

キャピラリーイオンクロマトグラフィーの概要と利点

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

キーワード

キャピラリーイオンクロマトグラフ、HPIC(高圧対応イオンクロマトグラフィー)、0.4 mmカラム



図1. Dionex ICS-5000+ HPICシステム(写真左)
Dionex ICS-4000 HPICキャピラリーシステム(写真右)

はじめに

キャピラリーイオンクロマトグラフは、キャピラリーフロー対応ポンプ、専用配管、キャピラリー専用のサブレッサー(CES)や検出器で構成されています。キャピラリーイオンクロマトグラフィーに対応している装置はThermo Scientific™ Dionex™ ICS-5000+ HPICシステムとThermo Scientific™ Dionex™ ICS-4000 HPICキャピラリーシステムです(図1)。キャピラリーイオンクロマトグラフでは内径0.4mmの細径カラムを使用することで、スタンダードボアカラムと比較すると、試料注入量が同じ場合、100倍の質量感度(mass sensitivity)が得られます。つまり、従来の1/100の注入量で同じ感度が得られるということです。

また、溶離液流量は1/100の0.01 mL/minとなり、1日あたりの消費量は15 mLと少なくなるため、長期間連続稼動ができます。連続稼動することでワークフローのポイントとなる装置のスタートアップ時間を省略でき、常に待機させておけるため装置の安定化を待つ必要がありません。いつでも測定可能(Always On, Always Ready)です。溶離液カートリッジも18ヶ月間の連続運転に対応しています。キャピラリーシステムの各部モジュールとキャピラリーイオンクロマトグラフィーの利点についてご紹介します。

装置

Dionex ICS-5000+ HPICシステムは、ポンプモジュール(DP/SP)、溶離液ジェネレーターモジュール(EG)、検出器/クロマトグラフィーモジュール(DC)から構成されており、オートサンプラー(Dionex AS-AP)とともに使用します。4mm内径のスタンダードボアカラム、2mm内径のマイクロボアカラム、0.4mm内径のキャピラリーカラムに対応したシステムで、最大2チャンネルまで選択して組み合わせることができます。Dionex ICS-4000 HPICキャピラリーシステムは、キャピラリー専用装置で使いやすいコンパクトな設計になっています。(図2.)

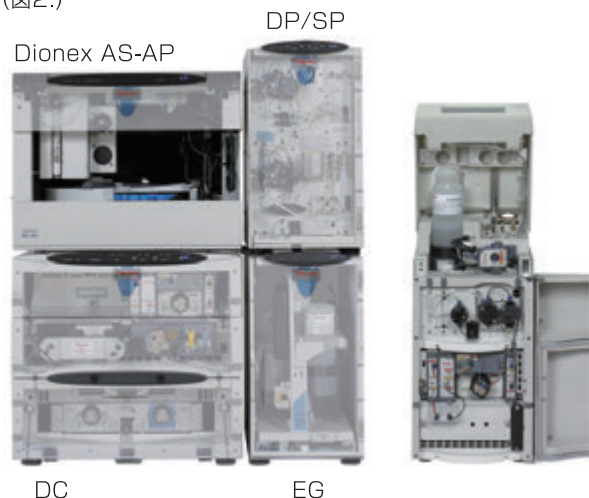


図2. Dionex ICS-5000+ HPICシステム(写真左)
Dionex ICS-4000 HPICキャピラリーシステム(写真右)

ICキューブはインジェクションバルブから検出器に至るまでのデッドボリュームを最小限にするためのユニットです(図3.)。キャピラリー用0.4 μLループを内蔵したインジェクションバルブをはじめ、各部を専用配管で接続します。このICキューブをDionex ICS-5000+ HPICシステムのDCもしくはDionex ICS-4000 HPIC 内部に組み込んで使用します。

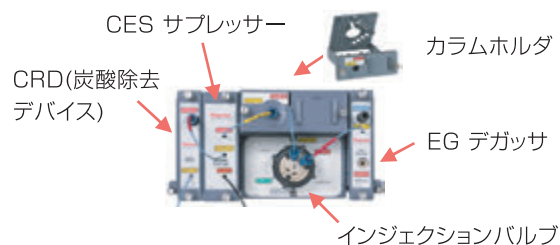


図3. ICキューブ

流路

流路図に示すとおり、超純水はデュアルピストンポンプによって溶離液ジェネレータカートリッジ(EGC)に送液され、溶離液が調製されます。注入されたサンプルはカラムで分離後、サブレッサーを通過して電気伝導度検出器で検出されます(図4.)。

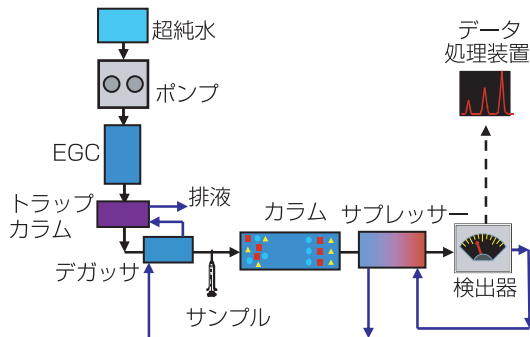


図4. キャピラリーシステムの流路図

原理

スタンダードボアカラムとキャピラリーカラムを用いたときの流量などの比較を表1に示します。カラム内径の比が4:0.4(断面積比は100:1)のとき、同じ線速度になる流量は100:1です。つまりスタンダードボアでは流量が1.0mL/minに対してキャピラリーではその1/100である0.01mL/minで同等のクロマトグラムを得ることができます。装置を連続稼動した場合、スタンダードボアでは1ヶ月で43Lの溶離液を消費しますが、キャピラリーを用いると、消費するのは1ヶ月 0.43Lだけです。また、流量が1/100になっているということは、一定時間当たりの溶離液の体積が1/100になるため、試料注入量と同じであれば、結果的に質量感度(mass sensitivity)を100倍にできます。

スタンダードボアカラム



	スタンダード	キャピラリー
カラム内径 (断面積比)	4 mm (1)	0.4 mm (1/100)
溶離液流量	1.0mL/min	0.01mL/min
質量感度比	1	100
溶離液量	43L / 月 (1440mL / 日)	0.43L / 月 (15mL / 日)

表1. カラム内径の違いによる流量と質量感度の比較

スタンダードボアとキャピラリーのクロマトグラム比較

図5.のクロマトグラムはスタンダードボアとキャピラリーを比較したものです。スタンダードボアの注入量40 μ Lに対してキャピラリーの注入量は0.4 μ Lと1/100ですが、各ピークの感度は同等です。つまり少ないサンプル量で同等感度の分析が可能です。この利点により、濃縮分析における濃縮時間の短縮や、希少なサンプルの高感度分析ができます。

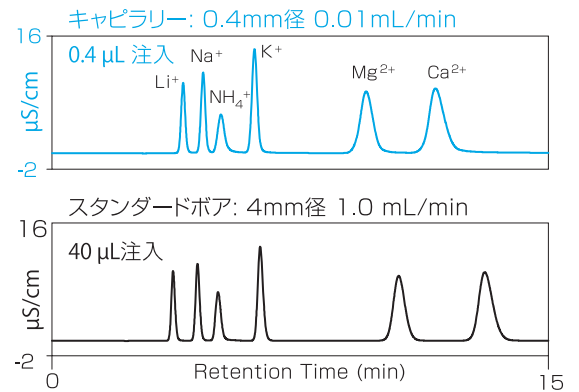
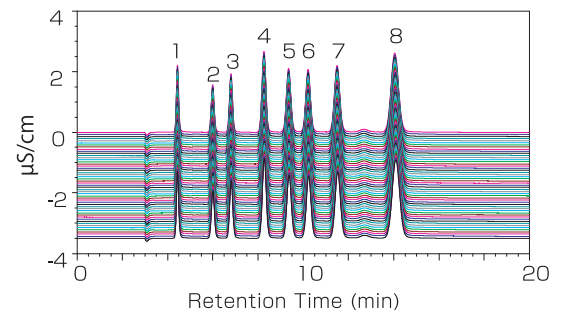


図5.クロマトグラム比較

再現性

イソクラティック条件(次ページ参照)にて陰イオン7成分を50回繰り返し分析した再現性(%RSD)は、保持時間で0.021-0.048%、面積値で0.287-0.367%と良好な結果でした(表2.)。



番号	成分名	保持時間 (% RSD)	ピーク面積 (% RSD)
1	F ⁻	0.048	0.287
2	ClO ₂ ⁻	0.045	0.363
3	Cl ⁻	0.037	0.367
4	NO ₂ ⁻	0.030	0.328
5	ClO ₃ ⁻	0.023	0.349
6	Br ⁻	0.024	0.359
7	NO ₃ ⁻	0.021	0.354
8	SO ₄ ²⁻	0.026	0.287

表2. 各成分の保持時間とピーク面積の再現性

イソクラティック分析条件

装置：Dionex ICS-5000+ HPICシステム
 カラム：Dionex IonPac AG19/AS19(0.4mm径)
 溶離液：20mmol/L KOH
 溶離液ジェネレータで自動生成
 流量：10 $\mu\text{L}/\text{min}$
 試料注入量：0.4 μL
 カラム温度：30 $^{\circ}\text{C}$
 検出器：電気伝導度
 サプレッサー：Dionex ACES300
 オートサンプラー：Dionex AS-AP

グラジエント分析条件

装置：Dionex ICS-5000+ HPICシステム
 カラム：Dionex IonPac AG19/AS19(0.4mm径)
 溶離液：10-45mmol/L KOH
 溶離液ジェネレータで自動生成
 流量：10 $\mu\text{L}/\text{min}$
 試料注入量：0.4 μL
 カラム温度：35 $^{\circ}\text{C}$
 検出器：電気伝導度
 サプレッサー：Dionex ACES300
 オートサンプラー：Dionex AS-AP

長期連続稼働時の再現性

陰イオン7成分を1000回(約20日間)連続分析した結果、保持時間(RSD%)は、0.19-0.35%と長期間でも安定して良好であることが確認できました(図6.)。連続稼働することで装置のスタートアップ時間を省略でき、装置の安定化を待つ必要がありません。いつでも測定可能な状態を維持できます。

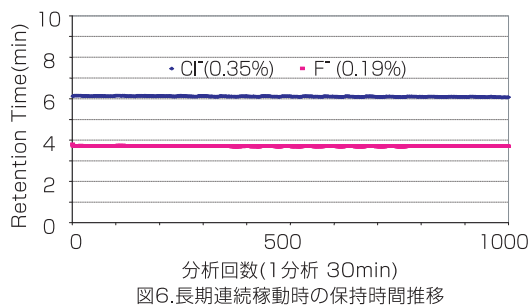


図6.長期連続稼働時の保持時間推移

直線性と定量下限値

グラジエント条件で陰イオン10成分混合標準液を使用して検量線の直線性と定量下限値を確認しました(図8.,表3)。スタンダードボアと遜色のない良好な直線性が得られています。また、定量下限値は1-23 $\mu\text{g}/\text{L}$ (0.4 μL 注入時)と非常に良好な結果が得られました(定量下限値は%RSDが10%となる値を算出)。

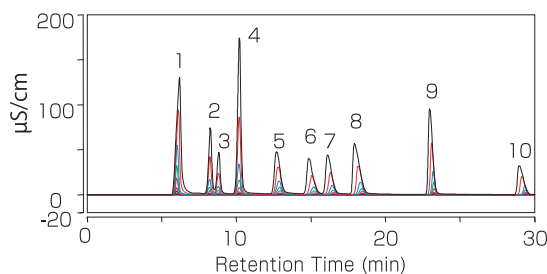


図8.標準品クロマトグラムの重ね描き

ベースラインノイズ

図7.に20分間のベースラインの拡大図を示します。図の縦軸は1nSなので、ベースラインノイズが非常に小さいことがわかります。連続稼働により、この低ノイズの状態を維持し常に安定した分析がおこなえます。

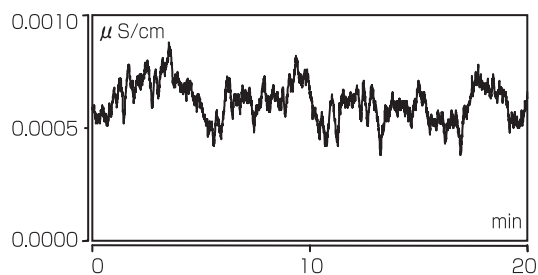


図7.ベースラインノイズ拡大図

番号	成分名	定量 下限値 (mg/L)	検量線範囲 (mg/L)	相関係数
1	F ⁻	0.001	0.01-20	0.9991
2	ClO ₂ ⁻	0.008	0.01-100	0.9995
3	BrO ₃ ⁻	0.023	0.01-100	1.0000
4	Cl ⁻	0.010	0.01-100	0.9999
5	NO ₂ ⁻	0.006	0.01-20	0.9998
6	ClO ₃ ⁻	0.010	0.01-100	1.0000
7	Br ⁻	0.018	0.01-100	1.0000
8	NO ₃ ⁻	0.010	0.01-100	0.9991
9	SO ₄ ²⁻	0.010	0.01-100	1.0000
10	PO ₄ ³⁻	0.016	0.01-100	1.0000

表3.各成分の定量下限値、検量線範囲および相関係数

まとめ

キャピラリーイオンクロマトグラフは細径カラムを使用することにより、質量感度が100倍となり、必要な溶離液を従来の1/100量にすることができます。感度が100倍になると1/100の注入量で、従来と同等の感度が得られるので、とくに濃縮分析の測定時間の短縮や希少サンプルの高感度分析に有効です。

また、必要な溶離液量が低減できることにより連続稼動が容易となり、装置のスタートアップの省力化や排液の削減が可能です。装置は常に安定しているため、いつでも測定可能な状態にしておけるのも、キャピラリーシステムの大きな利点の一つです。

© 2013 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

- ここに記載されている商品名は、米国Thermo Fisher Scientific およびその他の国における商標または登録商標です。
- ここに記載の会社名、製品名は各社の商標または登録商標です。
- ここに記載の内容は、改善のために予告なく変更することがあります。

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

IC & エレメンタル事業部

☎ 0120-753-670 Fax.0120-753-671

本社 〒221-0022 横浜市神奈川区守屋町3-9 C棟

大阪支店 〒532-0011 大阪市淀川区西中島6-3-14 DNX新大阪ビル

E-mail : analyze.jp@thermofisher.com

www.thermoscientific.jp

S1301

Thermo
S C I E N T I F I C
Part of Thermo Fisher Scientific