

今回は、アセトニトリルの節約と題し、不足しているアセトニトリルについて簡単にできる溶媒消費量の削減方法をご紹介します。

一般的なHPLCでよく使用されている内径サイズである内径4.6mmのカラムをそれ以下のサイズに変更するだけで移動相に使用する溶媒消費量を削減できます。

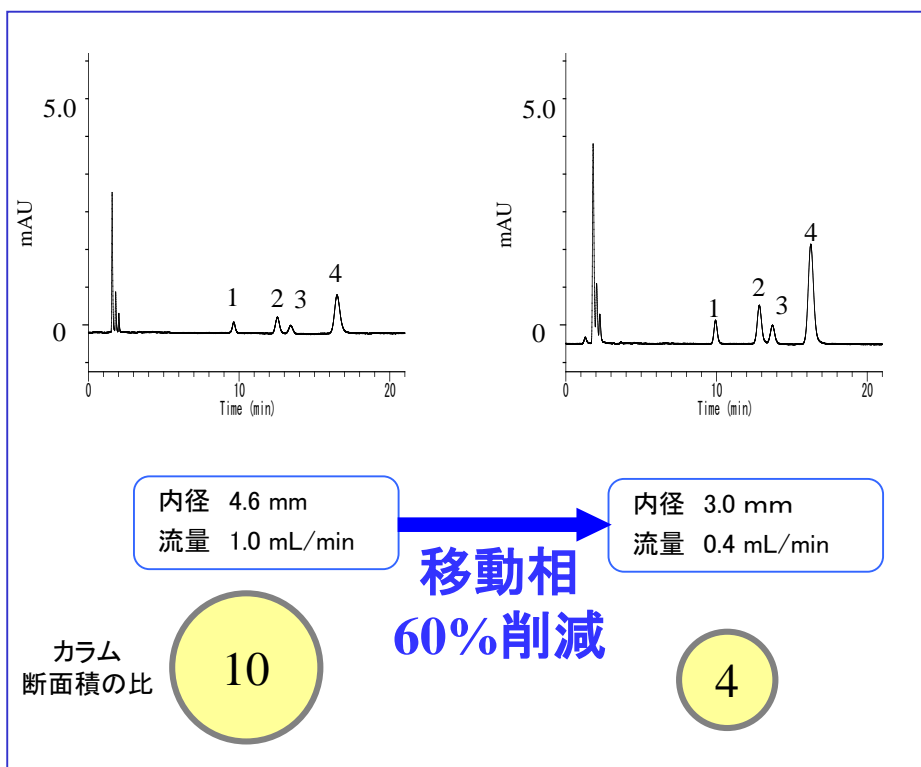
内径4.0mmへの変更なら約25%、3.0mmなら60%の移動相の削減が可能です。また、おのずと廃液量も減らすことが可能なため、環境にも優しいだけでなく、ランニングコストの削減にもつながります。

(K.Suzuki)

スケールダウンによる溶媒削減の例

カラム断面積の比に応じて流量を変更すると、ほぼ同じ保持時間でピークが得られます。

内径4.6mmから3mmへのスケールダウンの場合、流量を0.4倍するだけです。



HPLC条件

システム : GL-7400HPLCシステム

カラム : Inertsil ODS-3
(5 μ m, 長さ150 mm)

溶離液 : A) CH₃CN
B) H₂O
A/B = 80/20, v/v

カラム温度 : 40 °C

検出 : UV 254 nm

注入量 : 10 μ L

1. n-Butylbenzene
2. o-Terphenyl
3. n-Amylbenzene
4. Triphenylene

線速度を合わせればほぼ同じ保持時間になる

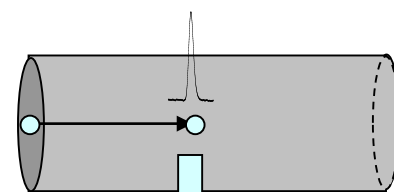
線速度とは、単位時間当たりにカラム内を移動する距離を示し、下式のように表わされる場合があります。

アイソクラティック分析の場合、カラムの太さ(断面積)に応じて流量を変えれば、同一線速度に保つことが可能で、その状態では保持時間がほとんど変わりません。

$$\text{線速度 (mm/s)} = \frac{\text{移動相流量 (mm}^3\text{/s)}}{\text{カラム断面積 (mm}^2\text{)}}$$

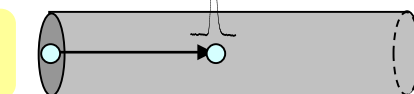
線速度 : カラムの入り口から出口方向に向けて移動相が単位時間当たりに移動する距離

内径 4.6mm
1mL/min



どちらも線速度は1mm/sec

内径 3.0mm
0.4mL/min



入り口

出口

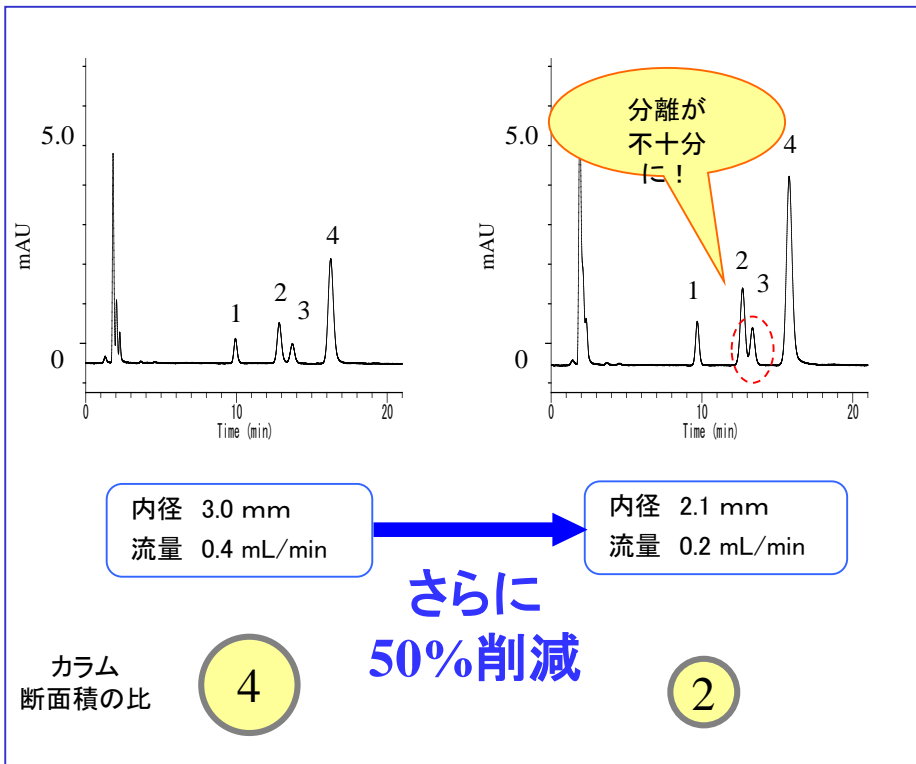
さらなるスケールダウンの分析例

内径3.0mmから2.1mmへのスケールダウンの場合、流量を半分にします。

十分分離可能なピークであれば、汎用HPLCシステムでもスケールダウンが可能です。

しかし、カラムを細くしすぎると、デッドボリュウムの影響でピークの拡散により汎用HPLCでは分離の悪化が目立ちます。

このような場合、必要に応じてセミマイクロタイプやキャピラリータイプのHPLCを使用してください。



HPLC条件

システム : GL-7400HPLCシステム

カラム : Inertsil ODS-3
(5 μ m, 長さ150 mm)

溶離液 : A) CH₃CN
B) H₂O
A/B = 80/20, v/v

カラム温度 : 40 °C

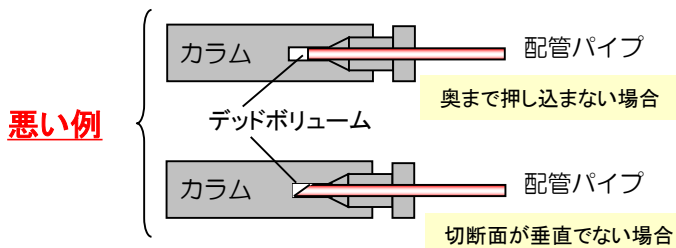
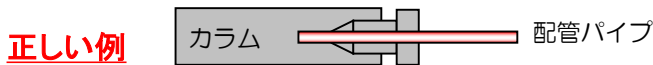
検出 : UV 254 nm

注入量 : 10 μ L

1. n-Butylbenzene
2. o-Terphenyl
3. n-Amylbenzene
4. Triphenylene

注意: 配管のデッドボリュウムの影響

デッドボリュウムの影響をより低減させるために、下記のように正しい配管を行ってください。きちんと行わないと、右図のように内径4.6mmのカラムでもピーク幅が広がってしまいます。



HPLC条件

カラム : Inertsil ODS-3
(5 μ m, 150 x 4.6 mm I.D.)

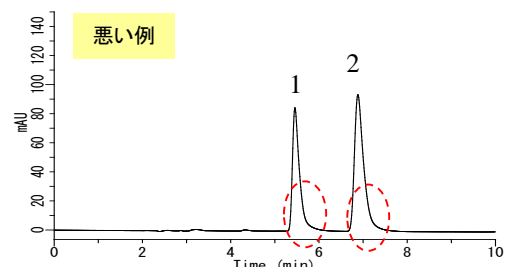
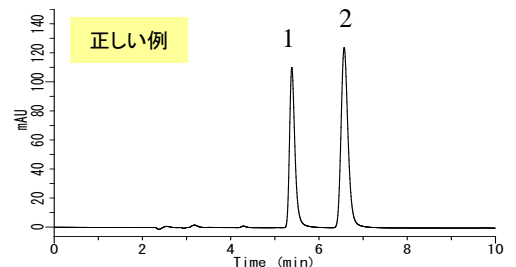
溶離液 : CH₃CN/ H₂O = 5/95, v/v

流量 : 1.0mL/min

カラム温度 : 40 °C

検出 : UV215nm

サンプル : 1.メタミドフォス
2.アセフェート



スケールダウンによるメリット

次のクロマトグラムは、LCテクニカルノートNo.8から引用したデータです。このデータでも線速度を合わせてスケールダウンすることで、同程度の保持時間が得られました。

また、ピーク高さを見るとスケールダウンにより2倍以上アップしていることがわかります。これは蛍光やUV検出器などの濃度依存型検出器で見られます。

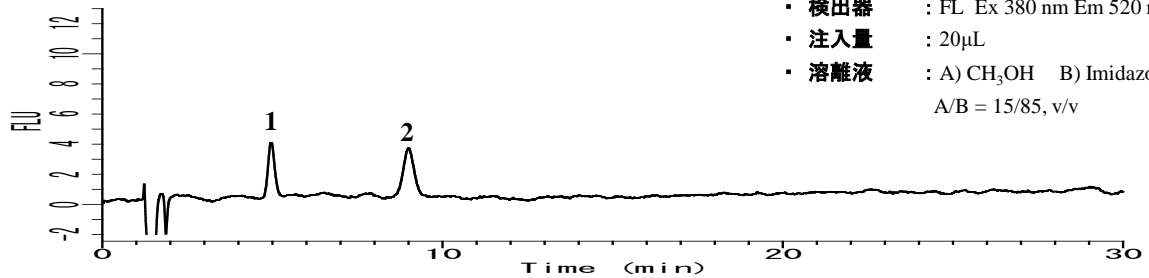
・内径4.6mmカラム

(150 x 4.6 mm I.D. 粒径5 μ m 流量 1.2mL/min)

1. Oxytetracycline (0.1mg/L)
2. Tetracycline (0.1mg/L)
3. Chlortetracycline (0.1mg/L)

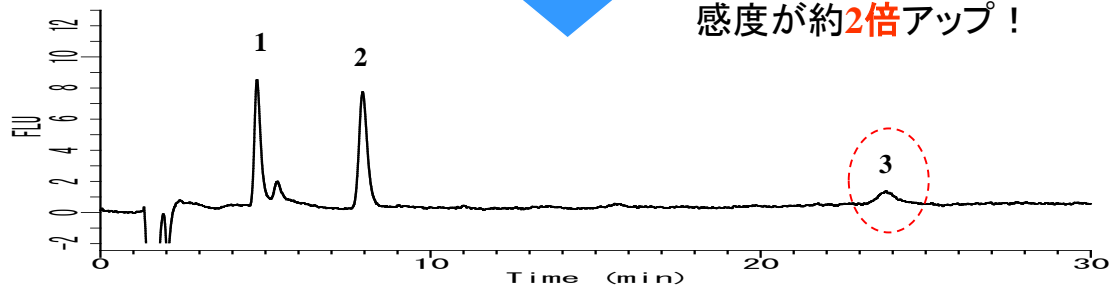
HPLC 条件

- ・カラム : Inertsil ODS-3
- ・温度 : 40°C
- ・検出器 : FL Ex 380 nm Em 520 nm
- ・注入量 : 20 μ L
- ・溶離液 : A) CH₃OH B) Imidazol Buffer
A/B = 15/85, v/v



・内径3.0mmカラム

(150 x 3.0 mm I.D. 粒径3 μ m 流量 0.5mL/min^{※2})



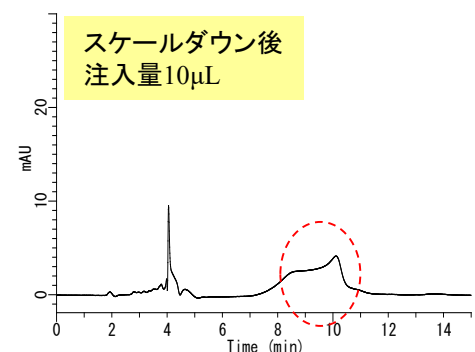
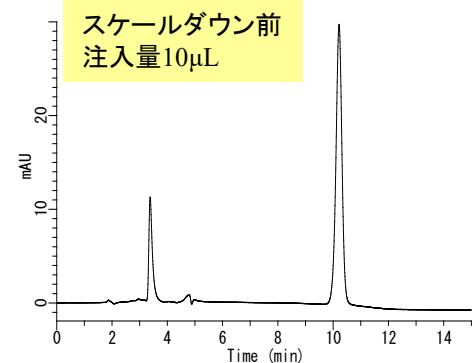
溶媒使用量が約**2/5**に節約

感度が約**2倍**アップ！

注意: 注入量

スケールダウンを行った場合、注入量が同じであれば、上記のような濃度依存型検出器では感度が増します。ただし、内径が細くなると、移動相の組成と試料の希釈溶媒の極性の差が大きい場合に、右図のクロマトグラムのようにピーク形状が悪化する場合があります。カラム負荷量も小さくなり、その分、寿命も短くなったりします。

このような場合、注入量を流量に比例させて減らすか、試料を移動相などで希釈してください。注入量を変えない場合には、事前に最初に使用した太いカラムで注入量を増やしてピーク形状が崩れないか確認した後、細くしてください。



カラム内径に対する流量（線速度 1mm / sec）

線速度1mm/secのときの各カラム内径における流量を示しました。

3mmより細かい内径のカラムを使用する際には、汎用タイプのHPLCではなく、セミマイクロタイプをご利用ください。

内径 (mm)	7.6	6	4.6	4	3	2.1	1.5
流量 (mL/min)	2.7	1.7	1.0	0.8	0.4	0.2	0.10

Coffee Break

第15改正日本薬局方（以下、JP15）においては、下記のように諸条件を満たすことが可能であればカラム内径を変更することは可能です。

 (JP15 液体クロマトグラフィーの項から抜粋引用)

医薬品各条の操作条件のうち、下記に記載の条件は、規定された溶出順序、分離度、シンメトリー係数及び相対標準偏差が得られる範囲内で一部変更することが出来る。

- | | |
|----------------|---------------------|
| ・カラムの内径及び長さ | ・移動相の塩濃度 |
| ・充てん剤の粒径 | ・切り替え回数 |
| ・カラム温度 | ・切り替え時間 |
| ・移動相の組成比 | ・グラジエントプログラムおよびその流量 |
| ・移動相の緩衝液組成 | ・誘導体化試薬の組成および流量 |
| ・移動相のpH | ・移動相の流量並びに反応時間 |
| ・移動相のイオン対形成剤濃度 | および化学反応槽温度 |



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。お困りの際には、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