

## テクニカルインフォメーション

セミ分取用H<sub>HR</sub>カラムとRI-8020Hを用いたGPC

TSK gel H<sub>HR</sub>シリーズ (5ミクロン) を用いたセミ分取カラム (1インチ) と RI-8020H による GPC の基礎検討を行いました。

セミ分取用 H<sub>HR</sub> カラムは従来のセミ分取用カラム (H<sub>8</sub>, H<sub>6</sub>) に比べ、以下のような特徴があります。

1. 高理論段数
2. 機械的強度、耐久性が向上
3. 耐溶媒交換性

今回は TSK gel G2000 H<sub>HR</sub> (21.5mmID\*30cm) と RI-8020H を使用し、1) 試料負荷量 と 2) 流速と温度の影響 を調べました。更に、3) 分析用カラム TSK gel G2000 H<sub>HR</sub> (7.8mmID\*30cm) を使用した場合のピークのひろがり を RI-8020 と比較しました。

## 1) 試料負荷量

以下の方法で理論段数、分離能の変化を評価しました。

- ① 濃度一定 (5mg/ml) で試料を 50~1500  $\mu$ l の範囲で注入 (Fig. 1)
- ② 注入容量一定 (500  $\mu$ l) で濃度を 0.33~10mg/ml の範囲で注入 (Fig. 2)
- ③ 絶対量一定 (0.5mg) で濃度、注入容量は①、②と同じ範囲で注入 (Fig. 3)

## \* 測定条件

カラム: TSK gel G2000 H<sub>HR</sub> (21.5mmID\*30cm)

移動相: クロロホルム

流速: 7.0 ml/min

カラム温度: 40°C

検出: RI-8020H (セル温度40°C、レスポンス1.0sec)

試料: 理論段数 DCHP

分離能 標準<sup>\*</sup>リソフィア-500

装置: CCPS, SD-8073, CO-8010, AS-8010, SC-8020

結果を Fig. 1-3 に示します。

①: 200  $\mu$ l を越えると理論段数、分離能が著しく低下しました。

②: 5mg/ml を越えると理論段数が低下しました。

分離能の顕著な低下は見られませんでした。

③: 200  $\mu$ l、2.5mg/ml を越えると理論段数、分離能は著しく低下しました。

以上から、カラムの性能を十分に発揮させる注入容量は 200  $\mu$ l 以下である事がわかります。一方濃度は試料により異なるので一概には決定できません。

しかしながら、分取という目的を考慮すると注入容量は更に増やすことが可能と考えられます。

## 2) 流速と温度の影響

室温 (22°C) と 40°C のそれぞれで流速を変えて測定し、理論段数、分離能の変化を評価しました。

## \* 測定条件

注入量: 100  $\mu$ l

他の条件は1)と同じ。但し、試料濃度は何れも5mg/ml

結果を表1とFig. 4に示します。

① 室温では理論段数、分離能ともに 7.0 ml/min 以上で徐々に低下しました。

② 40°C では理論段数、分離能ともに 5.0 ml/min 以上で低下しました。

以上から 室温では 6.0 ml/min 以下、40°C では 4.0 ml/min 以下 で使用する事が望ましいと考えられます。

\* 40°C の方が低流速から性能が低下するのは、カラム内で温度分布が生じるからです。

## 3) RI-8020 との比較

分析用カラム (TSK gel G2000 H<sub>HR</sub>)、40°C、20  $\mu$ l で理論段数、分離能を比較しました。

結果を表2に示します。理論段数、分離能とも RI-8020H の方が若干低い値ですが、十分使用可能と考えられます。

Fig.1:濃度一定

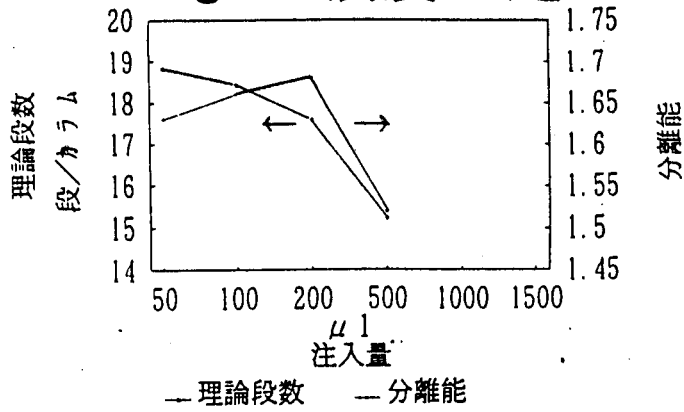


Fig.3:絶対量一定

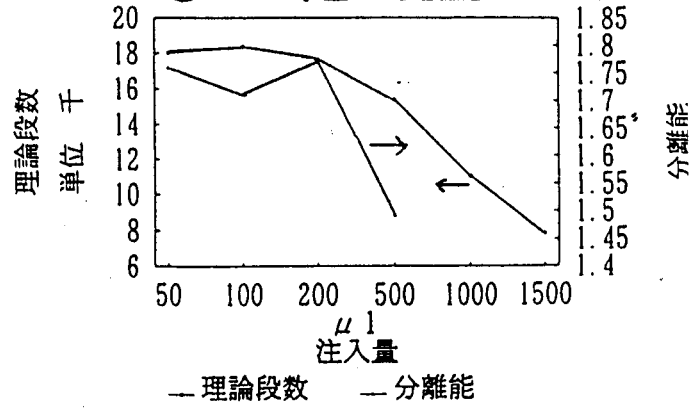


Fig.2注入量一定

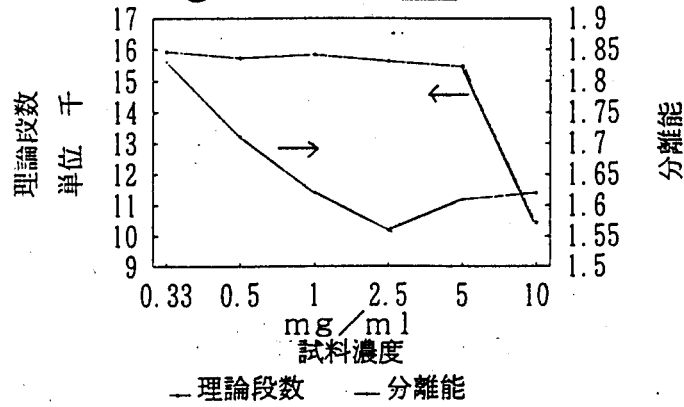


Fig.4:理論段数の変化

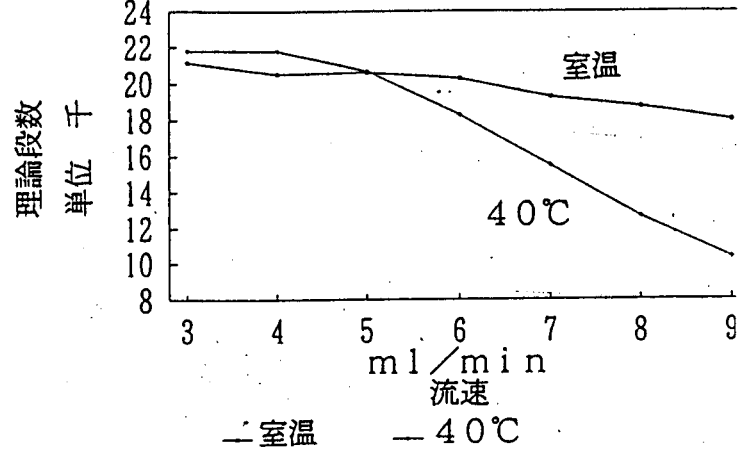


表 1

流速	圧力	圧力	加圧	加圧	理論段数	分離能	理論段数	分離能
	(全配管)	(RI)	(室温)	(40°C)		(室温)	(40°C)	(40°C)
3.0	10	6	10	10	21140	1.32	21791	1.29
4.0	15	9	13	13	20507	1.27	21780	1.33
5.0	20	11	17	18	20604	1.26	20676	1.27
6.0	25	14	20	19	20272	1.28	18284	1.18
7.0	31	17	23	20	19280	1.18	15487	**
8.0	37	21	28	23	18742	1.21	12655	**
9.0	43	24	33	25	18022	1.15	10351	**

\*\* : 分離が悪く計算できなかった

- ・単位：流速 ml/min 圧力 kgf/cm<sup>2</sup>
- ・理論段数：半値幅法
- ・分離能：2量体と3量体

表 2

カラム	加圧	理論段数	分離能
RI-8020H	19	20001	1.31
RI-8020	20	22714	1.46

- ・単位：圧力 kgf/cm<sup>2</sup>
- ・理論段数：半値幅法
- ・分離能：2量体と3量体