

教室内実験を志向したシースルー液体クロマトグラフィー装置を用いた分離挙動およびクロマトグラム変化の逐次観察とその録画動画の教育効果

日大生産工(院) ○坂井 幸弘 高麗 翔太 日大生産工 中釜 達朗

1. まえがき

逆相液体クロマトグラフィー（LC）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，学生は実際の分離挙動と理論を結び付けにくい．そこで，本研究室では透明なガラスカラムを備えたシースルーLC 装置を試作した¹⁾．これまで，この装置を用いてカラム内での位置情報とクロマトグラムの時間情報との違い，あるいは移動相組成あるいは充填剤粒径が分離に及ぼす影響を視覚化し，学生の理論定着にも有効であることも明らかにしてきた¹⁾²⁾．

本発表ではこの装置を用いて，移動相流量およびカラム長さの変化が保持および分離に与える影響を視覚化した内容と録画した動画の教育効果について報告する．

2. 実験装置

使用した装置¹⁾²⁾を図1に示す．

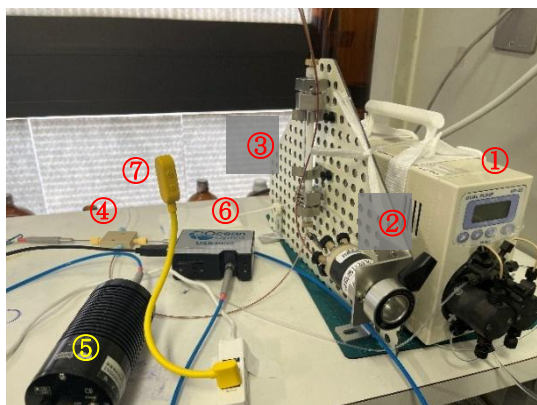


図1 LC装置の外観

(①ポンプ，②試料導入部，③ガラスカラム，④フロー検出セル，⑤光源，⑥分光器，⑦USBカメラ)

装置は移動相ボトル，HPLC用小型送液ポンプ，試料導入部（導入力：20あるいは10 μL ），透明

ガラスカラム（内径：5 mm，長さ：150あるいは100 mm），フロー検出セル，光源，CCD分光器，USBカメラおよびノートPCから構成した．USBカメラはカラム正面に設置することでPCに映像を取り込み，カラム内の分離挙動とクロマトグラムの逐次連続観察を可能にしている．長さの異なる2種類のカラムはそれぞれ球状のオクタデシルシリル化シリカゲル（ODS，粒径：10 μm ）を乾式充填することにより調製した．

3. 実験方法

モデル試料には既報¹⁾²⁾と同様，色の異なる4種類の色素（インジゴカルミン(IC)，アシッドグリーン9 (AG9)，クリスタルバイオレット(CV)およびローダミンB (RB))を用いた．移動相も既報¹⁾²⁾と同様，エタノールと水の混合溶液（1:1，v/v）に臭化テトラブチルアンモニウムを6 mMの濃度になるように添加した溶液を使用した．各色素を移動相に溶解させて試料溶液とした．本移動相を使用した場合，ICは保持しなかったのでホールドアップ試料として取り扱った．検出波長はすべての色素が検出できる580 nmとした．

4. 結果および考察

4.1 移動相流量が保持および分離に与える影響

既報¹⁾²⁾では，150 mmカラムを用いて移動相流量を0.50 mL/minとしていた．同じカラムを用いて移動相流量を2倍の1.00 mL/minとしたとき，ICがカラム出口に到達した時間とすべての色素がカラムから溶出した時間におけるカラムの映像とクロマトグラムのスナップショットを図2 (a)と(b)にそれぞれ示す．検討の結果，移動相流量を2倍にしてもカラム内の色素の位置関係は変化しなかった．一方，クロマトグラムの形状もほとんど変わらず，ピーク幅はやや広がったものの，目立った変化は認められなかった． t_0 や t_R は1/2となったが， k は変わらなかった．実際に van

Sequential Observation of Changes in the Separation Behavior and Chromatogram Using a See-Through Type Liquid Chromatography System for Classroom Experiments and the Educational Effectiveness of Its Recorded Videos
Yukihiro SAKAI, Shota KOMA and Taturo NAKAGAMA

Deemterプロットを作成したところ、作製したガラスカラムは0.50 mL/minの流量付近で最小の理論段相当高さを示したことから、0.50 mL/minから1.00 mL/minの移動相変化によるピークの僅かな広がり、分配平衡が瞬時に起きないために生じる溶質成分の移動の乱れが原因と推察される。

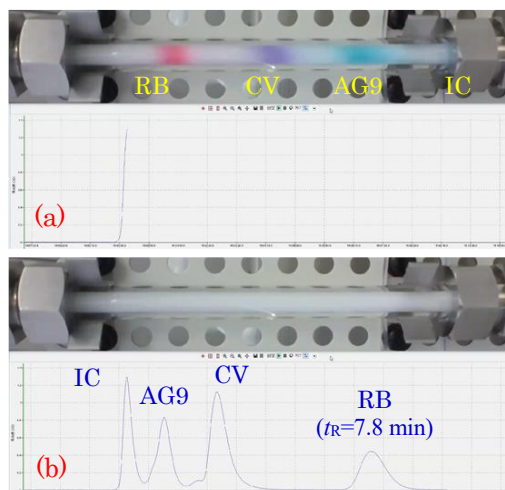


図2 移動相流量を2倍にしたときのPC画面上に表示されたガラスカラムの映像とクロマトグラムのスナップショット

((a) ICがカラムから溶出したとき、(b)すべての色素が溶出したとき)

4.2 移動相流量増加とカラム長さ短縮が保持および分離に与える影響

移動相流量を3/2倍にした場合と、カラム長さを2/3にした場合は理論的には t_0 や t_R は変わらない。そこで、本装置でこの状況を再現して保持および分離に与える影響を視覚化した(図3)。

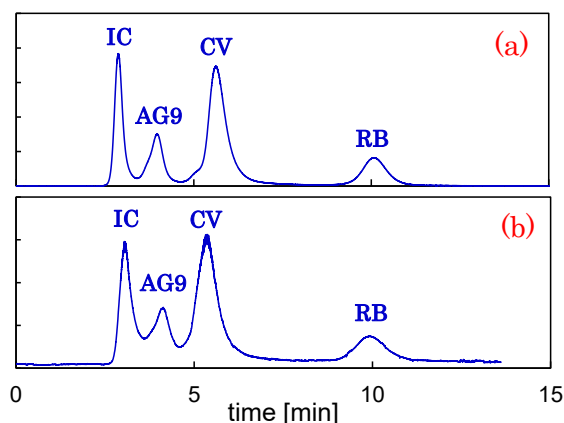


図3 移動相流量を3/2あるいはカラム長さを2/3にしたときのクロマトグラム

((a) 150 mmカラム, 移動相流量0.75 mL/min, (b) 100 mmカラム, 移動相流量0.50 mL/min)

その結果、 t_0 や t_R , k は変わらなかったが、図3(a)の方が分離は悪くなることが確認できた。カラムの長さを2/3にしたことにより理論段数は2/3になる。しかしながら、4.1の結果より移動相流量を3/2にしたことによる理論段相当高さの上昇(理論段数の低下)は比較的小さく、保持時間の短縮には移動相流量を増加させる方が有利であることを示すことができた。

4.3 教育効果の予備検証

当該科目の受講経験がある学部4年生および大学院生(36名)を対象に教育効果の予備検証を行った。具体的には、当該内容の授業動画とカラム長さを変えずに移動相流量を増加させた場合、および移動相流量を変えずにカラムを短くした場合のカラム内の色素の動きとクロマトグラムを録画した動画を順次視聴させてアンケートを行った。その結果、36名中35名(97.2%)の学生は、録画動画が移動相流量やカラム長さの変化がピーク幅や分離に与える影響を理解するのに役立つと回答した。

4. まとめ

以上、シースルーLC装置を用いて移動相流量およびカラム長さの変化が保持および分離に与える影響を視覚化することに成功した。さらに、録画動画が理解促進に効果的であることを示唆した。教室内ではPC画面をスクリーンに投影することにより情報共有が容易である。状況を設定して学生自身に結果を予想させ、実験により現象を検証させるアクティブラーニングへの展開が期待される。

参考文献

- 1) 高麗, 大南, 伊東, 中釜: 分離挙動とクロマトグラムの観察が可能な可搬型液体クロマトグラフの試作, 工学教育研究講演会第71回年次大会(2023年度)講演論文集, 2C02(2023)
- 2) 高麗, 大南, 伊東, 中釜: カラム内分離とクロマトグラムの同時観察が可能な教育用液体クロマトグラフの試作, 工学教育, 73(2), pp. 7-12(2025)