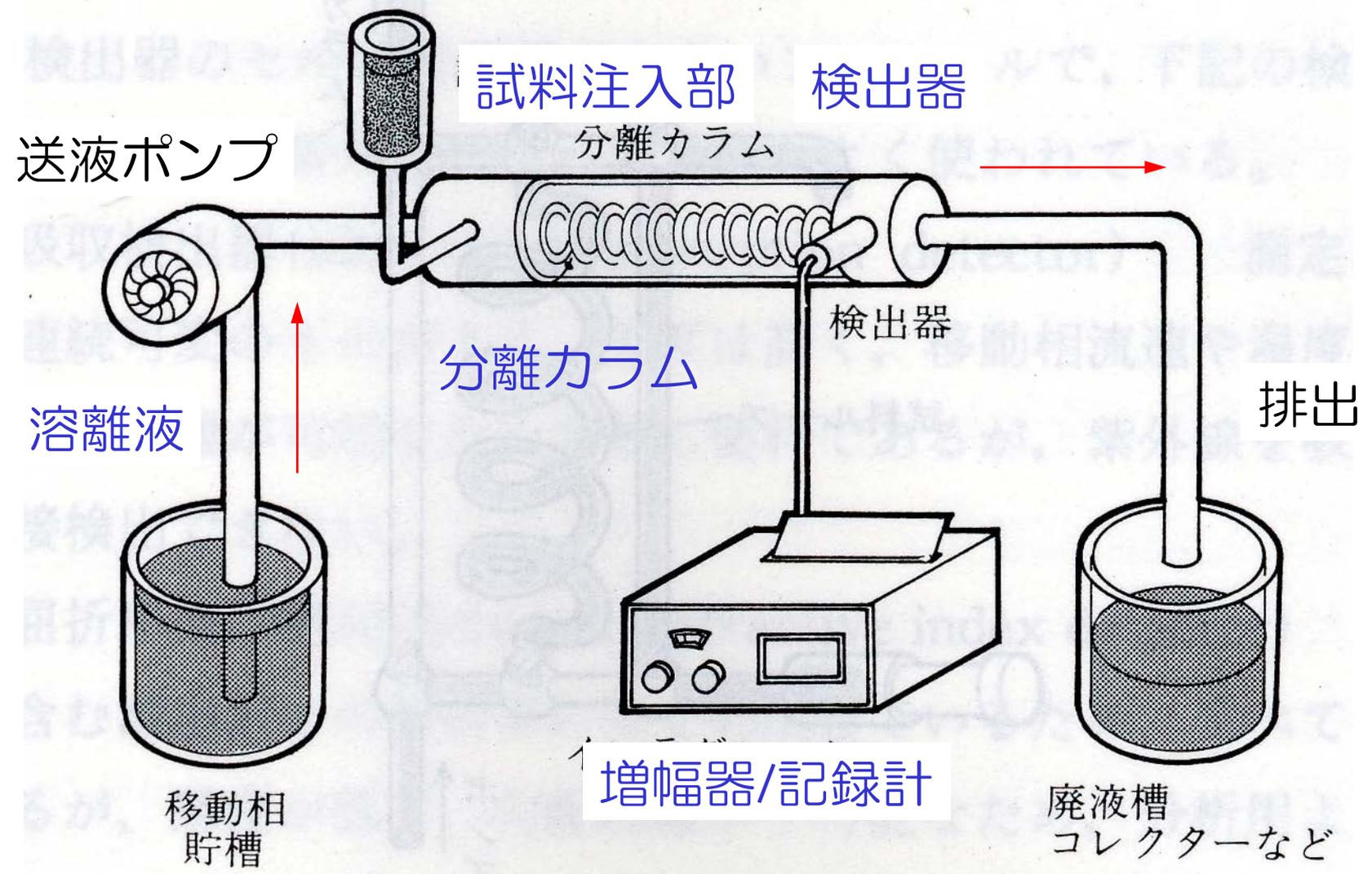


液体クロマトグラフの構成

送液ポンプ	高圧ポンプにより溶離液を送る。 脈流を小さくするため、2台用いることが多い。
試料注入部	マイクロシリンジ（注射器 μ l）で試料を注入する。
分離カラム	試料中の多成分を分離する。
検出器	分離された各成分の量を検出する。
記録計	分離時間（横軸）に対して、各成分の量（縦軸）を表示する。
制御部	ポンプ流量、切替弁などの制御を行う。

液体クロマトグラフィー



液体クロマトグラフィー

分離カラム（内部）

送液ポンプ
（ツイン）

試料注入部

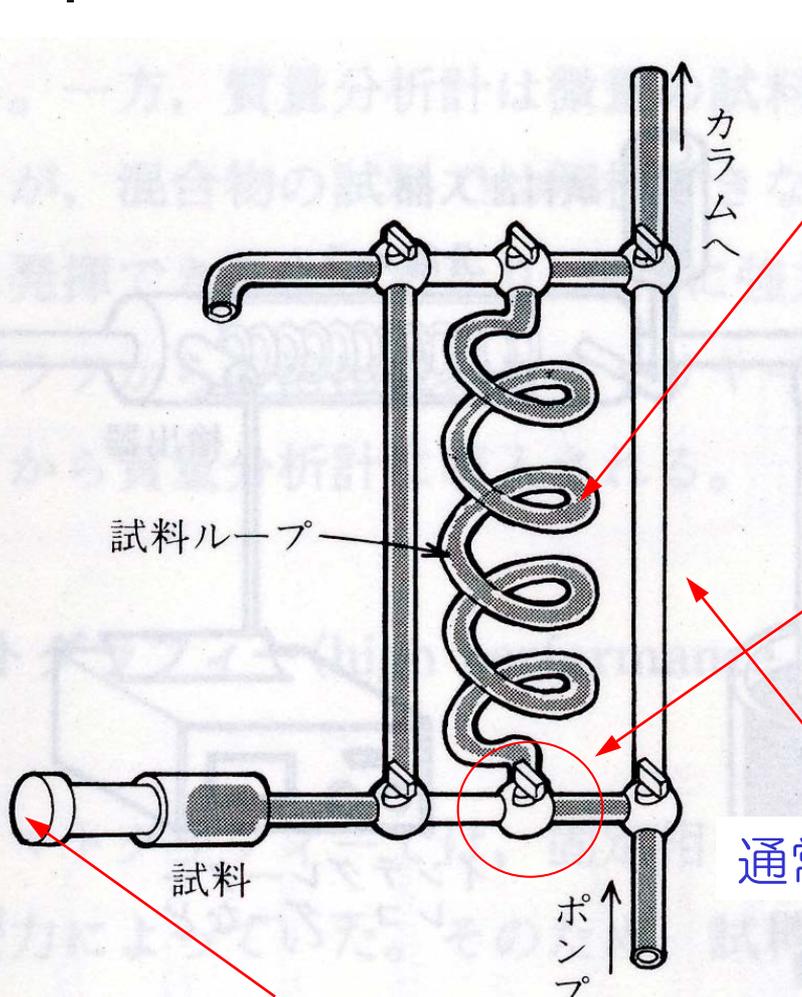
検出器

制御部

増幅器/表示器



試料注入部

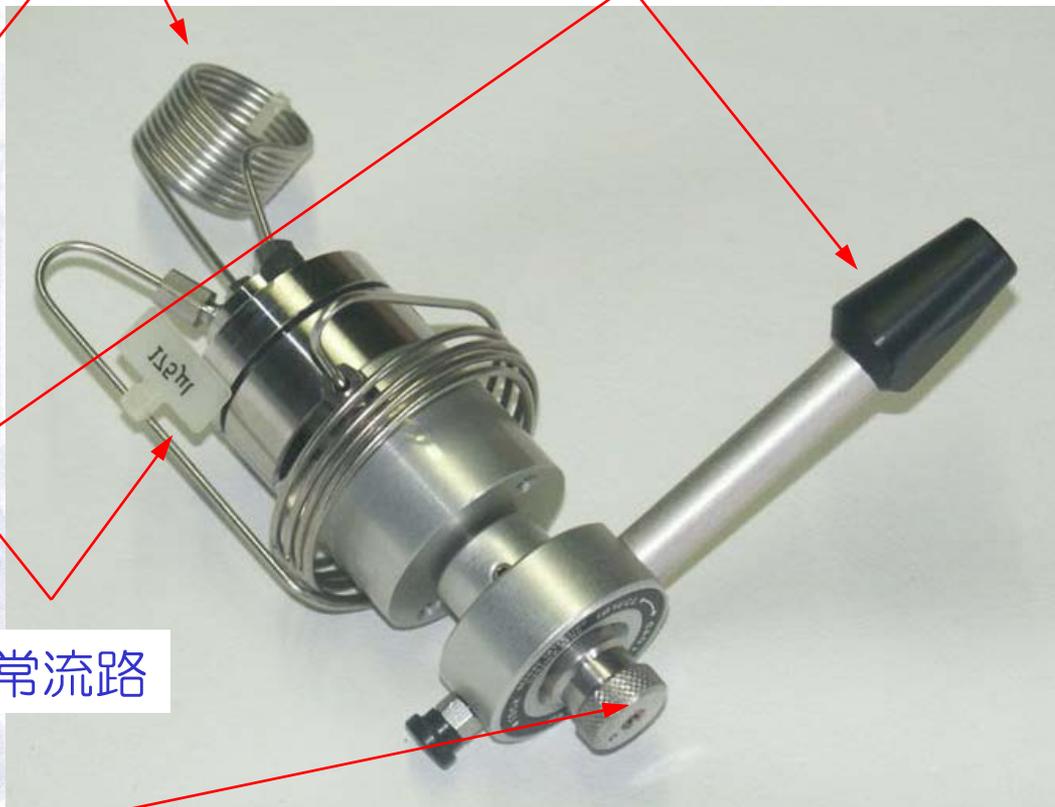


試料貯め

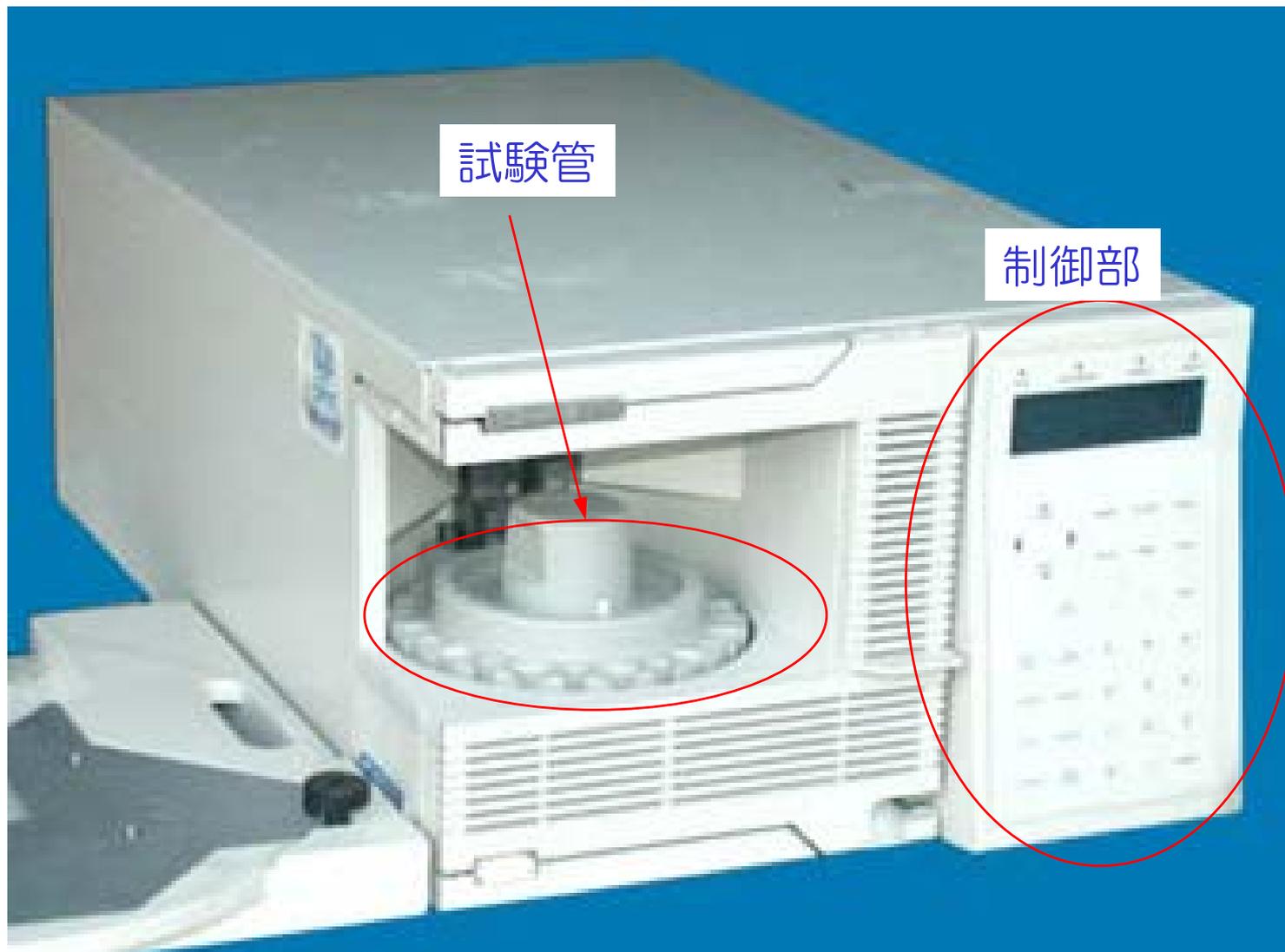
切替弁

通常流路

試料注入口



自動サンプル採取器

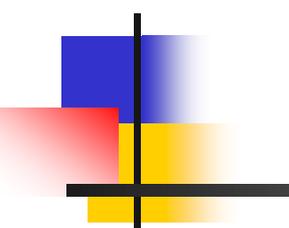


分離カラム（切替式）

切替弁

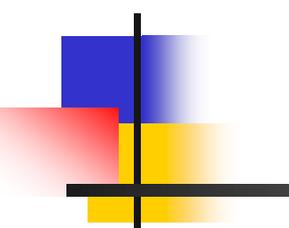


分離カラム群



分離カラム

カラム管	分析用： $\Phi 2-4\text{mm}$, $L 5-50\text{cm}$ のステンレスクロマト管
	分取用：種々のサイズのカラム
固定相 充填剤	表面多孔性粒子：空隙のない球状物の表面に多孔性の薄膜で覆ったもの。 平衡到達速度は速いが、試料負荷量が小さい。
	全体多孔性粒子：粒子全体（内部全て）が多孔性の球状・破砕状粒子 試料負荷量大きい。 $\Phi 3-10\mu\text{m}$ のシリカゲルやポーラスポリマーが用いられる。
固定相 種類	分配、吸着、イオン交換、ゲルが代表的。



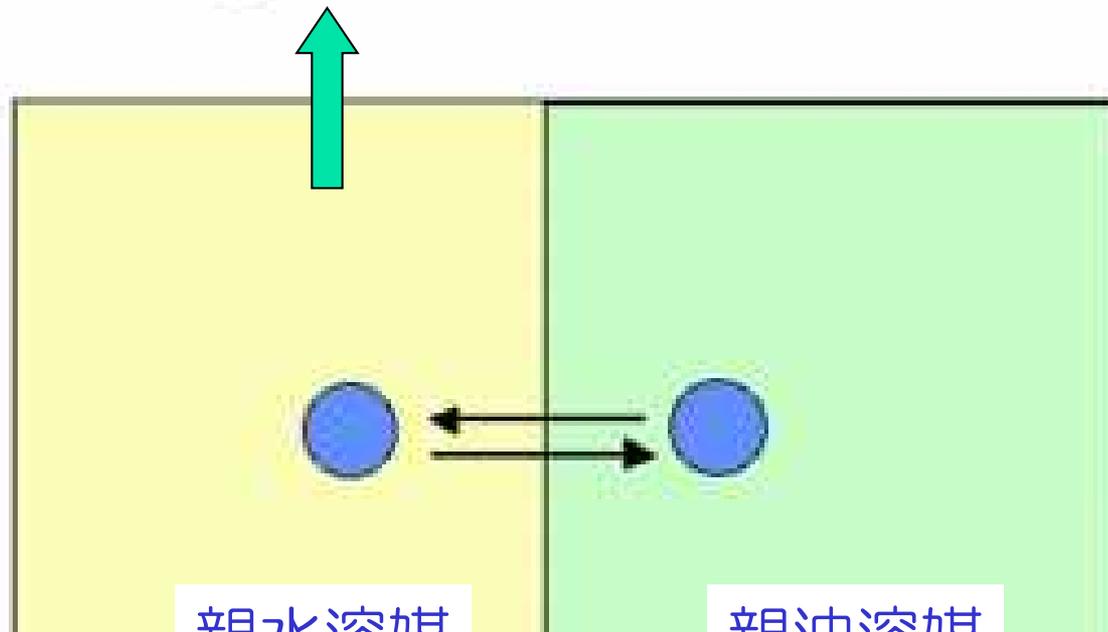
検出器

紫外吸収 検出器	試料成分の紫外吸収を利用する。 検出限界： 10^{-10} g/L	感度が高い。移動相の流速・温度の影響が少ない。
示差屈折率 検出器	試料成分を含む移動相の屈折率の変化を測定する。 10^{-7} g/L	全ての試料成分に対応できるが、感度が低い。勾配溶離はできない。
蛍光 検出器	蛍光を発生する成分を測定する。 蛍光性でない成分は、蛍光試薬と反応させて測定する。 10^{-11} g/L	高感度で選択性に優れる。
電気化学 検出器	酸化又は還元により流れる電流を測定する。 10^{-11} g/L	フェノールやアミン類など電化学的活性物質に適す。
電気伝導度 検出器	イオン性成分を含む移動相の伝導度の変化を測定する。 10^{-8} g/L	移動相の流速・種類・温度の影響が大きい。

勾配溶離：送液ポンプの流量を変化させて分離する方法。移動速度の速い成分が流出した後、流速を上げて移動速度の遅い成分を流出させる。

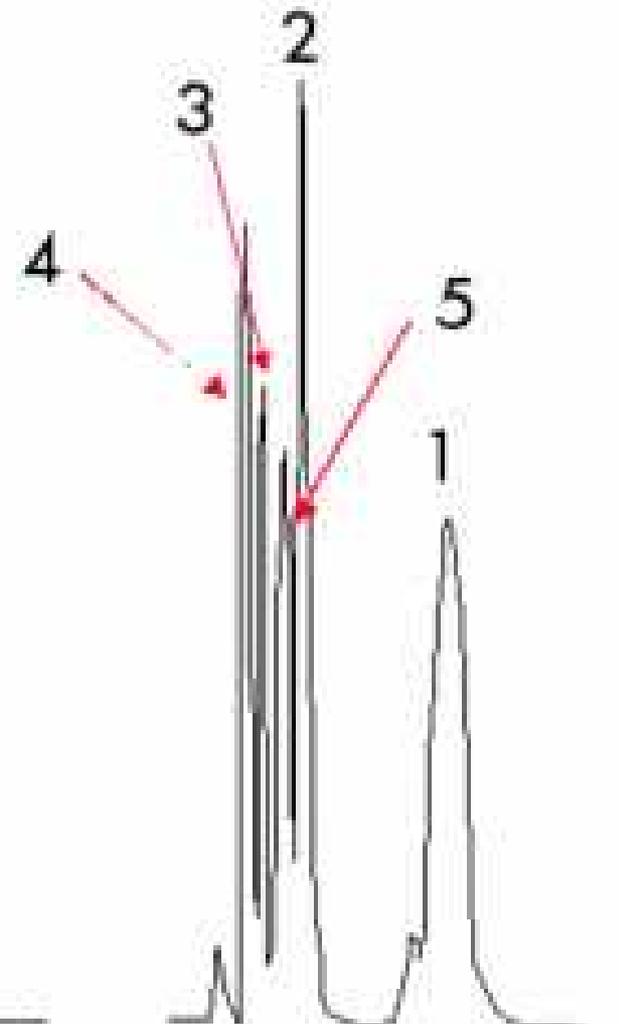
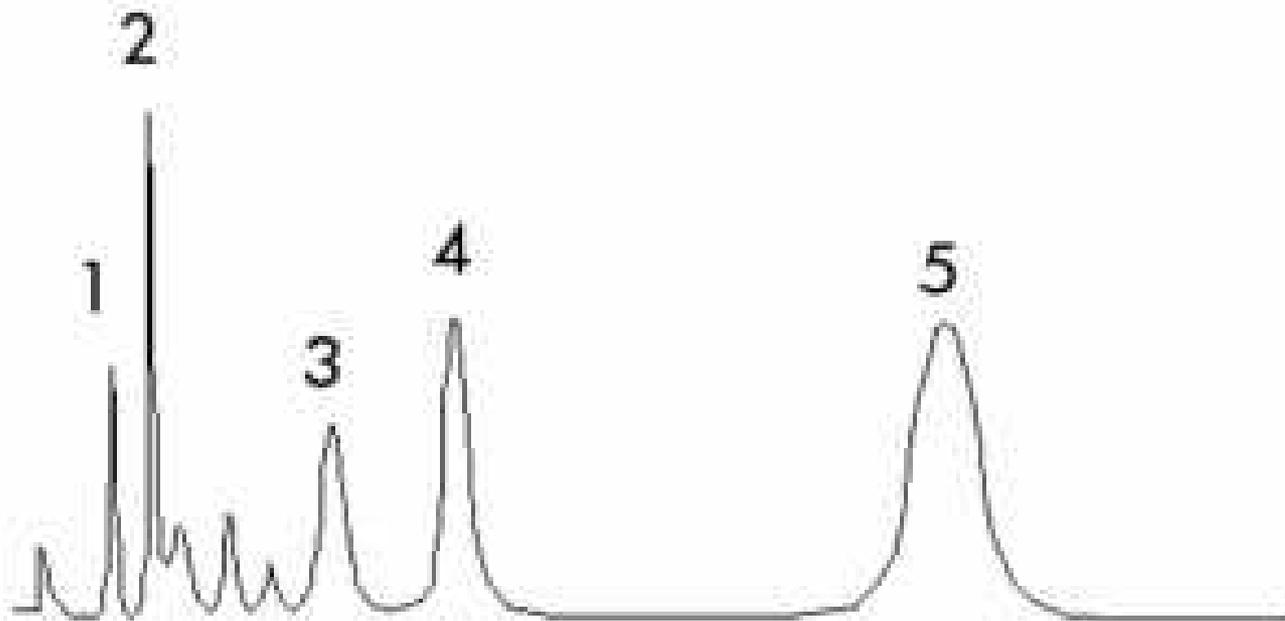
Partition chromatography

Separation is based on solute partitioning between two liquid phases.
(relative solubility)



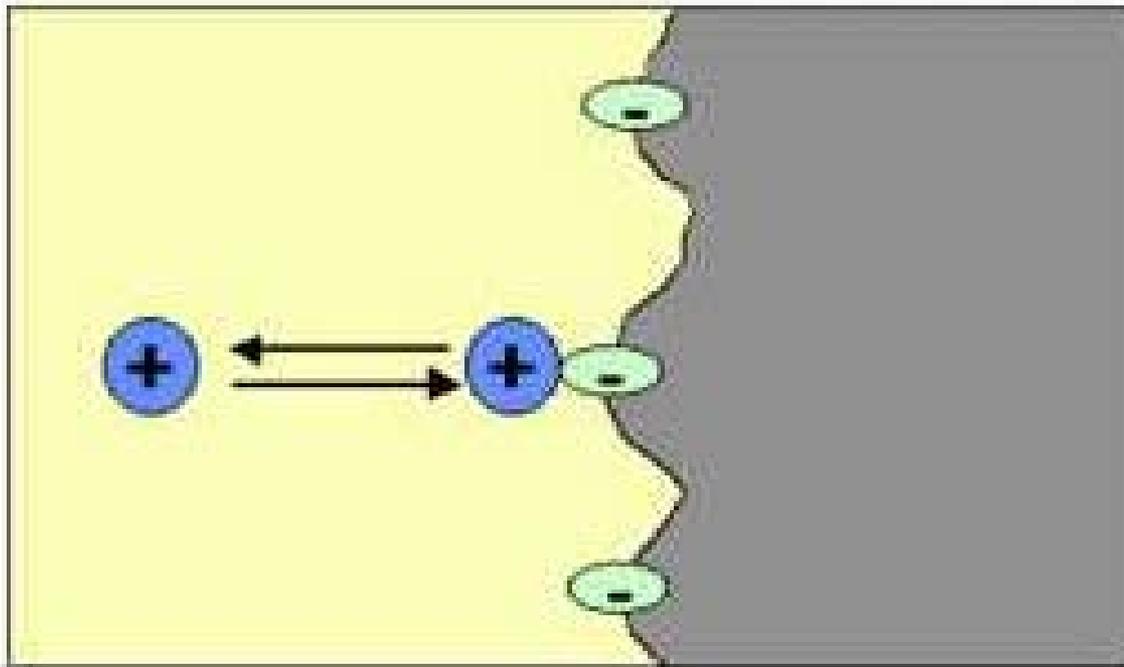
Partition chromatography

The elution order will be somewhat reversed but not exactly - other factors must also be considered.

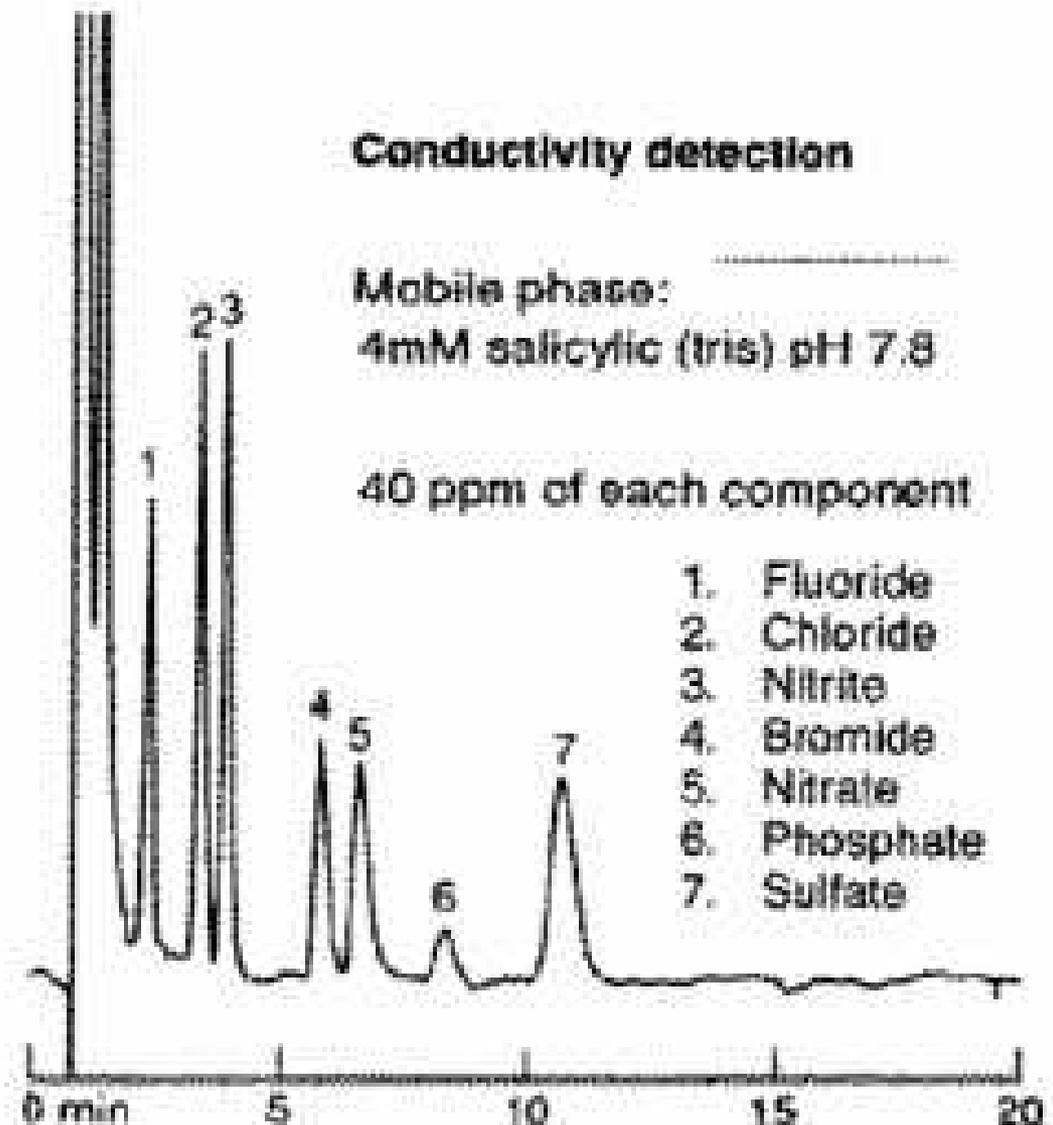
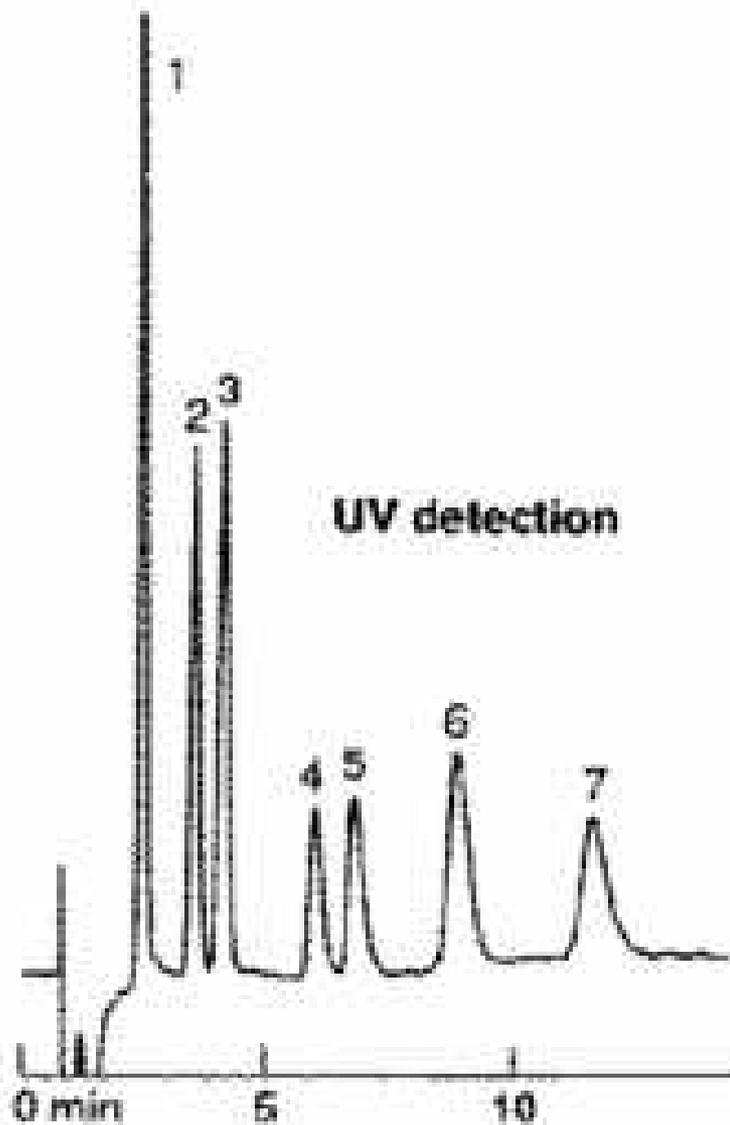


Ion exchange chromatography

The stationary phase has an ionically charged surface, opposite that of the eluents.



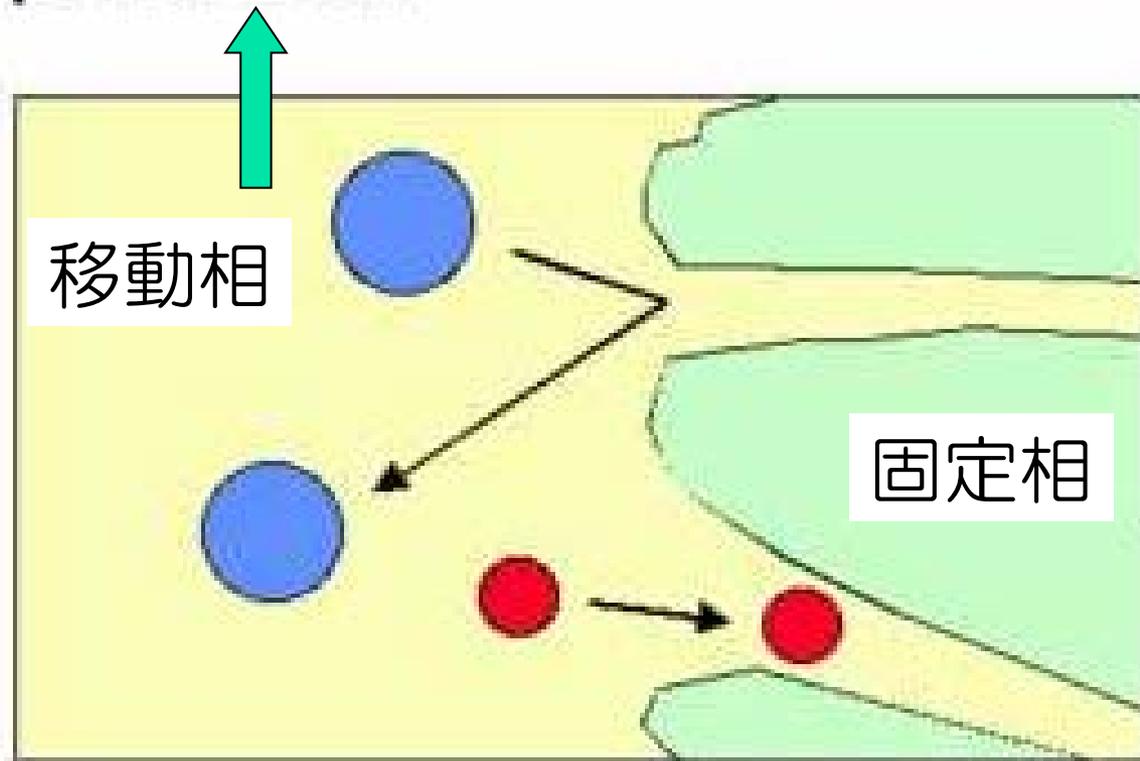
Ion exchange chromatography



Size exclusion chromatography

分子サイズ排除クロマトグラフィ

Separation is based on molecular size. Stationary phase is a material of controlled pore size. Also called gel permeation.



Size exclusion chromatography

切替弁

分子サイズの大きいものは、早く移動する。

濃度

分子量

50,000

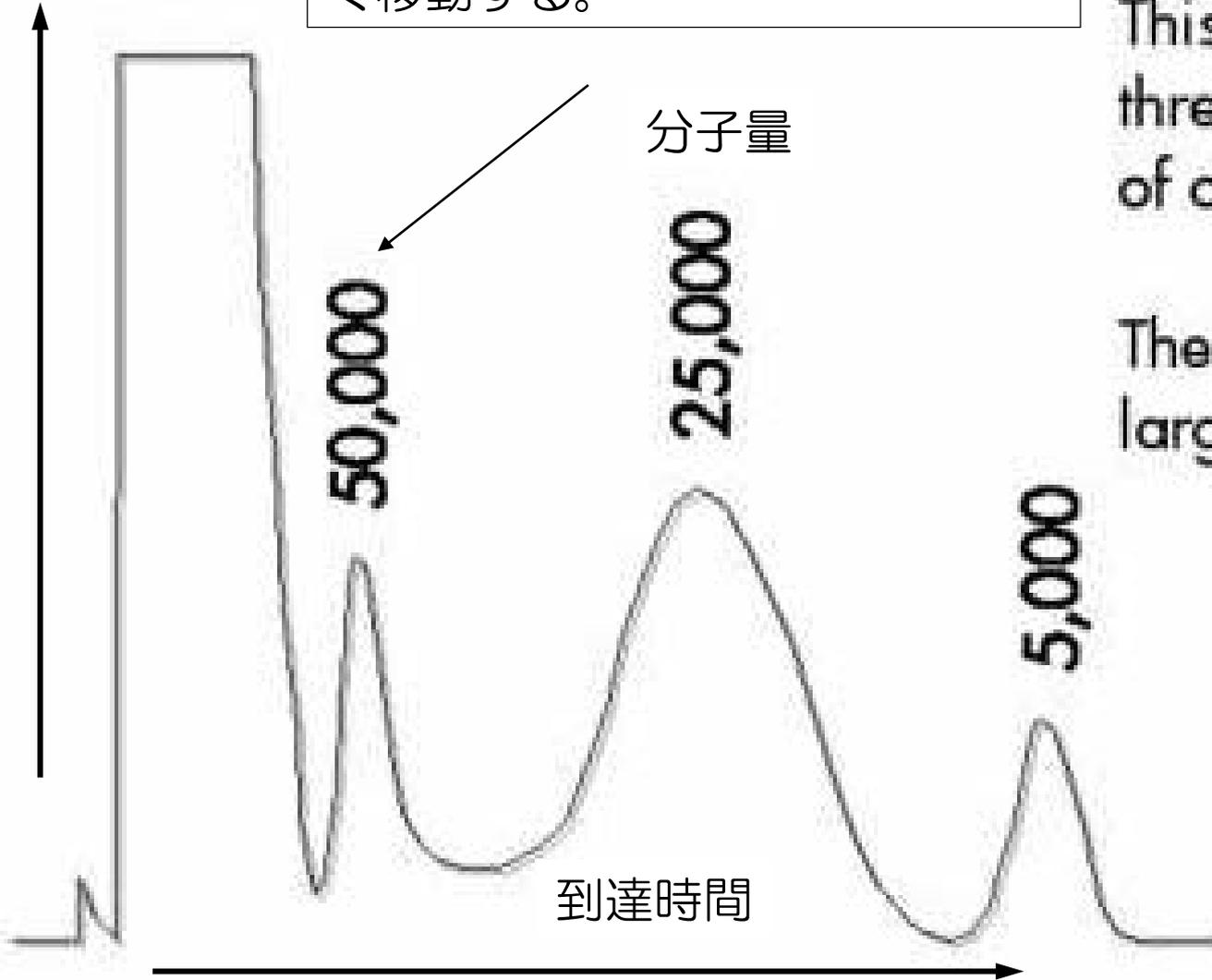
25,000

5,000

到達時間

This example shows three general classes of components.

The second has a much larger size distribution.



Size exclusion chromatography

Polystyrene Standards

25cm x 6.2mm, 5 μ m particles

25cm x 6.2mm, 5 μ m particles

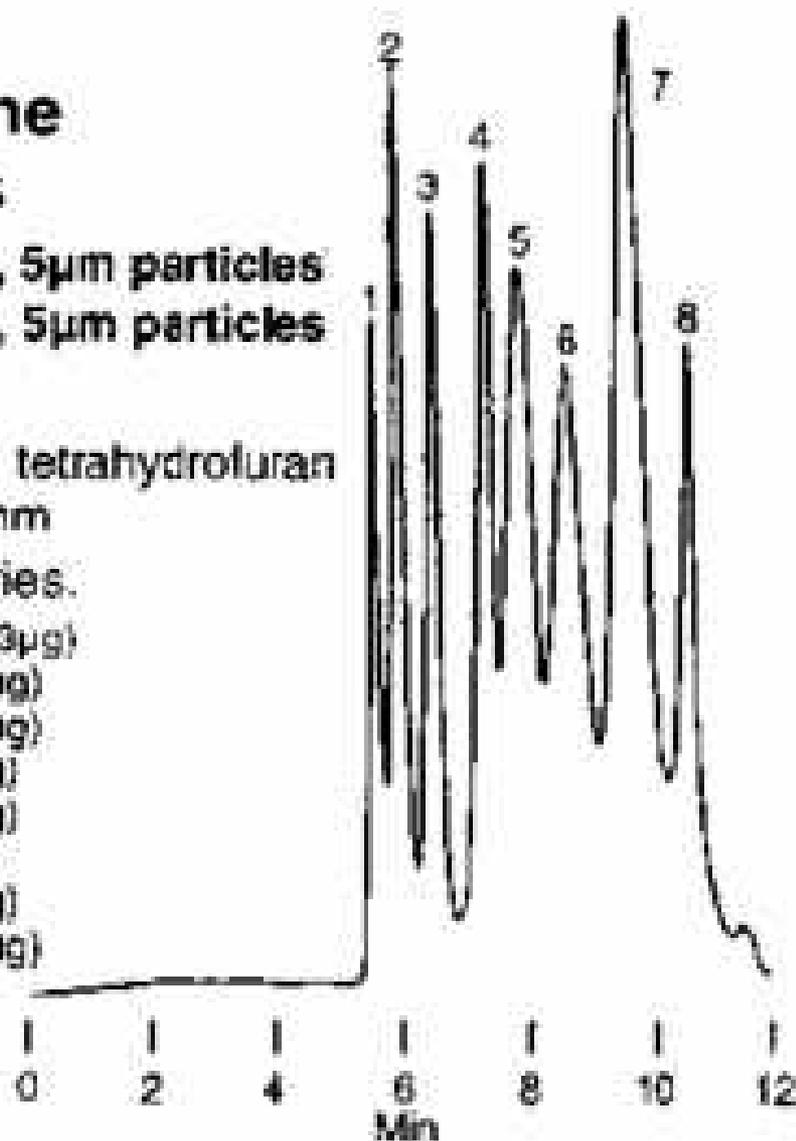
300 \AA pores*

Mobile Phase: tetrahydrofuran

Det.: UV, 254nm

Columns in series.

1. 1,800,000 (3.3 μ g)
2. 300,000 (3.3 μ g)
3. 100,000 (3.3 μ g)
4. 35,000 (5.0 μ g)
5. 17,500 (6.7 μ g)
6. 9,000 (6.7 μ g)
7. 2,000 (10.0 μ g)
8. Toluene (1.7 μ g)

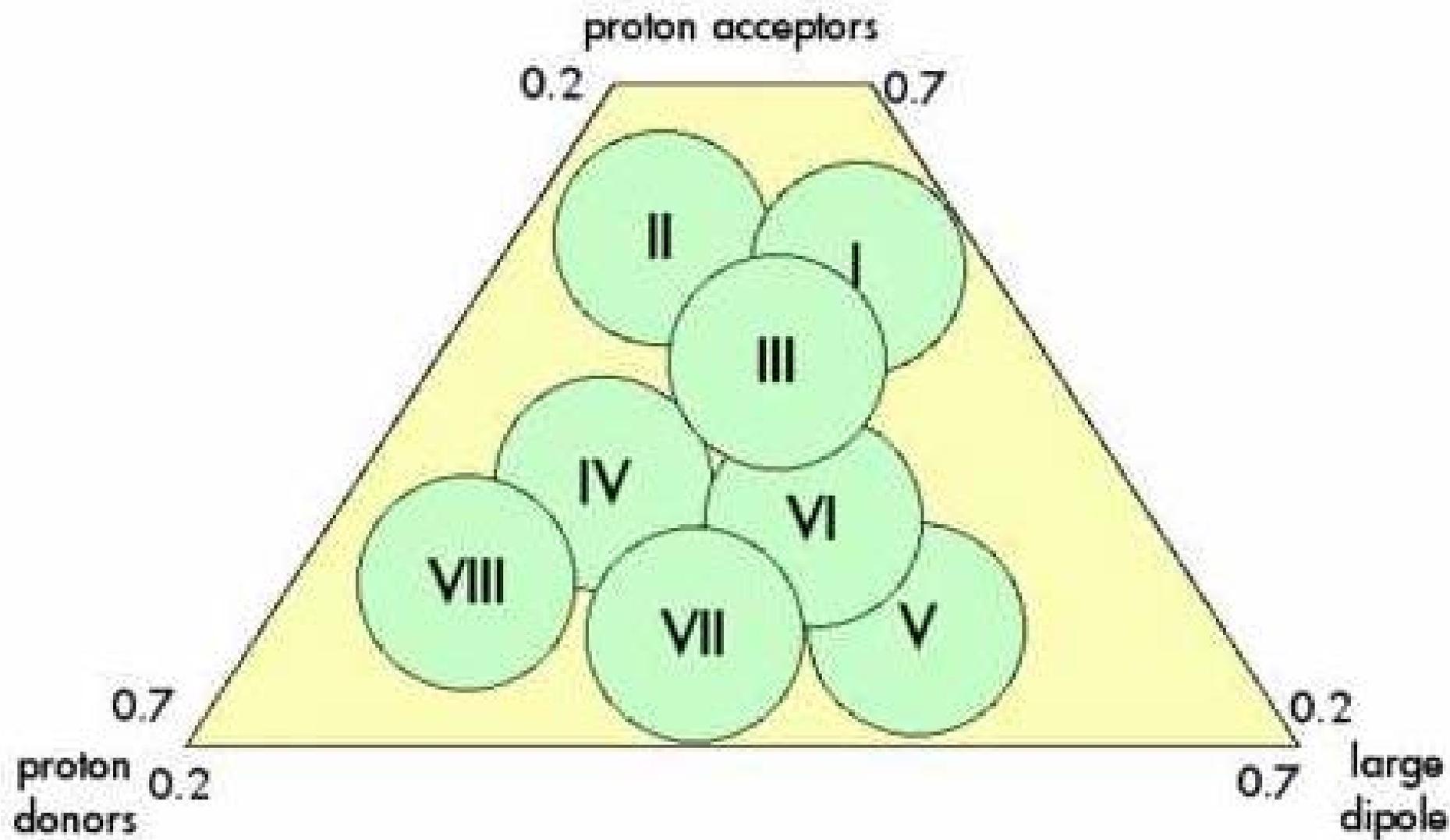


Snyder classed solvent using acid, base, dipole and chemical properties.

脂肪族

Class	Partial solvent list
I.	aliphatic ethers and alkyl amines
II.	aliphatic alcohols
III.	THF, pyridines, DMSO, amides
IV.	formamide, acetic acid, glycols
V.	MeCl ₂ , 1,2-DCE
VI.	alkyl halides, esters, ketones, nitriles
VII.	benzene and derivatives
VIII.	chloroform, m-cresol, water

Solvent classes



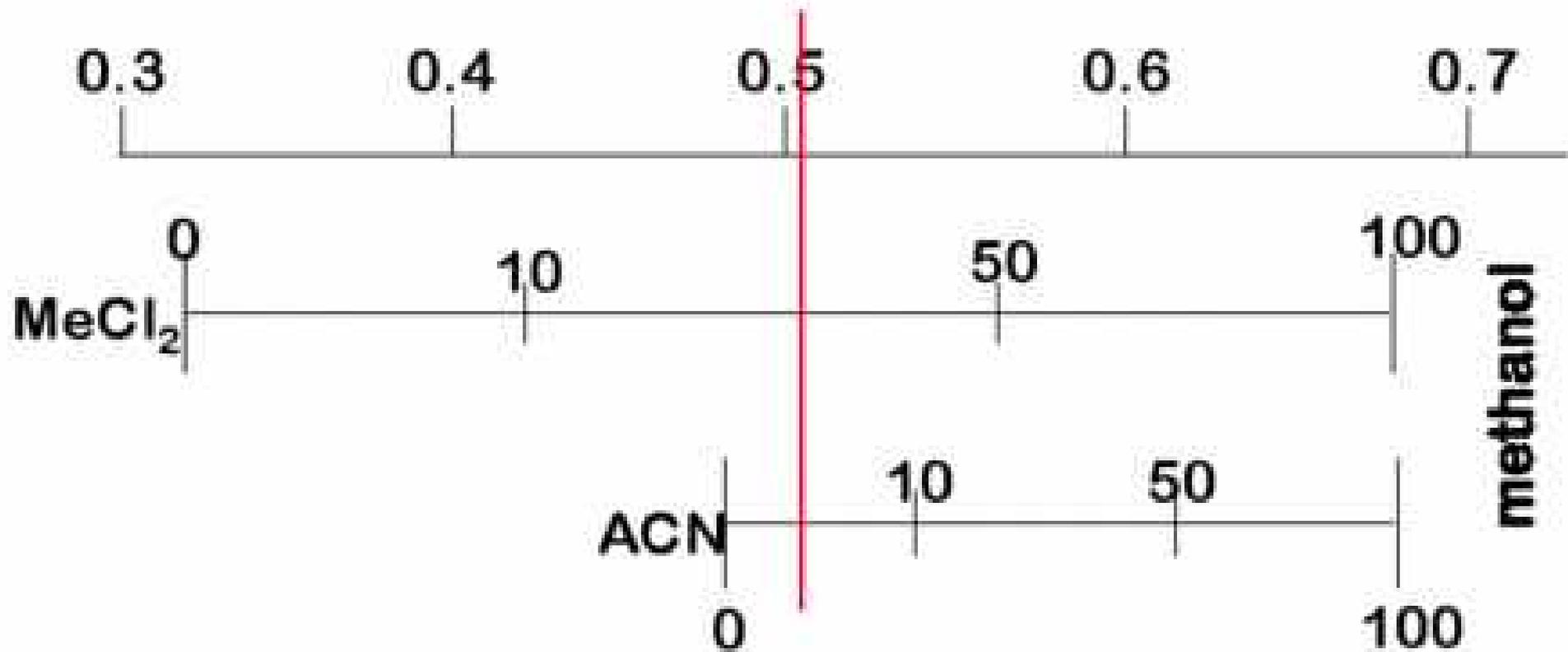
Solvent strength and polarity index

Solvent	ϵ°	P'	viscosity	RI	UV cutoff
n-pentane	0.00	-0.0	0.23	1.36	210
CCl_4	0.18	1.6	0.97	1.47	265
toluene	0.29	2.4	0.59	1.50	285
ethyl ether	0.38	2.8	0.32	1.35	220
THF	0.45	4.0		1.41	220
MEK	0.51	4.7		1.38	330
acetonitrile	0.65	5.8	0.37	1.34	210
methanol	0.95	5.1	0.60	1.33	210

ϵ° is for alumina

Mixing solvents

Optimum solvent strength or polarity can be obtained by mixing solvents.



The four solvent method

