

## カラムの内径を細くする ～セミマイクロカラムへの移行～

カラムには様々なサイズがあります。一般的なHPLCでは、内径4.6 mmのカラムが用いられます。内径の細かいカラムを用いると、省溶媒化や高感度化ができるため、内径3 mm以下のカラムの使用も増えてきています。ここでは、汎用カラムの内径4.6 mmからカラムの内径を細くしたときの、利点と欠点、注意点を説明します。

**Keywords** カラム内径 カラム径 セミマイクロカラム 流速 線速度 感度  
試料負荷量 注入量

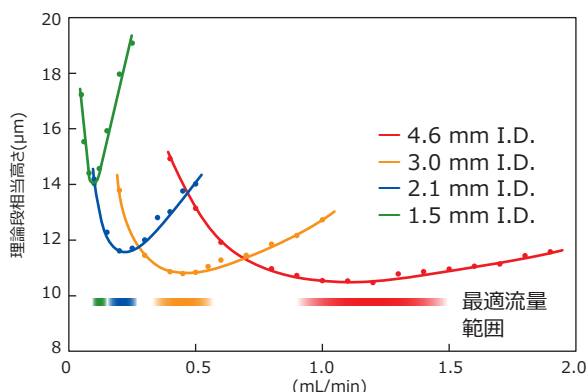
### カラムの内径を細くする

カラムには様々なサイズがありますが、内径によって以下のように分類できます(JIS K0124:2011より引用)。

内径	名称
10 mm以上、50 mm未満	セミ分取カラム
3 mm以上、10 mm未満	汎用カラム
1 mm以上、3 mm未満	セミマイクロカラム
1 mm未満	マイクロカラム

#### ■ 内径を細くしたときの利点 ～溶媒の削減～

内径を細くすると、最適な移動相流速が小さくなります。Fig.1は、同じLCシステムで移動相流速と理論段相当高さの関係を示したものです。理論段相当高さは、1理論段数に相当するカラム長さで、その値が小さいほど、カラム効率が良くなります。



[Analytical conditions (Fig.1, Fig.2)]  
Column: L-column2 ODS, 3  $\mu$ m; Column size: 150 mm L.  
Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (60/40)  
Temp.: 40°C; Detection: UV 254 nm; Inj.vol. 1  $\mu$ L  
System: Nexera (Shimadzu Co.) セミマイクロ仕様

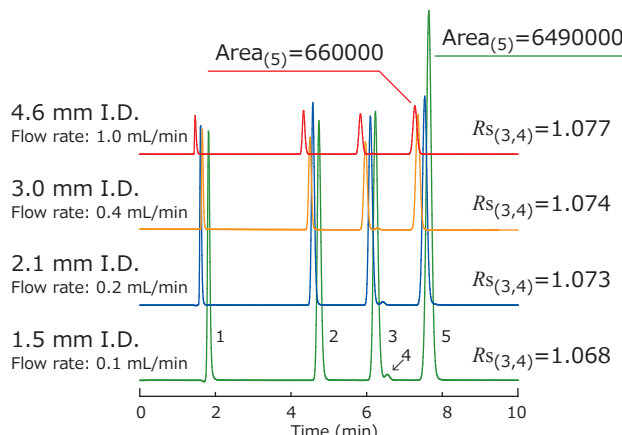
[Analytical conditions (Fig.1)]  
Sample: Naphthalene (in CH<sub>3</sub>CN)

Fig.1 移動相流速と理論段相当高さの関係

Table 1 カラム内径と移動相流速

内径(mm)	断面積(mm <sup>2</sup> )	最適流速	溶媒削減率※1
4.6	16.61	1.0 mL/min	—
3.0	7.07	0.4 mL/min	60%削減
2.1	3.46	0.2 mL/min	80%削減
1.5	1.77	0.1 mL/min	90%削減

最適流速は、内径の断面積に比例します(Table 1)。内径を細くして、最適流速で分析することで、分析からカラム洗浄や移動相置換を含めた、一連の溶媒使用量が削減できます。Fig.2は異なる内径の最適流速で分析したクロマトグラムです。異なる内径の最適流速は、ほぼ同じ線速度(1 mm/sec)になります。移動相線速度が等しければ、保持時間や分離度はほとんど変わりません。



[Analytical conditions]

Sample: 1. Uracil; 2. Benzene; 3. Toluene; 4. Impurity; 5. Naphthalene (in CH<sub>3</sub>CN)

Fig.2 移動相線速度を同じにしたときの分離度の比較

#### ■ 内径を細くしたときの利点 ～感度の向上、試料量の節約～

内径を細くすると、感度が高くなります。Fig.2の試料溶媒や注入量の影響が出ない分析条件において、同じ試料量では、内径1.5 mmは4.6 mmの約10倍のピーク面積が得られました。内径の断面積に応じて試料量は少なくできるので、試料量が制限される分析ではセミマイクロカラムが有効です。

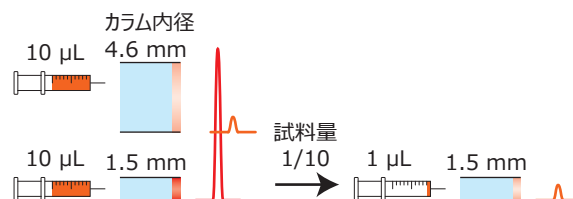
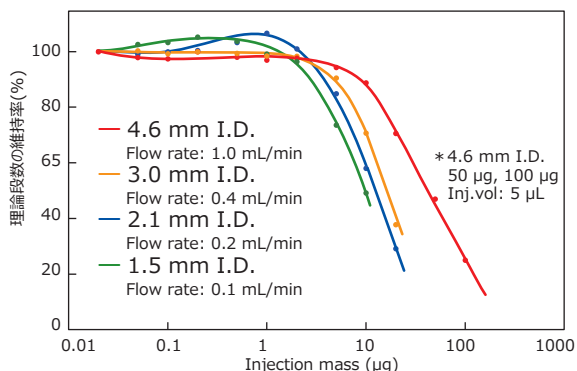


Fig.3 内径とピーク感度の違い(イメージ)

※1 内径4.6 mmの移動相に用いる溶媒使用量を100%とする

■ 内径を細くしたときの欠点 ～試料濃度と注入量の制限～

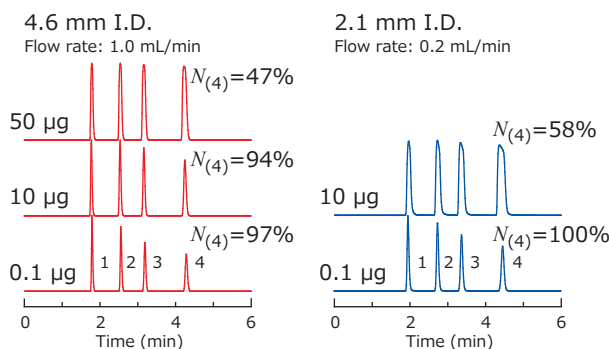
内径を細くすると、試料負荷量が小さくなります。Fig.4は、試料濃度と理論段数の維持率の関係をプロットしました。試料負荷量を超えると理論段数は急激に低下します。この分析条件では、内径2.1 mmの試料負荷量は4.6 mmの約1/5になりました。



[Analytical conditions (Fig.4, Fig.5, Fig.6)]  
Column: L-column2 ODS, 3 μm; Column size: 150 mm L.  
Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/20 mM H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> in H<sub>2</sub>O (50/50)  
Temp.: 40°C; Detection: UV 280 nm;  
System: Nexera (Shimadzu Co.) セミマイクロ仕様

[Analytical conditions (Fig.4)]  
Inj.vol: 1 μL (in Mobile phase)  
Sample: *n*-Propyl *p*-Hydroxybenzoic Acid

Fig.4 試料濃度と理論段数の関係※2

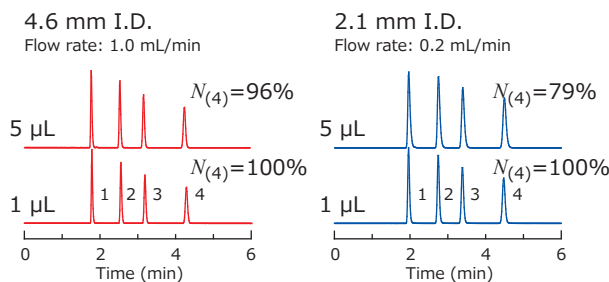


[Analytical conditions]  
Inj.vol: 1 μL (in Mobile phase)  
Sample: 1. 4-Hydroxybenzoic Acid; 2. Methyl *p*-Hydroxybenzoic Acid;  
3. Ethyl *p*-Hydroxybenzoic Acid; 4. *n*-Propyl *p*-Hydroxybenzoic Acid

Fig.5 試料濃度とピーク形状の比較※2

試料負荷量を超えるとピークが歪みます(Fig.5)。不純物分析など、主成分が高濃度の場合、主成分と不純物の分離度が不十分になる場合があるので、試料濃度には注意が必要です。

内径を細くすると、注入量の影響を受け、ピーク形状が悪くなる場合があります(Fig.6)。注入量はなるべく少なくします。



[Analytical conditions]  
Inj.mass: 0.5 μg (in Mobile phase)  
Sample: 1. 4-Hydroxybenzoic Acid; 2. Methyl *p*-Hydroxybenzoic Acid;  
3. Ethyl *p*-Hydroxybenzoic Acid; 4. *n*-Propyl *p*-Hydroxybenzoic Acid

Fig.6 注入量とピーク形状の比較※3

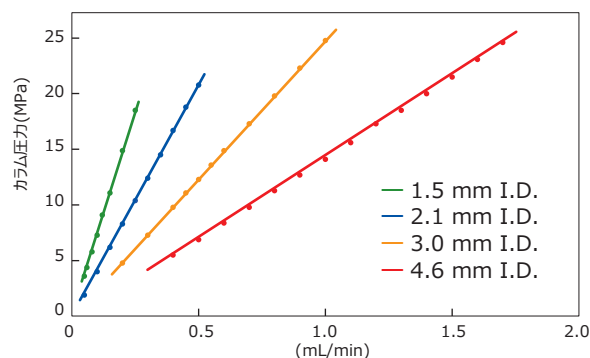
■ 内径を細くしたときの注意点

L-column シリーズのカラムは、高度な充填技術により均一に充填しています。理論上、カラムの内径にかかわらず、理論段相当高さは同じです。しかしFig.1のように、同じLCシステムで比較した場合、内径が細いほど、カラム効率が低くなってしまいます。これはカラム容積に対して、フィルターや配管などの試料拡散の要因となるデッドボリュームの割合が大きくなるからです。そのため内径を細くしたときは、デッドボリュームを少なくする工夫をします。また内径の細かい方が、最適流速の範囲が狭いことも分かります。このため、低流速での送液ポンプの正確性が再現性に影響します。さらにセミマイクロカラムは試料注入量が少ないため、注入の正確性も重要なポイントです。

システムの最適化は、「LC Technical report Vol.08 移動相使用量の削減」も併せてご覧ください。

■ 参考 カラム圧力

移動相流速が同じならば、カラム圧力は同じですが、LCシステムの配管の影響があるため、理論値と異なることがあります。



[Analytical conditions]  
Column: L-column2 ODS, 3 μm; Column size: 150 mm L.  
Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (60/40); Temp.: 40°C  
System: Nexera (Shimadzu Co.) セミマイクロ仕様

Fig.7 移動相流速とカラム圧力の関係

※2 0.02 μgを注入したときの理論段数を100%とする  
※3 1 μLを注入したときの理論段数を100%とする

リーフレット内容に関してのお問合せは、東京事業所クロマト技術部又は最寄りの代理店までご連絡ください。

**CERI** 一般財団法人 化学物質評価研究機構  
Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan  
<http://www.cerij.or.jp>



東京事業所 クロマト技術部  
e-mail [chromato@cerij.jp](mailto:chromato@cerij.jp)

TEL 0480-37-2601 FAX 0480-37-2521  
〒345-0043 埼玉県北葛飾郡杉戸町下高野1600番地