

# TECHNICAL NEWS

## 分析技術報

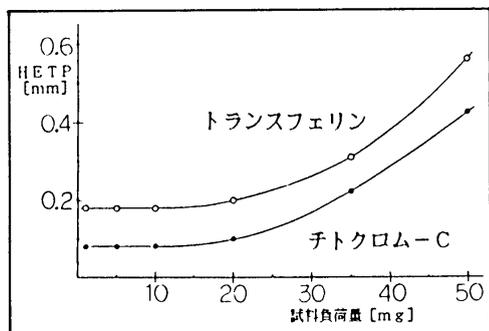
### JAIGEL GS カラムの試料負荷量について

はじめに

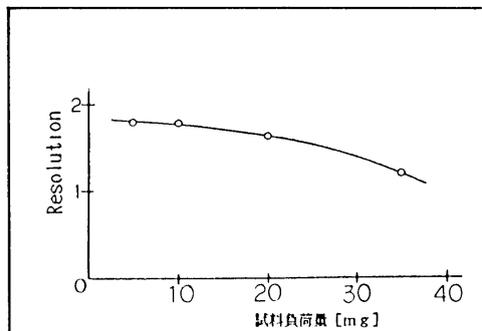
クロマトグラフィーにより分離分取を行なうにあたって最も重要な要素の一つにカラムに対する試料の負荷量の問題があります。どのような高分離能カラムでも過負荷の状態では満足な分離を得ることができません。そこで、カラムに対する適当な試料負荷量を知る方法の一つにカラムの分離度 ( $R_s$  値) で判断する方法があります。高分子化合物で分子量数十万以下の物質の分離には JAIGEL GS-520 を、低分子化合物で分子量数万以下は JAIGEL GS-320 を用い、試料中の溶媒の重量によって試料負荷量を測定しました。カラム仕様、内径 20 mm×長さ 500mm。

蛋白質の場合

Fig9 - 1 はトランスフェリンとチトクロムの HETP 変化を示しており、また Fig - 2 は 2 つのピークの  $R_s$  値を示してあります。Fig - 3 は各成分 35mg を注入した場合のクロマトグラムを表わしてあります。  $R_s$  値が 1.25 を最大注入量とした場合。



試料負荷量とHETPとの関係  
Fig-1



試料負荷量と分離度との関係  
Fig-2

分析条件  
カラム：JAIGEL GS-520  
移動相：200mM リン酸ナトリウム  
緩衝液 (PH=7.0)  
流速：5.6ml/min  
圧力：7kg/cm<sup>2</sup>  
試料：トランスフェリン、チトクロム-C  
(注入量600μl)  
温度：30℃  
検出：UV-280nm

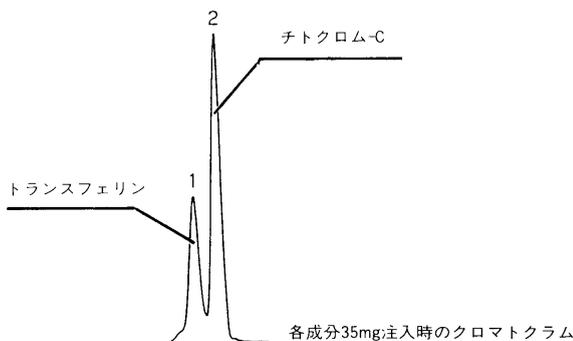
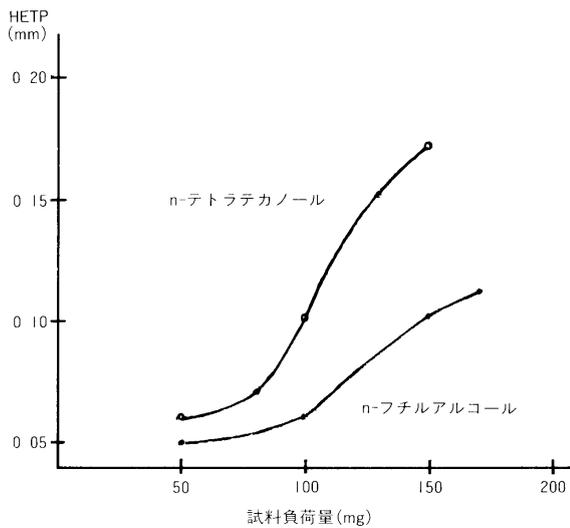


Fig-3

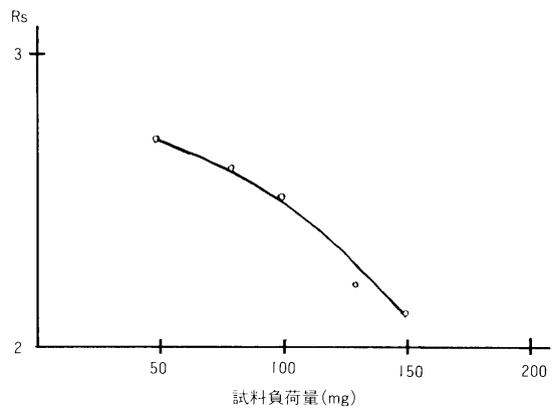
## 低分子化合物の場合

Fig-4 は n-テトラデカノールと n-ブチルアルコールの HETP 変化また Fig-5 は 2 つのピークの Rs 値で Fig-6 に示すクロマトグラムでもわかりますように目的によっては 150mg 以上でも使用可能です。

高速液体クロマトグラフィーの場合、一般には Rs が 1 であれば十分であるが、さらにより分離を要求する場合には Rs を 1.25 にすれば、重なりは約 1%、1.5 まであれば 0.1% 程度となる、各成分を 150mg 注入時の Rs 値が 2 以上であることから、分取位置を考慮することによってこの試料については安心して各々 150mg を注入することができます。

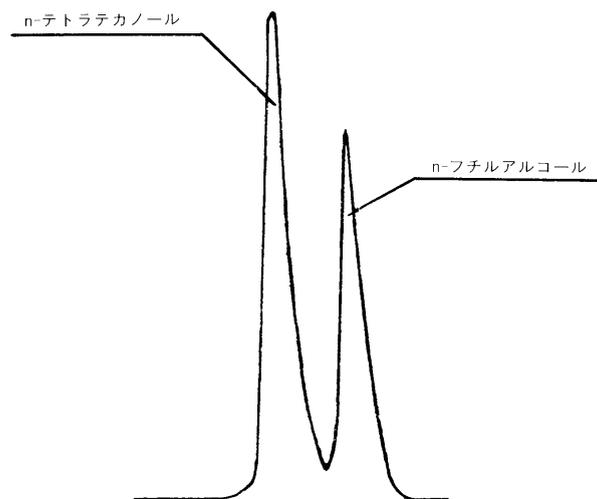


試料負荷量と HETP との関係  
Fig-4



試料負荷量と分離度との関係  
Fig-5

分析条件  
 カラム：JAIGEL-320  
 移動相：メタノール  
 流速：4.0 ml/min  
 圧力：8 kg/cm<sup>2</sup>  
 試料：n-テトラデカノール  
           n-ブチルアルコール  
           (注入量 2.0 ml)  
 検出：RI-2



各成分 150mg 注入時のクロマトグラム

Fig-6