

GL-7400シリーズを用いた ハイスループット分析のすすめ (第1報)

今回は、GL-7400高速液体クロマトグラフィー(HPLC)シリーズを用いたハイスループット分析の例をご紹介します。

分析のスループットをあげるため、また環境への配慮などから分析時間短縮や溶媒使用量の削減を行うためには短いHPLCカラムを用いるのが有効ですが、カラムが短くなることによって分離が悪化することは避けられません。

ハイスピードセパレーションカラム Inertsil ODS-3 2 μ m

Inertsil ODS-3の新しいラインナップです。粒子径2 μ mの高純度シリカゲル粒子を母体としているため、高流速領域でも高い理論段数を誇り、従来の2~3倍流量(線速度2.0~3.0 mm/sec.)において最高性能を発揮します(図1)。

また、分級精度が高いため低圧力での分析が行え(図2)、市販の微粒子カラムと比較して、単位圧力あたりの理論段数が高いという特徴があります。

使用圧力範囲 : ~50 MPa
保証段数 : 160,000 段/m (弊社標準試験条件)
65% CH₃CN, ナフタレンで試験

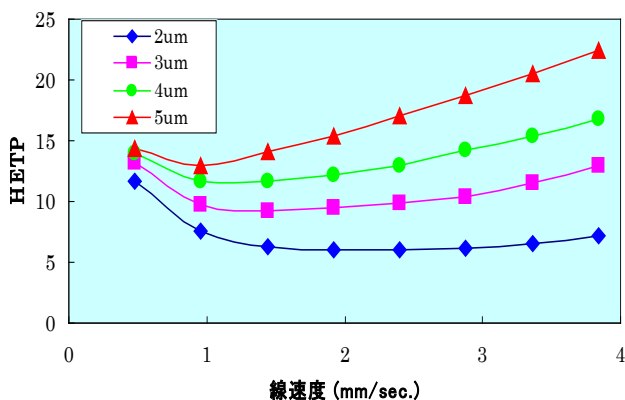


図1: 粒子径5 μ m, 4 μ m, 3 μ m, 2 μ mカラムのVan Deemter プロット

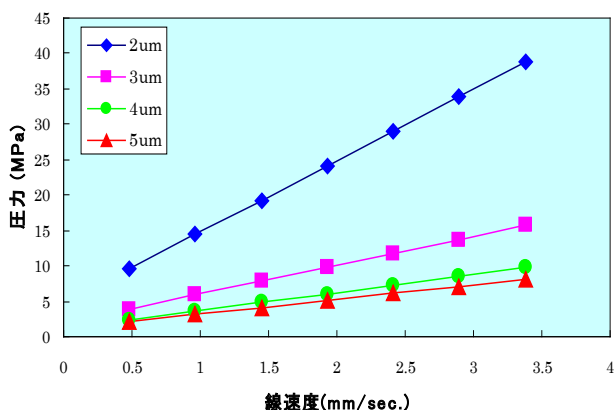


図2: 線速度と圧力の関係 (アセトニトリル/水 = 65/35)

しかしながら、GL-7400シリーズHPLCシステムとハイスピードセパレーションカラム Inertsil ODS-3 2 μ mを組み合わせることにより、「安価な汎用HPLCシステム」で「既存のメソッドを使用した」ハイスループット分析を行うことが可能となります。

ここでは、このハイスループット化の例を示します。

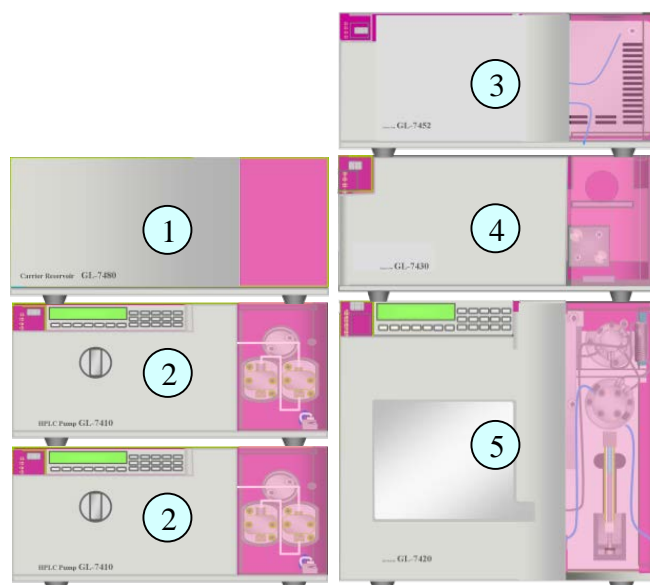
(T. Fukaya)

HPLC装置: GL-7400 シリーズ

汎用HPLCとしてご好評を頂いているGL-7400シリーズは、最大圧力が39.2 MPa (オートサンプラーは34 MPa)のため、Inertsil ODS-3 2 μ mと組み合わせ、安価にハイスループット分析を行うことができます。

また、細いカラム内径でのハイスループット分析に有効な検出器のセミマイクロセルも、UVはもちろんPDA、蛍光検出器で用意されています。

最大圧力 : 39.2 MPa (オートサンプラーは34 MPa)



	品名	型番
1	キャリアリザーバー	GL-7480
2	ポンプ×2	GL-7410
3	PDA検出器	GL-7452
4	カラムオーブン	GL-7430
5	オートサンプラー	GL-7420
	グラジエントミキサー	SM1-25A (ASI社製) 250 μ L

ハイスループト化の例 (1)

(従来の3 μm充填剤使用)

高速分離に適するといわれる粒子径3μmのカラムにGL-7400を組み合わせて、ハイスループト化を試みました。

分析条件

Column : Inertsil ODS-3

Eluent : A: CH₃CN
B: 0.1 % H₃PO₄
A/B = 15/85

Flow rate : 0.5 mL/min., 1.0 mL/min.

Col. Temp. : 40 °C

Detector : PDA 275 nm

Inj. Vol. : 10 uL (4.6mm I.D.), 5 uL (3.0 mm I.D.)

Sample : 芳香族カルボン酸類

1. Gallic acid (0.17 mg/mL)

2. Vanillic acid (0.17 mg/mL)

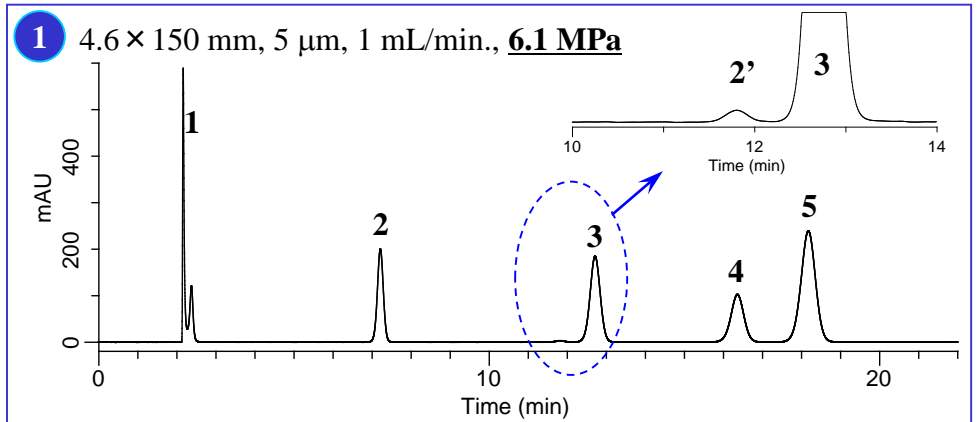
2' Vanillin (2由来の不純物)

3. *p*-Coumaric acid (0.17 mg/mL)

4. Ferulic acid (0.17 mg/mL)

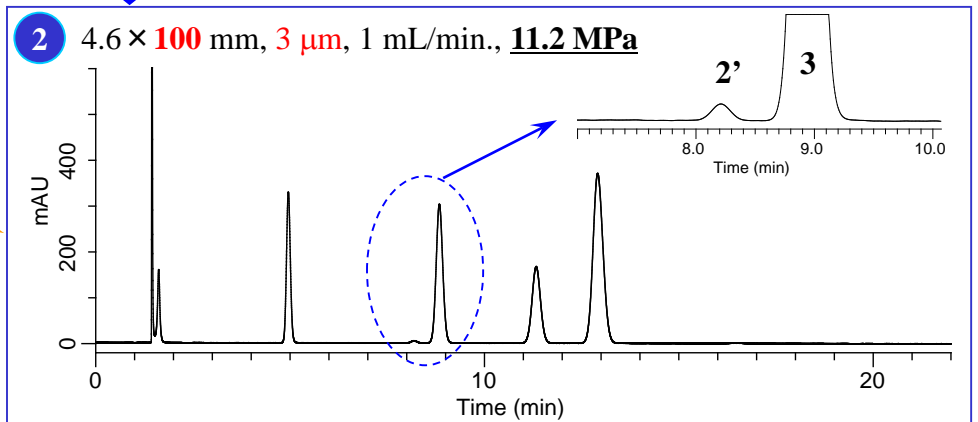
5. *m*-Coumaric acid (0.17 mg/mL)

全てのピークが分離しています。



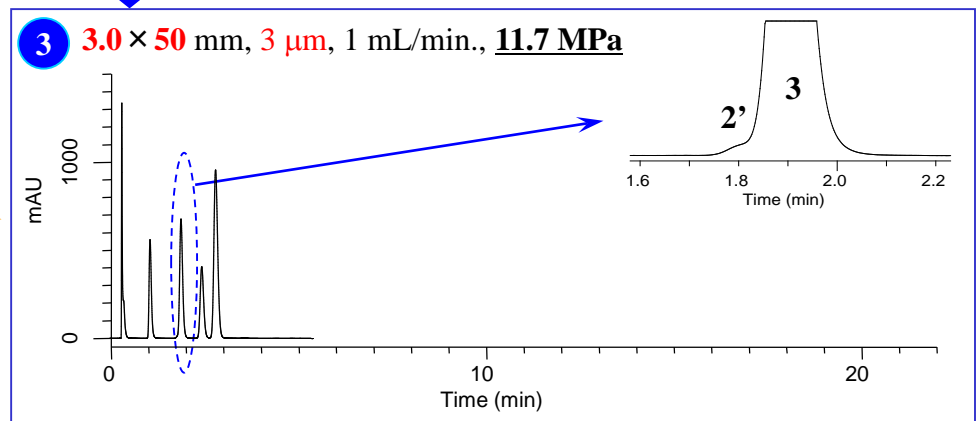
・ショートカラム化 → 分析時間の短縮
・3μm充填剤に変更 → 分離の向上

①と同等の分離を短時間で行うことができます。



・ショートカラム化
・ダウンサイズ
・高流速化 → 分析時間短縮

分析時間が①の1/6となりますが、2'と3の分離が悪くなっています。

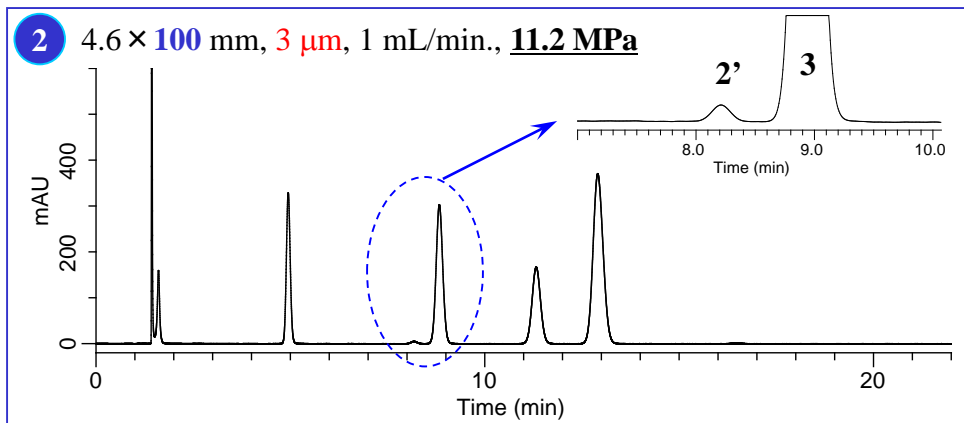


ハイスループット化の例 (2)

(ハイスピードセパレーションカラム Inertsil ODS-3 2 μ m使用)

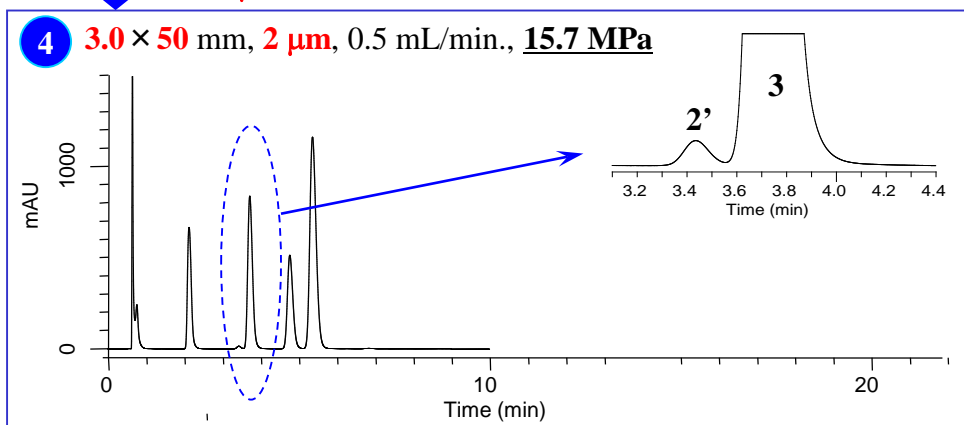
こちらは粒子径2 μ mのカラムとGL-7400の組み合わせでの分析例です。ハイスループット分析において、3 μ mのカラムよりも高分離能であることがわかります。

②からハイスループット化を試みます。



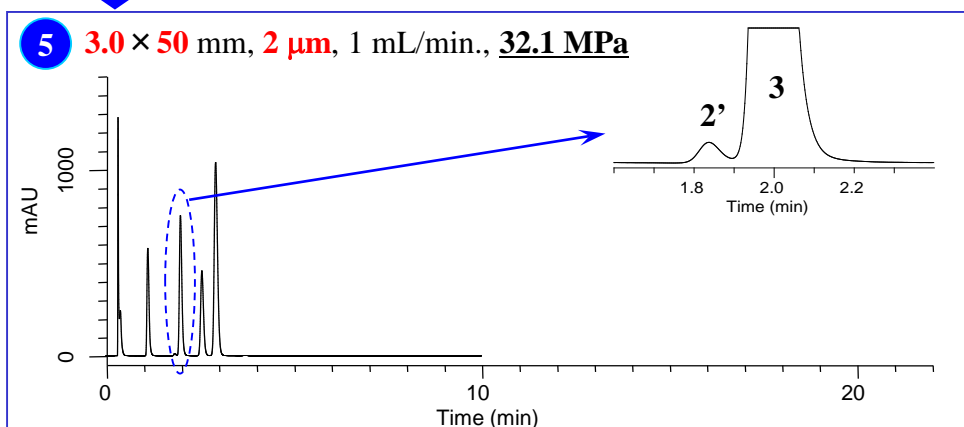
- ・ショートカラム化 → 分析時間の短縮
- ・ダウンサイズ (同一線速度) → 省溶媒化
- ・2 μ m 充填剤 に変更 → 分離の向上

分析時間が①の1/3となり、2'と3も完全分離します。



- ・流速を最適化 → 分離の向上
- 分析時間の短縮

分析時間が①の1/6となっても、2'と3は完全分離しています。



まとめ

分析時間の短縮と使用溶媒量の削減が同時に達成されたことにご注目ください。

	カラムサイズ	充填剤粒子径	流速	2'-3間の分離	相対分析時間 (4.6 x 150mmが Δ 1)	使用溶媒量	圧力
①	4.6 x 150 mm	5 μ m	1.0 mL/min.	○	1	約20mL	6.1 MPa
②	4.6 x 100 mm	3 μ m	1.0 mL/min.	○	2/3	約13mL	11.2 MPa
③	3.0 x 50 mm	3 μ m	1.0 mL/min.	Δ	1/6	約3.5mL	11.7 MPa
④	3.0 x 50 mm	2 μ m	0.5 mL/min.	○	1/3	約3.5mL	15.7 MPa
⑤	3.0 x 50 mm	2 μ m	1.0 mL/min.	○	1/6	約3.5mL	32.1 MPa

線速度 (LV)、理論段高さ (HETP)について

1. 線速度 (Linear Velocity: LV)

カラム中の溶離液が単位時間当たり進む長さのことを指し、通常は単位としてmm/sec.が用いられます。カラム内径に依存しない値のため、充填剤の性能を示すときに良く用いられます。

分析するのに最適な線速度は充填剤の粒子径によって変わり、5 μmの場合1 mm/sec.程度となります。これを流速に変換すると、内径2.1 mmで約0.2 mL/min.、3.0 mmで約0.4 mL/min.、4.6 mmで約1.0 mL/min.となります。

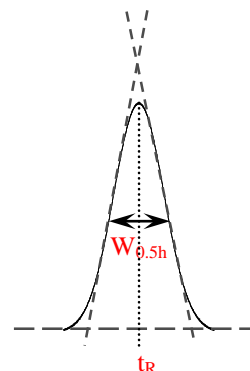
2. 理論段高さ (High Equivalent to a Theoretical Plate: HETP)

理論段数(後述)1段を出すのに必要なカラム長さを指します。通常は単位としてμmが用いられます。カラム長さに依存しない値のため充填剤の性能の指標となり、数値が小さいほど高分離能の充填剤といえます。

理論段数(N)とは、カラムの分離性能を示す数値を指し、右の式などによって表されます。数値が大きいほど高分離能のカラムといえます。

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

$W_{0.5h}$: ピークの半値幅
 t_R : ピークの保持時間



製品情報

Cat, No	製品名
5020-84652	Inertsil ODS-3 2 μm 50 × 2.1mmI.D.
5020-84662	Inertsil ODS-3 2 μm 50 × 3.0mmI.D.



ジールサイエンス株式会社

〒163-1130 東京都新宿区西新宿 6-22-1 新宿スクエアタワー 30F
TEL.03-5323-6611 FAX.03-5323-6622

※各試験法は、変更される場合がありますので、分析の前に確認されることをお勧めします。

データに起因し、直接的または間接的に生じたいかなる損害に対しても、当社が責任をおうものではありません。また、記載事項につきましては、予告無しに改訂する場合がありますので、あらかじめご了承ください。

カスタマーサポートセンターでは、ノウハウのご提供と分析に関するフォローを行っております。お困り際には、カスタマーサポートセンターまでお気軽にお問い合わせください。

カスタマーサポートセンター (土・日・祝除く9:00-17:00)

☎ 04-2934-1100 ✉ info@glsc.co.jp



【アプリケーションの検索はこちら】

https://www.glsc.co.jp/technique/app/app_search.html