

「分析の原理」

04 クロマトグラフィーの原理と応用

【概要】

クロマトグラフィーは、気体、液体、超臨界流体を移動相とし、カラムと呼ばれる管の中に保持された固定相と物質の相互作用によって混合物を分離、検出する分析法です。例えば、香水、医薬品の芳香、薬効を表すためには、試料に含まれる特定の成分の量を知る必要があります。対象となる物質中に含まれる各成分を分離し、含有量又は含有比率を知る方法としてクロマトグラフィーは良く利用されています。

本編では、クロマトグラフィーの語源、代表的な手法とその測定例を示し、原理と応用を解説致します。

ギリシャ語で「色」の意味の“Chroma”と「記録」の意味の“Graphos”からの命名と言われるクロマトグラフィーは、ロシアの植物学者のミハイル・ツヴェットによって植物色素の成分を分離する方法として発見された。対象とする試料は「移動相」によって運ばれ、試料中の各成分は「固定相」との相互作用の大きさによって分離される。

固定相との相互作用が弱い成分はすぐに固定相から溶出し、固定相との相互作用が強い成分は固定相に長い時間保持される。相互作用の大きさの違いによって、試料導入点からの距離の違い（固定相からの溶出時間の違い）となって各成分が分離される。図1に分離の様子を模式的に示す。

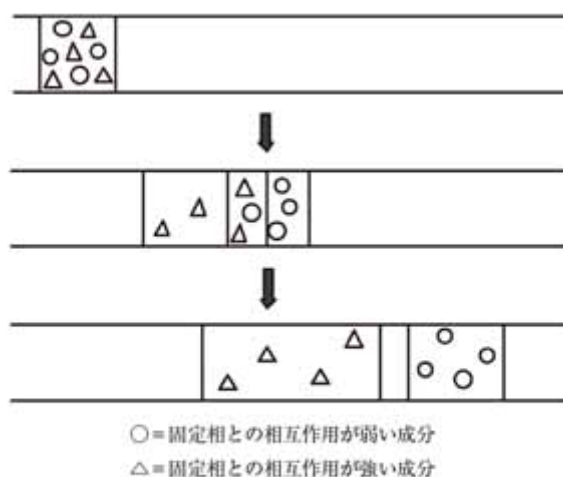


図1 固定相中での各成分の分離

クロマトグラフィーの代表的な手法として、移動相が気体か液体かで分類される、「ガスクロマトグラフィー (GC)」及び「液体クロマトグラフィー (LC)」がある。ガスクロマトグラフィーは、通常は 400℃程度までの温度で気化する試料を、液体クロマトグラフィーは移動相へ溶

解する試料を対象とする。

液体クロマトグラフィーの一種として「カラムクロマトグラフィー」、「薄層クロマトグラフィー」がある。この他、超臨界状態の移動相を利用する「超臨界流体クロマトグラフィー」と呼ばれる手法もある。

これらクロマトグラフィーの原理を利用した分離分析機器は、ガスクロマトグラフ（GC）、高速液体クロマトグラフ（HPLC）などと呼ばれ、図2に示すような要素から構成される。

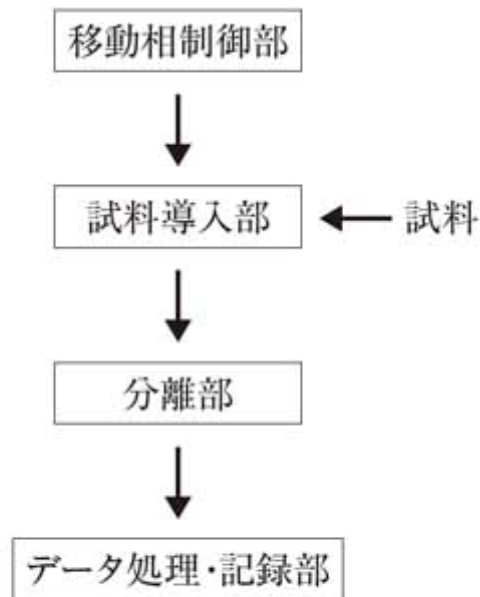


図2 クロマトグラフの構成要素例

ガスクロマトグラフィーでは、移動相としてキャリアーガスと呼ばれるヘリウム、窒素などの不活性ガスが、高速液体クロマトグラフィーでは、移動相として溶離液と呼ばれるヘキサン、メタノールなどの溶液が用いられる。再現性の良好な分析結果を得るために、移動相は安定した流速（流量）で制御する必要があり、電子式の高精度ガス制御部や脈動の少ない送液ポンプが用いられる。

試料は、シリンジや試料ループ（計量管）などによって一定量が移動相中に導入される。試料の状態は、気体、液体、固体のいずれもあり得るが、加熱気化、溶媒抽出などの方法で移動相に導入できる状態とされる。ガスクロマトグラフの場合は、試料導入部で液体試料を瞬間的に気化させることが多く、再現性の良い結果を得るためには、気化の状態を制御することが求められる。

試料は、分離部に設置された固定相を保持する「カラム」によって成分に分離される。成分と固定相の相互作用、即ち分離の機構は、ガスクロマトグラフの場合は、担体と呼ばれる珪藻土などの微粒子への吸着、及び担体又は不活性な内面を持つ細管（「キャピラリー」と呼ばれる）内面に固定された液体状高分子化合物（液相）への分配である。高速液体クロマトグラフィーの場合は、分配、吸着、イオン交換、イオン排除、サイズ排除、アフィニティーなどさまざまな機構（「分離モード」と呼ばれる）がある。

分離部で分離された各成分は、検出部に設置された「検出器」でその濃度に対応した信号として検出される。検出器は、対象成分が持つ熱伝導度、吸光度などの特性、特定の化学結合や原子への応答などを利用したさまざまな原理のものが用いられる。検出器は、その検出原理によって、多くの化合物を検出することができる汎用性の高いものと、特定の化合物のみ検出する選択性の高いものがあり、分析の対象によって選択することができる。質量分析計が検出器として用いられることもある。

検出器から得られる信号は、「クロマトグラム」と呼ばれ、専用のデータ処理装置や PC によって処理される。図3にクロマトグラムの模式図を示す。クロマトグラフィーにおいては、クロマトグラムの保持時間によって定性を、対象とする成分に対する応答であるピークの高さまたは面積によって定量を行う。図3にクロマトグラムの例を示す。

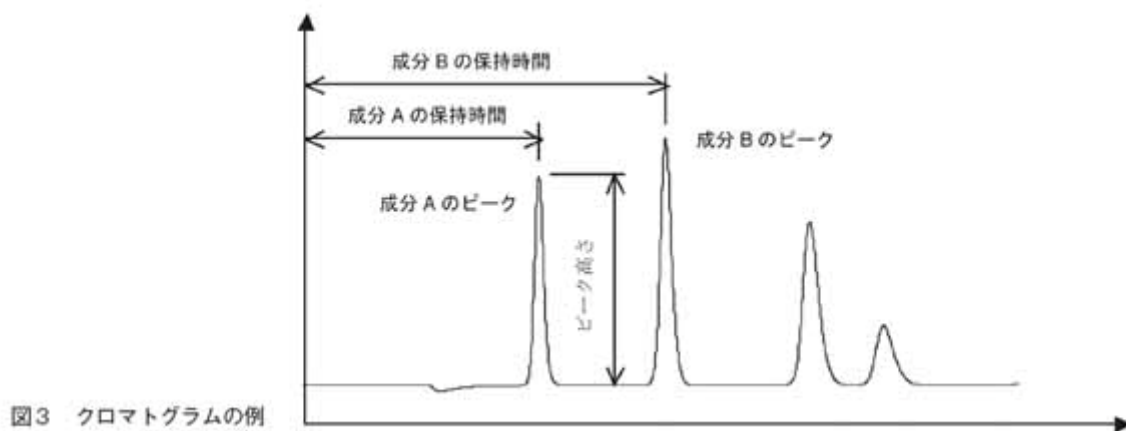


図3 クロマトグラムの例

クロマトグラフィーは、試料中の成分を固定相によって空間的に分離する手法であるが、特定の場所に固定された検出部に順次運ばれることによって測定するため、保持時間という時間軸で分離することがほとんどである。従って分析には一定の時間がかかることは原理的に不可避であり、短い場合で数分、長い場合には2時間程度の分析時間を要することもある。

しかし、最近では分析時間の短縮に対する要望も高く、高速分析を実現するさまざまな工夫がされている。

また、分離能力を向上させるために、2種類の異なる特性のカラムを用いる GC×GC (GC バイ GC と呼ばれる)、LC×LC などの分析システムも利用されるようになってきている。

技術委員会 小森亨一
 ((株)島津製作所)