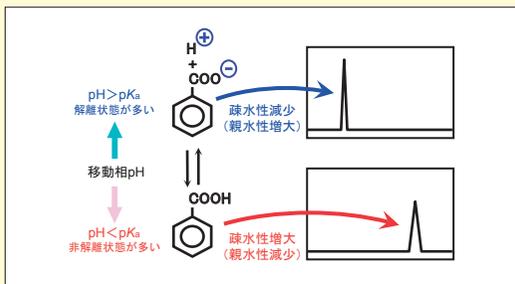


図1 移動相 pH と保持の関係 (概念図)

般に非解離状態の方が疎水性が強く、保持も強くなります。このことを (5) 式から考えてみると、図 1 のように、移動相 pH がその化合物 (この場合、安息香酸) の pK_a より低いと溶出が遅くなり、その逆では溶出がはやくなることが理解できます。

● 酸性化合物による実例

図 2 に、移動相として酸性緩衝液と中性緩衝液を用い、安息香酸、*p*-トルイル酸、フェノールの 3 成分を分析した例を示します。上段の酸性緩衝液条件と下段の中性緩衝液条件を比較すると、安息香酸と *p*-トルイル酸の保持が大きく変化しています。一方、フェノールの保持はほとんど変化していません。

この理由について、図 3 を見ながら考えてみましょう。安息香酸の pK_a は約 4.2、*p*-トルイル酸の pK_a は約 4.3 ですので、移動相 pH がそれぞれの pK_a より酸性側である「2.6」の時には、非解離状態が多くなります。すなわち、保持が強くなります。一方、移動相 pH がそれぞれの pK_a よりも塩基性側の「6.8」では解離状態が多くなり、保持が弱くなるわけです。では、フェノールはどうでしょうか？フェノールの pK_a は約 10 ですので、どちらの移動相においても保持はほとんど変わらないのです。

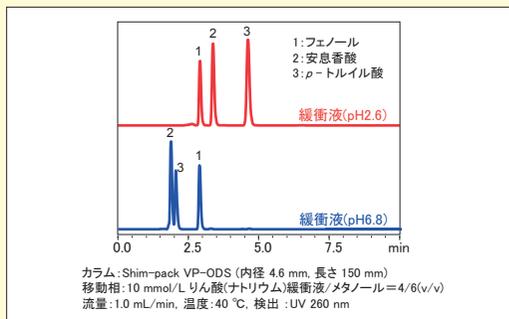


図2 移動相の pH と保持挙動

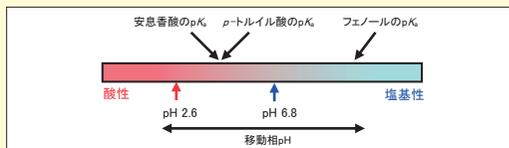


図3 各成分の pK_a と移動相 pH

以上、イオン性化合物の場合、移動相 pH は逆相クロマトグラフィーにおける保持挙動に大きな影響を与えます。言い換えると、移動相 pH をうまくコントロールすることにより、分離を調節することができるのです。

(Nm)

グラジエント溶離のはなし

(LCtalk Vol.93 Introductory より)

HPLCでは、「グラジエント溶離 (gradient elution)」をしばしば用いますが、意外と馴染みのない方もおられるようです。今回は、このグラジエント溶離の基礎についてです。

● グラジエント溶離とは？

グラジエント溶離とは、移動相組成を連続的に変化させながら溶出させる溶離方法で、通常その分離モードで溶出力の強い溶媒を添加していくことになります。例えば、逆相モードにおいては、水 / アセトニトリルの組成を 90 / 10 から 20 分間で 50 / 50 に変化させて溶出させる・・・といった感じです。この場合、水より溶出力が強いアセトニトリルを 1 分間に 2% 増加させていくことになります。一方、単一組成の移動相によって溶出させる溶離方法を「イソクラティック溶離 (isocratic elution)」と呼びます。グラジエント溶離は、多成分や保持に差がある成分の一斉分析に有用な溶離方法です。

● グラジエント溶離の効果と留意点

図 1 は、逆相モードにより 6 成分をイソクラティック溶離とグラジエント溶離で分離した模式図です。

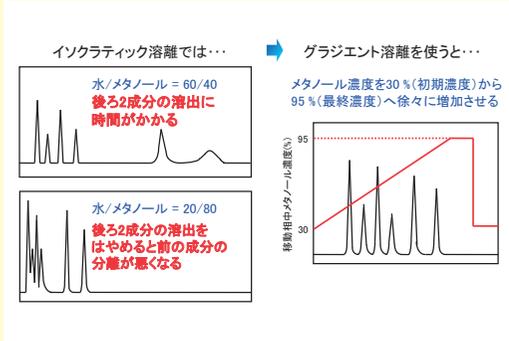


図 1 イソクラティック溶離とグラジエント溶離による分離

イソクラティック溶離においては、前の 4 成分を十分分離できるメタノール濃度では後ろの 2 成分の溶出に時間がかかり、後ろの 2 成分をはやく溶出できるメタノール濃度では前の 4 成分の分離が悪くなっています。ここで、グラジエント溶離の登場です。最初、低いメタノール濃度からスタートし、徐々にメタノール濃度を増やしていくことにより、前の 4 成分の分離を保ちつつ、後ろの 2 成分をはやく溶出することができています。そして、分析が完了するとメタノールを初期濃度に戻して、次の分析を行います。

グラジエント溶離で注意しないといけないのは、最終濃度から初期濃度に戻してから平衡化時間 (移動相と固定相が平衡化する時間) を十分に取るとともに、この時間を一定にする必要がある・・・ということです。これを怠ると良好な再現性が得られません。平衡化時間は、分離モードや溶媒組成などにより異なりますので、再現性を確認しながら設定してください。

● 高圧グラジエントと低圧グラジエントの違い

グラジエント溶離を行うための送液システムには、「高圧グラジエント方式」と「低圧グラジエント方式」があります (図 2)。

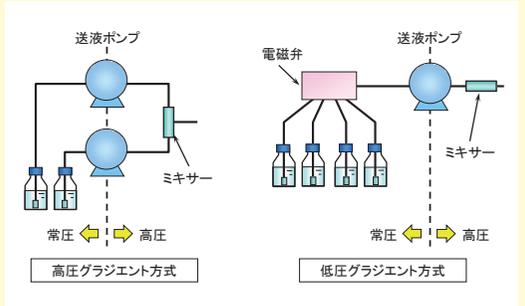


図 2 高圧グラジエント方式と低圧グラジエント方式

高圧方式と低圧方式は、異なる移動相が合流する地点が高圧か常圧 (低圧) であるかの違いです。高圧方式では、各々の移動相は別々のポンプにより混合比率分の流量で送液された後 (例えば、流量 1.0 mL/min, 2 液を 1 : 1 で送液する場合、2 つのポンプの流量は各 0.5 mL/min)、加圧下、ミキサーで合流します。一方、低圧方式ではポンプの吸引工程時、ポンプ手前に設置された電磁弁が移動相の混合比率に応じて閉開し、各移動相は常圧下、電磁弁出口で合流します。

高圧方式と低圧方式とでは、移動相合流後、カラム入口までの容量が異なり、グラジエント遅れ (プログラム上での混合比率に対する実際の混合状態の遅れ、図 3) に違いが出ます。

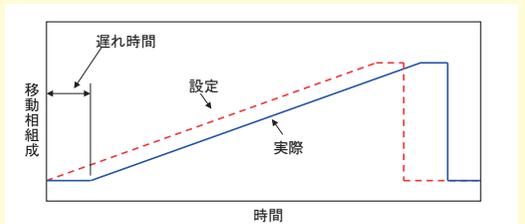


図 3 グラジエント遅れ

低圧方式では、高圧方式と比較して、電磁弁で合流後のポンプシリンダー容量などが余計にあります。この容量のため、一般的に低圧方式の方がグラジエント遅れが大きくなります。一般的に、高圧方式は移動相の数だけポンプが必要だが、グラジエント遅れが小さい、低圧方式は 1 台のポンプで複数の移動相 (多くの場合、最大 4 液) に対応でき経済的だが、グラジエント遅れが大きい・・・ということになります。このため、同じグラジエント溶離条件でも、高圧方式と低圧方式で分離パターンが異なる場合がありますので、メソッド移管などの際にはご注意ください。(MK)

リサイクル分取のはなし～その1

(LCtalk Vol.76 Introductory より)

目的成分を高純度で分取したいが現状の分離を移動相組成で改善するには制限があるような場合、カラムを複数本つなぐと有効です。…が、分取カラムは高価であり簡単に増やせず、カラム圧も高くなってしまいます。このような時、リサイクル分取（リサイクル分離法を用いた分取）を行なうと容易に分離が改善される場合があります。この方法は、カラムから溶出した目的成分を含むピーク部分を、同じカラムに繰り返し導入して、カラム長を長くしたのと同じような効果を得る方法です。理論上はカラム長さを n 倍すれば、カラム効率を示す理論段数は n に、分離度は n の平方根に比例して向上します。リサイクル分離法には、以下の二つの方式があります。

●クローズドループリサイクル

リサイクルバルブの切換により、ポンプ、インジェクタを通して同じカラムに成分バンドを繰り返し導入し、分離の向上を図る方法です。カラム、検出器が1台という単純な構成から、通常リサイクル分取と言えば、この方法を指します。この方法で注意しないといけないのは、カラム外拡散です。成分バンドはリサイクル流路に入るとポンプ、インジェクタを通過するので、必ず通過部分の容積に応じた成分バンドの拡散を伴います。

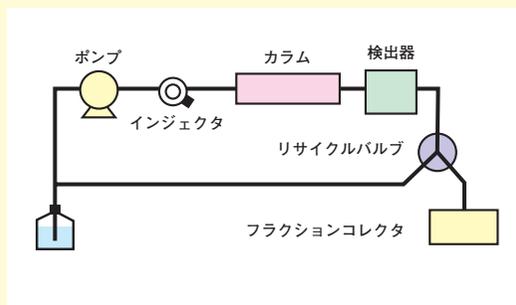


図1 クローズドループリサイクル

●オルタネートリサイクル

高圧6ポート2ポジションバルブに同種の2本のカラムを接続し、一方のカラムから溶出する成分バンドを他方のカラムに導入する動作をバルブ切換により繰り返し行い、分離を向上させる方法です。クローズドループ法に比べると、ポンプ、インジェクタを通過しないことから、カラム外拡散が小さく効率的ですが、カラムと検出器をそれぞれ2つ準備する必要があること、バルブ切換の圧力変動によりカラムにダメージを与えやすいことが欠点です。

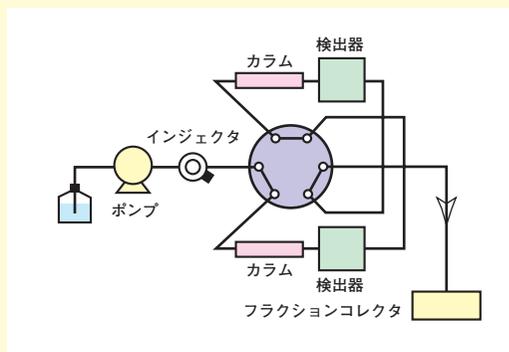


図2 オルタネートリサイクル

●リサイクルによる分離の向上

図3に、逆相分離におけるクローズドループリサイクル法の効果を示します。内径20 mmのODSカラムを用いて、プチルベンゼン異性体 (*iso*- および *n*- プチルベンゼン) を分離しました。初回溶出時のピークの理論段数は約26,000段、分離度は1.7ですが、11回目の溶出時には、それぞれ、150,000段、4.0へと大幅に向上しており、リサイクルの効果を実感できます。

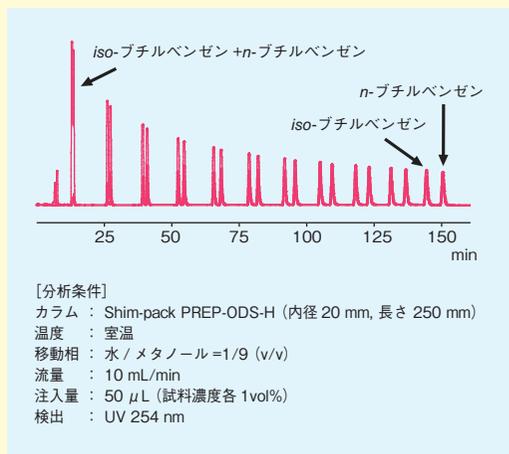


図3 プチルベンゼン異性体のリサイクル例

今回は、クローズドループリサイクル法について、分離向上の効果を発揮させるために必要な留意点などを分かりやすく解説します。(Wa)

リサイクル分取のはなし～その2

(LCtalk Vol.77 Introductory より)

76号では、リサイクルの方式として「クローズドループリサイクル」と「オルタネートリサイクル」をご紹介しましたが、今回は一般に広く用いられる「クローズドループリサイクル」(図1)について、留意点などをご紹介します。

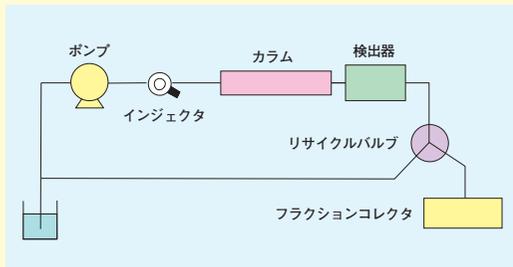


図1 クローズドループリサイクル

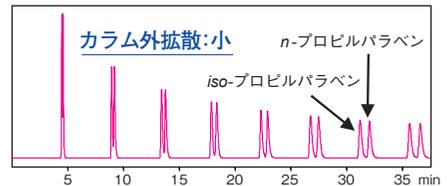
●カラム外拡散とは？

リサイクル分取はカラムを通した対象成分を再度ポンプ、インジェクタを通してカラムに負荷することにより、カラムを複数本連結したような分離向上効果を期待するものです。もし、この効果があらゆる場合で得られるなら問題ありませんが、現実的には一定の条件を満たさなければリサイクルによる分離向上は望みません。そのカギを握るのがシステムの「カラム外拡散」です。カラム以外の流路系の余剰体積が原因で試料バンドが拡散(カラム外拡散)すると、ピーク幅の増大が分離の低下を引き起こします。このため、カラム外拡散の大きなシステムを用いた場合、リサイクルを行っても、ピーク頂上の保持時間の差は拡大するもののピーク間の分離は改善されない状態になります。(図2)

●リサイクル分取の留意点

カラム外拡散をコントロールして、リサイクル効果を高めるために留意すべきポイントは以下の通りです。

- マニュアルインジェクタのハンドル位置は、注入後LOAD位置にしてループを流路から除くようにする。オートサンブラ(SIL-10AP)の場合は、前処理プログラムで高圧バルブ位置をLOADに固定する。
- ポンプの非吸引時間が長くと、リサイクル戻り液が移動相の方向に逆流するので拡散が大きくなる。このため、直列デュアルプランジャより非吸引時間の短い並列ダブルプランジャ形式(LC-20APやLC-20AR)が望ましい。
- ラインフィルタなども低容量タイプに交換する。配管類の耐圧の許容範囲を勘案して小径化する。LC-20ARの場合は、必ずリサイクルキットを装着して使用する。



分析条件
 ・カラム：Shim-pack PREP-ODS(H)kit (内径 20 mm, 長さ 250 mm)
 ・温度：室温
 ・移動相：0.1% 酢酸 / アセトニトリル = 35/65 (v/v)
 ・流量：19 mL/min
 ・注入量：200 μL (試料濃度各 0.1 vol%)
 ・検出：UV 254 nm

図2 逆相リサイクル分離におけるカラム外拡散の影響

- 余剰体積がカラムサイズに対して相対的に小さくなるように、内径 20 mm 以上のカラムを用いる。
- 分離に関与するピークの理論段数は保持の長さが影響するので、ある程度保持の大きな分離条件を設定する。システムの余剰体積によるが、おおよそ保持容量として、LC-20ARの場合、35 mL 以上を目安とする。

●リサイクル分取の応用例

図3にリサイクルバルブを操作して、主成分中の微量成分(iso-プロピルパラベン)の溶出部だけをリサイクル分離し、分取可能な分離を達成した例をご紹介します。このように、リサイクル分離の特性を知り、特長を活かせば、分取の可能性を広げることができます。

(Wa)

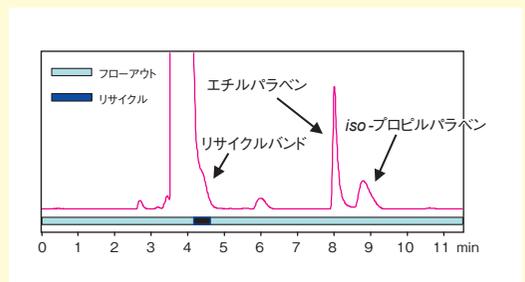


図3 微量成分の部分リサイクルによる分離向上

非直線的な応答を与える 検出の事例

… 吸光度検出と蒸発光散乱検出における例

(LC talk Vol.75  より)

HPLC 用検出器の多くは、濃度に対して直線的な検出応答（ピーク面積）を与えます。そのため、検量線を作成する場合は大抵直線近似を使いますが、果たしてそれでよいのでしょうか？

ここでは、吸光度検出と蒸発光散乱検出という二種類の検出法を例にとり、検量線において直線近似を採用するのが不適切と思われる事例について考えてみたいと思います。

■ 吸光度検出

● HPLC 用の吸光度検出器は、光源から発せられる光をグレーティングで分光して特定の波長成分を取り出し、カラムからの溶出液が流れるフローセルにその光（入射光）を当て、セルから出てくる光（透過光）を測定することで光の吸収の大きさを測るという原理を有しています。その様子を図 1 に示します。

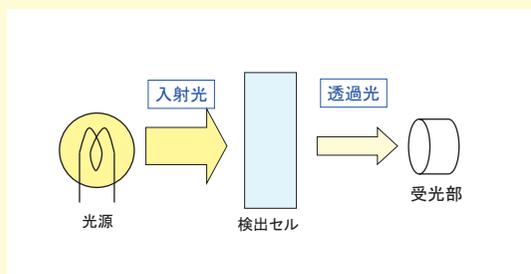


図 1 吸光度検出器の検出原理

● 吸光度検出器では、入射光と透過光から「吸光度」を算出します。Lambert-Beer 則により、吸収を持つ溶質の濃度と吸光度の間には比例関係が成立します。これを表したものが (1) 式です。

$$A = -\log \frac{I}{I_0} = \epsilon l c \cdots (1)$$

A: 吸光度, I: 透過光の強度, I₀: 入射光の強度.
ε: 吸光係数, l: 光路長, c: 濃度

● 一般に吸光度検出器の出力は吸光度であるため、分析種の濃度に対してピーク面積をプロットし、直線

近似することにより検量線を得ることができます。しかし、高濃度領域においてはこのような直線関係が成立しなくなることがありますので、注意が必要です。実際の吸光度検出器は、入射光と透過光の強さをそれぞれ測定し、吸光度に変換して出力しています。吸光度が大きくなるほど、透過光側の受光部に届く光の量が減少することに注意してください。

● 入射した光がすべて直進し、透過光側の受光部にそれ以外の光が入らない状況であれば問題ありません。しかし、実際には光の経路にある様々な要因（くもり、ホコリ、溶液中微粒子など）により、直進せずに散乱する光の一部も受光部へ届いてしまいます。こうした光を「迷光」と呼びます。

● 例えば、迷光が入射光の 0.1 % あるという想定で考えてみましょう。吸光度 1（透過率 10 %）のときは、透過光が迷光の 100 倍ありますから、吸光度測定に与える影響はごくわずかです。しかし、吸光度 3（透過率 0.1 %）になると透過光と迷光の大きさがほぼ等しくなり、本来受光部に届くべき光量の 2 倍射し込んでいる計算となります。これを吸光度に換算すると、本来の値よりも約 10 % 小さい吸光度を示してしまうわけです。

● 図 2 に、Lambert-Beer 則が完全に成立するという前提で、迷光が入射光の 0.1 % あるときに得られる吸光度値をプロットしたものを示します。

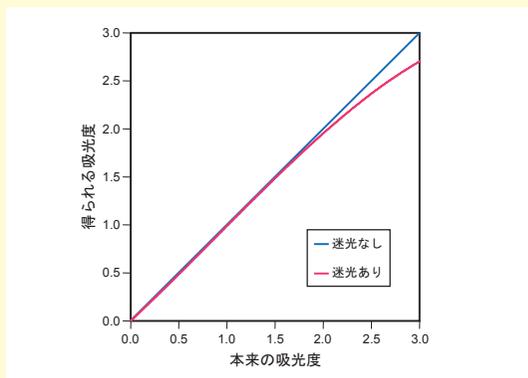


図 2 吸光度検出における迷光の影響
(入射光の 0.1 % の迷光がある場合)

吸光度が大きくなると、直線プロットから外れていく様子が見てとれます。

●このように、分析種の濃度が高い場合や移動相自体に吸収がある場合には、相対的に迷光の影響が大きくなり、検量線が曲がりやすくなります。分析種の測定濃度範囲を決める際には、この点に十分注意しましょう。なお、近年の吸光度検出器では迷光の影響を抑え、吸光度 2 もしくは 2.5 まで十分な直線性を有する機種が販売されています。

■蒸発光散乱検出

●非直線的な応答を与える代表的な HPLC 用検出法として、蒸発光散乱検出が挙げられます。その原理は、移動相を窒素ガスなどで噴霧し、加熱しながら溶離液を蒸発させ、そのガスの流れに光を当てるといったものです。最後まで気化しなかった不揮発性の溶質は、入射した光を散乱させますので、その散乱光の強さを検出するわけです。その様子を図 3 に示します。

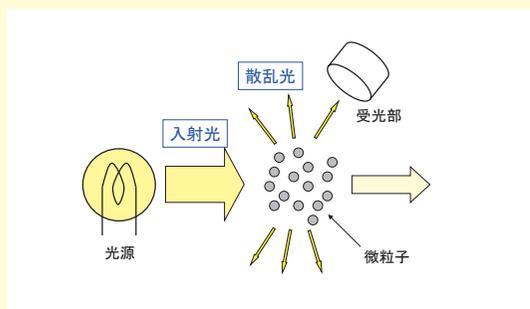


図 3 蒸発光散乱検出器の検出原理

●蒸発光散乱検出における溶質の量と散乱光との関係は、(2) 式で与えられます。

$$I = km^b$$

$$\log I = b \log m + \log k \quad \dots (2)$$

I: 散乱光の強度, *m*: 散乱された微粒子の量, *k*, *b*: 定数

よって、試料濃度と検出応答との関係は非直線的になります。検量線を作成するときには、両対数軸でプロットし、直線に当てはめる方法がよく用いられます。図 4 に、この検出器を用いてグルコースの検量線を作成した例を示します。

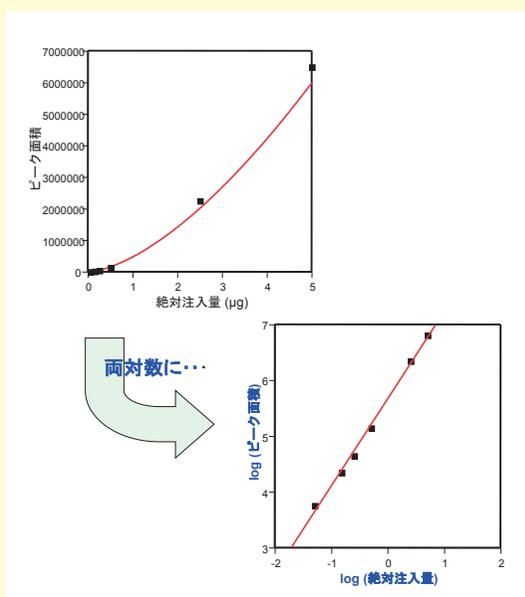


図 4 蒸発光散乱検出におけるグルコースの検量線 (例)

蒸発光散乱検出以外にも、サブレッサー方式のイオンクロマトグラフ（電気伝導度検出）など、必ずしも直線的な検量線が得られない検出法もあります。新しい分析メソッドを採用する際には、測定濃度範囲全体にわたって十分な直線性が得られるかどうかを事前に確認するようにしましょう。(Gt)

超高速 LC のための データ処理パラメータの基本設定

(LCtalk Vol.78  より)

データ処理装置（ソフトウェア）は、さまざまなクロマトグラムに対応できるよう、多くのパラメータを有しています。その中で最も基本となるものは、「何秒に1回データを取り込むか：サンプリングレート」、「ピーク半幅幅が何秒以上あればピークと見なすか：Width」、「ベースラインがどの程度傾いたらピークと見なすか：Slope」という3つのパラメータです。これらパラメータは、一般にメーカー側で設定したデフォルト値（初期値）があり、そのままの設定で使用してきた方も多いと思います。しかし、超高速 LC 時代を迎え、デフォルト値が必ずしも適切ではないという状況も見かけるようになりました。

ここでは、これらの基本的なデータ処理パラメータについて、適切な値を設定するための手順を解説します*。

*島津製作所製データ処理装置クロマトパックシリーズおよびワークステーションソフトウェア LCsolution, LabSolutions で用いられるパラメータを対象としていますので、あらかじめご了承ください。

■検出器の応答速度

●データ処理の設定を行う前に、まずは検出器の応答速度（時定数、レスポンス）が超高速分析に適した設定になっているかどうかを確認してください*。検出器側の応答速度が十分に速くないと、検出信号がデータ処理側に送られる前にピークのシャープさが損なわれてしまいます。

*超高速 LC における検出器の応答速度とクロマトグラムとの関係については、LCtalk Vol.65「TEC」に解説がありますので参照ください。

■サンプリングレート

●「サンプリングレート」または「サンプリング」は、検出器から送られてきた信号をデータ処理装置が受け取る際の頻度を決定するパラメータです。データを取り込む周期（ミリ秒）または周波数（ヘルツ）で設定します。サンプリングの周期が長すぎると、検出器からの信号変化に追従できなくなりますので、ピーク形状がいびつになります（図1）。一方、サンプリングの周期が短すぎると、データファイルのサイズが必要以上に大きくなります。明らかに前者の方が分析結果に対して深刻な影響を与えますから、サンプリングレートは短めに設定しておくに越したことはないと言えるでしょう。

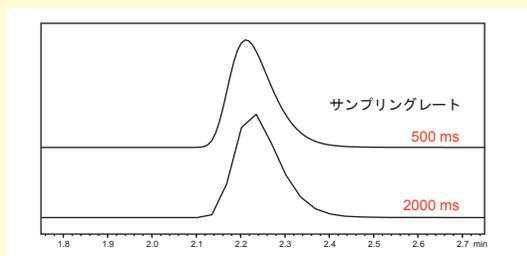


図1 サンプリングレートの影響

●ピーク面積を精度よく計算するには、ひとつのピークで20点以上サンプリングしておけば十分と言われています。従って、サンプリングレートは以下のように設定するのが適切と考えられます。

- 1) 最も幅の狭いピークについて、ピーク幅の1/20かそれ以下となるように設定する。
- 2) データサイズを大きくしたくない場合（フォトダイオードアレイ検出など）は、1)を満たす範囲でできるだけ周期を長くする。

●表1に、理論段数が4000または10000を与える分離カラムを想定し、各保持時間において、ピーク幅の1/20となるようなサンプリングレートを示しました。

表1 適切なサンプリングレートの例

保持時間 (min)	サンプリングレート (ms)	
	理論段数 4000	理論段数 10000
0.2	38	24
0.4	76	48
1.0	190	120
2.0	379	240
4.0	759	480

●従来から広く用いられてきた粒子径5 μm、カラム長150 mm程度のODSカラムで考えてみましょう。保持時間は、通常2分以上になると思われます。理論段数は、十分保持したピークで10000段前後、非保持位置付近では通常4000段以下と予想されます。これを表1と照らし合わせると、サンプリングレートは400～500 ms（ミリ秒）が適当と思われます。

●一方、粒子径 2 μm 前後の超高速 LC 用カラムを考えると、保持時間が上述の 1/5 ~ 1/10 で、同程度の理論段数を示すことが予想されます。とすると、サンプリングレートも 40 ~ 100 ms 程度にしておくのが適切と言えるでしょう。ちなみに、島津製作所製データ処理装置・ソフトウェアにおけるサンプリングレートのデフォルト値は 500 ms です (PDA 検出器を除く)。従って、超高速 LC を使用する場合には、意識して適切なサンプリングレートとなるよう設定変更してください*。

※ LCsolution/LabSolutions でサンプリングレートを 100 ms 未満に設定したい場合には、環境設定の中で検出器のベースレートも併せて変更する必要があります (PDA 検出器を除く)。

■最小ピーク半値幅 : Width

●Width は、最小ピーク半値幅を決めるパラメータです (図 2)。ピーク半値幅 (ピーク高さの半分の位置での幅) が Width の値を大きく下回ると、ノイズと見なされてピーク検出されなくなります。このパラ

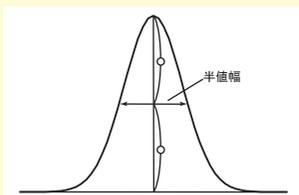


図2 Widthの設定(半値幅)

メータについても、最も狭いピークについて半値幅を測定し、その値と同等かやや小さめの数値を設定します。

●LCsolution およびクロマトパックシリーズにおける Width のデフォルト値は 5 s です。前項と同様の前提で、得られるピークの半値幅を計算した結果を表 2 に示します。Width は、粒子径 5 μm 程度の ODS カラムでは 4 ~ 5 s 程度、粒子径 2 μm 前後の超高速 LC においては 0.4 ~ 1 s 程度に設定しておくのが適切でしょう。

表 2 適切な Width の例

保持時間 (min)	Width (s)	
	理論段数 4000	理論段数 10000
0.2	0.4	0.3
0.4	0.9	0.6
1.0	2.2	1.4
2.0	4.5	2.8
4.0	8.9	5.6

■サンプリングレートと Width の関係

●表 1 と表 2 を比較すると、サンプリングレートと Width はおおよそ 1 対 10 の比率で対応しています。実際、C-R3A 以前のクロマトパックシリーズには「サンプリングレート」はなく、通常 Width の 1/10 がサンプリングレートとして自動的に設定されるという仕様でした。

●なお、サンプリングレートはデータ採取前に設定しておかなければなりません。Width は再解析での変更が可能です。適切な波形処理が行われなかった場合には、上述の基準によらず、適宜 Width を変更しても問題はありせん。

■ピーク検出感度 : Slope

●Slope は、ピーク検出感度を決めるパラメータです。1 秒あたり何 μV 以上検出信号が増大したらピーク検出を開始するかを決めます (図 3)。Slope 値が大き

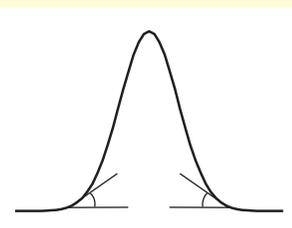


図3 Slopeの設定

くなりすぎるとピークを検出しにくくなり、逆に小さくしすぎると余計なノイズまで拾ってしまいます。

●適切な Slope 値を求めめるため、「Slope テスト」というシミュレーション機能が含まれています。これは、ピークの出ていないベースライン領域での最大 Slope 値、すなわちノイズに起因する Slope 値を自動算出するというものです。なお、Slope テストの結果は Width の値に左右されますので、Width を確定させてから Slope テストを行いましょう。

●ノイズレベルが大きくなれば、個々のノイズの傾きが大きくなり、適切な Slope 値も大きくなります。超高速 LC では検出器の応答速度を小さ目に設定するため、通常の HPLC よりもノイズが大きくなることが多く、Slope の値も大きめに設定しておく必要があります。

(Gt)

このピークの形、おかしいぞ！ ピーク形状の異常

(LC talk Vol.92  より)

HPLC 分析を行っている、「あれ？このピークの形、おかしいぞ！」という場面に遭遇したことはありませんか？ピーク形状の異常は、日常分析でよく遭遇する問題のひとつです。クロマトグラムを見て、明らかに気が付くピーク形状の異常の例としては、図 1 に示すようにピークのブロード化（極端なテーリングやリーディングも含む）、肩ピーク（ショルダーピーク）の出現、ピーク割れがあります。

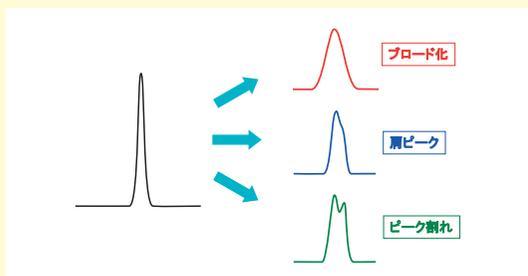


図 1 ピーク形状異常の例

これらの異常がクロマトグラム上のどのピークでも見られる場合、図 2 に示すような原因が考えられます。今回は、これらピーク形状異常の主な原因について解説したいと思います。

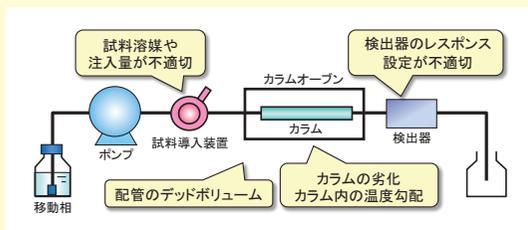


図 2 ピーク形状異常の主な原因

※特定のピークだけで異常が起こる場合、カラムや移動相の選択、移動相調製などに問題があることも考えられます。

■カラムの劣化

●いつもと同じように分析しているのに、ある頃からピーク形状が図 1 のようになった場合、カラムの劣化（汚れも含む）が最も疑われます。分析カラムの前にガードカラムを接続している場合には、ガードカラムを外してピーク形状を確認してください。もし、ピークが正常に戻れば、ガードカラムが犯人です。

●カラムの劣化は、充填状態の変化、夾雑成分の蓄積、微粒子の詰まり、固定相の脱離などによって起こります。充填状態の変化は、長期間の圧力負荷や充填剤基材の劣化（例えば、シリカゲルの溶解）により生じます。多くの場合、カラム入口に充填剤のわずかな隙間ができ、これが肩ピークやピーク割れの原因となります。夾雑成分の蓄積や微粒子（試料溶液、移動相、ポンプ、試料導入装置などに由来）の詰まりは、カラムの入口側フィルターや入口付近の充填剤で起こり、蓄積物への試料成分の吸着や微粒子による試料成分の流れの妨げにより、ピーク形状が変化します。また、固定相の脱離では、ピーク形状の変化以外に、保持時間の減少も起こります。

●カラムの劣化が疑われる場合、カラムの洗浄を行います。カラムの洗浄方法は、使用しているカラムの取扱説明書に従ってください。洗浄で十分な効果が得られない時には、逆洗（カラム出口側から洗浄液を低い流量で送液して洗浄する）することもあります。ただし、逆洗可能かどうかは、必ずカラムの取扱説明書などで確認してください。これら洗浄で回復しなければ、カラムの寿命ということになります。

■試料溶媒や注入量が不適切

●前処理や分析種濃度の関係で、試料溶媒組成や注入量を変更したらピークの形がおかしくなった…という場合です。まずは、従来の試料溶媒と注入量でピーク形状を確認してください。

●図 3 に、試料溶媒組成がピーク形状に与える影響の例を示します。(a) と (b) のクロマトグラムは、2 種類の試料溶媒で調製した標準混合液を同一装置で分析した結果です。(b) のクロマトグラムだけを見てみると気が付きませんが、(a) と比較すると (b) のピークが明らかにブロードになっていることがわかります。(a) の試料溶媒「水 / アセトニトリル = 3 / 1」は、移動相である「くえん酸緩衝液 / アセトニトリル = 3 / 1」と同じ有機溶媒比率ですが、(b) の試料溶媒は逆相モードにおける強溶媒であるアセトニトリルのみです。この例のように、試料溶媒中



の強溶媒比率が高くなると、ピーク形状に影響を与えることがあります。

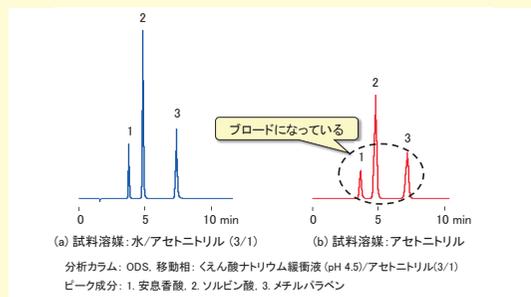


図3 試料溶媒がピーク形状に与える影響

● 試料注入量は、カラム分離の「一段目」における試料ゾーンの広がりに関係しますので、注入量の増加はピークのプロード化につながります。特に、試料溶媒中の強溶媒比率が高いほど、その影響は大きくなります。

■配管のデッドボリューム

● いつもと違う配管（内径は同じ）を使ったらピークがブロードになった・・・という場合、試料が通過する配管接続部（試料導入装置～カラム～検出器）でのデッドボリュームが疑われます。図4に、デッドボリュームの例を示します。

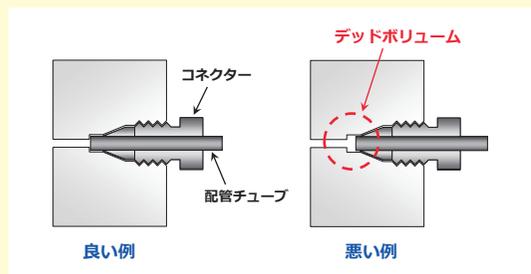


図4 配管接続部のデッドボリューム

● コネクターの先から出る配管チューブの長さは、メーカーによって異なることがあります。特に、カラムとの接続部は重要です。新たに配管を接続する

際には、配管チューブを受け側の奥に押し当てながらコネクターを締めるようにしましょう。

■カラム内の温度勾配

● カラム内径が大きい時、流量が早い時、カラム温度が高い時などで、移動相が十分熱せられないままカラム内を流れると、カラムの断面方向に温度勾配（カラム中心部温度がカラム内壁付近より低くなる）ができます。これがピークプロード化の原因になることがあります。

● 温度勾配の影響は、試料導入装置からカラムまでの配管チューブ（SUS）を長くして、カラムオーブン内で移動相を予熱することにより抑えることができます。ただし、この予熱チューブにおけるピークの広がりもありますので、内径と長さを最適化する必要があります。

■検出器のレスポンス設定が不適切

● 一般に検出器は、レスポンス（時定数とも呼ぶ）の設定を変えることにより、ノイズを低減できるようになっています。このレスポンスは、遅くするとノイズが小さくなり高感度分析に有利ですが、反面ピークがブロードになります。図5に、レスポンスがピーク形状に与える影響の例を示します。

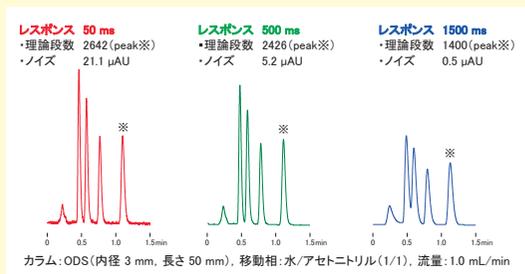


図5 レスポンスがピーク形状に与える影響

● 図5を見ると、溶出のはやいピークほどレスポンス設定の影響を受けているのがわかります。念のため、分析前にはレスポンスの設定値も確認しましょう。(MK)

可燃性有機溶媒使用時の 静電気による引火事故にご注意を・・・

(LC talk Vol.73  より)

HPLC 分析において、一般に順相や吸着モードではヘキサンなどの可燃性有機溶媒がしばしば用いられます。特に、分取 LC においては、このような可燃性有機溶媒を大量に使用することがあり、引火による火災事故について細心の注意を払う必要があります。

この引火の原因となる現象のひとつに「静電気」があります。静電気は日常的に発生している現象でありながら目には見えないため、危険の度合いやその性質を把握しにくい面があります。また、日常的に逆相モードなどで水系移動相を用いることが多いと、静電気による引火への意識が低くなりがちです。

ここでは、静電気の発生原因と静電気による可燃性溶媒の引火事故防止に向けた対策例について述べます。

■ HPLC 分析において、静電気はどのようにして発生するのか？

●液体が細いチューブの中を高速で通過すると、流動帯電により図 1 に示すようにして静電気が発生します。帯電した液体が電気的に絶縁された容器にたまと帯電荷量が徐々に大きくなり、場合によっては数 kV の高電圧が発生することがあります。

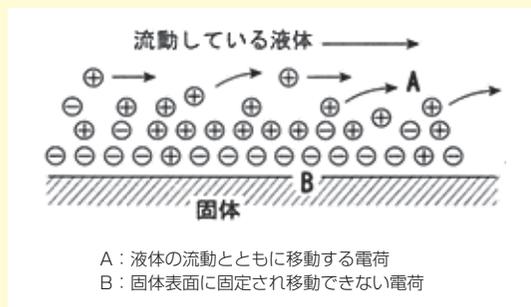


図1

● HPLC においては、廃液チューブを通る液体での静電気発生と帯電、廃液容器におけるその蓄積に注意する必要があります。

■ 静電気による引火事故はどのような状況で発生しやすいのか？

●高電圧に他の導電体が近づくと、ある距離で放電が起こり、エネルギーが放出されます。この時、周囲に適度な濃度の可燃性ガスがあると、これに着火します。図 2 に、こうした事故が発生しやすい状態をまとめて示します。

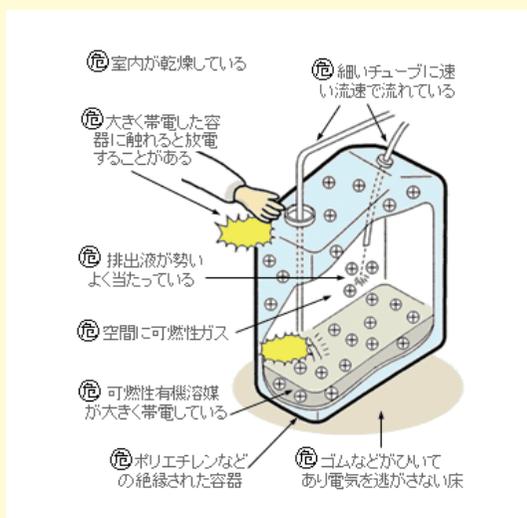


図2

■ 静電気による引火事故防止のための対策例

●静電気事故を防止するためには、「静電気の帯電および蓄積を防止」することが中心になります。そして事故防止をより確実にするためには、複数の防止対策を同時に行うことが大切です。特に、大量の可燃性溶媒を使用する場合等、以下の対策を行ってください。

(1) 廃液溶液の材質と接地

廃液容器を金属製（表面に酸化被膜やラミネート処理がされていない導電性のあるもの）にしてアースをとります。金属容器を使用している時でも、アース線が外れたりしていると静電気事故の防止対策になりません。テスターで廃液容器がアースさ

れていることを確認しましょう。

(2) 廃液容器の隙間

廃液容器の外で発生した火花が内部に入らないように、廃液容器の出入口の隙間をできるだけ小さくします。容器のキャップに廃液チューブが通る程度の穴を開けて使用するという方法もあります。図3に、対策(1)と(2)を施した廃液溶液の様子を示します。

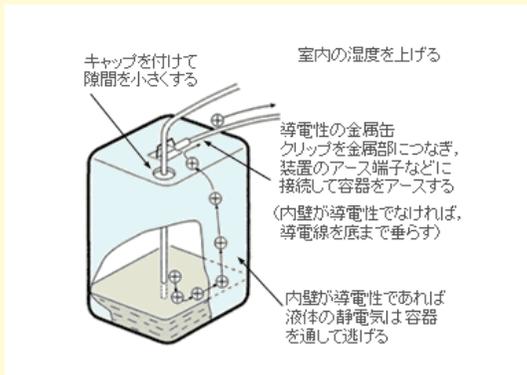


図3

(3) 人体の帯電防止

廃液容器の近くに、人体および帯電している物体を近づけないようにしましょう。以下は人体への帯電防止対策の例です。

- ・ 静電防止服や静電防止シューズを着用
 - ・ 静電気防止用リストストラップ(人体保護のため、1 MΩ程度の抵抗を介してアース)を使用して、人体を接地
 - ・ 静電マットなどを床に敷く(作業床の導電化)
- また、帯電防止対策をしていない人は、廃液容器に近づく前に接地された金属に手を触れるなどして、人体に溜まった静電気を放電することも大切です。

(4) 廃液チューブの配管

大量の液が流れる廃液チューブは、内径2 mm以

上にして下さい。また、配管の接続部から空気の混入がないか確認します。配管の中に気泡が混入すると、帯電量が数10倍の大きさになることがあります。

(5) 廃液容器を導電性にできないときの対策

導電性容器が用意できない場合には、最低限以下の点にご注意ください。

- ・ 廃液容器を、できるだけ容量の小さいものにする
- ・ 部屋を乾燥させないようにする。湿度が65%以上になると、帯電防止効果が得られます。

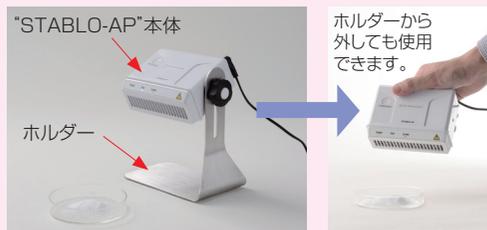
以上、これら対策例は少々面倒と思われるかもしれませんが、万が一に備えるということが大切です。ヘキサンなどの可燃性溶媒を移動相にお使いの際には、ぜひ参考にして下さい。

(MK)

これは便利! 天びん測定用除電器

“STABLO-AP”

- 帯電しやすい試料や容器の場合、静電気の影響で天びんの計測値は不安定になりがちです。
- “STABLO-AP”は高圧の交流コロナ放電方式により、イオンバランスの良いイオンを発生、噴出口から照射されるイオンの動きで試料や容器の静電気をすばやく軽減します。
- 高電圧がかかっている電極は、もちろん本体内にあり手が触れることなく安心です。
- 微小試料のはかりとり(特に分析天びんクラス)や帯電しやすい試料を計量する場合に、安定性の面で威力を発揮します。



LC Systems

Nexera-i Prominence-i

i-Series

innovative

— 近未来ラボを実現

- ・オペレータをラボから解放するICM (Interactive Communication Mode)
- ・操作環境に左右されない装置の遠隔モニタリング
- ・装置の信頼性と安定性の追求
 - 室温変化を受けにくいTC-Opticsとフローセルの二重温度調節
 - 1 μ L以下の微量注入量における優れた再現性
 - 従来比約1/2の注入サイクル時間による分析時間の短縮

intuitive

— 使いやすさの追求

- ・装置とワークステーションの統一されたユーザーインターフェイス
- ・グラフィカルなバイアル表示画面で注入シークエンス(バッチ)を作成:クイックバッチ

intelligent

— 業務効率を高めるスマートな提案

- ・複数のルーチン作業を自動化
- ・自社他社問わず、既存メソッドの移管がスムーズ



LC talk
Special Issue IX

発行日：2015年4月20日

改訂日：2016年11月25日

編集・発行：株式会社島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター
“LC talk club” 編集長 三上 博久

連絡先：分析計測事業部 “LC talk club” 事務局
〒604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1
E-mail：analytic@group.shimadzu.co.jp