

教室実験を志向した教育用環境調和型液体クロマトグラフィーシステムの高機能化 —分離条件が与える影響の可視化—

日大生産工 (院) ○高麗 翔太

日大生産工 伊東 良晴, 中釜 達朗

1. 緒言

逆相高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は水溶性化学物質の分離分析法として汎用されている。この手法は大学の機器分析関連の科目で理論を学修する。しかし、分離部である HPLC カラムは通常、ステンレス製のため分離挙動を直接見ることができず、理論と実際の分離挙動を結び付けにくい。また、逆相 HPLC では水を主成分とする移動相を使用するが、溶出力調整のためにアセトニトリルやメタノールを添加する。しかし、これらの溶媒は医薬品外劇物に指定されており、環境や実験者への悪影響が懸念される。近年では環境や安全に配慮した環境調和型 HPLC (Green HPLC) に関する研究が進められている。教室実験を想定してもこれらの溶媒を使用するのは好ましくない。

本研究室では教室での実験—講義—一体型授業での使用を志向した教育用環境調和型 HPLC システムを開発している。既に、本講演会などにおいてカラム内での分離挙動やクロマトグラムの同時観察を試みた結果について報告している^{1,2)}。本発表では、移動相流量やその組成などの分離条件を変えたときに、カラム内での分離挙動やクロマトグラムがどのように変化するかを本システムにより同時観察した結果について報告する。

2. 実験装置

Fig. 1 に本研究で使用している HPLC システムの外観^{1,2)}を示す。このシステムは、移動相ボトル、送液部、試料導入部、分離観察部 (ガラスカラム) および検出部から構成される。各ユニットを透明な PFA チューブで接続することにより、試料溶液の移動を目視で確認できるようにしている。システム全体は A4 サイズに収まる大きさであり、市販の HPLC 装置と比較

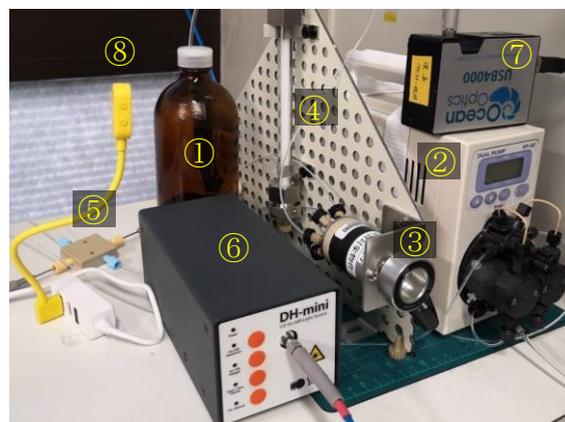


Fig. 1 Portable HPLC system used in this study^{1,2)}

(①Bottle for Mobile Phase, ②HPLC Pump, ③Injector, ④Glass Column, ⑤Detection Cell, ⑥Lump, ⑦CCD Spectrometer, ⑧Camera)

して小型かつ軽量である。ガラスカラム (長さ 150 mm, 内径 5 mm) は粒径 10 μm のオクタデシルシリル化シリカゲル (ODS) を乾式充填によって充填することにより調製した。USB カメラによって撮影した映像とクロマトグラムを 1 台の PC 画面上に配置することにより、リアルタイムでカラム内とクロマトグラムの同時観察を行うことができる。

3. 実験

移動相は 6 mM の臭化テトラブチルアンモニウムを添加したエタノール水溶液を使用した。モデル試料としてはインジゴカルミン (IC), アシッドグリーン 9 (AG9), ローダミン B (RB), クリスタルバイオレット (CV) の 4 種色素の混合溶液とした。濃度は IC, AG9, RB が各 1 mM, CV は 0.25 mM として HPLC 測定に供した。試料導入量は 20 μm , 測定波長は全ての色素を確認できる 580 nm とした。本移動相使用時, IC はカラムにほとんど保持し

なかったためホールドアップ試料とした。

移動相流量に関する検討では移動相の組成比をエタノール：水=50：50とし、移動相流量を0.25, 0.50, 0.75, 1.00 mL/minと変化させた。一方、移動相組成比に関する検討では移動相流量を0.50 mL/minとし、移動相組成比をエタノール：水=50：50, 60：40, 75：25と変化させた。

4. 結果および考察

4-1 移動相流量が分離に与える影響

移動相流量を1.00 mL/minとしたとき、ホールドアップ試料 (IC) がカラム出口に到達した瞬間と、全ての試料が溶出したときの PC 画面のスクリーンショットを Fig. 2 に示す。流量を0.50 mL/minとしたときのカラム内映像およびクロマトグラム^{1),2)}と比較して、顕著な差は見られなかった。

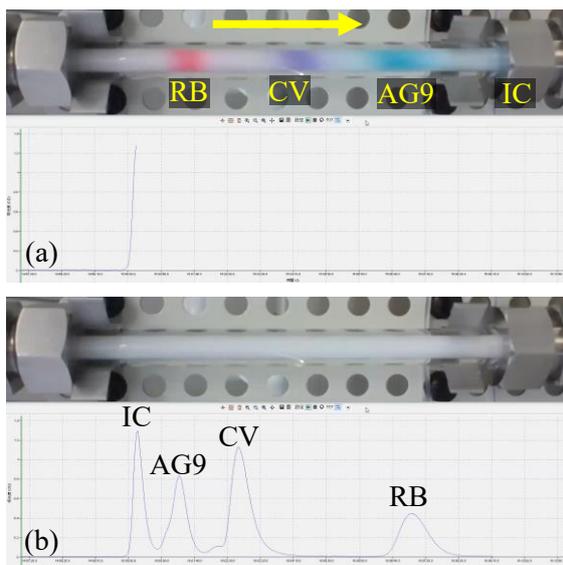


Fig.2 PC Screens with the video of glass column and monitoring chromatogram when hold-up sample (IC) reached to the column outlet (a) and the measurement was finished (b)
(Mobile phase : ethanol/water mixture (50 : 50(v/v), flow rate : 1.00 mL/min)

4-2 移動相組成比が分離に与える影響

移動相組成比をエタノール：水=75：25 (v/v)としたとき、ホールドアップ試料 (IC) がカラム出口に到達した瞬間と、全ての試料が溶出したときの PC 画面のスクリーンシ

ョットを Fig. 3 に示す。移動相組成比がエタノール：水=50：50の結果と比較して保持時間が短くなり、ピーク分離も悪くなった。この結果は移動相のエタノール含有率を高くするほど色素が固定相に分配しにくくなっていることを示している。

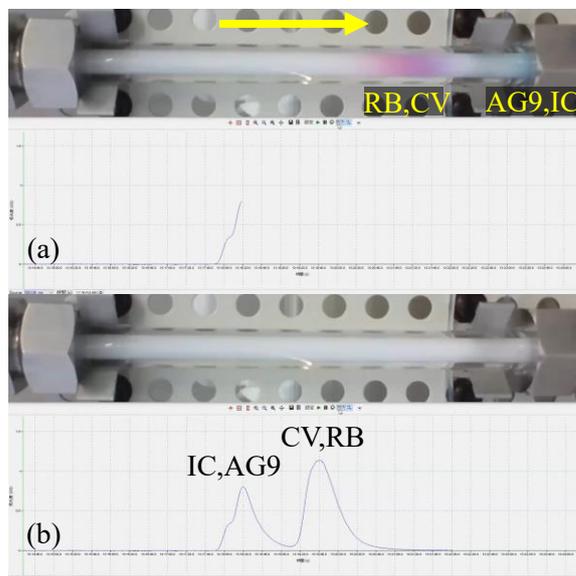


Fig.3 PC Screens with the video of glass column and monitoring chromatogram when hold-up sample (IC) reached to the column outlet (a) and the measurement was finished (b)
(Mobile phase : ethanol/water mixture (75 : 25(v/v), flow rate : 0.50 mL/min)

5. 結言

以上、教育用環境調和型 HPLC システムを用いて分離条件を変えた際にカラム内での分離挙動やクロマトグラムがどのように変化するかを同時観察した一例を報告した。教室内では PC 画面をスクリーンに投影して観察結果を履修生と共有することができる。観察と講義を一体化することにより、化学に対してより理解が深められると考える。

(本研究の一部は JSPS 科研費 19K03152 の助成を受けて実施した。)

6. 参考文献

- 1) 高麗翔太, 大南樹生, 伊東良晴, 中釜達朗, 日本大学生産工学部第 55 回学術講演会講演概要, 2022, P-39
- 2) 高麗翔太, 大南樹生, 伊東良晴, 中釜達朗, 第 71 回年次大会・工学教育研究講演会講演概要, 2023, 2C02