

日本分析化学会関東支部
ガスクロマトグラフィー基礎編
スライドの解説

2020年8月6日
ガスクロマトグラフィー研究懇談会
保母、前田

はじめに

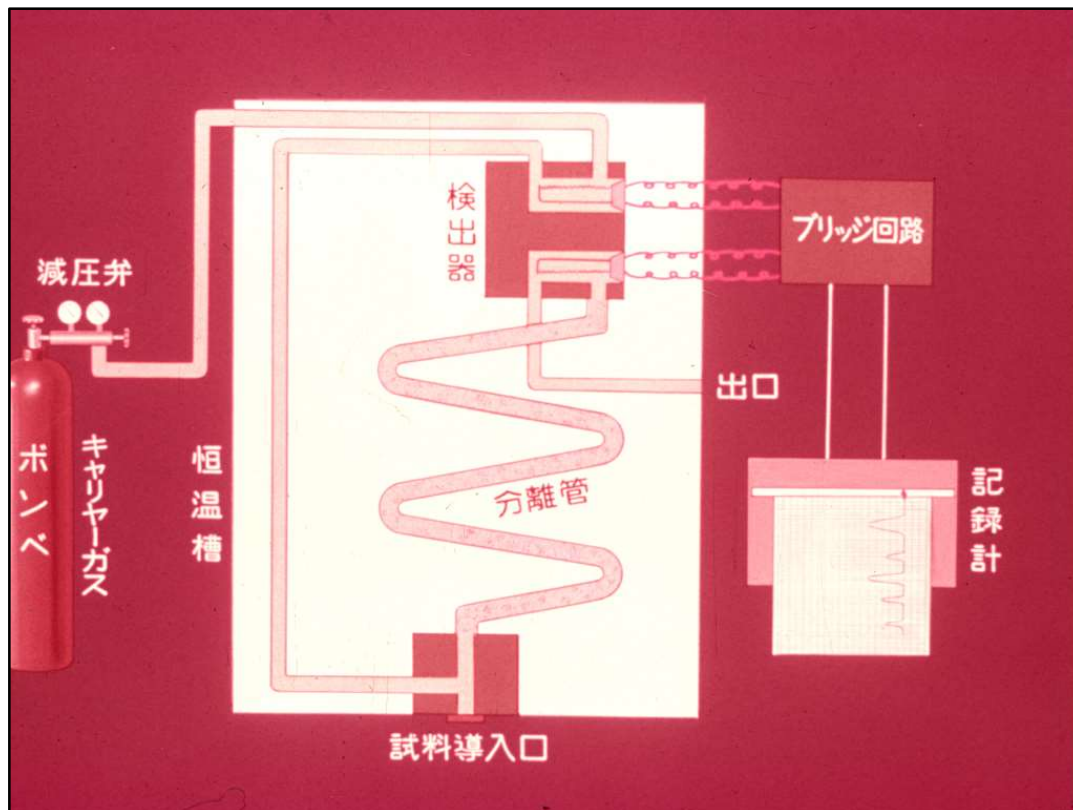
- ガスクロマトグラフィー研究懇談会では本研究懇談会に関連する記録を集め、紹介している。このアーカイブの一環として荒木峻先生が編纂に携わったスライドを保母・前田が変換し、当時の様子を伝えられるよう簡単な時代背景と共に解説を試みた。当時の企画の意図に沿ったものではないかもしれないが、ガスクロマトグラフィーの黎明期を知る貴重なスライドなので、ご理解いただき鑑賞されたい。なお、色も経年変化し、当初のものとは異なる。
- 当時の教科書としては荒木 峻“ガスクロマトグラフィー”東京化学同人(1961)が代表的なものとしてある。
- 開発当初のガスクロマトグラフィーの基本構成は、マイクロシリコンによる加熱気化注入法+充填カラム+熱伝導度検出器(TCD)+記録計で、カラム温度は恒温槽で一定に保ち、キャリアーガスは一定圧力で供給している。使用者が望む分離を得るために様々な固定相液体(液相)を試せるよう、固定相担体に液相を塗布しカラムに充填して使用方法を紹介している。定性手段としてリテンションインデックスや保持値を収録したデータ集が編纂され、利用された。この他反応を利用する方法も紹介されている。

ガスクロマトグラフィー

基礎編

企画 日本分析化学会関東支部

制作 株式会社 教 研

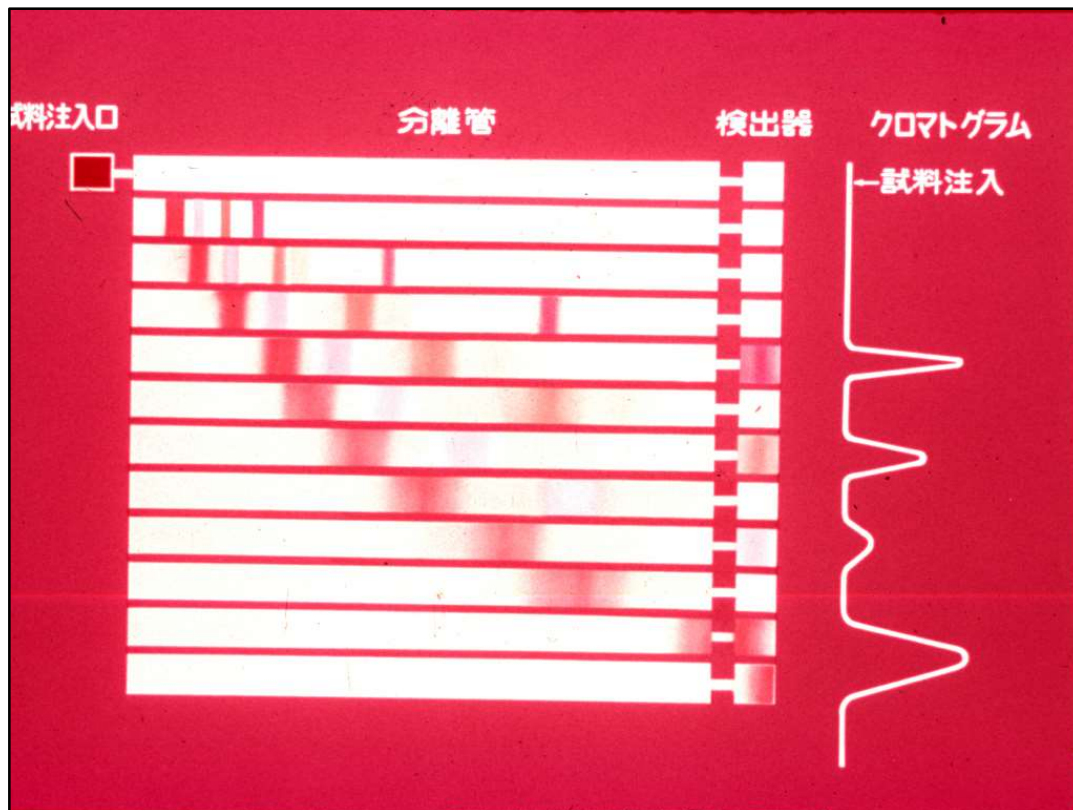


ガスクロマトグラフの基本構成

初期のガスクロマトグラフの基本構成は、マイクロシリンジによる加熱気化注入法+充填カラム+熱伝導度検出器+記録計である。

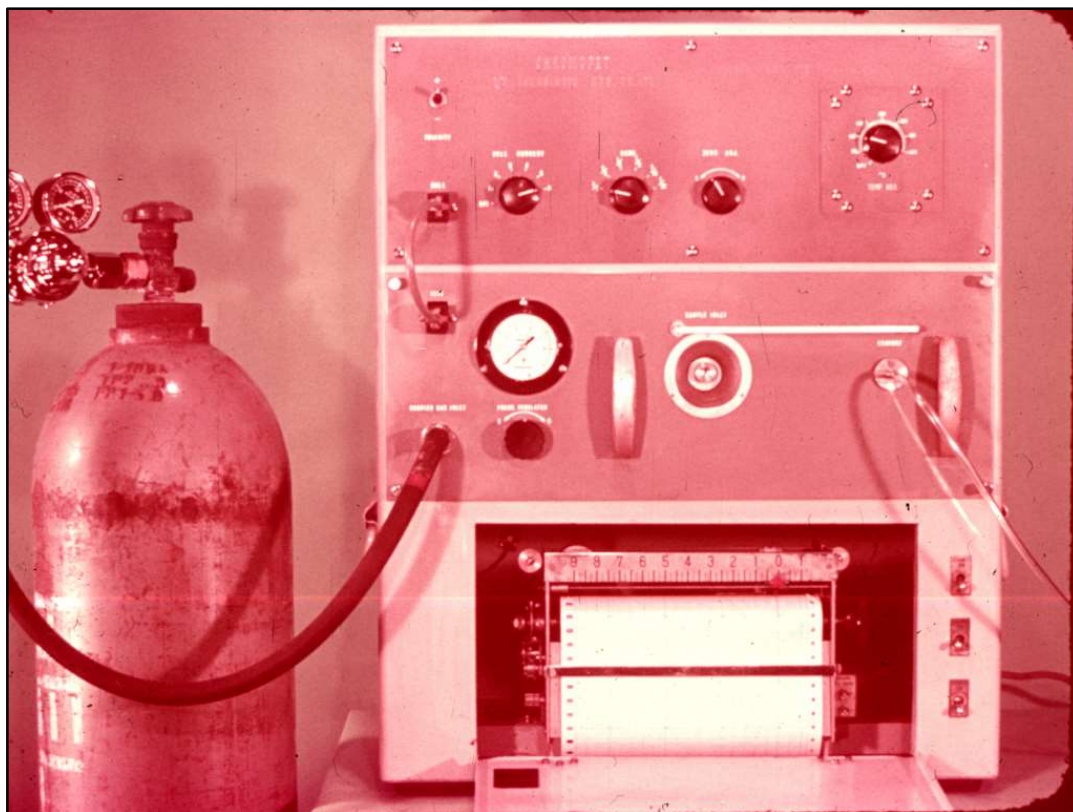
キャリアーガスは一定圧力(流量)に制御されてこの例ではTCDの参照側を流れ、試料導入口(試料注入口)を経てカラム(分離管)に供給される。マスフローコントローラーのような精密な流量制御は行われていない。カラム出口はTCDの測定(検出)側に接続され、装置の外部に排出される。

カラムを一定温度に保つ恒温での分離が基本である。キャリアーガスは試料成分と熱伝導度が大きく異なる水素を主に使い、ヘリウム、窒素は従であった。水素、ヘリウムを分析する時は窒素を用いた。記録計はフルスケール2mVが主であった。



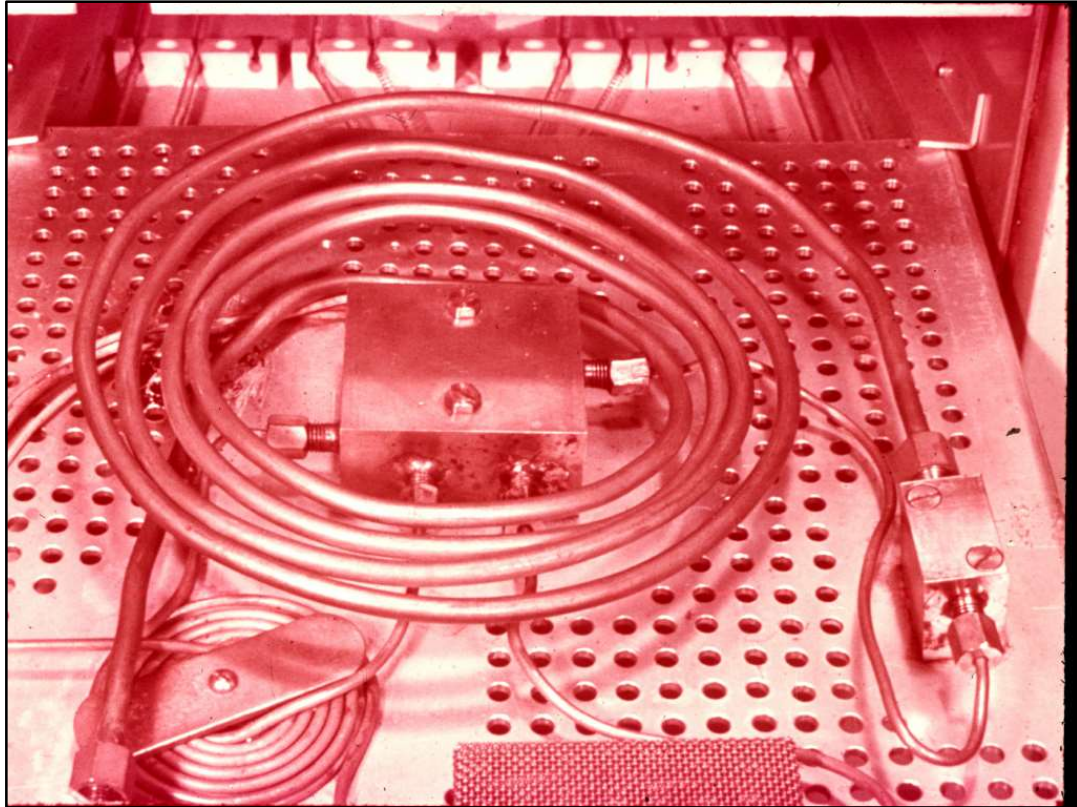
分離とクロマトグラムの模式図

試料注入後、試料成分がキャリアーガスによりカラム内を移動し、固定相液体とキャリアーガス間への分配係数の違いにより移動が遅れ、分離していく様子を模式的に示している。検出器に到達した成分は横軸を時間、縦軸を検出器信号量の変化を表すクロマトグラムとして記録される。



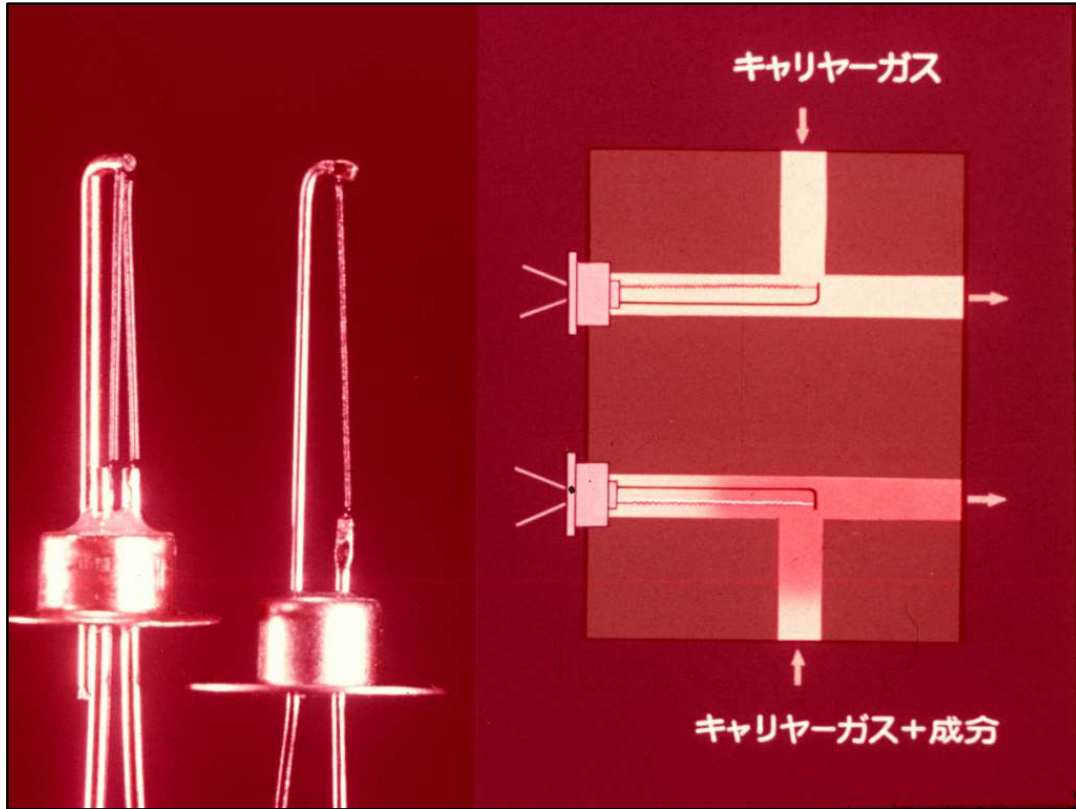
装置の外観とキャリアーガスの接続

当時の最も簡単な島津製作所製ガスクロマトグラフの外観である。下部に記録計、中間部分がキャリアーガスの圧力調節器、恒温槽(試料導入口、カラムと検出器を収納)、上部が検出器の感度調節、ベースライン補正、恒温槽温度調節器からなるコントローラ部である。



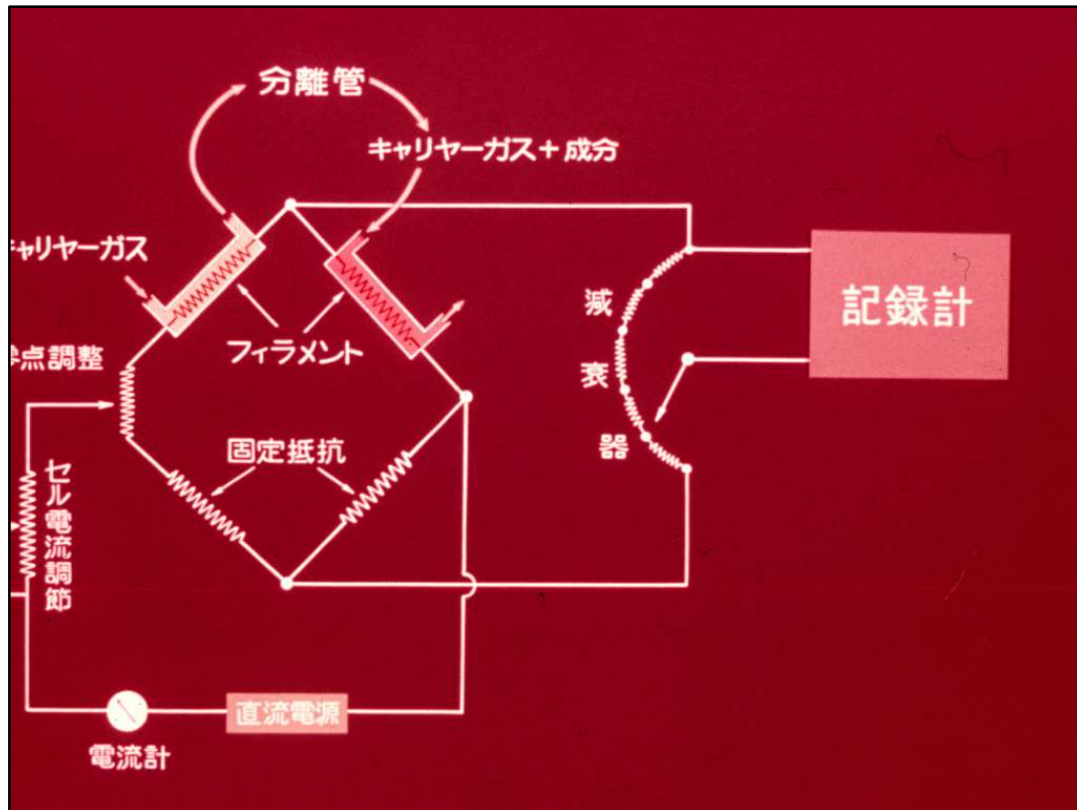
恒温槽内部

この例では試料導入口、分離管と検出器は同じ恒温槽内に設置されていた。使用者は必要に応じて試料導入口を恒温槽と別途に加熱できるように改造して用いた。キャリアガスを恒温槽温度にする為の熱交換用にコイル状の導管を用いている。カラムの管の材質は熱伝導が良い銅を用いている。カラムの中央にある金属のブロックが熱伝導度検出器である。



熱伝導度検出器

熱伝導度検出器の断面図(右図)と、フィラメントの実例2種(左図)を紹介している。フィラメントにはV字型に折り返したものと直線状のものがあった。フィラメントの材質は主にタンゲステン、レニウムタンゲステン、白金等である。キャリアーガスで運ばれてきた試料成分は検出器内部でフィラメント側に拡散し、熱せられたフィラメントの熱を奪い、フィラメントの抵抗値を変化させる。この図の検出器は拡散型と呼ばれる。このほかにフィラメント全体をキャリアーガスが流れる直通型、フィラメントとキャリアーガスの流通路が並行している半拡散型がある。



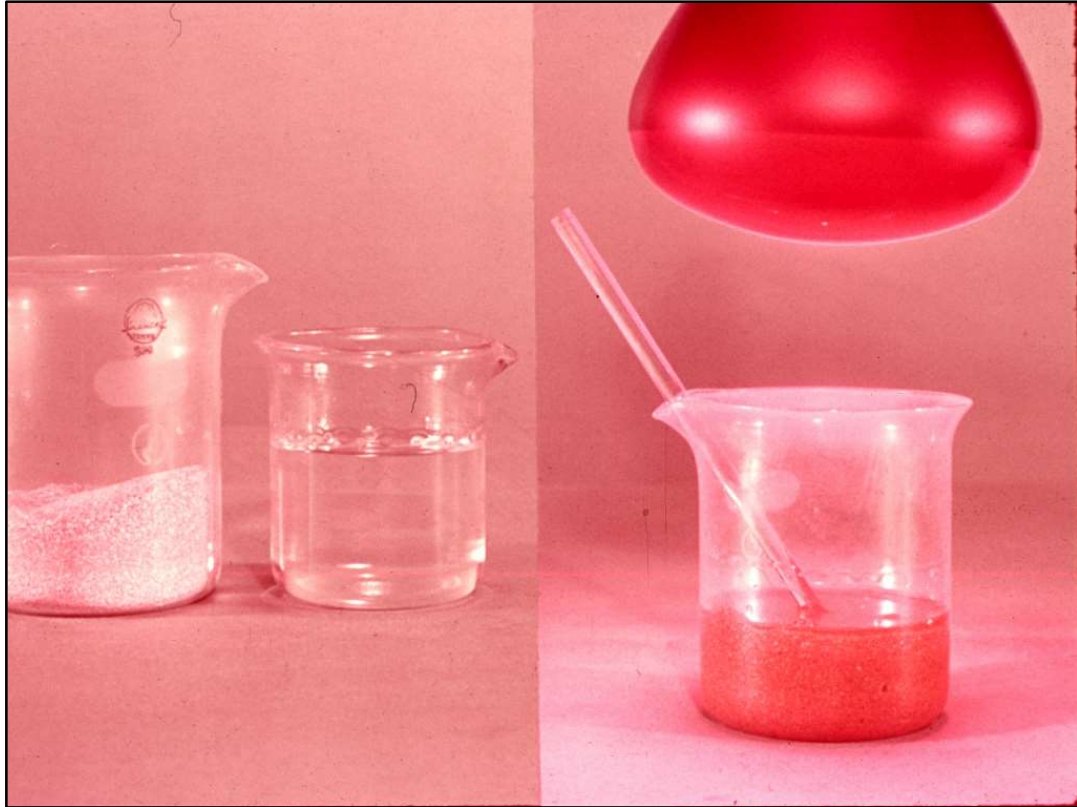
熱伝導度検出器の回路

フィラメントと固定抵抗でホイーストンブリッジを組み一定電流を流しフィラメントを加熱する。キャリアーガスのみが流れる補償素子(リファレンス)とキャリアーガスに運ばれてきた試料成分により抵抗値変化を生じる測定素子(メジャー)とこれに相対する固定抵抗を配置して一定電流を流し、キャリアーガスのみが流れている状態で記録計への信号出力がゼロになるように零点調節器により調整する。記録計への信号出力は、減衰器(アッテネーター)により成分ピークの信号が記録計で振り切れないよう調節する。



充填剤の調製

分離管充填剤の調製方法である。まず、担体と固定相液体の質量を量る。担体に対する固定相液体の質量は5～30%程度である。固定相液体の割合が少ないと担体表面をカバーしきれなくなり吸着の影響が出る。固定相液体の割合が多いと担体表面にしっかりと保持されず、担体同士も塊になり充填が困難になる。担体には粒径を揃えた珪藻土や耐火レンガ粉の熱及び化学処理物を主に用いた。粒度を揃える為に水篩を行うと良い。水篩後300℃に3時間加熱し、冷却後濃塩酸で洗い、最後に十分に水洗いし150℃程度で1日以上乾燥する。



充填剤の調製2

秤量した固定相液体を揮発性溶剤(塩化メチレン、四塩化炭素、アセトン、ペンタン等)に溶かし、これに担体を浸す。攪拌しながら赤外線ヒーターでゆっくりと溶剤を揮発させて乾燥し、担体表面に固定相液体を均一に塗布する。蒸発皿にあけて内容物を広げると乾燥が早い。

固定相液体は、カラムの使用温度で十分低い蒸気圧を持ち、かつ化学的に安定で、適当な時間内に目的の試料成分の分離が行えるものを選ぶ。

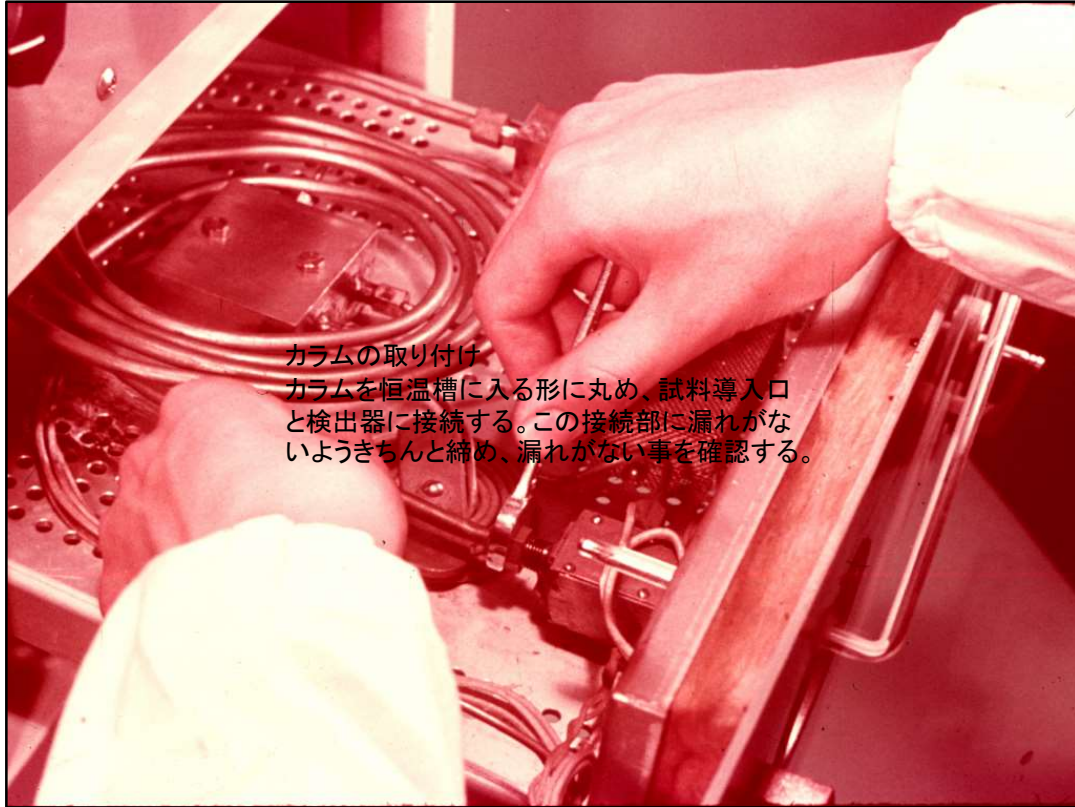
Rohrshneiderが提唱した無極性の液相はスクワラン、最高極性の液相は β,β' -オキシジプロピオニトリルである。



カラムへの充填剤の充填

カラム用管をU字型に曲げ、バイブレーターで振動を与えながら調製した充填剤を管に均一に充填する。片側を充填したら反対側も同様に充填する。最後に、両端に長繊維のガラスウールか石英ウールを緩く詰めて充填剤が管からこぼれないように押さえる。

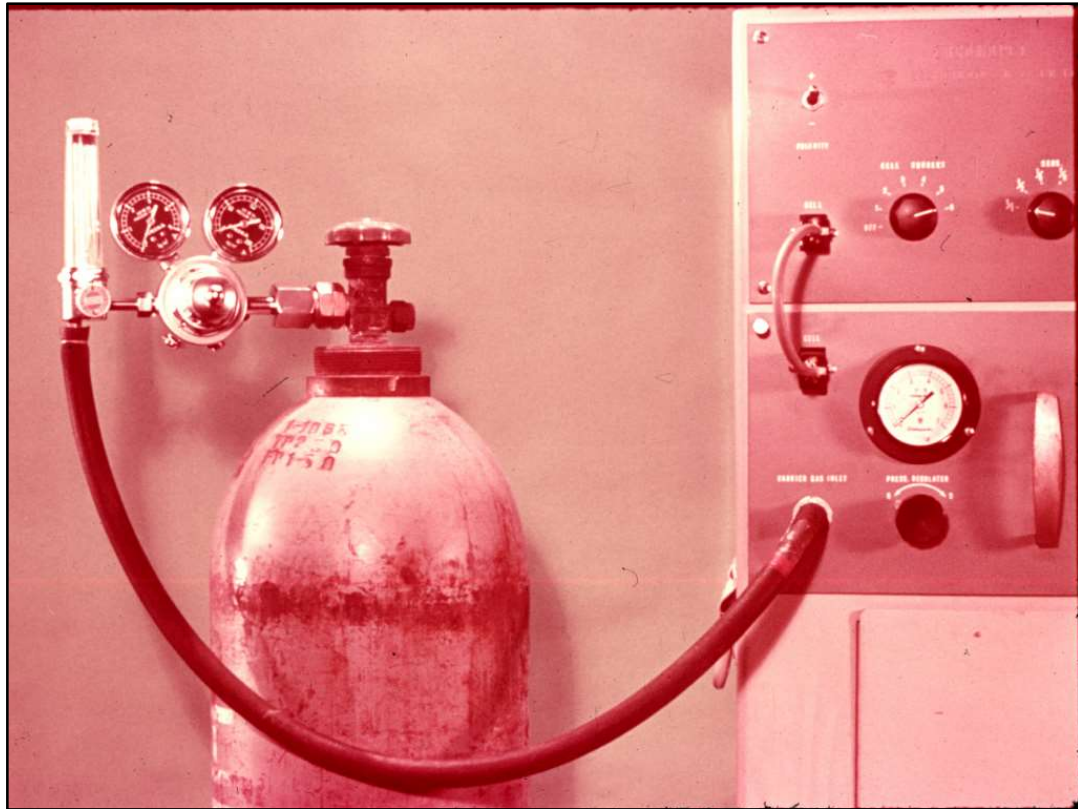
管の内容積を計算しておき、正しい容量の充填剤が入ったか確認する。充填密度は80%程度である。



カラムの取り付け
カラムを恒温槽に入る形に丸め、試料導入口
と検出器に接続する。この接続部に漏れがな
いようきちんと締め、漏れがない事を確認する。

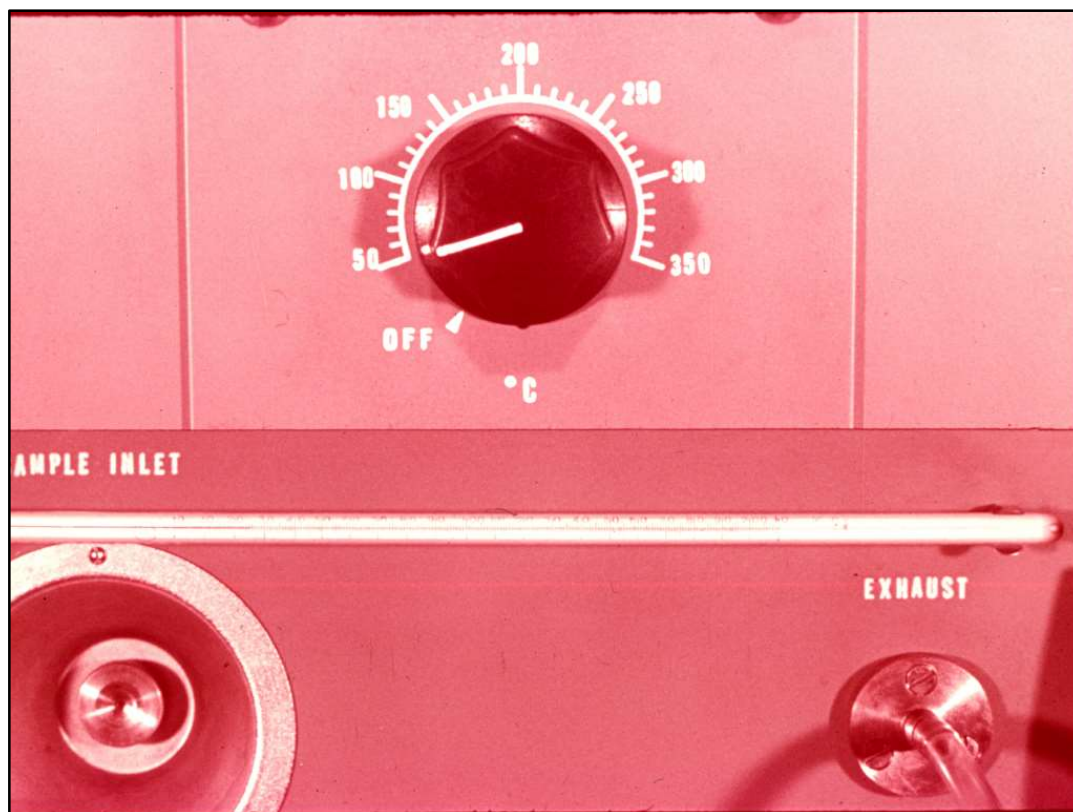
カラムの取り付け

カラムを恒温槽に入る形に丸め、一端を試料導入口に接続する。他端はキャリアガスを外気に導くドラフトなどの中に廃棄できるようにして、カラムにキャリアガスを流し徐々に恒温槽温度を固定相の耐熱温度付近まで高めてコンデショニングを一定時間行う。その後カラムの後端を検出器につなぐ。接続部に漏れがないようきちんと締める。石けん液等を接続部につけて漏れがない事を確認する。



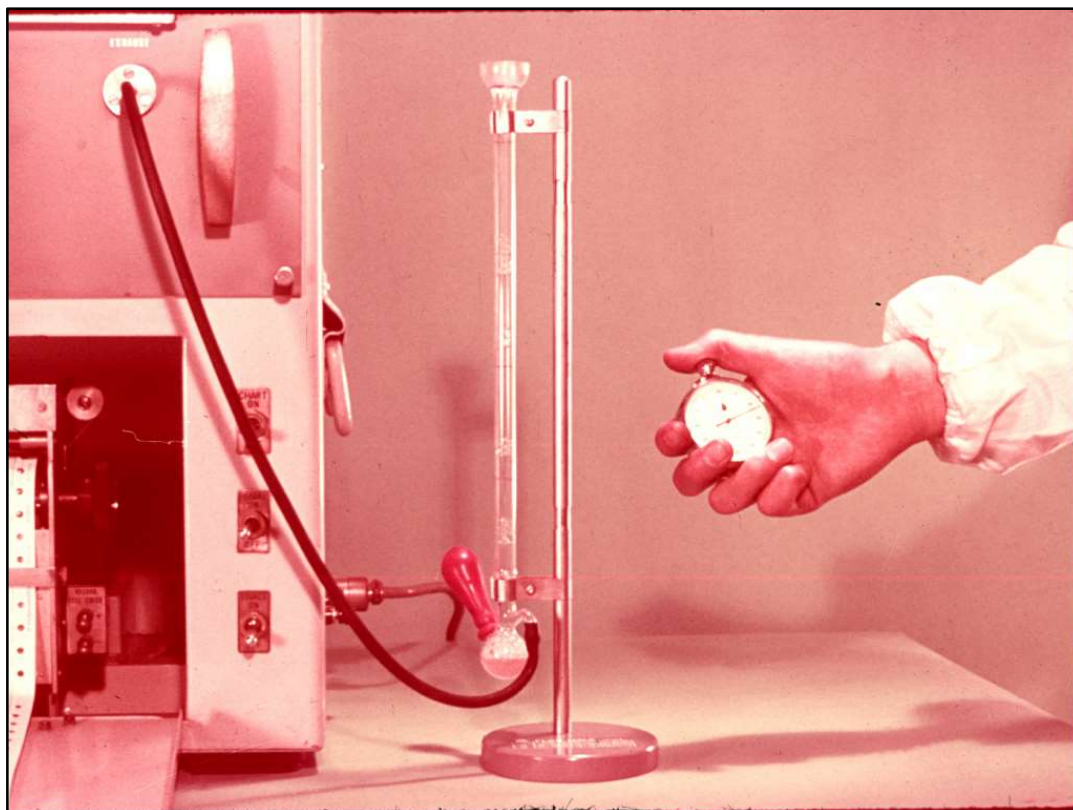
キャリアーガスの流量設定

高圧ガス容器に減圧弁を取り付け、ガスクロマトグラフに配管を接続してキャリアーガスを供給する。初期のころは耐圧ゴム管を使い接続していた。
キャリアーガスは圧力調整器でカラム入口圧力を一定にして供給する。



カラム温度の設定

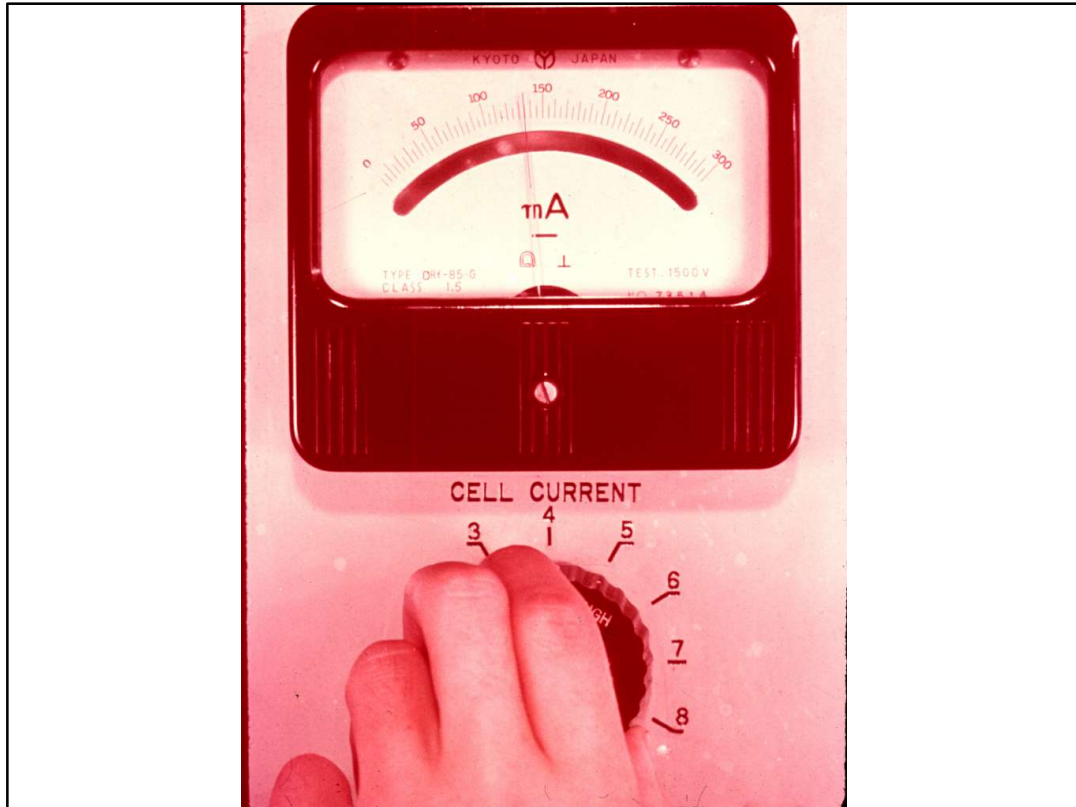
カラムにキャリアガスを流した状態でカラム温度を設定する。恒温槽内部温度はL字形ガラス温度計で測定する。温度が安定するまで30分程度かかった。



キャリアーガス流量の測定

恒温槽温度が安定したらせっけん膜流量計でキャリアーガス流量を測定し、カラム入口圧力を調節してキャリアーガス流量を設定する。

測定方法は、まず、せっけん膜流量計をカラム出口に接続する。せっけん膜が一定量の体積を移動する時間をストップウォッチで計測してキャリアーガス流量を算出する。

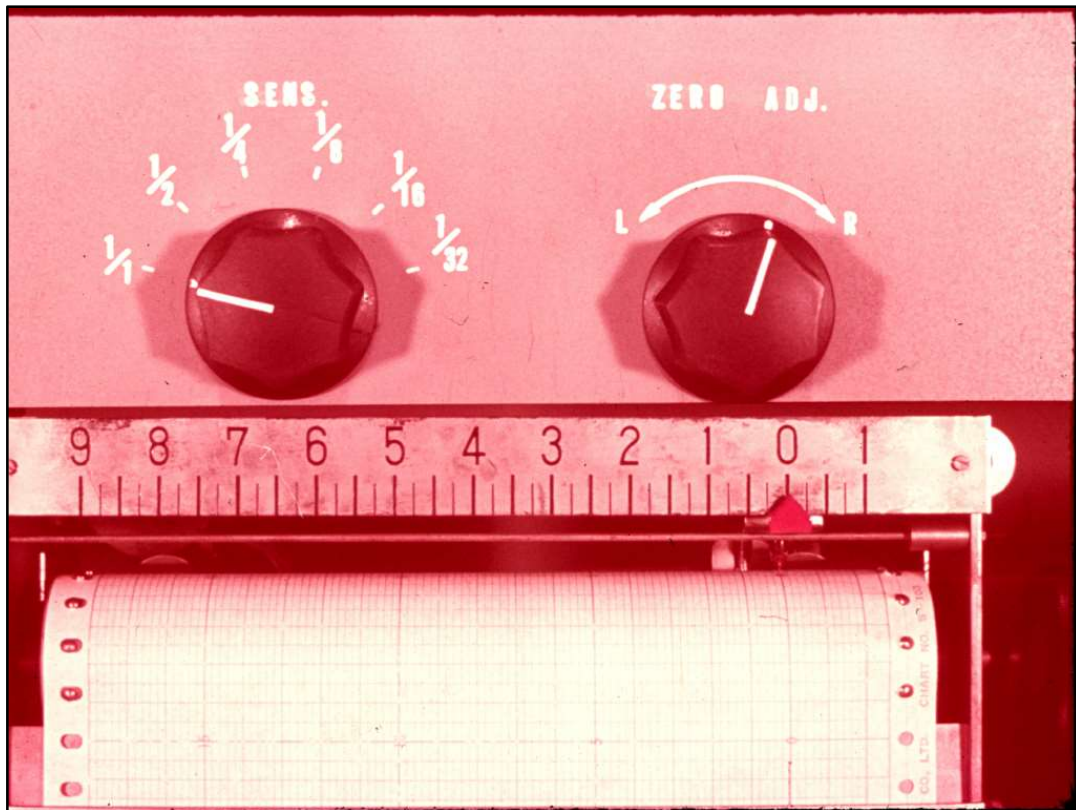


熱伝導度検出器のフィラメント電流値設定

キャリアガス流量が決まったらTCDのフィラメントに流す電流値を設定する。

フィラメント電流が大きいと感度が上がる。

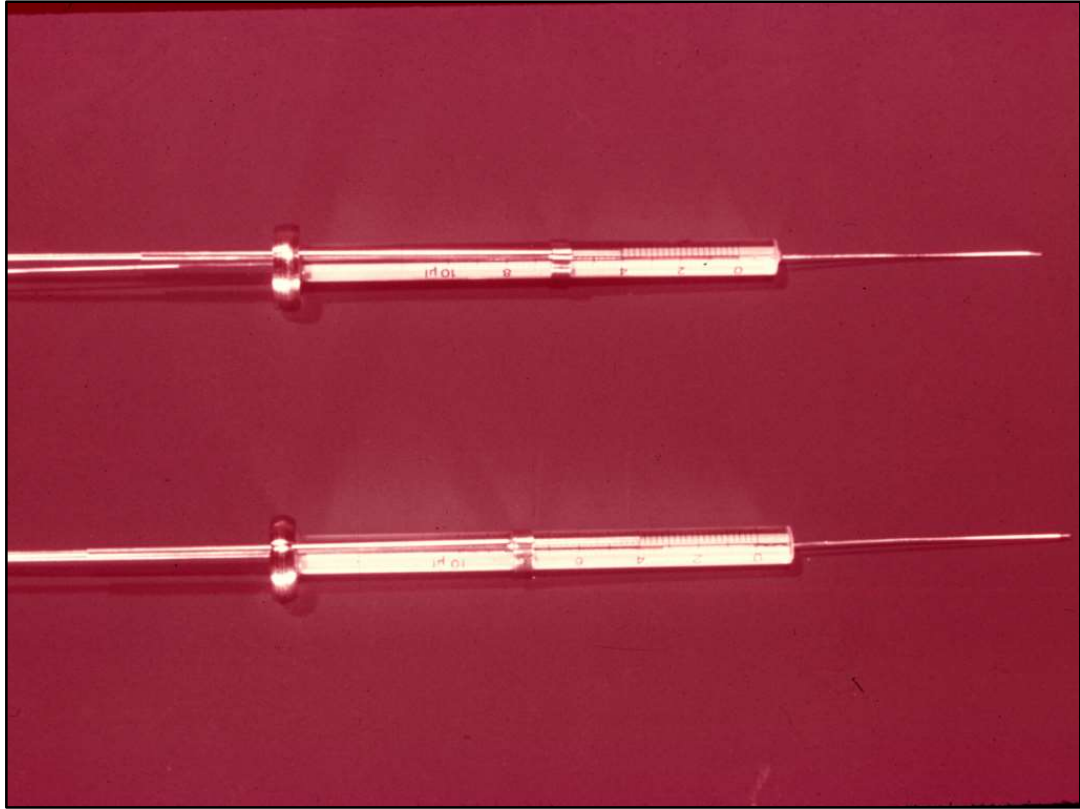
キャリアガス流量が少ない時や流れていない時に過大な電流を流すとフィラメントが切れるので注意が必要であった。



クロマトグラムの零点補正

検出器の出力が安定したら右側の零点調整つまみで記録計のペンが零点に来るようにベースラインを合わせる。記録計は負の方向に振れても良いように目盛りのプラス10%の所を零としている。マイナス側に10%、プラス側は90%まで振れ、全体で100%である。

感度は、左側のアッテネッターで調節するが、最初が一番感度が高い状態(1/1)にセットしておき、クロマトグラムの動きに合わせて段階的に感度を下げてクロマトグラムのピークが記録計のレンジ内に収まるよう調節した。



マイクロシリンジ

2種類のマイクロシリンジを紹介している。ガイド付きのもので、シリンジのプランジャーが曲がるのを防ぐためのガイドがついている。針先は通常の注射針の他横穴針も使われた。

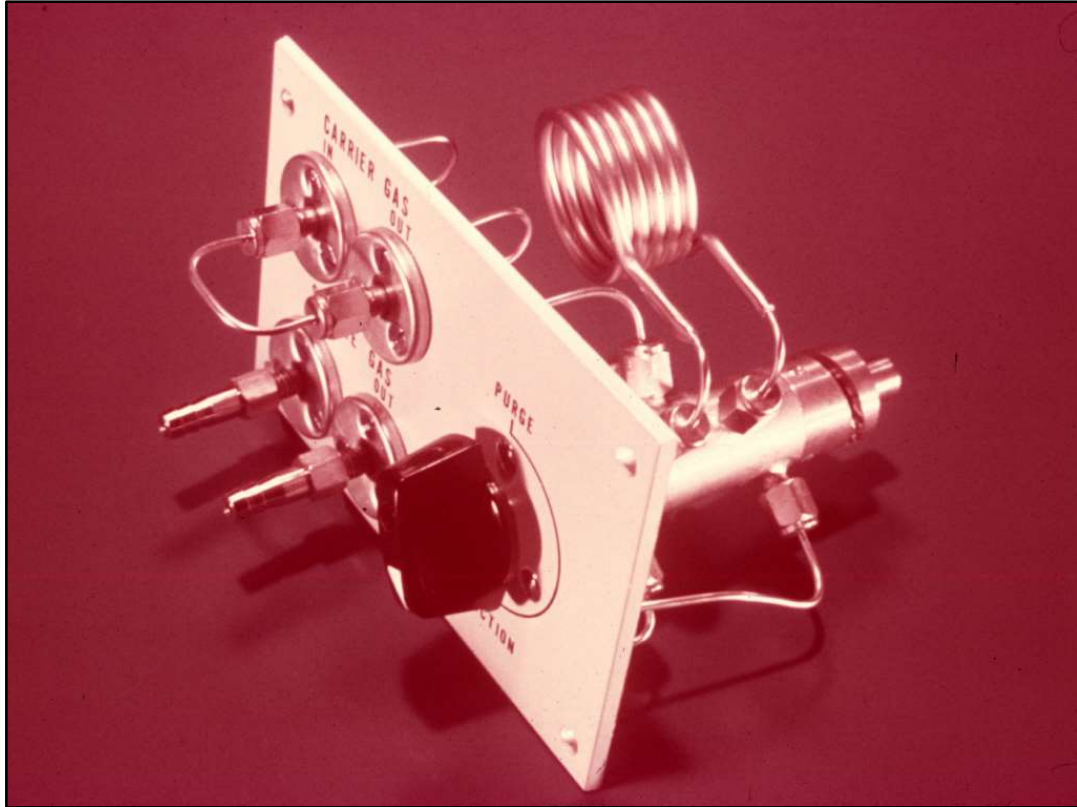
この例では、試料を採取後、プランジャーを引いてみると試料量が分かること(上)、実際に注入したあとでは試料が残っていること(下)を示している。



試料注入

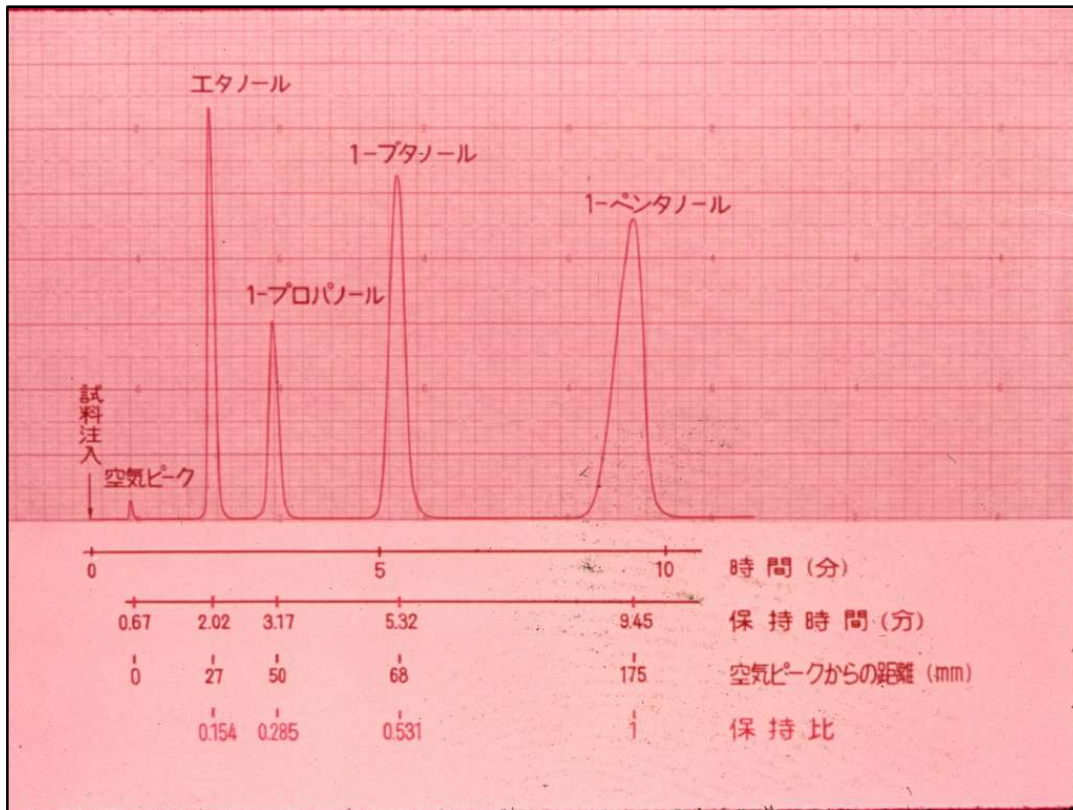
マイクロシリンジで計り取った一定量の試料を試料導入口のセプタムを介してカラムに注入・気化している所である。

試料導入口の温度はカラム温度と同じなので溶媒の沸点以下の時は試料導入口にヒーターを巻いて加熱する工夫が必要であった。



気体試料導入装置

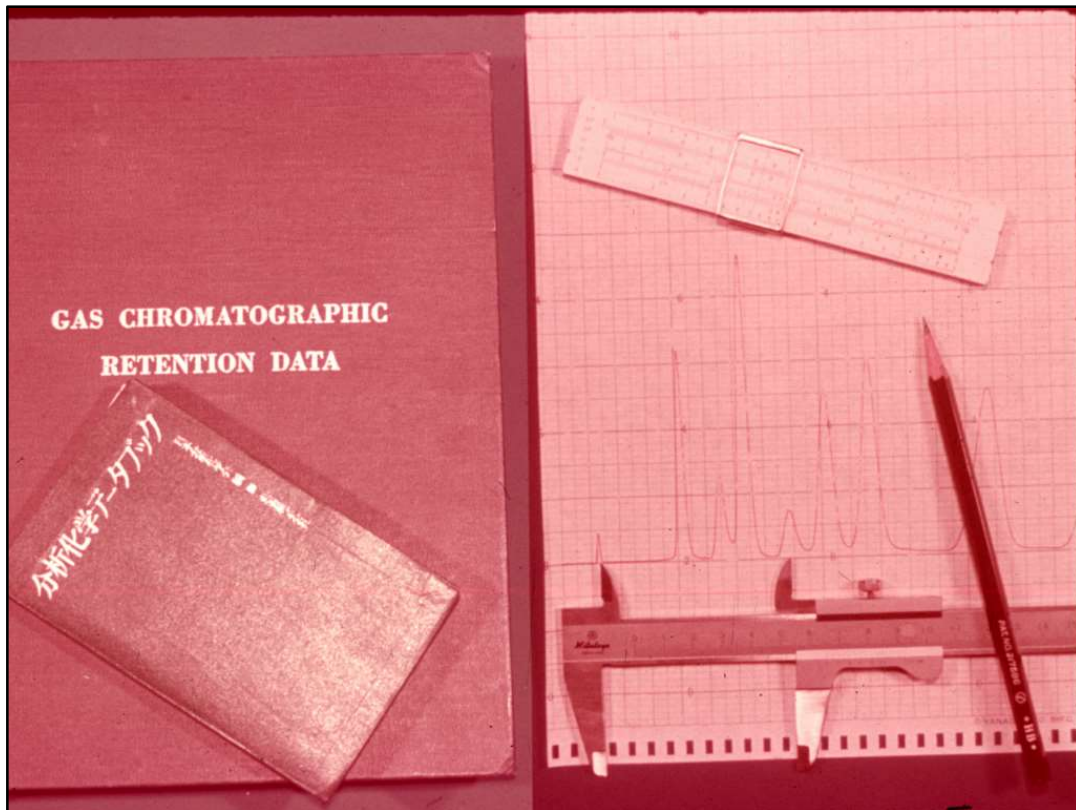
気体試料は6方弁に計量管(ループ)を取り付け、キャリアーガスをバイパス流路で流している間にループ中に試料を採取し、バルブの操作でキャリアーガスをループ中に流し、試料をカラムに注入する。キャリアーガスは、試料導入口の入口側に接続している配管を恒温槽外部に取り出して気体試料導入装置に接続し、計量した試料は試料導入口に戻してカラムに入るようにした。



クロマトグラムの記録

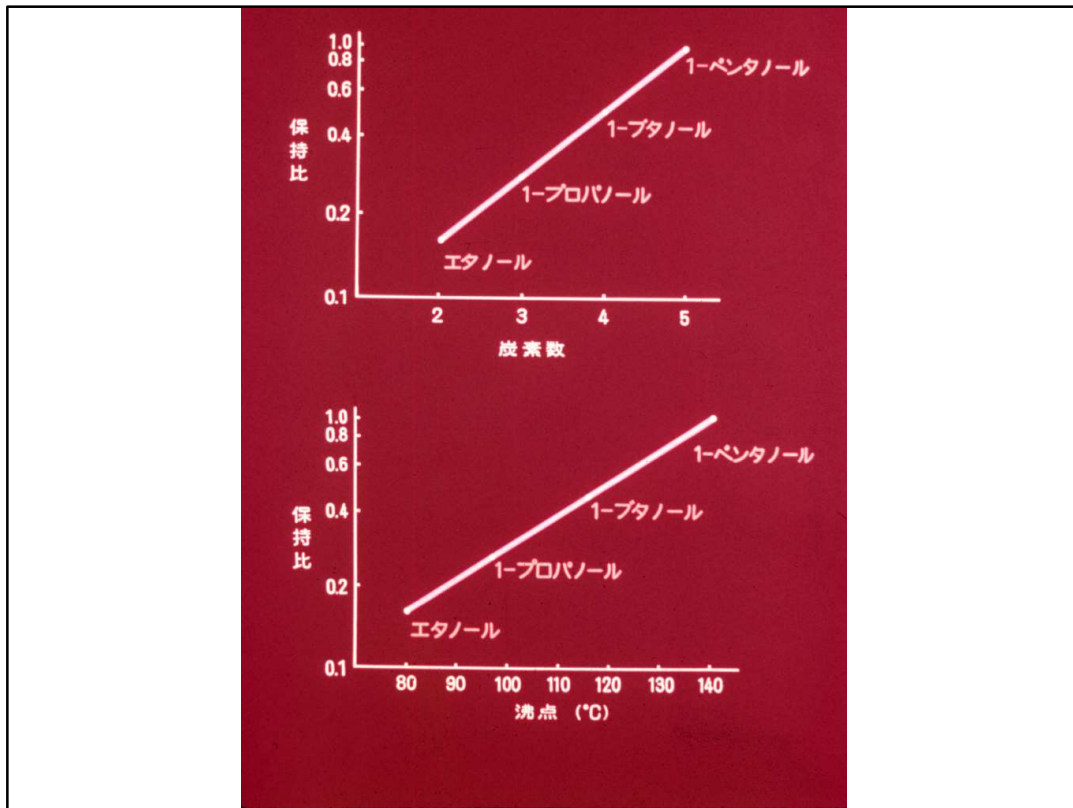
記録計の記録紙に記録したクロマトグラムに保持時間(空間補正している)を記録し、保持比を計算し、標準物質と比較して成分ピークの成分を確定した。この例では、最後に溶出する1-ペンタノールを基準にしている。

ガスクロマトグラムから得られる情報は保持時間とピーク面積で、保持時間情報を用いて定性を行った。



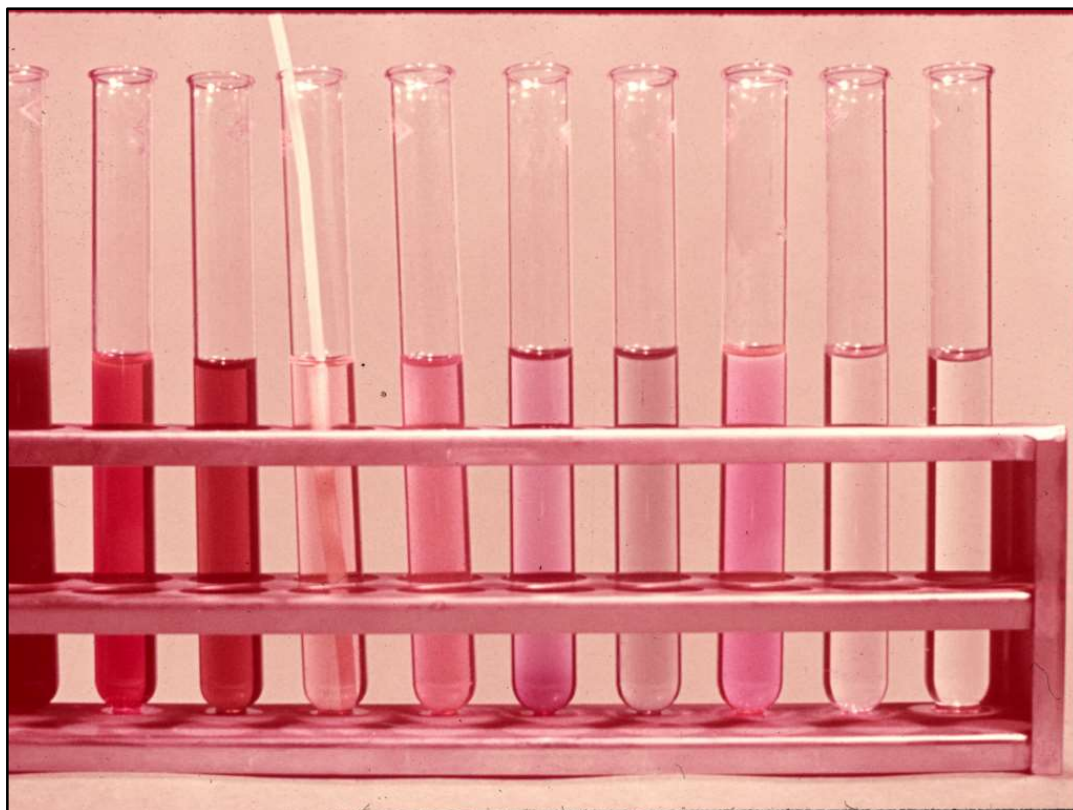
定性情報(保持比の利用)

各種固定相を使い分離して得た保持値に関する情報はデータ集として出版され定性や分離の最適化に利用された。固定相液体の種類と量、カラム温度、カラム長さやキャリアガス流量といった基本情報を基に、成分ピークの保持時間の情報が記載されているので、保持比の情報があれば、未知の物質についてもある程度の見当をつけることができた。



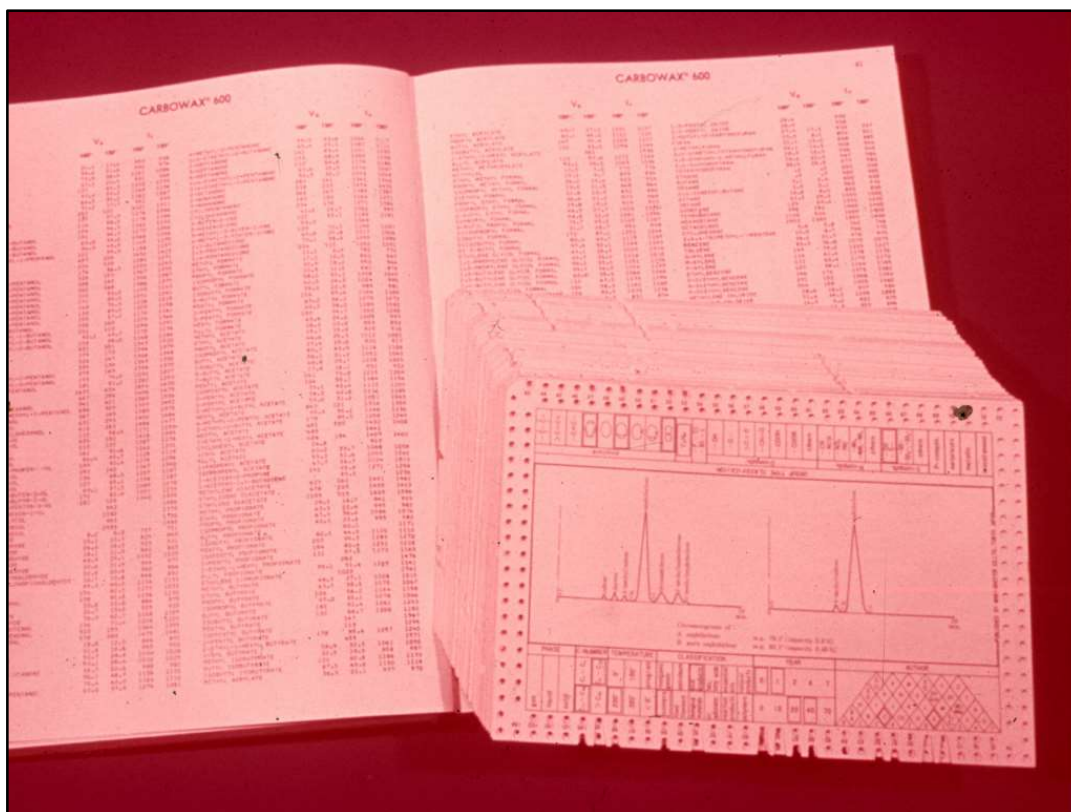
定性情報(炭素数や沸点の推定、保持指標の利用)

同族の化合物では炭素数と保持比の対数、あるいは沸点と保持比の対数の関係が直線になる事が知られており、定性情報を得る手段としても活用された。



定性情報(呈色反応の利用)

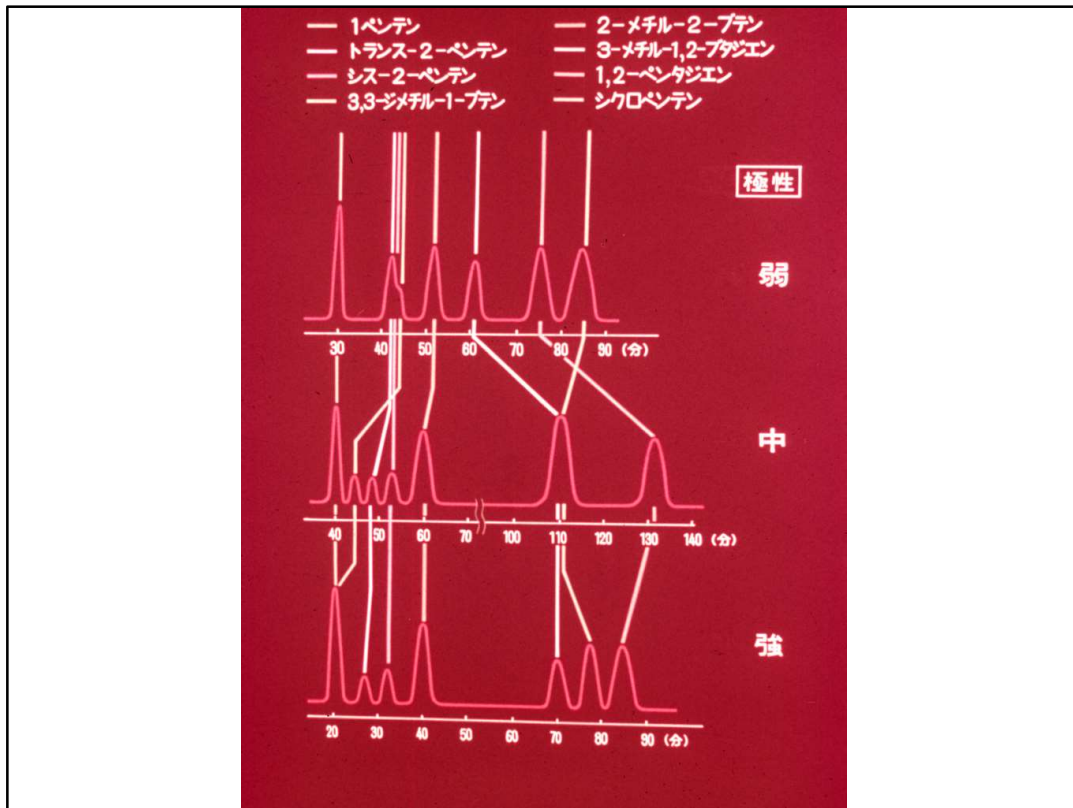
カラムから溶出してきた成分を含むキャリアーガスを呈色試薬溶液を入れた試験管に吹き込み、一定時間ごとに溶液に吸収させて定性・定量する方法も試みられた。現在の分取クロマトグラフィーに相当する方法である。例えば、芳香族の吸収液はホルムアルデヒド+硫酸で赤葡萄酒色の呈色を示した。エステル吸収液はヒドロキシルアミン+塩化第二鉄で赤色の呈色である。



クロマトグラムの情報集

日本分析化学会ではガスクロマトグラフィーデータカード委員会を作り、その編集のもとでパンチカード式のデータカードを発行した。文献から収録したものが多く、新たな分離が得られると論文に掲載された時代であることが分かる。

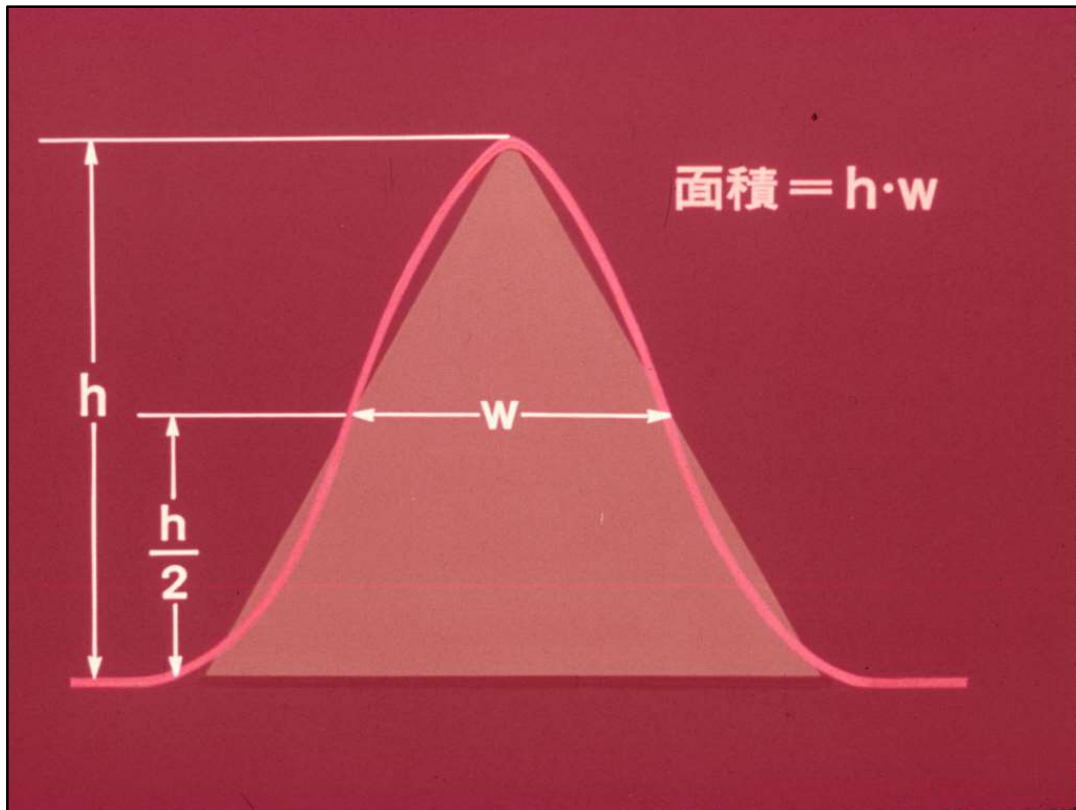
単行本としてW.O.McReynoldsが1966年にPerston Technical Abstracts Co.よりGas Chromatographic Retention Dataを刊行した。340種の化合物を79の固定相液体を用いて2段階の温度で実際に測定し、保持時間と保持指標を示している。データの配列は化合物のグループ別と保持値順の二通りの表示がしてあり、データを対比するのに便利である(松隈昭、ガスクロマトグラフィーの実際(第2版)、東京化学同人より)。



固定相液体の極性と分離の変化

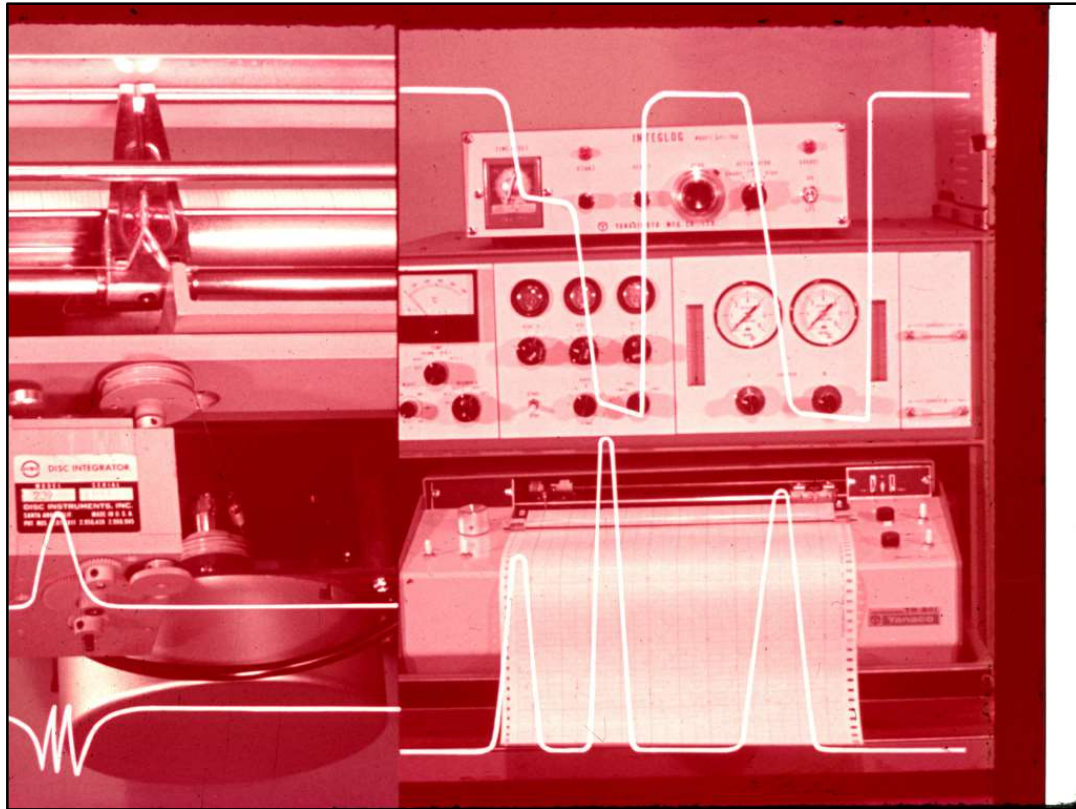
固定相液体の極性により各種試料成分の保持が変わり,モノオレフィンとジオレフィンの異性体の分離が変化する様子を紹介している。

固定相液体は、(弱)フタル酸ジイソデシル(10%)、(中)ジメチルスルホラン(20%)、(強) β,β' -オキシジプロピオニトリル(40%)である。



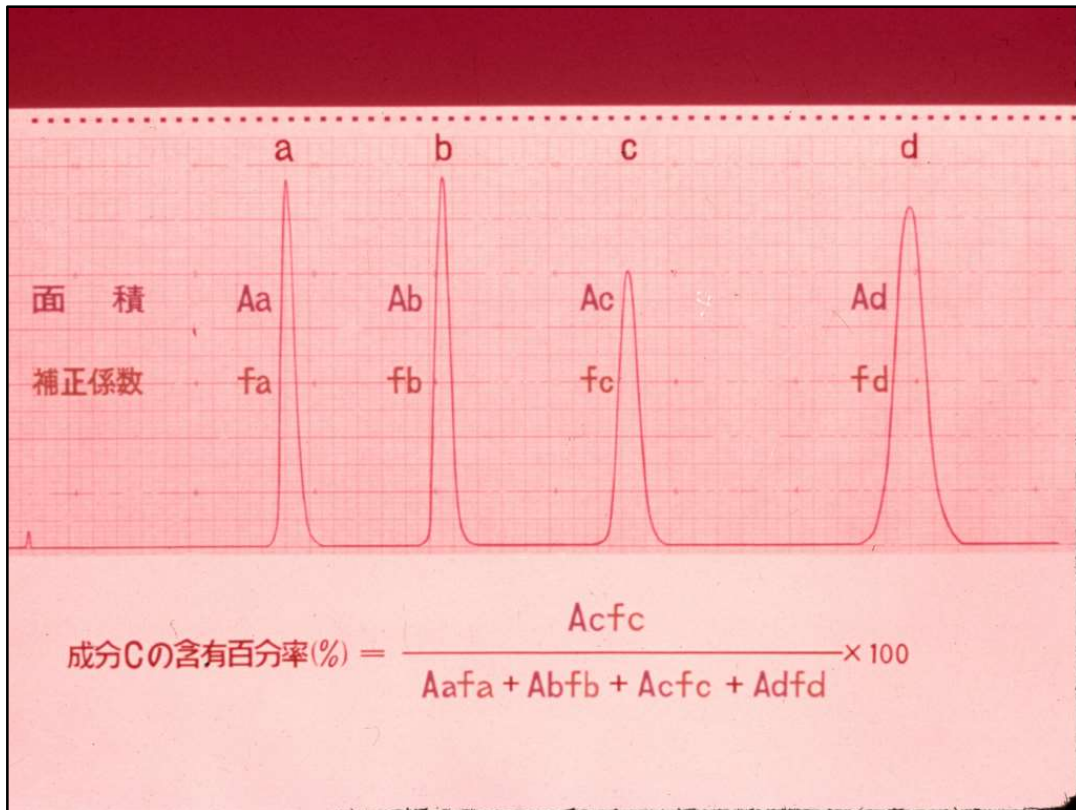
ピーク面積の算出

得られたクロマトグラムのピーク高さ(h)とピーク高さの半分の位置でのピーク幅(半値幅(w))からピーク面積を計算する。



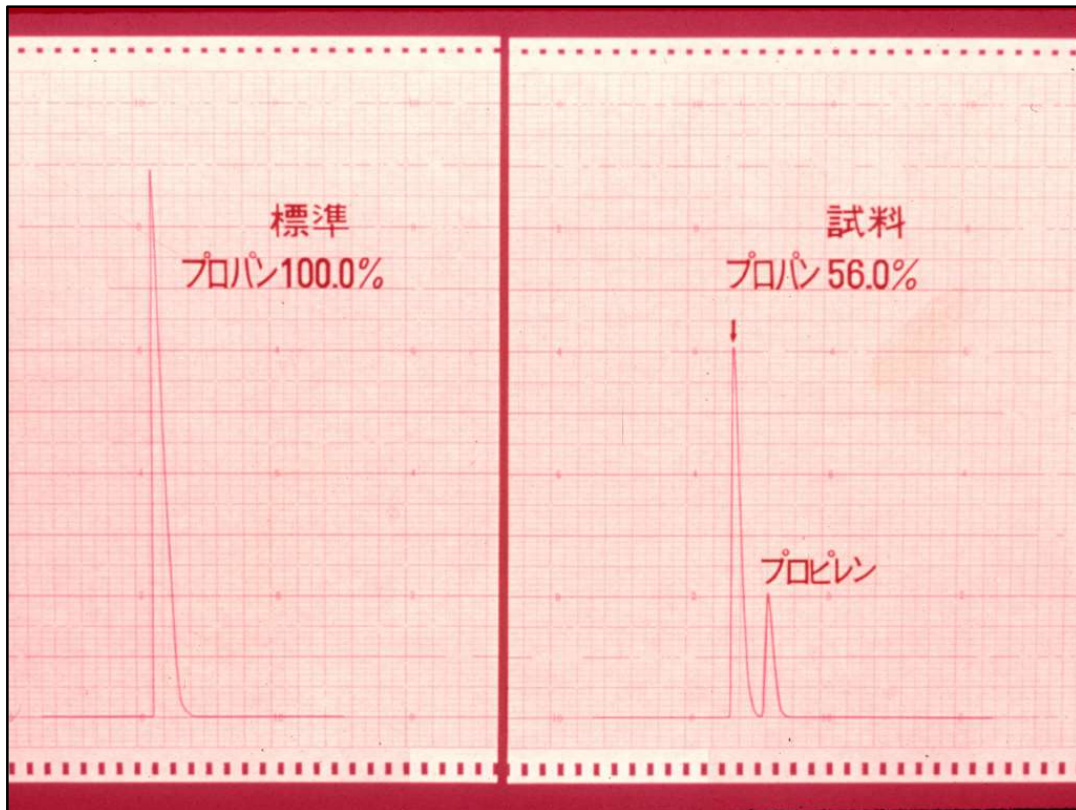
ピーク面積の積算器

クロマトグラムからピーク面積を求める方法の他に、自動で求める機器が開発された。左図は機械的なカムを用いてピーク面積をカムの回転数であらわしたものである。右図は電子的にピーク面積を積算して記録計に信号を階段状に記録する方式のものである。



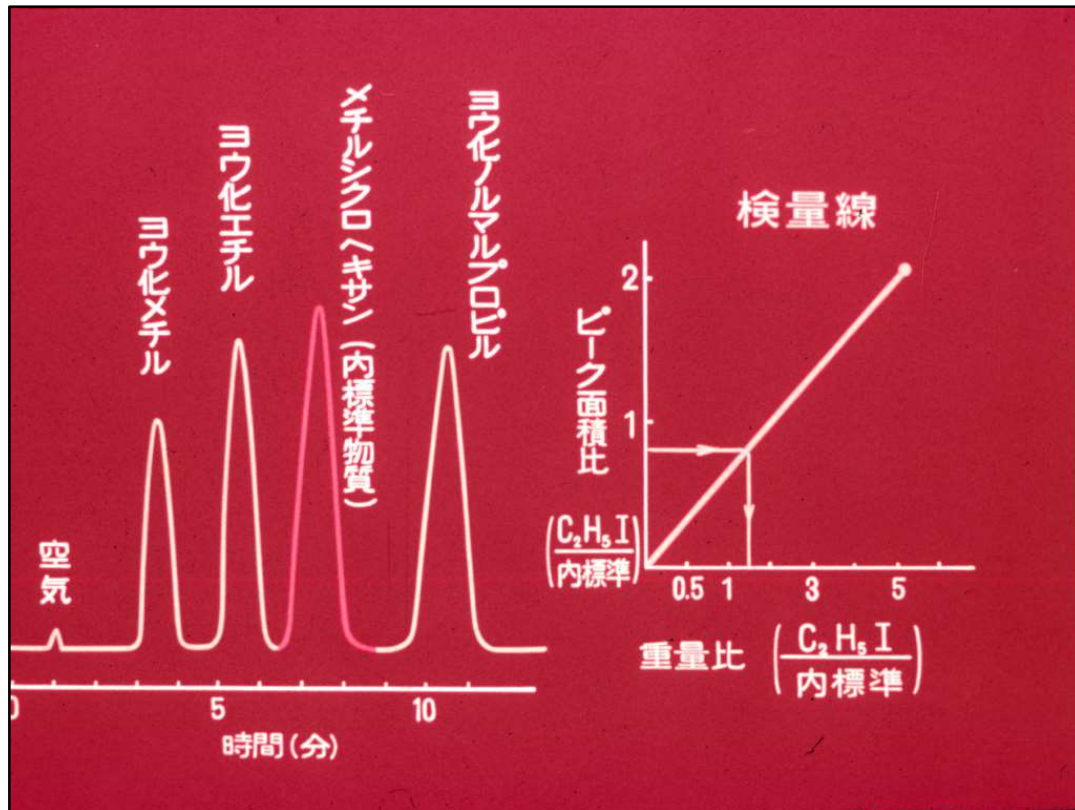
面積補正百分率法

標準物質であらかじめ各成分に対する検出器の補正係数(相対感度の逆数)を求めておき、得られた面積に補正係数を乗じて成分含有百分率を求める方法を
紹介している。スライド28ではプロパンとプロピレン混合物中のプロパンの含有
量を求めている。



気体試料導入装置の利用例

一定体積の試料をカラムに導く気体試料導入装置を使い、プロパン標準物質を用いてプロパンとプロピレン混合物中のプロパンの含有量を求めている。



内標準法による含有量の算出

分析種濃度の異なる試料に一定量の内標準物質を加え(ここではメチルシクロヘキサン)た試料についてガスクロマトグラムを得て、分析種と内標準物質の質量比(図では重量比としていた)とピーク面積比の関係線(検量線)を得て定量に用いる。図ではヨウ化エチルの検量線を示しており、この検量線を用いてクロマトグラム上のピーク面積比から未知試料中のヨウ化エチルの含有量を求めている。