

HPLC/UHPLC カラムのエンドフィッティング接続の留意点

MarvelX, MarvelXACT 配管の特徴

株式会社クロマニックテクノロジーズ 長江徳和

1 はじめに

HPLC/UHPLC 装置は吐出ポンプ，オートサンプラー，インジェクター，カラム，検出器間を 1/16 インチのステンレススチール配管などで接続されており，配管の容量や，接続部で発生するカラム外容積はカラムの性能に大きく影響する事が知られている。本稿ではカラムのエンドフィッティング接続での間違いやトラブル回避方法，さらにエンドフィッティング規格に関わらず接続可能な配管の評価などを紹介する。

2 オシネジとフェラルを用いた接続

LC（液体クロマトグラフィー）が HPLC に発展した当初は High Pressure Liquid Chromatography と言われており，文字通り高压化で操作する LC であった。従って高压に耐えうるカラム管・配管としてステンレススチール（SUS316）素材を用い，図 1 に示されている様に，カラム管エンドと 1/16"配管を接続する際に金属製の円錐型のフェラルとオシネジを用いていた。オシネジを回す事により，このフェラルに力がかかり，かしめられる事により変形してカラム管の入口側と出口側のカラム管エンドに密着して，移動相の漏れを防いでいる。図 1 A はイラストで表しており，図 1 B は金属フェラルと金属オシネジを用いているが，金属フェラルをかしめておらず，金属フェラルが変形していない状態である。更に分かり易くするために図 1 C は着色した樹脂のフェラルとオシネジを用いて接続状態を示した。

HPLC 創世期の 1970 年代にはオシネジの代わりに袋ナットが用いられたり，オシネジのネジがインチ規格とミリ規格が混在していたり，フェラルの向きを逆にして接続するタイプなど，さまざまな形式のエンドフィッティングが利用されていたが，1980 年代以降，袋ナットは使用されなくなり，オシネジのネジはインチ規格の No.10-32UNF に統一されるようになった。しかしながら現在でも，HPLC/UHPLC 装置メーカーはそれぞれ，フェラルから先の配管（1/16"チューブ）の長さを独自に決めており，フェラルから先の配管の長さが 1.6 mm から 3.5 mm までの数種類のエンドフィッティング規格が存在している。一部の大手充填カラムメーカーは数種類の

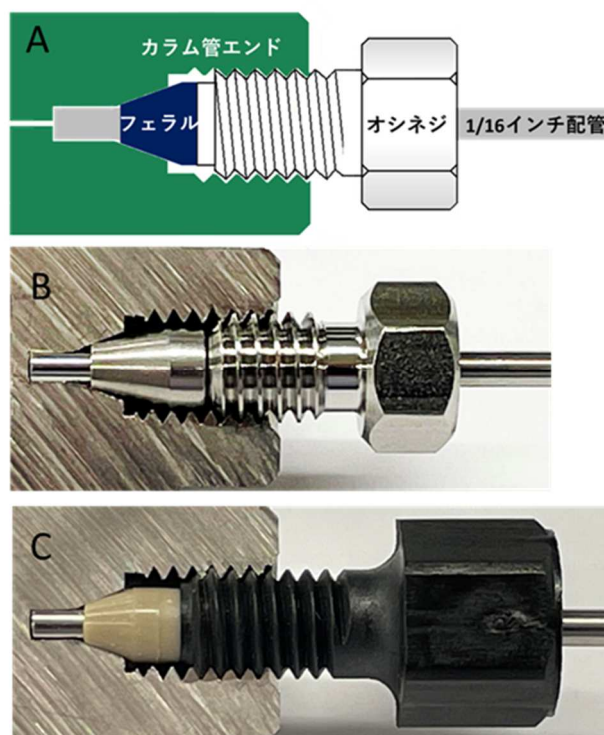


図 1 オシネジとフェラルを用いた接続

エンドフィッティング規格に対応したカラムを供給しているが、多くの充填カラムメーカーは市場ニーズの高いウォータース (Waters) タイプやパーカー(Parker)タイプなど一種類のみの又は二種類のフィッティング規格のカラムを供給している事が多い。

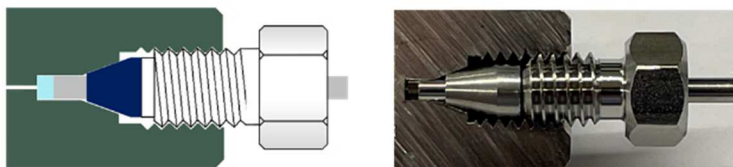
3 エンドフィッティング規格の差によるトラブル

上述の様に金属製フェラルを用いた接続ではフェラルはかしめられ、先端が配管にくい込む事によりフェラルは配管に固定される。フェラル先の配管長さの異なるフィッティング規格同士で接続した場合には図 2 に示されている様な不具合が起こる。図 2A はフェラル先の配管の長さが短く、配管とカラム管の間に大きな空間が発生する。ここで試料成分の拡散が起こり、ピークがブロードになったり、尾を引くようなテーリング状態になったりする。図 2B はフェラル先の配管が長すぎる場合であり、フェラルがカラム管エンドに密着せず、液漏れを起こす。図 2C はフェラル先の配管の長さが適正であり、カラム外容積の増加もなく、ピーク形状への影響はない。エンドフィッティング規格の異なるカラムを接続するときにはそれぞれのカ

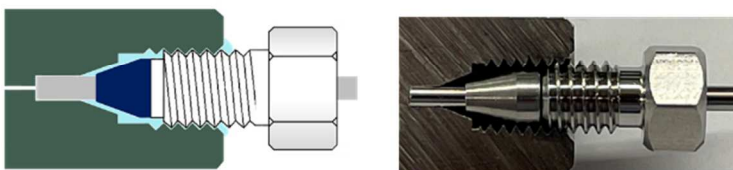
ラムに合わせて、フェラルの固定位置を決めなければならない。金属製フェラルを用いた場合には、エンドフィッティング規格が変わる毎に配管を変えなければならない。又同じエンドフィッティング規格のカラムを用いても、何度もカラムの接続を繰り返していくと、金属フェラルは毎回少しずつではあるが変形し、最終的にこれ以上変形できなくなる。この様な時には新しい配管に更新すべきであるが、それでも漏れを防ぐためにオシネジを締め過ぎるとオシネジが切れてしまい、元に戻す事は出来なくなってしまう。このような事象はベテランクロマトグラファーの多くの方が経験していると推察される。

1980 年代に利用出来るようになった機能性樹脂である PEEK (ピーク, Poly Ether Ether Ketone) は耐熱性、機械的強度、更に耐薬品性が高い熱可塑性樹脂であり、HPLC の部材としても用いられるようになった。カラムと配管の接続に使用されるフェラルもこの PEEK 樹脂が採用されるようになった。フェラル単独のものや、フェラルとオシネジを一体化したコネクタも PEEK 素材での成形品が開発された。この PEEK 樹脂フェラルの特徴は金属製フェラルとは異なり、ステンレスチューブに固定されないため、接続する毎にフェラル先の配管の長さを変えられる事である。そのため PEEK 樹脂製のフェラルやコネクタを用いる事により、毎回それぞれのエンドフィッティング規格に合った接続が可能になった。PEEK 樹脂フェラルの欠点は、配管接続部の耐圧が 20 MPa 程度であるため、高耐圧が要求される HPLC システムでは使用できない事であった

A フェラル先の配管の長さが短い ⇨ カラム外容積が増えピークのプロード化



B フェラル先の配管の長さが長い ⇨ 隙間が発生し、液漏れの発生



C フェラル先の配管の長さが合う ⇨ カラム外容積が増えず、最適な接続

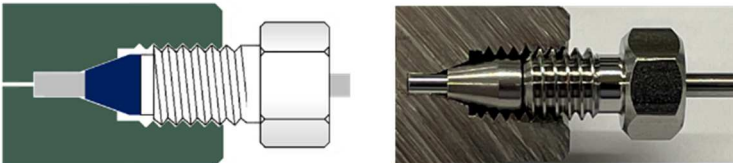


図2 カラム管フィッティング

A はフェラル先の配管が短い場合、B はフェラル先の配管が長い場合、C はフェラル先の配管の長さが適正な場合。

が、金属と PEEK 樹脂との複合体フェラルなどの開発により耐圧は改善された。2004 年以降 UHPLC の普及により 100 MPa 以上の耐圧が求められるようになり、再び金属製フェラルが UHPLC では主流となった。

4 異なるエンドフィティングでの互換性

現在使用されている HPLC/UHPLC カラムのエンドフィティングは前項でも述べた様に、ネジ規格は No.10-32UNF で全て同じである。又フェラルとフェラルの受け側（カラム管エンド側）のテーパ角度は 40° で、ほとんどのカラムで統一されている。しかし A 社の高圧対応のカラムのカラムエンドのテーパ角度は 36° であった。市販のカラムのカラム管を中心でカットし、加工寸法を測定した結果を図 3 に示す。A 社カラム管のフィッティング部とパーカータイプのカラム管のフィッティング部を図 3a に示す。両カラム管ともネジ部分とフェラルを受けるテーパに掘られた部分が別々である 2 ピース構造になっている。A 社のテーパに掘られた部分の深さは 4.2 mm であるが、パーカータイプの場合は 1.9 mm であり、大きく異なっている。又テーパ部から先の配管の挿入部分の長さは、A 社では 1.6 mm であるが、パーカータイプでは 2.0 mm であった。それぞれのカラム管エンドに金属フェラルとステンレススチール配管で固定した状態を図 3b に示す。それぞれのフェラルの角度も 36° と 40° である。図 3c は A 社のカラム管エンドにパーカータイプの配管を、パーカータイプのカラム管エンドに A 社用の配管を接続したときの状態を示す。A 社のカラム管エンドにパーカータイプの配管を接続した場合にはフェラルから先の配管の長さが長いため、フェラルの先はカラムエンドに密着せず隙間が生じるが、A 社のカラム管エンドのテーパが深い事と、テーパ角度が小さい事から、フ

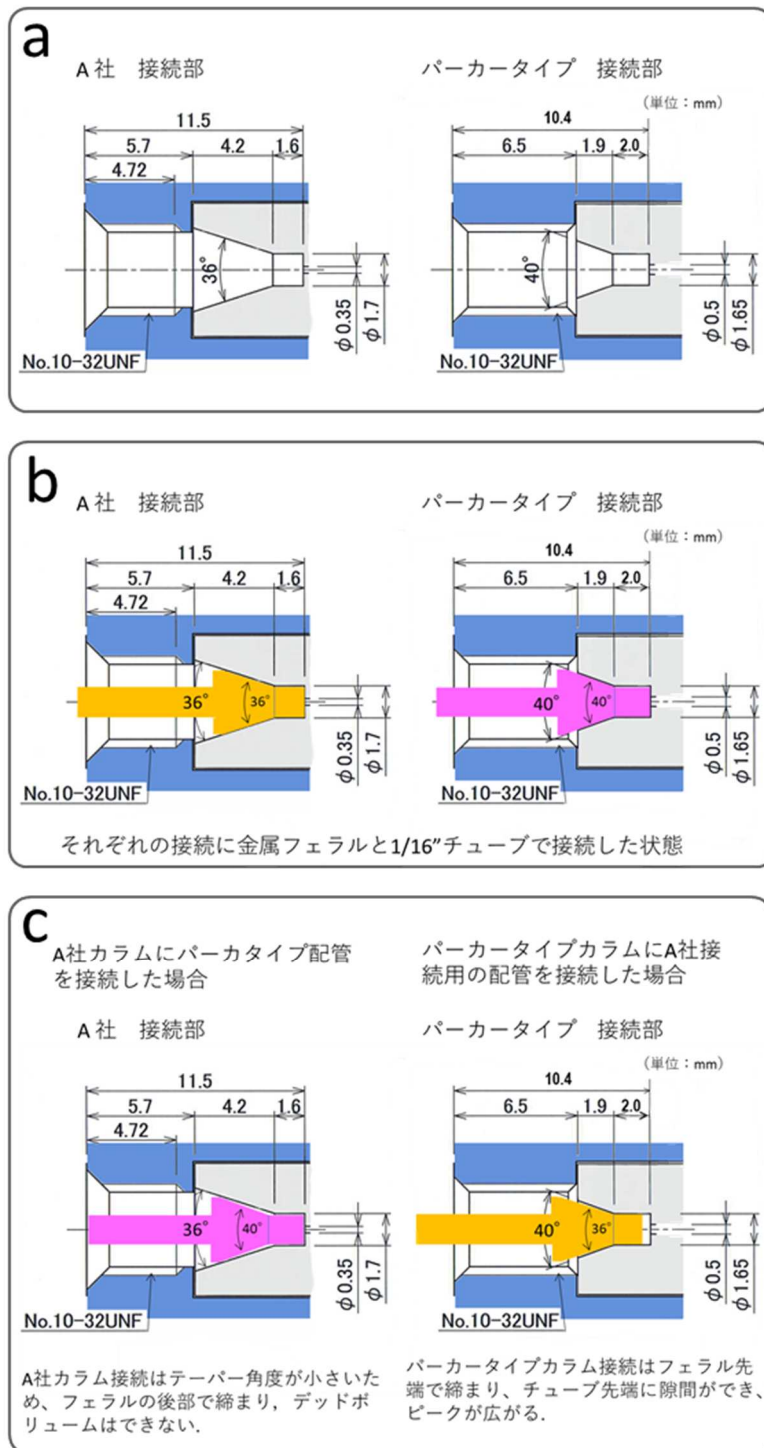


図3 A 社仕様とパーカータイプのカラム管エンドフィッティングの互換性

a はカラム管エンドフィッティングの構造、b はそれぞれのエンドフィッティングに合わせてフェラルを固定した場合の配管の図、c は配管を異なるカラム管エンドに装着した場合の図。

フェラル後部でカラム管エンドに密着し、移動相は漏れなくなる。又、配管先端とカラムエンドには隙間がなく、ピークがブロードになったりテーリングを生ずる事もない。逆にパーカータイプのカラム管エンドに A 社の配管を接続した場合には、フェラル先端がカラム管エンドのテーパー部に密着し液漏れは起こらないが、フェラル先の配管の長さが短いため、カラム管エンド内で大きな隙間が生じる。この隙間がピークを太くしたり、テーリングを生じさせる原因になる。この様に A 社の高圧用カラムは A 社の UHPLC 装置は勿論であるが、パーカータイプのエンドフィッティング規格の UHPLC 装置にも問題なく接続出来る。しかしパーカータイプのエンドフィッティング規格のカラムは A 社の UHPLC 装置の接続には問題があり、適正に接続できない。つまり、A 社のエンドフィッティング規格は特殊で、テーパー角度が 36°であり、フェラルの受け側のテーパー部分が深い事など、他のエンドフィッティング規格と大きく異なり、これらの特殊要因によって A 社のカラムはパーカータイプのエンドフィッティング規格に適合してしまう。もし A 社のカラムはパーカータイプだと勘違いし、パーカータイプのカラムは A 社の UHPLC 装置に問題なく接続出来ると思い込み、A 社の UHPLC 装置で A 社カラムに加え、他社のパーカータイプのカラムの性能比較を行うと、他社パーカータイプのカラムは全てピークがブロードになったり、テーリングが生じたりし、比較結果は A 社カラムが有利になり、それぞれのカラムの本来有している性能での比較ができない。

5 フェラルを用いない配管接続

もしフェラルを用いない HPLC/UHPLC カラムの接続方法があれば、現在存在するフェラル先の配管長さの異なる様々なエンドフィッティング規格を気にする事なくカラムを接続する事が出来るようになる。2016 年から発売されている IDEX 社の MarvelX (マーベルエックス) 配管は図 4 に示されている様にフェラルを用いない接続である。図 4A は MarvelX 配管であり、配管の両端は直径 1/16" のステンレススチールチューブで配管自体は直径 1/32" のステンレススチールチューブである。オシネジは切れ目が入っており、脱着出来るようになっている。配管先端は PEEK 樹脂が 0.1 mm 程度出しており、この PEEK 樹脂はカラム管エンドのフィッティング部に突き当たり密着する。図 4B, 4C は配管先端をカラム管エンドに装着する状態を示しており、B はまだ締め付け途中で、配管先端は浮いた状態であるが C では配管先端が密着している。スパナを用いず手締めだけで装着でき、しかも 130 MPa の耐圧が確認されている。配管内径は 25 μm , 50 μm , 75 μm , 100 μm , 125 μm , 254 μm の 6 種類が、配管長さは 70 mm, 150 mm, 250 mm, 350 mm, 500 mm, 600 mm

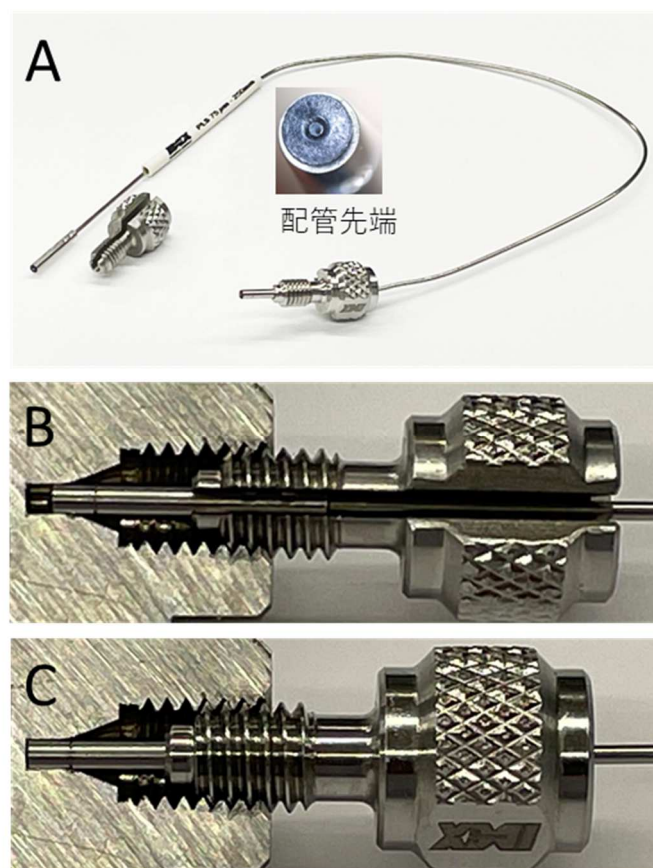


図4 MarvelX 配管とカラム管エンドフィッティングへの装着

A は MarvelX 配管と配管先端, B はカラム管エンドフィッティングに配管を装着する途中, C は装着終了。

が供給されている。又配管内部を PEEK 樹脂にした PEEK-Lined Stainless Steel のバイオコパチブル仕様とステンレススチールのみ通常仕様の 2 種類の配管素材が用意されている。樹脂素材は力を加える事により、徐々に変形し、配管接続部の耐圧が低くなるが、MarvelX はステンレススチールで配管外側が覆われているため、配管を押す力に対し、



図 5 MarvelXACT 配管

接面部の PEEK 樹脂は外側に広がる事がないため、繰り返し使用出来る回数が増える。更に誰が行っても同じ様に締め付けが出来る配管として MarvelXACT (マーベルエグザクト) も市販された。図 5 にその外観を示す。オシネジは配管に固定されているが、ある一定のトルクでオシネジが空回りする機構が設けられ、締め過ぎを防止している。

HPLC/UHPLC で用いられる配管は先端断面がきれいにカットされ、孔のつぶれや変形がない事が重要である。MarvelX 及び MarvelXACT 配管も同様で、クロマニックテクノロジーでは、図 4A に示されている様に、全ての MarvelX 及び MarvelXACT の配管先端の写真を撮り、詰まり、ごみの付着がない事を確認して出荷している。

6 MarvelX 配管の使用例

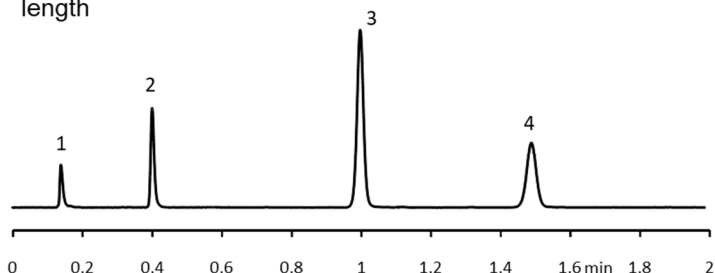
UHPLC では高圧条件下で操作されるため、高耐圧の配管が必要となる。一般的なステンレススチール配管では内径を最も小さくしたとしても 0.1 mm までであるが、MarvelX 及び MarvelXACT 配管は 0.025 mm まで内径を小さくする事が出来る。図 6 にインジェクター以降の配管の内径を細くする事によるピーク形状の変化 1)を示す。粒子径 2 μm コアシェル C18 (SunShell C18) を充填した内径 2.1 mm、長さ 50 mm のカラムを用いた。上段は内径 0.1 mm のステンレススチール (SUS) 及び内面フューズドシリカ (PEEKSi) の配管を、下段は内径 0.075 mm の MarvelX (内面 PEEK) 配管を用いた。配管の全長は両配管とも同じ 500 mm である。配管の内径が 0.1 mm から 0.075 mm に細くなる事により、最初に溶出するウラシル (ピーク 1) の理論段数は 1208 段から 3593 段に向上した。ピークの半値幅は 0.0094 分から 0.0051 分へと 0.0043 分狭くなった。又、アセナフテン (ピーク 3) も同様に理論段数は 13589 段から 15153 段へと 12 %向上した。4 本のピークとも理論段数は向上し、テーリングファクターは減少した。特に早く溶出するピーク容量の小さいピーク程、顕著であった。カラム外の配管の容積が減少する事により、この配管内での成分の拡散が抑えられ、ピーク幅が狭くなると同時にテーリングも抑制されたと考えられる。内径 2.1 mm のカラムは通常は内径 0.1 mm の配管が使用されるが、カラム長さ 50 mm で 15000 段近い理論段数を発揮するカラムでは内径 0.1 mm の配管でも大き過ぎ、内径 0.075 mm 配管を使用する事でそのカラムのもつ本来の性能に近付く。ここで用いた内径 0.075 mm の MarvelX 配管は、内径 0.025 mm まで利用出来るが、配管のみに掛かる背圧は内径の 4 乗に反比例するため、内径を 0.075 mm から 0.025 mm に 1/3 のサイズに変更すると配管に掛かる背圧は 81 倍になる。配管の容積を減らす目的で内径を細くし過ぎると、配管に掛かる背圧が大きくなり過ぎる事があるので注意が必要である。図 6 の下段の内径 0.075 mm の条件では、合計 500 mm の長さの配管のみで 7.8 MPa の背圧が掛かっており、仮に内径 0.025 mm の配管にすると、81 倍の 631 MPa の背圧が配管のみに掛かる事になる。

SUS 0.1mm i.d. tubing

Connecting tube

Injector→Column: SUS, 0.1 mm i.d., 300 mm length

Column→Flow cell of UV: PeekSil, 0.1 mm i.d., 200 mm length



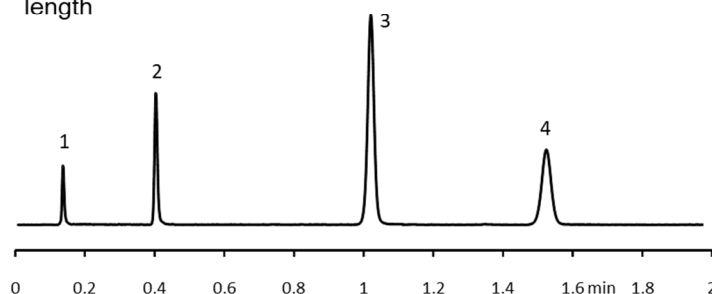
Peaks, 1=Uracil
2=Ethylbenzene
3=Acenaphthene
4=Butylbenzene

MarvelX 0.075 mm i.d. tubing

Connecting tube

Injector→Column: MarvelX, 0.075 mm i.d., 350 mm length

Column→Flow cell of UV: Marvel X, 0.075 mm i.d., 150 mm length



SunShell C18 2 μ m, 50 x 2.1 mm

	Peak No.	SUS	MarvelX	
Theoretical plate	1	1208	3593	197% up
	2	7720	12625	64% up
	3	13589	15153	12% up
	4	13936	14733	6% up
Tailing factor	1	2.326	1.445	
	2	1.401	1.286	
	3	1.048	1.006	
	4	0.997	0.972	
Peak width, $h_{0.5}$ (min)	1	0.0094	0.0051	
	2	0.0107	0.0083	
	3	0.0201	0.0194	
	4	0.0297	0.0295	

図6 配管の内径と段数の関係

カラム, SunShell C18, 2 μ m 50 x 2.1 mm i.d.; 移動相, アセトニトリル/水=60/40; 流速, 0.6 mL/min; カラム温度, 室温; 検出, UV250 nm; 注入容量, 0.4 μ L; ピーク, 1=ウラシル, 2=エチルベンゼン, 3=アセナフセン 4=ブチルベンゼン, 配管内径は図中に表示。

7 まとめ

本稿で紹介した様に, カラム管エンドフィッティング仕様に合った配管接続をする事はカラム性能を発揮させるために重要である。又, 各社のエンドフィッティング規格は目に見えない部分での違いがあり, その違いを十分理解して使用する事も重要である。MarvelX のようなフェラルを用いない配管はカラム管エンドフィッティング規格に依存せず, 更に MarvelXACT は誰でも同じトルクで締め付けが出来る便利な配管である。内径 2.1mm カラムは特にカラム外容積が性能に大きく影響するため, 高圧下で使用出来る内径が 0.075 mm の MarvelX や MarvelXACT を用いる事により本来のカラム性能が発揮された。

文献

1) 長江徳和, LC と LC/MS の知恵, 第 2 号, 6-25 (2021).

MARVELXACT™ カラム性能を最大限に
引き出すために

トラブルフリー マーベルエグザクト
UHPLC 配管システム



IPEX HEALTH & SCIENCE

クロマニックテクノロジーズ

Intelligent Solutions for Life™

MarvelXACT 価格表（チューブとネジ2個の組み合わせ）

材質	内径	長さ	品番	詳細	価格
PLS	75 μm	150 mm	UPFP-7075150	MarvelXACT PLS 75 μm x 150 mm	¥24,500
PLS	75 μm	250 mm	UPFP-7075250	MarvelXACT PLS 75 μm x 250 mm	¥24,600
PLS	75 μm	350 mm	UPFP-7075350	MarvelXACT PLS 75 μm x 350 mm	¥25,000
PLS	75 μm	500 mm	UPFP-7075500	MarvelXACT PLS 75 μm x 500 mm	¥25,100
PLS	75 μm	600 mm	UPFP-7075600	MarvelXACT PLS 75 μm x 600 mm	¥25,500
PLS	100 μm	150 mm	UPFP-7100150	MarvelXACT PLS 100 μm x 150 mm	¥24,500
PLS	100 μm	250 mm	UPFP-7100250	MarvelXACT PLS 100 μm x 250 mm	¥24,600
PLS	100 μm	350 mm	UPFP-7100350	MarvelXACT PLS 100 μm x 350 mm	¥25,000
PLS	100 μm	500 mm	UPFP-7100500	MarvelXACT PLS 100 μm x 500 mm	¥25,100
PLS	100 μm	600 mm	UPFP-7100600	MarvelXACT PLS 100 μm x 600 mm	¥25,500
SS	100 μm	150mm	UPFS-7100150	MarvelXACT SS 100 μm x 150 mm	¥22,300
SS	100 μm	250 mm	UPFS-7100250	MarvelXACT SS 100 μm x 250 mm	¥22,600
SS	100 μm	350 mm	UPFS-7100350	MarvelXACT SS 100 μm x 350 mm	¥22,900
SS	100 μm	500 mm	UPFS-7100500	MarvelXACT SS 100 μm x 500 mm	¥23,300
SS	100 μm	600 mm	UPFS-7100600	MarvelXACT SS 100 μm x 600 mm	¥23,600
SS	125 μm	150 mm	UPFS-7125150	MarvelXACT SS 125 μm x 150 mm	¥18,800
SS	125 μm	250 mm	UPFS-7125250	MarvelXACT SS 125 μm x 250 mm	¥19,000
SS	125 μm	350 mm	UPFS-7125350	MarvelXACT SS 125 μm x 350 mm	¥19,500
SS	125 μm	500 mm	UPFS-7125500	MarvelXACT SS 125 μm x 500 mm	¥19,900
SS	125 μm	600 mm	UPFS-7125600	MarvelXACT SS 125 μm x 600 mm	¥20,300

※材質PLSのMarvelXACTは内径25 μmと50 μmもございます。お問い合わせください。
 ※上記価格には消費税は含まれておりません。上記価格表は2021年5月現在の国内販売価格です。
 ※外観および仕様は改良のため、予告なく変更する場合がございますのでご了承願います。



MARVELXTM
マーベルエックス

次世代型
UHPLC 配管システム

カラム性能を最大限に
引き出すために

クロマニクテ

IX
HEALTH & SCIENCE

MarvelX kit 価格表（チューブ、ネジ 2 個） ☆チューブのみの販売もしております。

材質	内径	長さ	品番	詳細	価格
PLS	75 μ m	70 mm	UPFP-6075070	MarvelX PLS 75 μ m x 70 mm Kit	¥24,100
PLS	75 μ m	150 mm	UPFP-6075150	MarvelX PLS 75 μ m x 150 mm Kit	¥24,500
PLS	75 μ m	250 mm	UPFP-6075250	MarvelX PLS 75 μ m x 250 mm Kit	¥24,600
PLS	75 μ m	350 mm	UPFP-6075350	MarvelX PLS 75 μ m x 350 mm Kit	¥25,000
PLS	75 μ m	500 mm	UPFP-6075500	MarvelX PLS 75 μ m x 500 mm Kit	¥25,100
PLS	75 μ m	600 mm	UPFP-6075600	MarvelX PLS 75 μ m x 600 mm Kit	¥25,500
PLS	100 μ m	70 mm	UPFP-6100070	MarvelX PLS 100 μ m x 70 mm Kit	¥24,100
PLS	100 μ m	150 mm	UPFP-6100150	MarvelX PLS 100 μ m x 150 mm Kit	¥24,500
PLS	100 μ m	250 mm	UPFP-6100250	MarvelX PLS 100 μ m x 250 mm Kit	¥24,600
PLS	100 μ m	350 mm	UPFP-6100350	MarvelX PLS 100 μ m x 350 mm Kit	¥25,000
PLS	100 μ m	500 mm	UPFP-6100500	MarvelX PLS 100 μ m x 500 mm Kit	¥25,100
PLS	100 μ m	600 mm	UPFP-6100600	MarvelX PLS 100 μ m x 600 mm Kit	¥25,500
SS	100 μ m	70 mm	UPFS-6100070	MarvelX SS 100 μ m x 70 mm Kit	¥21,900
SS	100 μ m	150 mm	UPFS-6100150	MarvelX SS 100 μ m x 150 mm Kit	¥22,300
SS	100 μ m	250 mm	UPFS-6100250	MarvelX SS 100 μ m x 250 mm Kit	¥22,600
SS	100 μ m	350 mm	UPFS-6100350	MarvelX SS 100 μ m x 350 mm Kit	¥22,900
SS	100 μ m	500 mm	UPFS-6100500	MarvelX SS 100 μ m x 500 mm Kit	¥23,300
SS	100 μ m	600 mm	UPFS-6100600	MarvelX SS 100 μ m x 600 mm Kit	¥23,600
SS	125 μ m	70 mm	UPFS-6125070	MarvelX SS 125 μ m x 70 mm Kit	¥18,400
SS	125 μ m	150 mm	UPFS-6125150	MarvelX SS 125 μ m x 150 mm Kit	¥18,800
SS	125 μ m	250 mm	UPFS-6125250	MarvelX SS 125 μ m x 250 mm Kit	¥19,000
SS	125 μ m	350 mm	UPFS-6125350	MarvelX SS 125 μ m x 350 mm Kit	¥19,500
SS	125 μ m	500 mm	UPFS-6125500	MarvelX SS 125 μ m x 500 mm Kit	¥19,900
SS	125 μ m	600 mm	UPFS-6125600	MarvelX SS 125 μ m x 600 mm Kit	¥20,300

※材質PLSのMarvelXは内径25 μ mと50 μ mもございます。お問い合わせください。
 ※上記価格には消費税は含まれておりません。上記価格表は2021年5月現在の国内販売価格です。
 ※外観および仕様は改良のため、予告なく変更する場合がございますのでご了承ください。
 ☆MarvelXはチューブのみの販売もしております。価格等はお問い合わせください。

株式会社 クロマニク テクノロジーズ
 552-0001 大阪府大阪市港区波除 6-3-1
 TEL: 06-6581-0885 FAX: 06-6581-0890
 E-mail: info@chromanik.co.jp
 Website: <http://chromanik.co.jp>

202201