

Intuvo 9000 GC システムにおける 小内径カラムのクロマトグラフィー性能

著者

Brent Casper
Agilent Technologies, Inc.

概要

ガスクロマトグラフィー (GC) では内径の小さいカラムの使用が主流になっています。これは、短時間で高速かつ効率的に分離できるためです。これらのカラムを Agilent Intuvo 9000 ガスクロマトグラフィーシステム内で使用する場合には固有の課題があります。その原因は、システム流路内のビルトインのリテンションギャップ (ガードチップまたはジャンパーチップ) とユーザー定義の温度ゾーンです。これらの機能を適切に使用することで、Agilent 7890 ガスクロマトグラフィーシステムと同様の高速かつ高分離能での測定が可能となります。このアプリケーションノートでは、Intuvo 9000 GC システムでの内径が小さいカラムの使用について説明します。

はじめに

内径が小さいカラムは、短時間で効率的に成分を分離するために GC でよく使用されます。内径が 0.1 mm のカラムの理論段数は、通常 1 メートルあたり約 10,000 であり、高分離能で高速分離できます。従来の 7890 とは異なり、Intuvo 9000 GC にはビルトインのリテンションギャップ (ガードチップやジャンパーチップ) があります。成分はこのリテンションギャップを通過して分析カラムのヘッドに到達します。Intuvo 9000 GC システムで内径が小さいカラムを使用するには、この点を考慮する必要があります。

Intuvo 9000 にはガードチップが追加されているため、ユーザー制御の温度ゾーンも導入されています。この加熱ゾーンを設定することで、カラムヒーターを追跡したり、ユーザー定義の温度プログラムを実行したり、定温ゾーンとして操作したりすることができます。成分がガードチップ内に留まる時間は、選択するモードによって変わります。内径が小さいカラムとガードチップを組み合わせると、分析カラムへのサンプル導入前に、カラム効率や成分のピーク形状に影響を与える可能性があります。

本書の実験では、Intuvo 9000 GC システムのトラックオープンモードと定温モードで、内径が小さいカラムとガードチップおよびジャンパーチップを組み合わせ使用しています。

実験方法

内径が小さいカラムを使用して 7890 および Intuvo 9000 GC システムを評価し、カラム効率とピーク形状を比較しました。両システムで同じメソッド条件と構成を使用しました。スプリット/スプリットレスシングルテープライナ (部品番号 5183-4647) を使用して、スプリット/スプリットレス注入口を 300 °C に設定しました。サンプルとして、ヘキサン中の 1,000 ppm の C₁₀、C₁₂、C₁₄、および C₁₆ アルカン混合物 1 μL を使用しました。ヘリウムキャリアガスを定流量モードで使用しました。空気、水素、窒素 (メークアップ) の流量をそれぞれ 400、30、および 25 mL/min として、FID を 300 °C に設定しました。機器コントロールソフトウェアとして、Agilent OpenLab ChemStation Edition バージョン C.01.07 を使用しました。

2 つの GC システムで 4 種類の内径のカラムを使用してカラム効率を比較しました。まず 7890 で各カラムをテストしてから、Intuvo 9000 GC システムでテストしました。テスト対象のカラムタイプごとに、カラム流量を検討し、カラム効率を最大化しました。カラム流量を増やして使用する場合は、使用するカラムタイプと流量によってスプリット比の調整 (2,500:1 ~ 1,000:1) が必要でした。表 1 に、4 種類のカラムタイプと個々のスプリット比およびカラム流量を示します。

テスト対象カラムのカラム効率データは、定温オープンメソッド (オープンを 9 分間 140 °C に維持) を使用して取得しました。温度プログラムも調査し (オープンプログラム: 40 °C、0.5 分間保持、25 °C/min で 190 °C まで昇温、1 分間保持)、一般的な GC メソッドを示すようにしました。ガードチップ (部品番号 G4587-60565) とジャンパーチップ (部品番号 G4587-60675) は、Intuvo 9000 GC の定温モード (300 °C) とトラックオープンモードで評価しました。

表 1. 使用したカラムとスプリット比

カラム内径	カラム	スプリット比	流量
0.1 mm	DB-5 10 m × 100 μm, 0.1 μm (部品番号 127-5012)	2,500:1	0.4 mL/min
0.18 mm	DB-5 10 m × 180 μm, 0.18 μm (部品番号 125-5012)	2,000:1	0.6 mL/min
0.2 mm	DB-5 15 m × 200 μm, 0.2 μm (部品番号 128-50H7)	1,000:1	1 mL/min
0.25 mm	DB-5 15 m × 250 μm, 0.1 μm (部品番号 122-5011)	1,000:1	1.2 mL/min

結果と考察

オープン定温条件の結果

Intuvo 9000 GC には、7890 の従来の空気浴式オープンにはない多くの利点があります。その 1 つがビルトインのリテンションギャップ (ガードチップ) で、サンプルによる GC カラムの汚染を防ぐことができます。また Intuvo GC の流路チップは交換可能であるため、分析カラムを切断しなくても流路の部品を交換でき、メンテナンスが簡単です。またビルトインのリテンションギャップ (ガードチップまたはジャンパーチップ) には温度制御された新しい温度ゾーンもあり、これを設定することで GC オープンを追跡したり、ユーザー定義の温度プログラムを実行したり、定温に設定したりすることができます。この新しい温度ゾーンの設定と内径が小さいカラムの使用の組み合わせによっては、これらの条件が GC システムから取

得するピークプロファイルに影響し、成分がシステム内を移動するときに成分バンド幅が拡大する可能性があります。以下の結果から、Intuvo GC システムで内径が小さいカラムを使用する場合に、この温度ゾーンを設定して成分バンド幅の拡大を抑制する方法がわかります。

最初の実験は、7890 と、オープンとガードチップまたはジャンパーチップを定温に加熱した Intuvo 9000 GC で実施しました (オープンの設定温度は 140 °C、ガードチップとジャンパーチップの設定温度は注入口温度)。図 1 に、内径 0.1 mm のカラムを使用した場合のこれらの実験結果を示します。これらの定温条件でジャンパーチップを使用した場合の結果は 7890 と類似しており、成分バンド幅の拡大がほとんどない狭いピーク形状を示しました。

同じ定温オープン条件でガードチップに切り替えると、成分バンド幅が大きく広がりました。内径 0.1 mm のカラムと組み合わせて使用するガードチップについてはカラム外容量が大きいため、成分がシステム内を移動する際に成分バンド幅が大きく拡大します。GC オープンで定温条件を使用すると、成分が分析カラムのヘッドにフォーカシングできず、ガードチップで発生しうるバンド幅の拡大が解消されません。ガードチップと内径 0.1 mm のカラムで定温オープン条件を使用すると、成分がシステム内を移動する際に成分バンド幅の拡大が非常に発生しやすくなります。

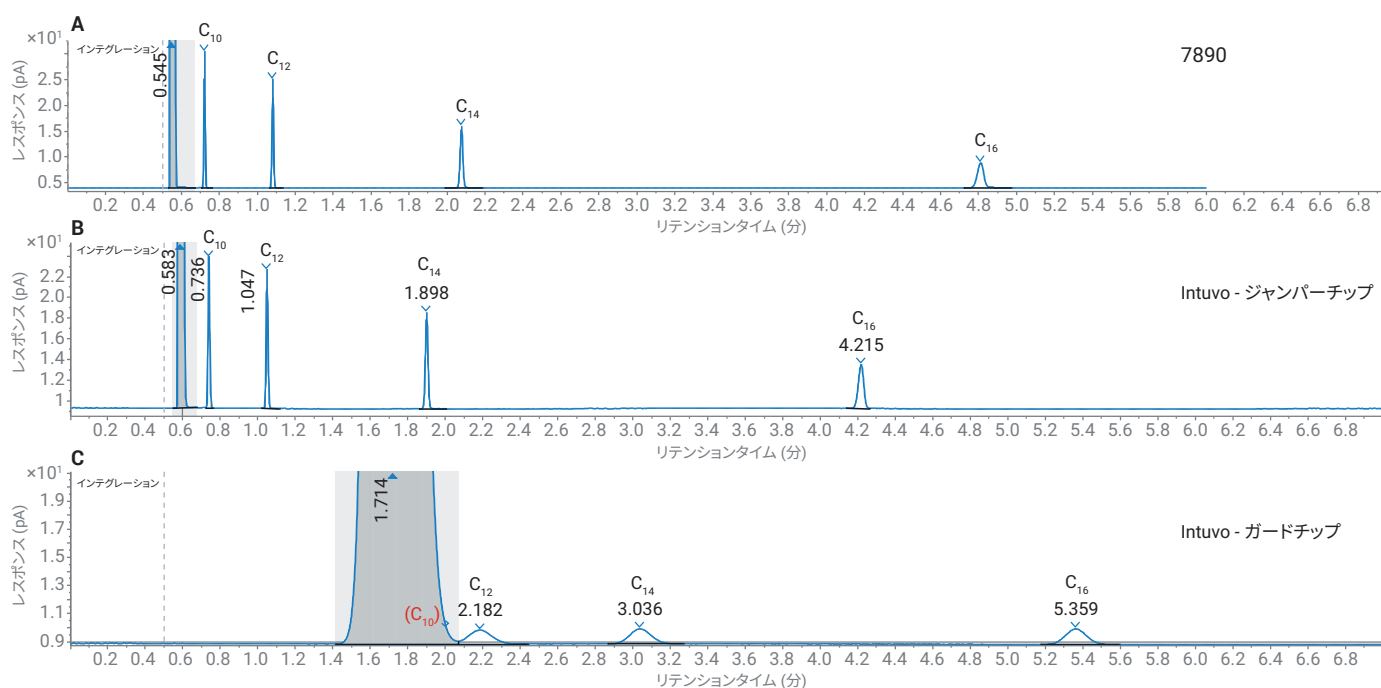


図 1. 定温オープンと内径 0.1 mm のカラムを使用 (ジャンパーチップ/ガードチップを定温モードで使用)

次に、カラム内径を 0.18 mm まで大きくして調査しました。内径が大きいカラムを使用するとカラム流量は増えましたが、最適な線速度は内径 0.1 mm のカラムと同様でした。図 2 に内径 0.18 mm のカラムの実験結果を示します。内径 0.1 mm のカラムと同様に、カラム内径を大きくしてジャンパーチップを使用すると、7890 と類似のピーク形状とカラム効率になりました。同じ実験を、ガードチップと内

径 0.18 mm のカラムを取り付けて実施しました。予想どおり、内径 0.18 mm のカラムを使用してシステムを通るキャリアガス流量を増やすと、ガードチップで発生する成分バンド幅の拡大が小さくなり、内径 0.1 mm のカラムを使用した場合よりもピーク形状が改善されました。システムを通る流量が増えると、成分がガードチップ内に留まる時間が短くなり、成分バンド幅が小さくなります。

内径が大きいカラムを使用すると、定温オープン条件でも結果が改善されます。表 2 に C₁₆ に関するこれらの実験結果を示します。各カラムは定温条件でテストしています。

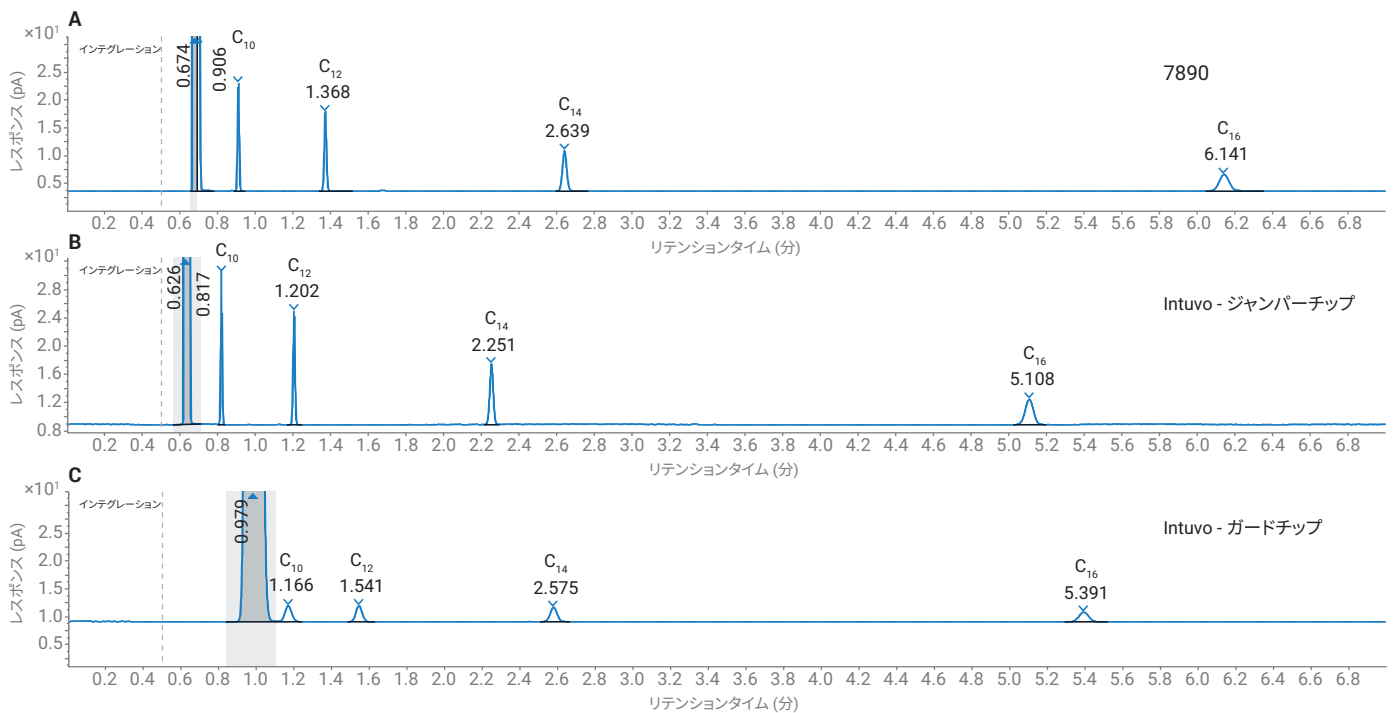


図 2. 定温オープンと内径 0.18 mm のカラムを使用 (ジャンパーチップ/ガードチップを定温モードで使用)

表 2. C₁₆ 用の定温オープン条件データ

カラム内径	C ₁₆	リテンションタイム (分)	対称性	メートルあたりの理論段数	メートルあたりの理論段数 (パーセントは Agilent 7890 に正規化)
0.100 mm	Agilent 7890	4.8	1.1	9733	
	Intuvo ジャンパーチップ	4.2	1.2	9943	102
	Intuvo ガードチップ	5.4	0.9	1015	10
0.180 mm	7890	6.1	1.0	6222	
	Intuvo ジャンパーチップ	5.1	1.0	6426	103
	Intuvo ガードチップ	5.4	1.0	5049	81
0.200 mm	7890	7.1	1.0	5502	
	Intuvo ジャンパーチップ	5.9	1.0	5304	96
	Intuvo ガードチップ	6.1	1.0	5038	91
0.250 mm	7890	4.0	1.0	5032	
	Intuvo ジャンパーチップ	3.3	1.0	5049	100
	Intuvo ガードチップ	3.4	1.0	4782	95

同じ寸法のカラムを使用した 7890 と比較するため、カラム効率も計算しました。表 2 を見ると、ジャンパーチップを使用した場合のカラム効率は 7890 と類似の結果であることがわかります。定温オープン条件でジャンパーチップを使用すると、特に内径が小さい (0.1 mm) カラムを使用した場合に、同じ定温オープン条件でガードチップを使用した場合よりも常に優れたピーク形状を示しています。ガードチップについては、カラム径が大きくなるほどカラム効率が向上します。内径 0.25 mm のカラムを使用すると、カラム効率が 7890 と近似した値になります。ガードチップと定温オープン条件の使用が必要な場

合は、内径が大きいカラムを使用して、ガードチップで発生しうるバンド幅の拡大を減らすことを検討してください。

オープン温度プログラムの結果

一般的な GC メソッドでは、分析にオープン温度プログラムを使用します。オープン温度プログラムを使用して、これが成分のピーク形状に与える影響を特定する実験も実施しました。オープン温度プログラムを使用すると、成分が GC カラムのヘッドにフォーカシングできるため、ジャンパーチップやガードチップで発生しうる成分バンド幅の拡大を軽減できます (定温モードとトラックオープンモードでジャン

パーチップとガードチップを使用する実験も実施しました)。図 3 に、内径 0.1 mm のカラムにジャンパーチップを取り付け、オープン温度プログラムを使用した場合の結果を示します。予想どおり、ピークの幅と対称性は 7890 と類似の結果になりました。前の実験と同様に、内径の大きいカラムも調査しました。表 3 に、C₁₆ に関するこれらの追加実験のデータを示します。

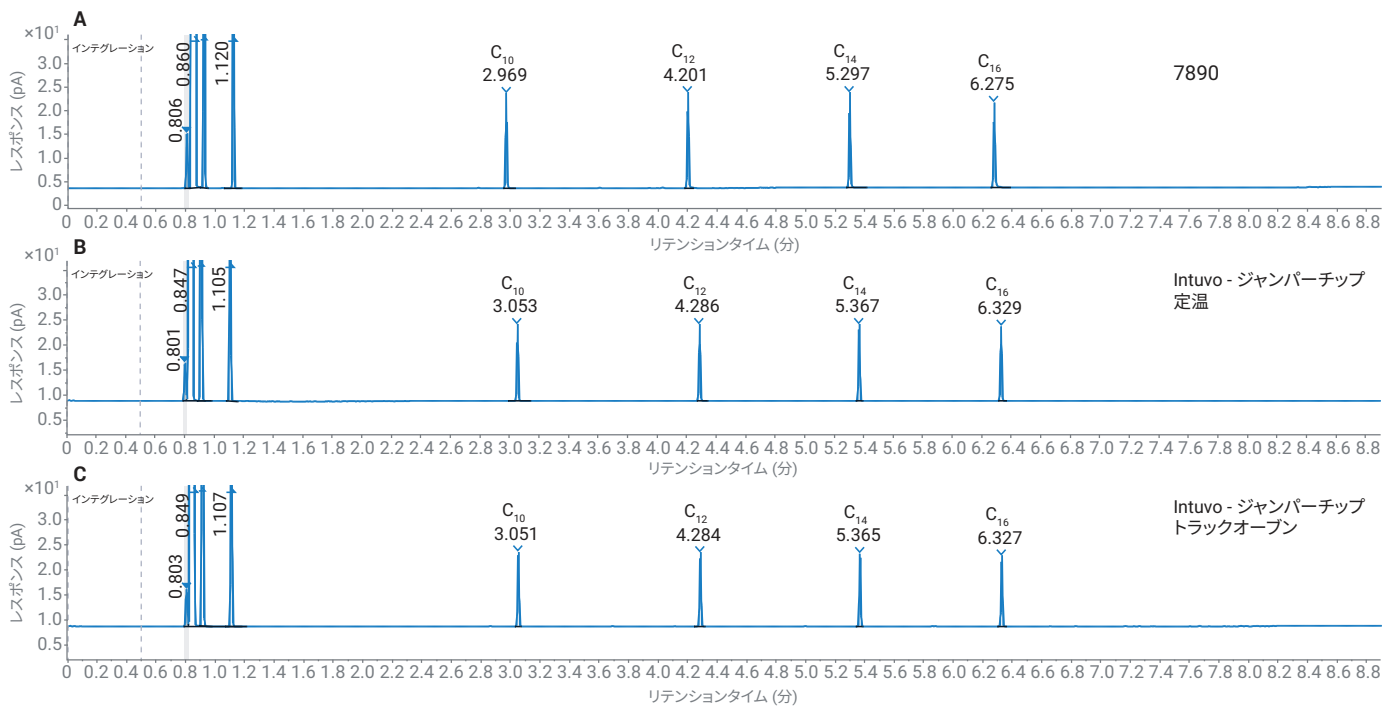


図 3. オープン温度プログラムと内径 0.1 mm のカラムを使用 (ジャンパーチップを定温モードとトラックオープンモードの両方で使用)

オープン温度プログラムとガードチップを使用すると、成分バンド幅の拡大が抑制されます。最初の実験では、内径 0.1 mm のカラムとガードチップを、オープン温度プログラムによるトラックオープンモードと定温モードで使用しました (図 4)。図 4 の結果から、ガードチップを定温で使用した場合、トラックオープンモードで使用した場合よりも、ピーク形状が改善されて成分バンド幅が小さくなることがわかります。GC カラムのヘッドに成分がフォーカシングできるため、バンド幅の拡大が減少します。図 4 の C₁₀ のように沸点が低い成分は、分析カラムに完全にはフォーカシングしないため、バンド幅がもう少し広がる可能性があります。その他の重い成分 (C₁₆ など) は GC カラムのヘッドで再濃縮されやすいため、ガードチップで発生しうる成分バンド幅の拡大が解消されます。

表 3. ジャンパーチップ使用時の C₁₆ のオープン温度プログラムデータ (定温モードとトラックオープンモード)

カラム内径	C ₁₆	リテンションタイム (分)	半値幅	対称性
0.100 mm	Agilent 7890	6.3	0.01	0.8
	Intuvo ジャンパーチップ - 定温	6.3	0.01	1.0
	Intuvo ジャンパーチップ - トラックオープン	6.3	0.01	1.0
0.180 mm	7890	6.5	0.02	0.8
	Intuvo ジャンパーチップ - 定温	6.5	0.01	1.0
	Intuvo ジャンパーチップ - トラックオープン	6.5	0.01	1.0
0.200 mm	7890	6.8	0.01	0.9
	Intuvo ジャンパーチップ - 定温	6.7	0.01	1.0
	Intuvo ジャンパーチップ - トラックオープン	6.7	0.01	1.0
0.250 mm	7890	6.1	0.01	0.9
	Intuvo ジャンパーチップ - 定温	6.1	0.01	1.0
	Intuvo ジャンパーチップ - トラックオープン	6.1	0.01	1.0

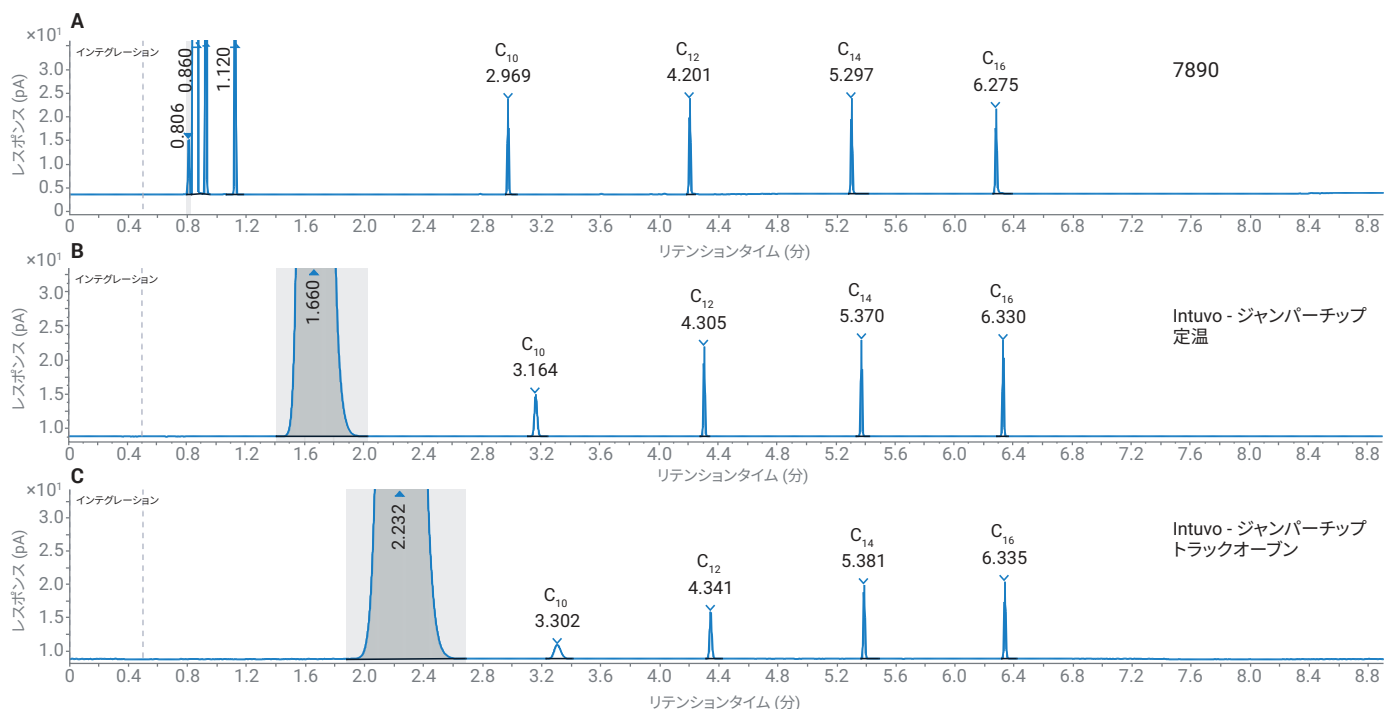


図 4. オープン温度プログラムと内径 0.1 mm のカラムを使用 (ガードチップを定温モードとトラックオープンモードの両方で使用)

オープン定温実験と同様に、オープン温度プログラムでカラム内径を大きくすると、ピーク形状が改善されます。図 5 に、内径 0.18 mm のカラムにガードチップを取り付け、オープン温度プログラムを使用した場合の結果を示します。内径 0.18 mm のカラムとガードチップを組み合わせ、定温モードまたはトラックオープンモードで使用した場合のバンド幅の拡大はわずかです。オープン定温実験 (図 1 および 2) と同様に、内径 0.18 mm のカラムではカラム流量が増えるため、成分がガードチップを通過する際のバンド幅の拡大が少なくなります。表 4 は、C₁₆ を用いた実験における各種カラムでの結果と、リテンションタイム、半値幅、およびピーク対称性の比較をまとめたものです。この成分は保持力が高いため、クロマトグラフィー結果はほぼ同じです。オープン温度プログラムを使用すると成分が分析カラムのヘッドにフォーカシングできるため、ガードチップ内で発生する成分バンド幅の拡

大が減少します。ガードチップの温度プログラミングによって、Intuvo の成分マトリックスのトラップ機能を最大限に活用し、分析カラムを維持できます。

表 4. ガードチップ使用時の C₁₆ のオープン温度プログラムデータ (定温モードとトラックオープンモード)

カラム内径	C ₁₆	リテンションタイム (分)	半値幅	対称性
0.100 mm	Agilent 7890	6.3	0.01	0.8
	Intuvo ジャンパーチップ - 定温	6.3	0.01	1.0
	Intuvo ジャンパーチップ - トラックオープン	6.3	0.01	1.0
0.180 mm	7890	6.5	0.02	0.8
	Intuvo ジャンパーチップ - 定温	6.5	0.01	1.0
	Intuvo ジャンパーチップ - トラックオープン	6.5	0.01	1.0
0.200 mm	7890	6.8	0.01	0.9
	Intuvo ジャンパーチップ - 定温	6.7	0.01	1.0
	Intuvo ジャンパーチップ - トラックオープン	6.7	0.01	1.0
0.250 mm	7890	6.1	0.01	0.9
	Intuvo ジャンパーチップ - 定温	6.1	0.01	1.0
	Intuvo ジャンパーチップ - トラックオープン	6.1	0.01	1.0

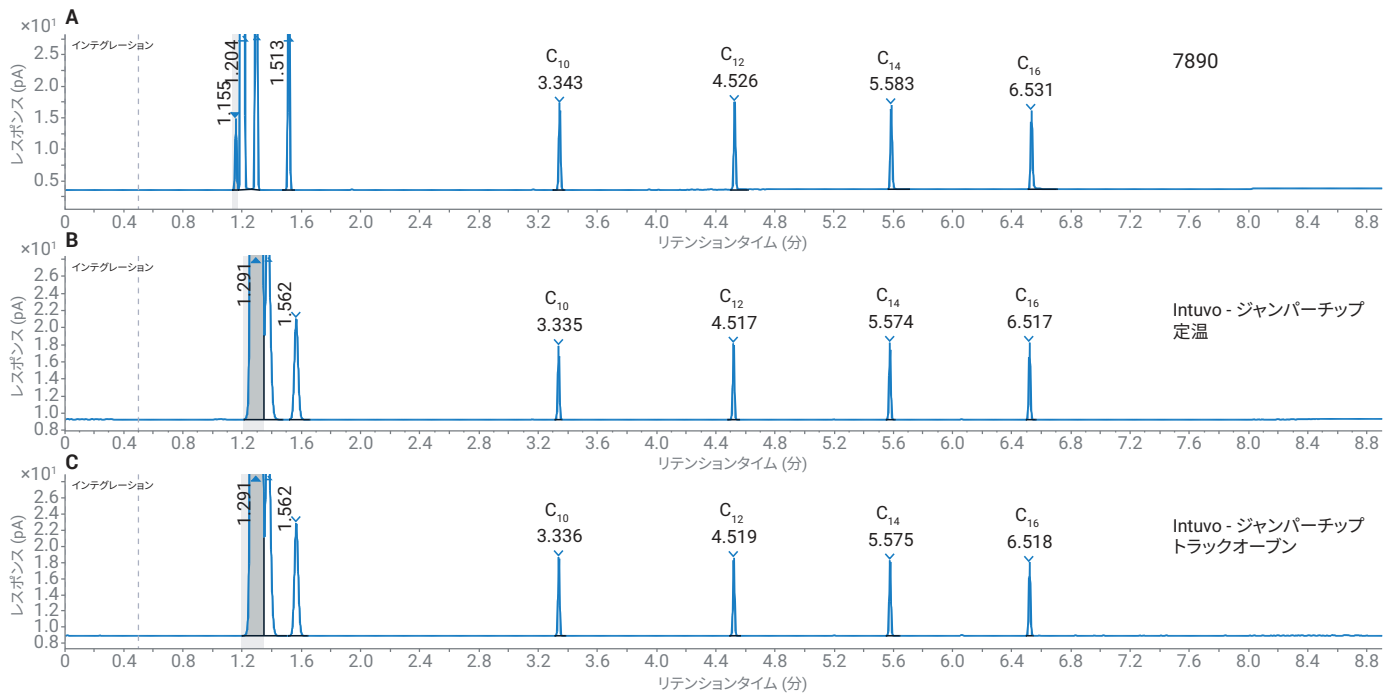


図 5. オープン温度プログラムと内径 0.18 mm のカラムを使用 (ガードチップを定温モードとトラックオープンモードの両方で使用)

結論

Agilent Intuvo 9000 のビルトインのリテンションギャップを使用する利点は、GC システムで内径が小さいカラムを使用した場合に発生しうる課題よりはるかに大きいものです。またこれらの課題はフローチップやメソッドパラメータを適切に選択すれば容易に解決できます。内径が 0.2 mm より大きいカラムを使用すれば、成分バンド幅の拡大は問題になりません。内径が 0.2 mm より小さいカラムの使用が必要な場合は、ジャンパーチップの使用によりカラム外バンドの拡大を最小限に抑えることができます。ガードチップからジャンパーチップへ移行すると、カラム外容量が減少するため、成分バンド幅の拡大が少なくなります。定温オープン条件の使用が必要なメソッドでは、ジャンパーチップを使用してください。これで成分バンド幅の拡大を抑制できます。(成分マトリックスが汚れているため) ガードチップが必要な場合は、オープン温度プログラムや大きいカラム内径を使用して、内径が小さいカラムで発生しうる成分バンド幅の拡大を最小限に抑制することを検討してください。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2019
Printed in Japan, August 23, 2019
5994-1308JAJP