

26W-pm02

長い中空のキャピラリーカラムによる高理論段数での低分子化合物の分離
○任 麗英¹, 石原 一彦¹, 加藤 大² (¹東大院工, ²東大院薬)

【目的】HPLC を利用して、多数の物質が混在する生体試料の分析を行うためには、現状よりもより高い分離能が求められる。理論段数は、HPLC の分離能を表す1つの指標であり、値が大きくなるほど、個々の物質に対するピークがシャープになり、多数の物質の同時分離が可能になる。分離カラムを長くすると、理論段数は増加するが、一方において背圧も上昇するため、利用可能なカラム長に限界がある。本研究では、背圧の増加を抑えるために、分離カラムに中空キャピラリーを利用し、カラム長が分離効率及び理論段数に与える影響を評価した。

【方法】HPLC にはキャピラリーLC システム(UltiMate 3000, Dionex)を、カラムにはフューズドシリカキャピラリー (内径 25 μm , 長さ 9~60m) を用いた。オートサンプラーとキャピラリーの間にスプリッターを配置することで、移動相の流量及び試料の注入量を調整した。

【結果及び考察】内径 25 μm のキャピラリーに移動相を送液するには、微量流量での制御が必要である。スプリッターの内部圧力を調整することで、安定した送液を 1.5~88.9 mm/s の範囲で行えるようになった。次に長さが 60m のカラムを用いて、3種の低分子化合物の分離を試みた。その結果 fluorescein, thiourea, rhodamine B の順に溶出し、各ピークの理論段数はそれぞれ 2.5, 2.9, 1.0 ($\times 10^6$ 段)であった。他の物質と比較して、rhodamine B の溶出時間が長く、ピークの理論段数が低い理由は、キャピラリー内壁のシラノール基が rhodamine B の保持に影響していると考えられる。長さが 60m のカラムで、低分子化合物が数 100 万段の理論段数で分離されたことから、中空キャピラリーカラムにより、多数の物質が混在する場合においても、高い分離効率が期待される。