

GC基礎編

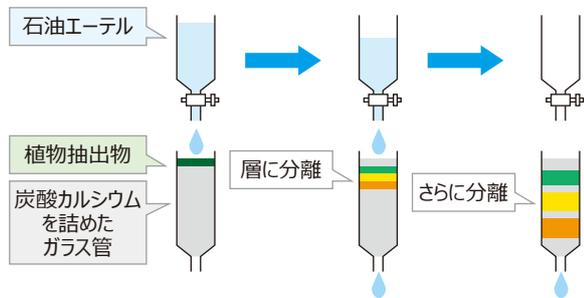
はじめてガスクロマトグラフィーに携わる方、改めて基礎を学びたい方…ガスクロマトグラフィーについての基礎をまとめました。ここでは用語の説明など、理論的な内容に絞って掲載しています。

Keywords ガスクロマトグラフィー ガスクロマトグラフ 定性分析 定量分析 キャリヤーガス カラム

クロマトグラフィーとその目的

■ クロマトグラフィーとは

20世紀はじめに、M.S.Tswettによって、植物抽出物から着色した層を分離した方法を、ギリシャ語の「Chroma(色)+Graphos(描く)」に因んで、「Chromatography(クロマトグラフィー)」と名づけられました。



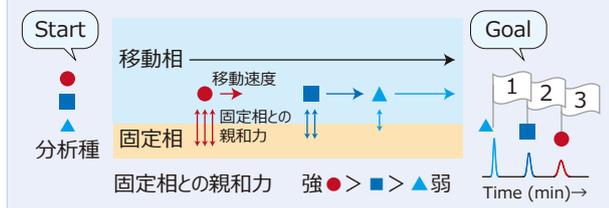
手法・方法	クロマトグラフィー	Chromatography
装置・機器	クロマトグラフ	Chromatograph
記録の結果(チャート)	クロマトグラム	Chromatogram

クロマトグラフィーとは、分析種を固定相及び移動相との相互作用の差を利用して分離する方法です。移動相の種類により、主なものとして「ガスクロマトグラフィー」と「液体クロマトグラフィー」があります。

種類	ガスクロマトグラフィー Gas chromatography GC	液体クロマトグラフィー Liquid chromatography LC
移動相	気体(キャリアーガス)	液体(溶離液)
固定相	固定相液体(以下、液相) 吸着剤 液相を担持した担体	充填剤
分析種	カラム内で気体となる物質	溶離液に溶解する物質

ワンポイント

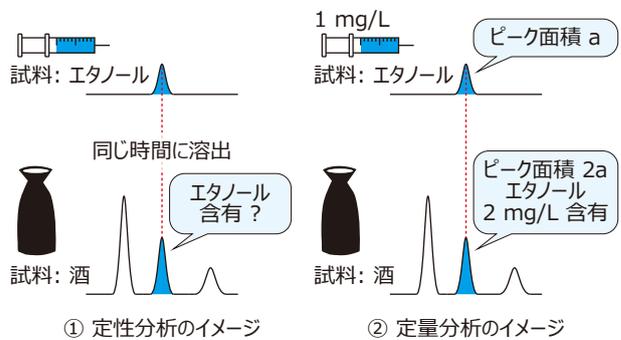
ガスクロマトグラフィーでは、分析種が移動相(キャリアーガス)と一緒に移動しながら、固定相との分配平衡、吸脱着などにより、分離が行われます。分析種と固定相の親和力が強いほど、保持時間が長くなります。



■ クロマトグラフィーの目的

クロマトグラフィーの目的は、大きく次のように分けられます。

- ① 含有する成分は何か。 → 定性分析
- ② どのくらいの量が含有されているか。 → 定量分析
- ③ ある成分を取り出す。 → 分取



① 定性分析

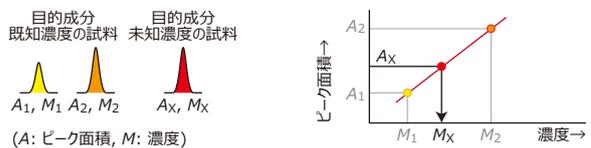
未知成分と推察成分とのピークの保持値やピーク形状を比較して同定します。異なる分析条件や検出器など、他の手法でも確認することが必要です。

② 定量分析

ピーク面積(又は高さ)を算出し、含有量を求めます。

絶対検量線法 (外標準法) 既知濃度の目的成分を数点測定し、ピーク面積(又は高さ)と濃度との検量線を作成する。

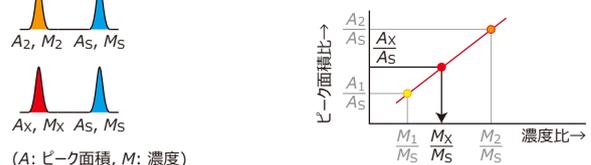
目的成分が他の成分と分離していればよく、簡便だが、注入誤差、調製誤差が生じやすい。



内標準法

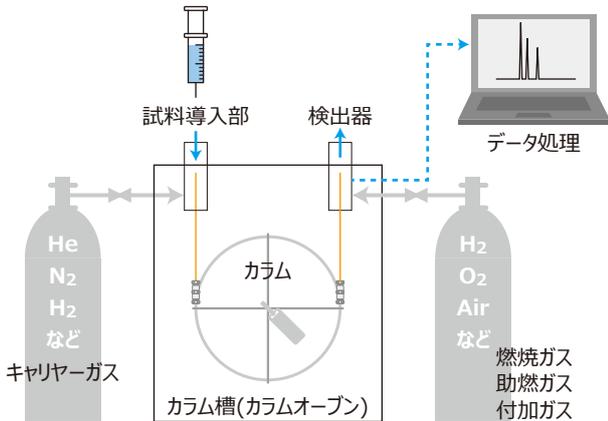
既知濃度の目的成分と内標準物質の混合試料を数点測定し、ピーク面積(又は高さ)の比と濃度比との検量線を作成する。

内標準物質は目的成分の近くに溶出し、他の成分と分離する、安定な物質を選択する。注入誤差、調製誤差が生じにくい。



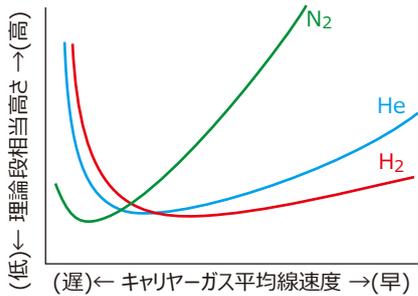
ガスクロマトグラフ

■ GC装置の概要



■ キャリヤーガス(キャリアガス)

不活性化ガスが用いられます。キャリアガス線速度と理論段相当高さの関係を示した Van Deemter plot では、キャリアーガスの種類によって最適線速度の位置とその幅、曲線の勾配が異なります。



各キャリアーガスの Van Deemter plot(イメージ)

ワンポイント

理論段相当高さ(H)、カラム長さ(L)、理論段数(N)の関係式です。理論段相当高さが低いほど、理論段数が高く、高分離である、ということになります。

$$H = \frac{L}{N}$$

窒素	最適線速度は遅く、その範囲は狭い。線速度が速くなると、理論段数は急激に悪くなる。ヘリウムや水素と同じ分離を求める場合、分析時間が遅くなる。安価。
ヘリウム	最適線速度は窒素より早く、その範囲は広い。線速度が早くなっても分離はあまり変わらない。使用頻度が高く、凡例も多い。高価。近年入手しにくい状態にある。
水素	最適線速度はヘリウムより早く、その範囲は広い。線速度が早くなっても分離はあまり変わらない。高速分析が可能。安価。可燃性があるので、安全面を担保する必要がある。

キャリアーガスにヘリウムを用いる場合、中空のキャピラリーカラムでは、約30 cm/secに初期設定します。その後、分析結果に応じて、線速度を前後させるのが一般的です。

ワンポイント

線速度とカラム内径から流量を算出する式です。
G-column の場合、30 cm/secは約20 mL/minになります。

$$\text{流量(mL/min)} = \text{線速度(cm/sec)} \times \left[\text{カラム内径(cm)} \times \frac{1}{2} \right]^2 \times \pi \times 60$$

主なキャリアーガスの制御方法です。

流量制御	流量を設定して、その値になるようにキャリアーガスを流す方法。一定流量の場合、温度が上がると、カラム圧力の表示が大きくなり、線速度が上昇する。
圧力制御	圧力を設定して、その値になるようにキャリアーガスを流す方法。一定圧力の場合、温度が上がると、線速度が低下する。

温度が上がると線速度が変化します。窒素をキャリアーガスに用いた場合は、わずかな線速度の変化で理論段相当高さが変わるので、クロマトグラムの変化に注意が必要です。

他にも、線速度を制御する方法や、タイムプログラムで流量や圧力を変化させる方法もあります。

■ カラム槽(カラムオープン)

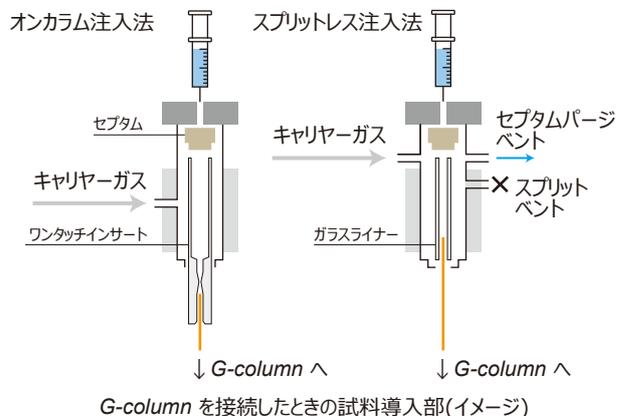
カラムを必要な温度にする槽です。空気循環による温度調節が主流です。

恒温分析	カラム槽の温度を一定にして分析する方法。試料中に溶出時間が大きく異なる分析種が混在している場合は、分析に時間を要する。簡単に再現性が良い。
昇温分析	カラム槽の温度を徐々に上げて分析する方法。試料中に溶出時間が大きく異なる分析種が混在している場合は、分析時間の短縮ができる。カラム槽の温度調節の性能によって再現性が得られない場合がある。

■ 試料導入部

試料を流路内に導入する部分です。使用するカラムによって形状、注入方式が分けられます。

パッドカラム用 試料導入部	主に全量を導入する全量導入方式。カラムに直接注入するオンカラム方式がある。 G-column は、ワンタッチインサートに直接注入するオンカラム方式が適している。
キャピラリーカラム用 試料導入部	内径や試料濃度により異なる。試料の一部を導入するスプリット注入法、試料のほぼ全量を導入するスプリットレス注入法、全量を導入する直接注入法、などがある。 G-column は、スプリットレス注入法、直接注入(ダイレクト注入)方式、どちらも対応可能。



G-column を接続したときの試料導入部(イメージ)

ワンポイント

内径の小さいキャピラリーカラムは、大量に試料を導入すると試料導入部で拡散し、ピークが広がってしまうので、注入法の選択やノウハウが重要になります。しかし大口径のG-column は、試料がスムーズにカラム内に導入されるので、難しい選択は必要ありません。

■ 検出器

主に使われている検出器です。

水素炎 イオン化検出器 (FID)	分析種を水素炎で燃焼させた際に生じるイオンを電極に捕獲、その時の電流を増幅して検出。感度が高く、ほとんどの有機化合物が対象となる。
熱伝導度 検出器 (TCD)	試料とキャリアーガスとの熱伝導度の差を利用して検出。キャリアーガス以外の化合物が対象となるが、感度は低い。
電子捕獲 検出器 (ECD)	放射線源を使用する放射線形ECDが一般的。 β 線照射によって生成された電子と分析種が反応すると、基底電流値が減少し検出。有機ハロゲン化合物、ニトロ化合物などが特異的に高感度が得られる。
質量分析計 (MS)	分析種をイオン化し、生じた正又は負のイオンは質量分離部で m/z に応じて分離した後、電気信号に変換され検出。

■ カラム

分離が行われる管が「カラム」です。その構造により「キャピラリーカラム」と「パッキンカラム(充填カラム)」に大別されます。

JIS K 0114:2012では、G-column はキャピラリーカラムに分類されます。

また、固定相の種類により、気-液クロマトグラフィー(分配形)と気-固相クロマトグラフィー(吸着形)に分けられます。

<p>キャピラリーカラム</p>   <p>G-column 内径：1.2 mm 長さ：10 m~40 m</p>	<p>内径：0.1 mm~1.2 mm 長さ：5 m~100 m</p> <p>中空構造でカラム管内壁に液相を塗布若しくは化学結合したもの(WCOTカラム)、吸着形充填剤をカラム管内壁に固定化したもの(PLOTカラム)がある。</p> <p>カラム材質：フューズドシリカ(熔融シリカ)、ガラス、金属など</p> <p>分配形  WCOTカラム Wall-coated open tubular column —液相</p> <p>吸着形  PLOTカラム Porous layer open tubular column ○吸着形充填剤</p> <p>高分離能で、ピークはシャープに検出される。不活性度が高く、吸着が少ない。</p>
<p>パッキンカラム</p> 	<p>内径：0.5 mm~6 mm 長さ：0.5 m~20 m</p> <p>充填カラムともいう。カラム管に分離用充填剤を詰め込んだもの。</p> <p>カラム材質：ガラス、金属など</p> <p>分配形  珪藻土など担体に液相を含浸させた充填剤</p> <p>吸着形  ○吸着形充填剤</p> <p>GCのはじめから使われ、公定法にも多く指定されている。試料負荷量が多く、試料由来の汚染に強い。吸着が大きく、分離能が低い。</p>

ワンポイント

G-column は、キャピラリーカラムの中では内径が大きいので、試料負荷量はパッキンカラムに近く、分離能や不活性度はキャピラリーカラムに近い、という独特の特性があります。

G-column は、両端にフューズドシリカキャピラリーチューブを介してガスクロマトグラフに取り付けます。ガラス製なので折れやすい、という欠点がありますが、フューズドシリカカラムや金属カラムと異なり、液相の状態が目視で確認できる、という利点があります。

ガスクロマトグラフィーは、分離改善のために移動相(キャリアーガス)を変えることはありません。様々な分析種の分離のためには、固定相(液相、充填剤)、膜厚(液相量)、カラム長さ、内径などの選択が必要です。

パッキンカラムは、分離能が低く吸着が大きく、ピークがブロードになるため、それぞれの分析種に合わせた充填剤が作られてきました。キャピラリーカラムは、分離能が高く低吸着なので、ピークがシャープです。数種類の液相があれば、ほとんどの分析種が分離可能です。一般に次のように選択します。

液相、充填剤	基本的に分析種と液相の極性を合わせる。分析種と液相との極性が近いほど液相との相互作用が強くなり、保持時間が長くなる。
膜厚(液相量)	膜厚が厚いほど保持時間が長くなり、試料負荷量が大きくなる。パッキンカラムの場合、液相量(含浸量)が膜厚に相当する。
カラム長さ	カラム長さが長いほど保持時間が長くなり、長さの平方根に比例して、理論段数が高くなる。

ワンポイント

G-column は、以下の種類があります。

名称	液相・特徴など
G-100	Methyl silicone (相当品: SE-30, OV-1, OV-101, SP-2100) $\left[\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{---Si-O---} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \right]_n$ 無極性(分配形) 基本的に沸点順に溶出する。耐熱性が高く、高沸点化合物の分析に適する。
G-205	5% Phenyl methyl silicone (相当品: SE-52, SE-54)
G-230	30% Phenyl methyl silicone (相当品: OV-1, DC-550)
G-250	50% Phenyl methyl silicone (相当品: OV-17) $\left[\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{---Si-O---} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \right]_{70\%} \left[\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5 \\ \\ \text{---Si-O---} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array} \right]_{30\%}$ 微極性~中極性(分配形) 液相のフェニル基の含有率に応じて、フェニル基を有する分析種の保持が大きくなる。
G-300	Polyethylene glycol (相当品: PEG 20M) $\left[\text{---OCH}_2\text{CH}_2\text{---} \right]_n \text{OH}$ 強極性(分配形) 極性物質の保持が大きくなる。
G-450	50% Trifluoropropyl methyl silicone (相当品: DC QF-1) $\left[\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{---Si-O---} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \right]_{50\%} \left[\begin{array}{c} \text{CF}_3 \\ \\ \text{---Si-O---} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \right]_{50\%}$ 中極性(分配形) ハロゲン化合物の保持が大きくなる。
G-950	Porous Polymer (相当品: Parapak®Q) 微極性(吸着形) 低沸点化合物、低級アルコールの分析に適する。 Porous Polymerの他にシリコン系の液相を使用しています。分配形の特徴も兼ね備えています。

膜厚 : 0.1 μm ~25 μm

カラム長さ : 10 m, 20 m, 40 m

種類によりラインアップが異なります。ホームページをご覧ください。

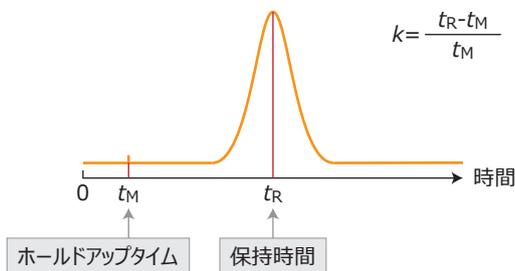
https://www.cerij.or.jp/service/09_chromatography/G-column_01.html

クロマトグラム

クロマトグラムから得られる数値と、その算出方法です。

保持係数 k : Retention factor, Capacity factor

保持の大きさを示す係数です。分析種の保持時間をホールドアップタイムで補正した値。

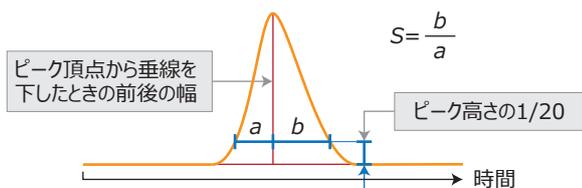


ホールドアップタイム: カラムに保持されない成分($k=0$)のピークの頂点が現れるまでの時間。カラム内の空隙容量、試料導入部、配管などが関係します。

アシンメトリー係数 S : Asymmetry factor

ピークの対称性を示す係数です。分析種の吸着、カラムの劣化や汚染などで変化します。

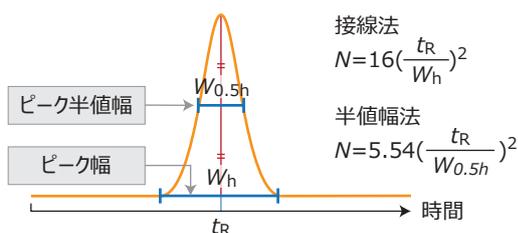
値が「1」に近いほどピークの歪みが小さくなります。



日本薬局方では、シンメトリー係数(A_s)といい、JIS K 0214ではシンメトリー係数(S)と表されています。上の図では「 $(a+b)/2a$ 」で示されます。どちらも「1」に近いほど歪みが少なく対称性が良く、「 >1 」でテーリングピーク、「 <1 」でリーディングピーク、としています。

理論段数 N : Number of theoretical plates

カラム効率を示す指標のひとつで、分離能を示す値です。



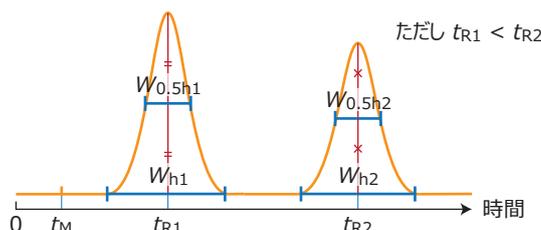
分離係数 α : Separation factor

分離度 R : Resolution

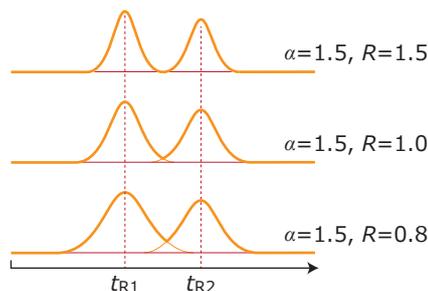
分離係数は、隣接している2つのピークの保持時間の比です。分離度は、隣接している2つのピークが、どの程度分離しているかを、ピーク幅(W_h)又はピーク半値幅($W_{0.5h}$)を用いて示します。分離度が1.5以上で、ピークが完全に分離している(ベースライン分離)ことを意味します。

$$\alpha = \frac{t_{R2} - t_M}{t_{R1} - t_M} = \frac{k_2}{k_1}$$

$$R = 2 \times \frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{h1} + W_{h2}} \quad \text{又は} \quad R = 1.18 \times \frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{0.5h1} + W_{0.5h2}}$$



下の図は、分離係数と分離度の関係をイメージしたクロマトグラムです。保持時間が同じ(α が同じ)でも、ピークがブロードならば、「分離が不十分」ということとなります。



このように、得られたクロマトグラムを数値化することで、客観的に結果を捉えることができます。

これらの値は、プログラムにより自動計算して算出されますが、規格や試験法、例えば日本薬局方(JP)、米国薬局方(USP)、欧州薬局方(EP)などで、算出方法が異なる場合があります。確認をしておきましょう。

参考文献

- JIS K 0114: 2012 ガスクロマトグラフィー通則
- JIS K 0214: 2013 分析化学用語(クロマトグラフィー部門)
- 第十八改正日本薬局方第一追補 2.00クロマトグラフィー総論
- ガスクロ自由自在Q&A 分離・検出編 丸善(株)
- LC Technical Report Vol.20 HPLC基礎(理論編)
- https://www.cerij.or.jp/service/09_chromatography/technical_report/technical_report_20.pdf

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
<https://www.cerij.or.jp>



東京事業所 クロマト技術部
 e-mail 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