

高圧キャピラリーイオンクロマトグラフィーと 電荷検出器の利点

日本ダイオネクス株式会社

キーワード

キャピラリーイオンクロマトグラフィー、高圧イオンクロマトグラフィー、4 μ mカラム、電荷検出器

はじめに

弊社は2010年に世界初のキャピラリーイオンクロマトグラフィー (IC) システムをリリースし、その後多くのキャピラリー用カラムをラインナップに加えアプリケーションを増やしてきました。2013年には、システムの高圧化を図り、イオンクロマトグラフィーでは世界初の4 μ m径の樹脂を充填したカラムを使用できるようになり、さらに、高速化、高分離が実現できるようになりました。本稿では、高圧キャピラリーICと、今までにない原理で検出を行う電荷検出器について、利点と応用例をご紹介します。

キャピラリーIC

ICはイオン成分の測定のために推奨される測定法の一つであり、高純度水、飲料水、排水から食品や生体試料までさまざまなイオン濃度やサンプルマトリックスの試料中のイオン分析に対応できます。最新の技術により、このようなサンプルの分析が、より早く、より正確に、より簡便に行えるようになってきました。その技術の一つがキャピラリーICです。キャピラリーICは内径0.4 mmのカラムを使用し、流量0.01 ~ 0.03 mL/minで溶離液を供給します。0.01 mL/minの場合、溶離液の使用量は0.432 L/月 (5.25 L/年) と非常に少なく、これによりICシステムを連続稼働できるという利点があります。

フォーマット	スタンダードボア	キャピラリー
カラム内径	4 mm	0.4 mm
一般的な流量	1.0 mL/min	0.01 mL/min
一般的なサンプル注入量	25 μ L	0.4 μ L
溶離液消費量	43.2 L/月	0.432 L/月
検出限界	7000 fg	70 fg

さらに、キャピラリーICには下記の利点があります。

- ・ 少ないサンプル量でも十分な感度が得られます (スタンダードボアの1/100の注入量で同等の測定感度になります)。このため、生体試料などサンプル量が限られる場合でも、高感度分析が可能です。
- ・ 質量分析計のフロントエンドとしてICを使用する場合に、低流量での溶離液送液により、微量成分を高感度に検出することができます。
- ・ 高濃度マトリックス中の微量成分の測定に有効な2次元ICでは、1次元目をスタンダードボア、2次元目をキャピラリー条件にすることで、1 mLのサンプル注入でng/L (ppt) レベルの高感度な測定が可能です。

Thermo Scientific™ Dionex™ ICS-5000⁺は、さまざまなアプリケーションに合わせた組み合わせが可能なモジュラー型システムで、スタンダードボアやマイクロボアはもちろん、キャピラリーにも対応しています。Dionex ICS-4000はコンパクトで使いやすいキャピラリーIC専用システムです。図1にシステム写真を示します。いずれのシステムも、溶離液ジェネレーター、キャピラリー用電解サプレッサーを制御でき、電気伝導度か電気化学検出器を選択できます。また、高圧イオンクロマトグラフィー (HPIC) 対応システムであるため、4 μ m径の樹脂を充填したカラムで高速分析、または高分離能分析を実現できます。

高圧イオンクロマトグラフィー

HPICシステムは、ポンプヘッドや溶離液ジェネレーターカートリッジ、溶離液ジェネレーター用デガッサーの改良により、34 MPa (5000 psi) の高圧下で連続稼働ができます。高圧対応になったことにより、粒子径の小さな高圧カラムを使用できるようになりました。

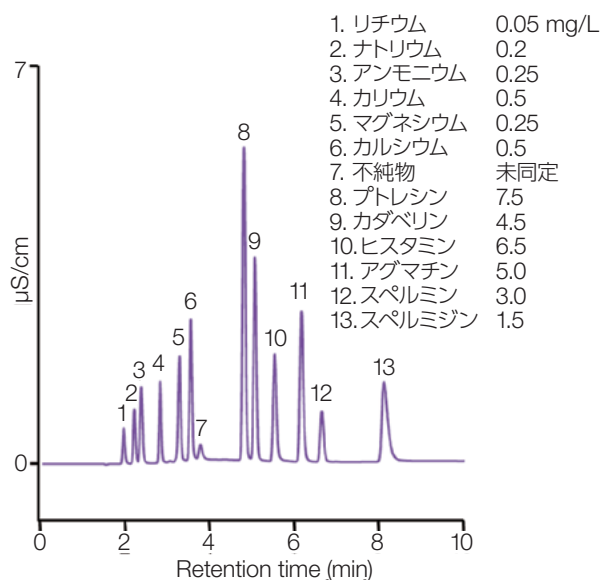


図1: Dionex ICS-5000* (左)とDionex ICS-4000 (右)

4 μm のカラムはクロマトグラフィー効率が高いため、次のような利点があります。

- ・ 高流量で高速分析が可能
- ・ 標準流量で高分離能分析が可能

4 μm のカラムを用いて13種類の無機陽イオンと生体アミンを9分以内に分離した例を図2に示します。4 μm のカラムを用いることで、全てのピークはベースライン分離しています。9分以内に分離するために、流速を通常の0.01 mL/minから0.02 mL/minに上げ、ステップグラジエントを適用しました。高分離能分析の例は図6に示します。



カラム: Dionex IonPac CG19-4 μm / CS19-4 μm (0.4 mm i.d.)
 溶離液: 9-70 mmol/L メタンスルホン酸
 流量: 0.02 mL/min
 注入量: 0.4 μL
 温度: 30 $^{\circ}\text{C}$
 検出: 電気伝導度検出器 (サプレッサー使用)

図2: 無機陽イオンと生体アミンの高速分離

電荷検出器の検出原理

電荷検出器は、セル電極間を移動する電荷を電流量として検出します。検出器セル内は、陰イオン交換膜と陽イオン交換膜により、溶離液流路と2つの電極流路に分けられています。一定電圧が電極に印加されると、溶離液流路のイオンは膜を通して電極流路へ移動します(図3)。イオンが電極に到達すると、そのイオンの電荷に相当する電流が流れるため、それを検知します。流れる電流は、イオンの種類や解離状態に関わらず電荷に比例しているため、汎用検出器として用いることができます。また、2価のイオンは1価の2倍の感度で、3価は3倍の感度で検出できます。図4は7種陰イオンの電気伝導度と電荷検出器の感度比較(塩化イオンのスケールを揃えたとき)を示しています。特に3価のリン酸イオンは、電荷検出器で感度良く検出されていることがわかります。

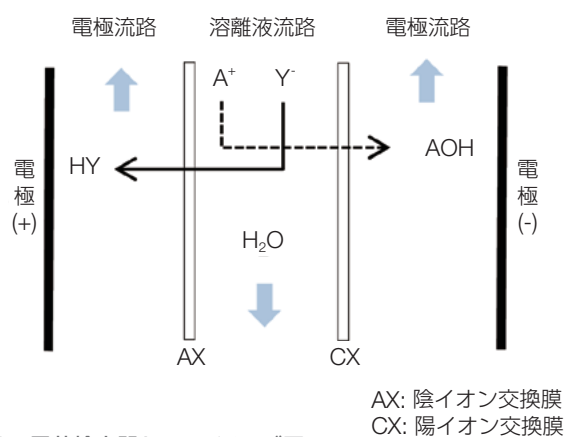
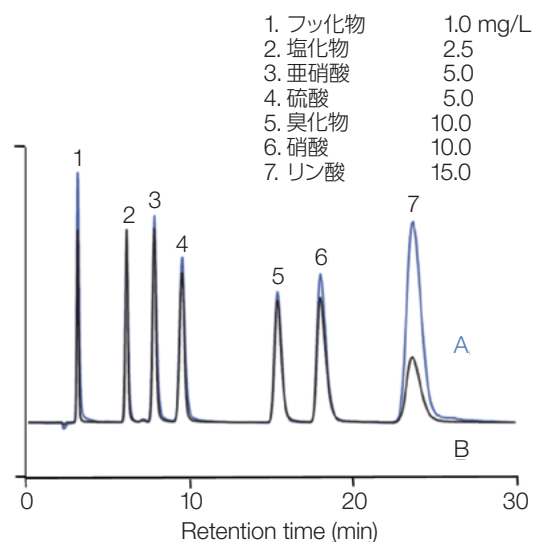


図3: 電荷検出器セルのイメージ図



カラム: Dionex IonPac AS15-9 μm (0.4 mm i.d.)
 溶離液: 38 mmol/L KOH
 流量: 0.012 mL/min
 注入量: 0.4 μL
 温度: 30 $^{\circ}\text{C}$
 検出: A) 電荷検出器 (青色のトレース)
 B) 電気伝導度検出器 (黒色のトレース)

図4: 7種陰イオンの電気伝導度と電荷検出器の比較

電荷検出器は全てのイオンを検知するため、サプレッサーで溶離液を水に変換した後に使用する必要があります。このため、溶離液には水に変換可能な水酸化カリウム（陰イオン分析）かメタンスルホン酸（陽イオン分析）を用います。電荷検出器は、電気伝導度検出器の後に接続して使用します。Dionex ICS-4000に電荷検出器を取り付けた例を図5に示します。

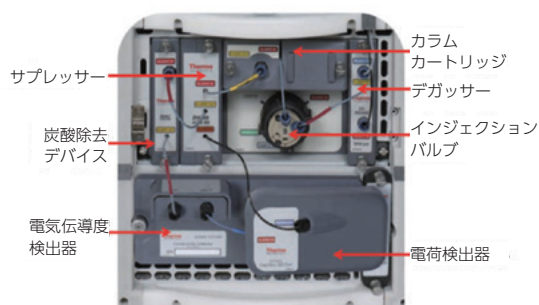


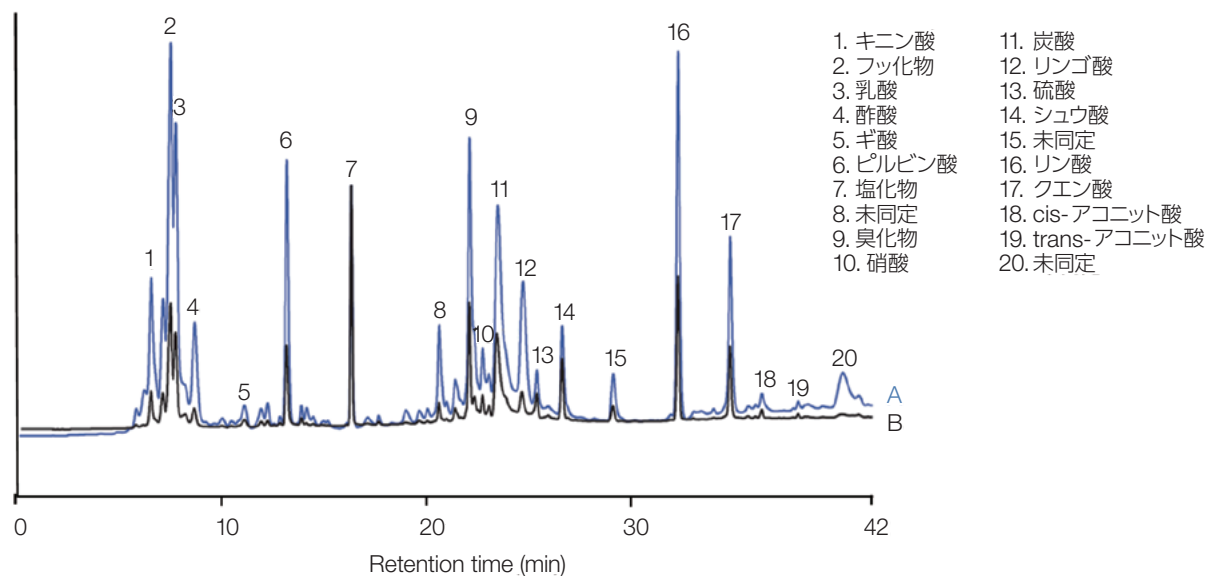
図5: Dionex ICS-4000のキャピラリーコンポーネント

オレンジジュース中の有機酸と陰イオンの分析

オレンジジュース中の有機酸と陰イオンをDionex IonPac AS11-HC-4 μm カラムを用いて一斉分離した例を図6に示します。オレンジジュースは超純水で40倍希釈したものをろ過し、0.4 μL 注入しました。図6の黒色のトレースは電気伝導度検出器で、青色のトレースは電荷検出器で検出した結果です。2つのクロマトグラムのスケールは、塩化物イオンのピーク高さと同じになるように調節しています。図6より、酢酸やリンゴ酸のような弱解離成分は、リン酸やクエン酸のような多価イオンと同様に、電気伝導度よりも電荷検出器での検出感度のほうが高いことがわかります。

おわりに

4 μm カラムを用いた高压ICにより、高分離分析や高速分析が実現できます。また、キャピラリーICはもともと極低流量であるため、流量を上げて高速分析を行っても溶離液消費量はほとんど変わりません。さらに、電荷検出器により、弱解離性の有機酸でも完全解離イオンと同等の感度で検出できます。



カラム: Dionex IonPac AS11-HC-4 μm (0.4 mm i.d.)

溶離液: KOH, 1 mmol/L (0-8 min)、1-30 mmol/L (8-28 min)、30-60 mmol/L (28-38 min)、60 mmol/L (38-42 min)

流量: 0.015 mL/min

注入量: 0.4 μL

温度: 30 $^{\circ}\text{C}$

検出: A) 電荷検出器 (青色のトレース)

B) 電気伝導度検出器 (黒色のトレース)

サプレッサー使用

サンプル: 超純水で40倍希釈

図6: Dionex IonPac AS11-HC-4 μm カラムによるオレンジジュース中の有機酸と無機陰イオンの測定

参考文献

<日本語>

1. イオンクロマトグラフィーシステム Dionex ICS-4000,
<http://www.dionex.co.jp/index.php?ps=products-info&id=171>
2. アプリケーションノート: キャピラリーイオンクロマトグラフィーの概要と利点 (IC13001)
3. アプリケーションノート: 高圧イオンクロマトグラフィー (HPIC) システムにおける小粒径カラムを用いた効率的な分離 (IC13007)
4. アプリケーションノート: 高圧イオンクロマトグラフィー (HPIC) 用高速分析用カラムDionex IonPac AS18-4 μm (IC13009)
5. アプリケーションノート: 4 μm のイオン交換樹脂を充填した高分離能カラムDionex IonPac AS11-HC-4 μm (IC13011)
6. アプリケーションノート: イオン測定のための新しい検出器「電荷検出器」 (IC13012)

<英語>

1. Thermo Scientific Dionex ICS-4000 with Charge Detection, <http://www.dionex.com/en-us/products/ion-chromatography/ic-rfic-systems/ics-4000/lp-111672.html>.
2. Dionex (now part of Thermo Scientific) Application Note 143, Determination of Organic Acids in Fruits Juice.
3. Thermo Scientific Dionex IonPac CS19-4 μm Cation-Exchange Column, <http://www.dionex.com/en-us/products/columns/ic-rfic/cation-packed/ionpac-cs19-4um/lp-111500.html>.
4. Thermo Scientific Dionex IonPac AS11-HC Hydroxide-Selective Anion-Exchange Column, <http://www.dionex.com/en-us/products/columns/ic-rfic/hydroxide-selective-packed/ionpac-as11hc/lp-73257.html>.

このアプリケーションノートはWhitePater70464を翻訳したものです。

©2013 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

ここに掲載されている会社名、製品名は各社の商標、登録商標です。
ここに掲載されている内容は、改題のために予告なく変更することがあります。

日本ダイオネクス株式会社

Part of Thermo Fisher Scientific

□本社	〒532-0011	大阪市淀川区西中島6-3-14 DNX新大阪ビル	TEL (06) 6885-1213 FAX (06) 6885-1215
□東京支社	〒110-0015	東京都台東区東上野4-24-11 NBF上野ビル	TEL (03) 5826-2201 FAX (03) 5826-2202
□名古屋営業所	〒450-0002	名古屋市中村区名駅3-16-3 名駅アイサンビル	TEL (052) 571-8581 FAX (052) 571-8582
□大阪営業部	〒532-0011	大阪市淀川区西中島6-3-14 DNX新大阪ビル	TEL (06) 6885-1335 FAX (06) 6885-1215
□九州営業所	〒812-0011	福岡市博多区博多駅前2-20-1 大博多ビル8階	TEL (092) 271-4436 FAX (092) 262-0737

※2013年4月より住所が変更になりました。

テクニカルサポートセンター フリーダイヤル ☎ 0120-177-611 FAX (06) 6195-1710
Dionex Technical Support Center (TSC) [受付時間] 9:00~17:00 (土日祝日、弊社休業日を除く)
(操作方法、アプリケーション、トラブルなどの技術的なお問合せ)

<http://www.thermofisher.co.jp/dionex>

E1309

Thermo
SCIENTIFIC

Part of Thermo Fisher Scientific