

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

日本ダイオネクス株式会社

概要

目的

この資料では、小粒子 (4 μm) 径カラムと高圧イオンクロマトグラフィーを組み合わせることになった高分離能、高速、ハイスループット分析について説明します。

実験

サンプルにはフルーツジュース、ワイン、ミネラルウォーターおよび環境試料中の無機陰イオンを用意しました。カラムには、粒子径の小さい樹脂を充填したThermo Scientific™ Dionex™ IonPac™ AS11-HC-4 μm 、AS18-4 μm およびCS19-4 μm イオン交換カラム (スタンダードボアおよびマイクロボア用) を用意しました。システムは、高圧ポンプと溶離液ジェネレーターカートリッジ、デガスモジュールを装備したThermo Scientific Dionex ICS-5000⁺ HPICシステムを用いました。このシステムでは、最大34.4 MPa (5000 psi) の圧力での操作が可能です。SRS 300サプレッサーは、電気伝導度の低減のため、リサイクルまたはエクスターナルモードで使用しました。これらを用いて、複雑なサンプル中のイオン類のより良い分離、より早い分析を確認しました。

結果

水道水およびミネラルウォーター中の無機陰イオンは、Dionex IonPac AS18-4 μm マイクロボアカラム (内径2 mm) を用いて4分以内にベースライン分離ができました。フルーツジュースおよび白ワイン中の複数の陰イオンと有機酸はDionex IonPac AS11-HC-4 μm スタンダードボアカラム (内径4 mm) を用いて、1回の分析で一斉に分離することができました。9 μm の同じタイプの樹脂が充填された従来のカラムに比べ、4 μm の樹脂を充填したカラムは、いくつかの成分において分離が改善しました。無機陽イオンはDionex IonPac CS19-4 μm カラムにより理論段数の高いピークとして8分以内に分離しました。

はじめに

溶離液ジェネレーター付きイオンクロマトグラフィーシステムを4 mm内径のスタンダードまたは2 mm内径のマイクロボアカラムと組み合わせる際、最大圧力は20.6 MPa (3000 psi) です。しかし、小粒子径の樹脂を充填したカラムを用いる場合、さらに高い耐圧のシステムが必要になります。Dionex ICS-5000 キャピラリーHPICシステムは、溶離液ジェネレータを用いる条件でも34.4 MPa (5000 psi) までの圧力で連続稼働できます。このシステムをさらに改良し、キャピラリーの流量だけでなく全ての流量域で高圧対応にしたのがDionex ICS-5000⁺ HPICシステムです。

溶離液流量を上げるとピーク効率は低下します。しかしDionex IonPac AS11-HC-4 μm 、AS18-4 μm 、IonPac CS19-4 μm といった4 μm の樹脂を充填した新しいカラムは、複雑なマトリクス中のイオン類のより良い分離、高速分析、ハイスループットなどのクロマトグラフにおける優れた性能を示します。溶離液流量を上げても理論段数の高いピークが得られるため、分析時間の短縮ひいては生産性の向上につながります。

実験

サンプル前処理

サンプルは分析前に希釈のみおこない、その他の前処理はおこないませんでした。

イオンクロマトグラフィーシステム、 カラムとデータ処理装置

Dionex ICS-5000⁺ HPICシステム

Dionex IonPac AS11-HC-4 μm (4 × 250 mm)

Dionex IonPac AS18-4 μm (2 × 150 mm)

Dionex IonPac CS19-4 μm (4 × 250 mm)

Thermo Scientific Dionex Chromeleon™ クロマトグラフィーデータシステム

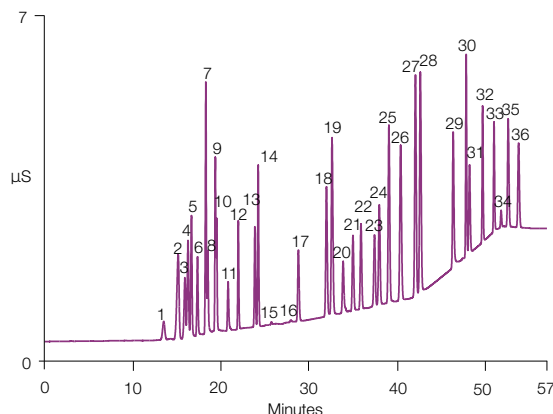
分析条件

各図に記載

結果

Dionex IonPac AS11-HC-4 μm カラム

Dionex IonPac AS11-HC-4 μm のように小粒子径の樹脂を充填したカラムは、有機酸と無機陰イオンのベースライン分離を改善しました (図1、2および表1)。高交換容量でかつ理論段数の高いピークが得られるカラムであるため、ワインやフルーツジュースのような複雑なマトリクスを含むサンプル中の多成分の有機酸や無機陰イオンを分離することができました (図3,4)。また、小粒子径樹脂を充填したカラムにより分離能を高めることができるため、ピーク解析精度を向上でき、結果として信頼性の高い結果を得ることができます。このため、ワインやフルーツジュースのような複雑なマトリクスを含むサンプル中の多成分の有機酸や無機陰イオンを一回の水酸化物系溶離液グラジエント分析で一斉分離することが可能です。

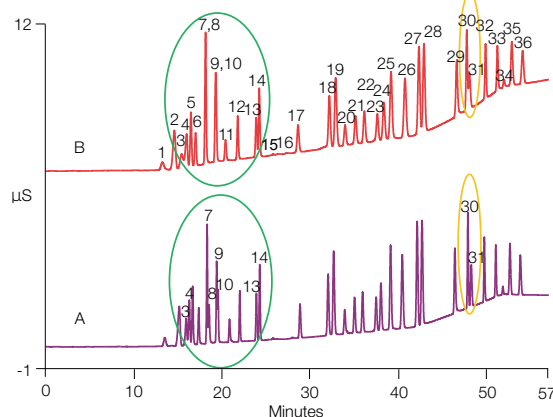


カラム	Dionex IonPac AS11-HC-4 μm, 4 x 250 mm
溶離液	1 mM KOH / 10%メタノール (0 - 10.7 min) 1 - 15 mM KOH / 10 - 20%メタノール (10.7 - 24 min) 15 - 30 mM KOH / 20%メタノール (24 - 33.7 min) 30 - 60 mM KOH / 20 - 10%メタノール (33.7 - 43.7 min) (KOHはDionex EGC 500 KOHから自動生成)
流量	1.0 mL/min
試料注入量	10 μL
カラム温度	30℃
検出器	電気伝導度 (サプレッサー使用)

ピーク (mg/L) :

1. キナ酸	10	13. BrO ₃ ⁻	10	25. マレイン酸	15
2. F ⁻	3	14. Cl ⁻	10	26. フマル酸	15
3. 乳酸	10	15. NO ₂ ⁻	10	27. SO ₄ ²⁻	15
4. 酢酸	10	16. ソルビン酸	10	28. シュウ酸	15
5. グリコール酸	10	17. トリフルオロ酢酸	10	29. タングステン酸	20
6. プロピオン酸	10	18. Br ⁻	10	30. PO ₄ ³⁻	20
7. ギ酸	10	19. NO ₃ ⁻	10	31. フタル酸	20
8. 酪酸	10	20. グルタル酸	10	32. クエン酸	20
9. メタンスルホン酸	10	21. コハク酸	15	33. クロム酸	20
10. ビルビン酸	10	22. リンゴ酸	15	34. シス-アスコニッ酸	-
11. 吉草酸	10	23. マロン酸	15	35. イソクエン酸	20
12. モノクロロ酢酸	10	24. 酒石酸	15	36. トランス-アスコニッ酸	20

図1: Dionex IonPac AS11-HC-4 μm 4 x 250 mmカラムによる有機酸と無機陰イオン標準試料の分析



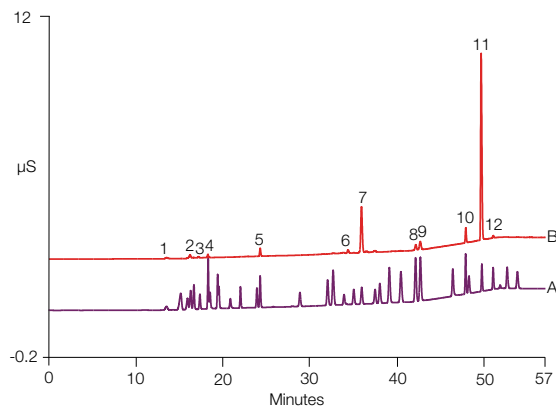
カラム A	Dionex IonPac AS11-HC-4 μm, 4 x 250 mm
カラム B	Dionex IonPac AS11-HC-9 μm, 4 x 250 mm
溶離液	1 mM KOH / 10%メタノール (0 - 10.7 min) 1 - 15 mM KOH / 10 - 20%メタノール (10.7 - 24 min) 15 - 30 mM KOH / 20%メタノール (24 - 33.7 min) 30 - 60 mM KOH / 20 - 10%メタノール (33.7 - 43.7 min) (KOHはDionex EGC 500 KOHから自動生成)
流量	1.0 mL/min
試料注入量	10 μL
カラム温度	30℃
検出器	電気伝導度 (サプレッサー使用)
ピーク	図1参照

図2: Dionex IonPac AS11-HC-4 μmカラムとAS11-HC-9 μmカラムの比較

4 μmカラムは乳酸や酢酸のような一価のカルボン酸の分離が改善できました。また臭素酸と塩化物、ギ酸と酪酸、メチルスルホン酸とビルビン酸、リン酸とフタル酸の分離が改善しました (表1)。

表1: 異なる粒子径のカラムにおける分離度の比較

	乳酸	ギ酸	メタンスルホン酸	BrO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻
分離度 4 μmカラム (A)	1.25	1.10	0.99	1.68	1.49
分離度 9 μmカラム (B)	1.16	不分離	不分離	1.26	1.08

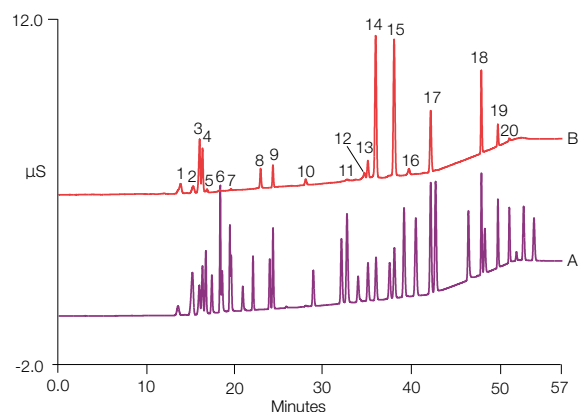


サンプル A: 混合標準液 (ピーク名は図1参照)
B: オレンジジュース (超純水で40倍希釈)

ピーク [サンプルB] (mg/L) :

1. キナ酸	3.4	7. リンゴ酸	42.7
2. 酢酸	2.5	8. SO ₄ ²⁻	1.8
3. 未知成分	-	9. シュウ酸	3.0
4. ギ酸	1.3	10. PO ₄ ³⁻	3.0
5. Cl ⁻	1.3	11. クエン酸	165.5
6. コハク酸	0.5	12. クロム酸	2.1

図3: 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分析 (分析条件は図1と同じ)



サンプル A: 混合標準液 (ピーク名は図1参照)
B: 白ワイン (超純水で40倍希釈)

ピーク [サンプルB] (mg/L) :

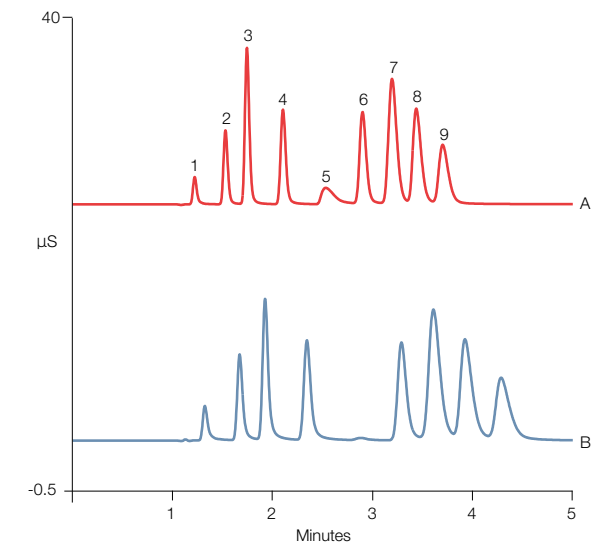
1. キナ酸	0.1	11. NO ₃ ⁻	0.8
2. F ⁻	2.1	12. 未知成分	-
3. 乳酸	21.3	13. コハク酸	5.9
4. 酢酸	7.2	14. リンゴ酸	51.4
5. グリコール酸	0.5	15. 酒石酸	43.5
6. ギ酸	1.1	16. 未知成分	-
7. ビルビン酸	0.8	17. SO ₄ ²⁻	9.3
8. 未知成分	-	18. PO ₄ ³⁻	19.2
9. Cl ⁻	1.6	19. クエン酸	6.2
10. ソルビン酸	11.3	20. クロム酸	0.9

図4: Dionex IonPac AS11-HC-4 μm 4 x 250 mmカラムによる白ワイン中の有機酸と無機陰イオン標準試料の分析 (分析条件は図1と同じ)

Dionex IonPac AS18-4 μm カラム

1993年に米国環境庁 (U.S.EPA) は Method 300.0 (A) において Dionex IonPac AS4A陰イオン交換カラムと炭酸系溶離液、サプレッサー、電気伝導度検出器を用いた方法で環境水中の無機陰イオンの定量を規定しました。その後、Dionex IonPac AS18水酸化物系溶離液用カラムが開発され、溶離液ジェネレーターシステムと合わせて Method 300.0 (A) に取り入れられました。溶離液ジェネレーターは、超純水を供給するだけで溶離液を電氣的にインラインで生成できるシステムで、選択性と再現性の改善、誤操作の排除、溶離液調製の省力化が可能になりました。

新しい溶離液ジェネレーターを備えたイオンクロマトグラフィーシステム Dionex ICS-5000⁺ HPICは、4 μm の樹脂を充てんした Dionex IonPac AS18-4 μm の性能を最大限に引き出すことができます。Dionex IonPac AS18-4 μm は、内径2および4 mmのカラムいずれでも、環境水や飲料水に含まれる無機陰イオンを、分離能を損なうことなく高速で分析することができます (図5)。



カラム A	Dionex IonPac AS18-4 μm , 2 x 150 mm
カラム B	Dionex IonPac AS18-Fast, 7.5 μm , 2 x 150 mm
溶離液	23 mM KOH (KOHはDionex EGC 500 KOHから自動生成)
流量	0.45 mL/min
試料注入量	5 μL
カラム温度	30°C
検出器	電気伝導度 (サプレッサー使用)

クロマトグラム

A: 4 μm カラム、26.5 MPa (3839 psi)

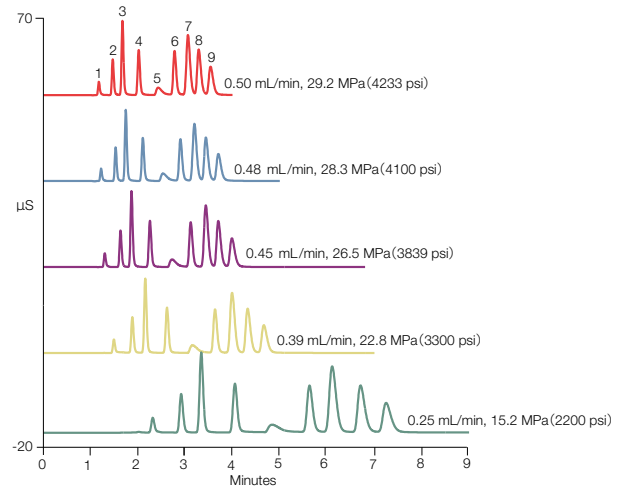
B: 7.5 μm カラム、15.2 MPa (2200 psi)

ピーク (mg/L) :

1. F^-	0.5	6. Br^-	10.0
2. ClO_2^-	5.0	7. SO_4^{2-}	10.0
3. Cl^-	3.0	8. NO_3^-	10.0
4. NO_2^-	5.0	9. ClO_3^-	10.0
5. CO_3^{2-}	-		

図5: Dionex IonPac AS18-4 μm とDionex IonPac AS18-7.5 μm の分離比較

4 μm カラムでは分析時間が短くなっても分離能を損なうことなく分離できました。



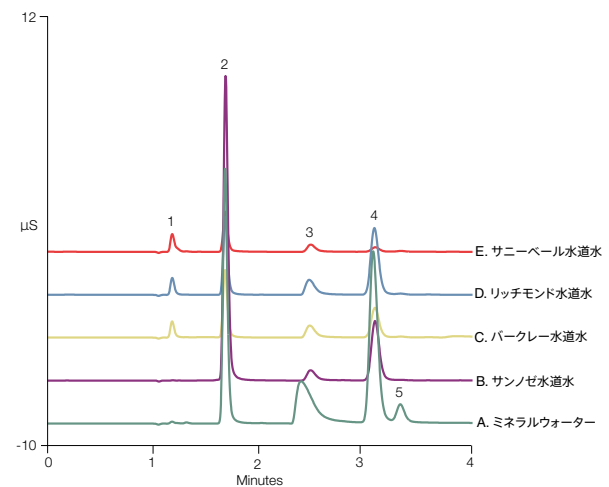
カラム	Dionex IonPac AS18-4 μm , 2 x 150 mm
溶離液	23 mM KOH (KOHはDionex EGC 500 KOHから自動生成)
流量	0.25, 0.35, 0.39, 0.45, 0.50 mL/min
試料注入量	5 μL
カラム温度	30°C
検出器	電気伝導度 (サプレッサー使用)

ピーク (mg/L) :

1. F^-	0.5	6. Br^-	10.0
2. ClO_2^-	5.0	7. SO_4^{2-}	10.0
3. Cl^-	3.0	8. NO_3^-	10.0
4. NO_2^-	5.0	9. ClO_3^-	10.0
5. CO_3^{2-}	20.0		

図6: 9種無機陰イオンのDionex IonPac AS18-4 μm (2 x 150 mm) カラムによる分離

流量0.5 mL/min (圧力 29.1MPa) において4分以内にベースライン分離が可能でした。



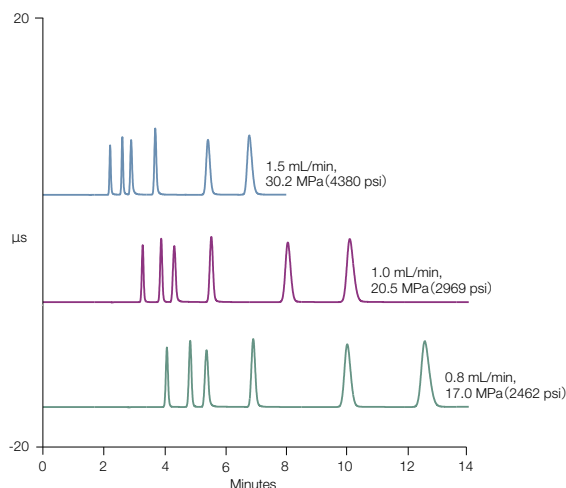
カラム	Dionex IonPac AS18-4 μm , 2 x 150 mm
溶離液	23 mM KOH (KOHはDionex EGC 500 KOHから自動生成)
流量	0.55 mL/min
試料注入量	5 μL
システム圧力	29.2 MPa (4233 psi)
分析時間	4分
カラム温度	30°C
検出器	電気伝導度 (サプレッサー使用)
サンプル前処理	孔径0.45 μm フィルターろ過、5倍希釈

ピーク (mg/L) :

	A	B	C	D	E
1. F^-	-	-	0.40	0.40	0.50
2. Cl^-	7.47	36.25	1.94	2.27	1.19
3. CO_3^{2-}	116.03	60.10	19.30	25.35	8.84
4. SO_4^{2-}	20.72	28.33	3.46	7.94	0.50
5. NO_3^-	2.48	-	-	-	-

図7: Dionex IonPac AS18-4 μm (2 x 150 mm) カラムによる水サンプル中の無機陰イオンの分離

水道水およびミネラルウォーター中の5種陰イオンを4分以内で分析できました。

Dionex IonPac CS19-4 μ mカラム

カラム	Dionex IonPac CS19-4 μ m, 4 x 250 mm
溶離液	8 mM メタンスルホン酸 (メタンスルホン酸はDionex EGC 500 MSAから自動生成)
流量	0.8, 1.0, 1.5 mL/min
試料注入量	25 μ L
カラム温度	30°C
検出器	電気伝導度 (サプレッサー使用)

ピーク (mg/L) :

1. Li^+	0.25
2. Na^+	1.0
3. NH_4^+	1.25
4. K^+	2.5
5. Mg^{2+}	1.25
6. Ca^{2+}	2.5

図8: Dionex IonPac CS19-4 μ mカラム (4 x 250 mm) による6種陽イオンの分析

流量1.5 mL/min (圧力30.2 MPa) において6種陽イオンを7分以内に分離できました。

まとめ

小粒子径の樹脂を充てんしたカラムDionex IonPac AS18-4 μ mは、流量を上げると20.6 MPa (3000 psi) 以上の圧力になります。また、Dionex IonPac AS11-HC-4 μ m and CS19-4 μ mカラムは通常流量でも高圧です。このようなカラムを使用できるのは、高耐圧仕様のDionex ICS-5000⁺ HPICシステムです。高耐圧システムでこれらのカラムを用いると、高速分析や高分離能が可能になります。

- Dionex IonPac AS11-HC-4 μ mカラムは9 μ mカラムと比べて乳酸や酢酸のような一価のカルボン酸の分離を改善します。また臭素酸と塩化物、ギ酸と酪酸、メチルスルホン酸とピルビン酸、リン酸とフタル酸の分離を改善します。
- Dionex IonPac AS18-4 μ mカラムは、環境水やミネラルウォーターサンプルに対し、高流量下で高速分離が可能で、結果的にスループットを改善します。
- Dionex IonPac CS19-4 μ mカラムは、陽イオンとアミンのピークを高理論段数に維持したまま高速分析することができます。

参考文献

Thermo Scientific Dionex IonPac AS18, IonPac AS11-HC, IonPac CS19カラムについては、下記のThermo Fisher Scientific application notesとウェブサイトを参考にしました。

1. Thermo Fisher Scientific. *Application Note 154, Determination of Inorganic Anions in Environmental Water Using a Hydroxide-Selective Column.*
2. Thermo Fisher Scientific. *Application Note 143, Determination of Organic Acids in Fruit Juices.*
3. <http://www.dionex.com/en-us/products/columns/ic-rfic/cation-packed/ionpac-cs19/lp-110108.htm>

©2013 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

- ここに記載されている会社名、製品名は各社の登録商標または商標です。
- ここに記載の内容は、改題のために予告なく変更することがあります。
- ここに記載されている製品は研究用機器であり、医療機器ではありません。

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>

E1304

Thermo
SCIENTIFIC

Part of Thermo Fisher Scientific