the contents of phosphorus or sulfur were determined from the calibration curve.

The recoveries in this method were 109.0~99.6% for phosphorus and 108.2~91.2% for sulfur, respectively. The lower limit of determination for both elements was 10 μ g per gram. The present method is more rapid and more accurate than any other con-

ventional ones, such as colorimetric and volumetric method. The time required for determination of phosphorus and sulfur was about 20 minutes per sample in contrast with 2~4 hours usually required by other methods.

(Received Feb. 1, 1973)

ガスクロマトグラフ用ガラス製 open tubular カラム に関する研究

斎藤 寿，古川 修*

(1973 年 5 月 18 日受理)

カラム製作のためのコーティング装置，およびカラムを保持しガスクロマトグラフへ接続するためのホルダーを試作し，これらを用いてガラスキャピラリーの内壁に特別な表面処理を施さないガラス製 wall coated open tubular カラムを試作し，性能を検討した。

長さ 20 m，内径 0.25 mm のガラスキャピラリーを用い，10% (w/v) OV-17/n-ヘキサン 0.3 ml のコーティング溶液の移動速度とカラム効率との関係，および移動速度と分配比との関係を調べた。その結果，コーティング溶液の移動速度は 5~8 cm/sec の範囲が適当であることがわかった。理論段数は最適流量条件で，1 m あたり 2300 段が得られた。またカラム内壁にコーティングされる固定相液体層の厚さは，コーティング溶液の移動速度に比例することが確認された。

上記の実験で最も低い HETP 値を示したカラムを用い，カラム温度 250°C で 840 時間 (35 日間) 連続使用し，カラムの劣化状態を検討した結果，顕著な劣化は認められず，ガラスキャピラリー内壁に特殊な処理を施さなくてもじゅうぶん使用に耐えることがわかった。応用として他の液相を用いてガラス製 wall coated open tubular カラムを製作し，生化学関連試料を中心に種々の分析を行ない，このカラムの特長，有効性を示すクロマトグラムを得た。

1 緒 言

現在ガスクロマトグラフィーでは通常充てんカラムと open tubular カラムの二つのタイプのものが分離管として使用されている。open tubular カラムは通常の充てんカラムと比較してカラム製作がむずかしく，コーティングされる固定相液体の種類も制限を受けるので，カラムの種類が少ない。またカラム負荷量が著しく小さいので，カラムの過負荷を防ぐために，試料量を充てんカラムの場合の 1/100 以下程度にして導入する必要があることから応用分野に一定の制限が加わることは避けられない。しかし反面通気性がよいため長いカラムの使用が

可能であり，高い理論段数が比較的容易に得られる。このため主として石油化学，香料関係の分野によくみられるように，沸点範囲が広く，複雑な組成を持つ試料の分析に使用されることが多い。しかし現在市販されている open tubular カラムはすべて金属製のものであるため，金属の表面に接触すると吸着，分解などを生ずる化学的に不安定な試料の分析には適用しにくいのが現状である。しかるに近年この種の不安定で，しかも複雑な組成をもつ試料の高分離分析に対する要求が生化学分野などで高まってきており，不活性であって，高分離能と熱安定性を有するカラムの開発が望まれている。このため最近生化学的試料の分析に，ガラス製 wall coated open tubular カラム (以下ガラス製 WCOT カラムと略記) を応用した報告も見られるようになってきた^{1)~7)}。しか

* 島津製作所科学計測事業部科学計測第二工場技術課：京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1

しこれらのカラムは固定相液体を均一にコーティングする目的で、ガラスキャピラリーの内壁を各種の腐食剤で腐食するという前処理過程を必要としている。またガラス製 WCOT カラムの内面腐食処理に関する報告もいくつかある^{7)~10)}。しかし内面処理をしないガラス製 WCOT カラムは、Golay¹¹⁾によりはじめて WCOT カラムが研究された当初、Dijkstra¹²⁾や Desty¹³⁾により製作されたが、その性能に関する詳しい報告はなされていない。それ以後は Halasz¹⁴⁾により squalane 液相をコーティングしたガラス製 WCOT カラムの寿命は、わずか 2~3 日であったと報告されただけ¹⁴⁾、それ以外に内面処理をしないガラス製 WCOT カラムに関する報告は見あたらない。現在ガラス製 WCOT カラムは、金属製のものに比べ、固定相液体を均一にコーティングすることがむずかしく、カラムの寿命も非常に短いことから、製作および使用はむずかしいとされている。さらに Novotny¹⁵⁾ はガラス製 WCOT カラムの製作において、キャピラリー内面腐食処理は不可欠であると述べている。しかし上述したように、内面処理をしないガラス製 WCOT カラムに関する詳しい研究がなされていないことに著者らは着目し、特に内面処理をしないで固定相液体をコーティングしたガラス製 WCOT カラムを試作し、その性能を検討したので結果を報告する。

2 装置および操作

カラムの製作にあたり、市販の島津ガラス延伸機 GDM-1 形¹⁶⁾と試作したコーティング装置を使用した。カラムの性能検討には、ガラス流路をもつカラムホルダーおよび島津ガスクロマトグラフ GC-4BMPF 形を用いた。なお、キャリアガスは窒素、検出器は水素炎イオン化検出器を用いた。

2.1 キャピラリーカラムホルダー

ホルダーの外観図を Fig. 1 に示した。ガラス製 WCOT カラムは材質がガラスであるため破損しやすいという弱点がある。そこでこの弱点を補うために、カラムの保護と取り扱いを容易にするためのホルダーを試作した。カラムの取り付けに際して従来行なわれているように、カラムの端を直線状などに成形し直す方式をとると、誤ってカラム端を折ってしまった場合に、すでに液相がコーティングされているため加熱による再成形は不可能で、そのカラムは完全に使用不能になる。そこでホルダーのカラム接続部は、カラム端を成形し直すなくてもコイル状のままで取り付けられる構造とし、万一端のほうで折れた場合には、その折れ口をそのまま端面とし

Fig. 1 Holder for glass wall coated open tubular column

(1) Glass tube; (2) Column; (3) Frame; (4) Inlet splitter; (5) Scavenger gas fitting

て付け直しがきくように配慮した。またホルダーのガスクロマトグラフ本体への接続部は、通常の充てんカラムと同一形状にして、一度カラムをこのホルダーに取り付けければ、従来の充てんカラムと同様の取り扱いができるようにした。さらに化学的に不安定な試料を考慮し、試料の通る流路は総ガラス製とし、総ガラス流路をもつ島津ガスクロマトグラフ GC-4BMPF 形に接続して、総ガラス流路構成を可能にした。Fig. 4 にその流路構成を示した。破線で囲んだ部分はカラムホルダーに組み込まれている部分を示している。Fig. 2 にホルダーとカラムの接続方法を示した。このようにシールとして通常用いられているシリコンゴムを避け、不活性なテフロンシートを使用し、接続部における試料成分の吸着や、シリコンゴムからの溶出成分による妨害などの悪影響をできるだけなくした。

Fig. 2 Connection for glass capillary column

(1) Socket; (2) Stop ring; (3) Nut; (4) Glass capillary column; (5) Spring; (6) Washer; (7) Teflon seal; (8) Glass tube

2.2 コーティング装置

Fig. 3 に示した装置の構成図に基づき操作方法および動作原理について述べる。まずストップ弁 (1), (5) を

Fig. 3 Schematic diagram of coating apparatus

(1) Stop valve 1; (2) Pressure controller; (3) Pressure gauge; (4) Restrictor tube; (5) Stop valve 2; (6) Stop valve 3; (7) Coating solution; (8) Reservoir (Glass); (9) Teflon tubing; (10) Glass tube; (11) Teflon tubing; (12) Glass capillary tubing; (13) Glass capillary; (14) Restricting capillary tubing; (15) Collector (Glass); (16) Soap film flowmeter; (17) Inlet for coating solution

Fig. 4 Flow system for glass wall coated open tubular column

(1) Pressure controller; (2) Rotameter; (3) Flow controller; (4) Injection port; (5) Inlet splitter; (6) Glass wall coated open tubular column; (7) Scavenger gas fitting; (8) Buffer tube; (9) Restrictor; (10) Flame ionization detector

閉じ、ストップ弁 (6) を開けた状態にしておいて、ピペットでコーティング溶液を (17) から注入する。次にストップ弁 (1), (5) を開け、調圧弁を調整し、流路に加わるガス圧を所定の値に設定する。この状態では図中の P_1 と P_2 部分の圧力がほぼ等しくなるので、窒素ガスのみがストップ弁 (6) を通ってキャピラリー (13) にはいる。したがって液だめ容器 (8) 内のコーティング溶液はキャピラリー (13) に進入しない。この状態で窒素ガス流量を石けん膜流量計 (16) で測定し、定常状態になったことを確認後、ストップ弁 (6) を閉じる。すると P_2 部分の圧力は P_1 部分の圧力より低くなるので、その差圧によりコーティング溶液が徐々に移動

し、キャピラリー (13) に導入されることになる。(12), (14) のガラスキャピラリーはコーティング溶液の移動速度を一定にするためのものである。この方法をとればコーティング溶液の導入時における圧力変動を防ぐことができるので、再現性のよいコーティング操作が行なえる。

3 実験, 結果および考察

3.1 コーティング方法の検討

WCOT カラムのコーティング方法としては、スタティックコーティング法¹⁰⁾¹⁶⁾とダイナミックコーティング法^{17)~19)}の二つがあり、現在のところこの2方法の優劣については定説は確立していない¹⁹⁾²⁰⁾。著者らは、装置が簡単でカラム製作が容易であるダイナミックコーティング法のうちのプラグ法を採用した。WCOT カラムの製作において最も重要な点は、キャピラリー内壁に均一な厚みの固定相液体層をコーティングすることであり、このためにはコーティングの際にキャピラリー内のコーティング溶液移動速度をできるだけ均一に保つことが必要となる。従来のコーティング装置に関する報告¹⁷⁾²¹⁾は、この点についての検討がふじゅうぶんであったり、また非常に複雑な構成をとっていたりして、必ずしも満足できるものではなかった。そこで著者らは、キャピラリー内のコーティング溶液導入時の圧力変動およびキャピラリー前後の流路抵抗とキャピラリー内流路抵抗との相違という二つの要因を見だし、その2要因を消去す

べきコーティング装置および方法を検討した。以下にその内容を詳述する。

プラグ法は、キャピラリー内にその内容積より少ない量のコーティング溶液を導入し、それに適当なガス圧を加えてキャピラリー内のコーティング溶液（以下プラグという）を所要の一定速度で移動させることにより、キャピラリー内壁に固定相液体をコーティングする方法であるが、通常の場合ではコーティング溶液をキャピラリー前端に導入するときには流路を開放して流路内の圧力を常圧にもどさなければならず、このため流路内の圧力が所定の値に回復するまでの間はプラグの移動速度が変動するという欠点があった。この欠点を克服するために、加圧状態のままコーティング溶液をキャピラリー前端に導入するくふうのなされた例²¹⁾もあるが、袋小路ができてそこにコーティング溶液が残る可能性があるなど、まだじゅうぶんといえるものではなかった。このような問題を解決するため2.2のコーティング装置を試作した。

この装置を用い、長さ 20m、内径 0.25 mm のガラスキャピラリーについて、実際のコーティング溶液プラグの移動状況を推定するための実験を行なった。コーティング溶液として油溶性色素で赤色に着色したベンゼン溶液を用い、キャピラリー長さ約 5m に相当する量を導入して窒素ガスで圧力を加えた。プラグの移動速度は、キャピラリーの 1 巻分（約 33cm）を移動するのに要する時間をストップウォッチで計測することによって求めた。移動速度の測定は、キャピラリー長さ 1m ごとに行なった。測定結果を Fig. 5 (A)-(a) 曲線で示した。

Fig. 5 から明らかなように、キャピラリーの前後端で移動速度は著しい変動を示した。これは、キャピラリー前後の配管の流路抵抗と、キャピラリー内の流路抵抗とが一致していない（Fig. 5 の場合は、前後の抵抗のほうがかピラリー内の抵抗より小さい）ことに基因する現象であり、この変動を防ぐ方法としては、目的のキャピラリー前後にこれと同一材質同一内径のプラグ長さより長い補助キャピラリーを接続する方法が最も簡単であり効果も大きいと予想される。そこで長さ 10m、内径 0.25 mm の補助キャピラリーを Fig. 3 の (12)~(14) に示したようにキャピラリーの前後に接続し、上述の実験をくりかえした。その結果を Fig. 5 (B)-(b) 曲線で示した。Fig. 5 から明らかなとおり、キャピラリー前後端における速度変動はみられず、全体がほぼ一定速度となっている。なお、図上の移動速度のばらつきは、素材径の変動に基因するキャピラリー内径のばらつきと、測定誤差によるものと考えられる。また、補助キャピラリ

Fig. 5 Linear velocity of plug in column as function of time during coating process

(A) Top of the plug without buffer tubing; (B) Top of the plug with buffer tubing; (a) End of the plug without buffer tubing; (b) End of the plug with buffer tubing

ーの長さが短く、コーティング溶液を補助キャピラリー内に収容しきれない場合には、コーティング溶液の補助キャピラリーからはみ出した部分について流路抵抗の影響が現われ、その場合移動状況は Fig. 5 の (A)-(a) と (B)-(b) の中間形態をとることは容易に推定できる。したがって、補助キャピラリーの長さは、コーティング溶液プラグの長さより長いことが必要である。

3.2 カラムの製作

外径 7 mm、内径 2.5 mm、長さ 1.5m のパイレックス* ガラス管を水、アセトンでじゅうぶん洗浄し乾燥した。次にこのガラス管を島津ガラス延伸機 GDM-1 形により延伸し（延伸比 1:100）、外径 0.7 mm、内径 0.25 mm、コイル直径約 11 cm のコイル状ガラスキャピラリー 120m を得た。このキャピラリーを、アセトン約 20 ml を窒素ガスにより加圧送入する方法で再度洗浄し、窒素ガスを連続して約 5 時間流すことによって通気乾燥した。このキャピラリーを折り、20m の長さのものを 6 本得た。そのうちの 1 本は半分に折り、コーティング用キャピラリーの前後に接続した。次に試作したコーティング装置を用い、10% (w/v) OV-17/n-ヘキサン溶液 0.3 ml を窒素ガスで加圧してキャピラリーに通し、コーティング溶液がキャピラリーを通過したのちも、窒素ガスを連続して約 4 時間流し、溶媒である n-ヘキサ

* ホウケイ酸ガラス (borosilicate glass) の商品名。

ンを乾燥除去した. このようにして得られたガラス製 WCOT カラムを Fig. 4 の流路構成でガスクロマトグラフに接続して, カラム恒温そうを室温から 250°C まで 2°C/min で昇温し, 到達温度 250°C で 3 時間エージングしたあとでカラムの性能を検討した.

3.3 コーティング溶液の移動速度とカラム効率の関係

コーティング時におけるプラグの移動速度が, カラム効率に与える影響を調べるために, コーティング溶液の量を 0.3 ml と一定にし, 室温でコーティング圧力を 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 kg/cm² に設定し, プラグの移動速度をおおの 1.7, 2.8, 5.5, 8.3, 14 cm/sec と変化させ, 他の条件はすべて同一に設定しカラムを製作した. これらのカラムの性能を調べるために, コレスタンピークを用い HETP 曲線を作成し, 比較検討した. その結果, Fig. 6 に示したように, カラム製作において最適のプラグ移動速度があり, 5~8 cm/sec の範囲が適当であることがわかった. またこの実験ではプラグ移動速度を 5.5 cm/sec に設定したカラムが最も高いカラム効率を示した. このカラムの最小 HETP 値は 0.043 cm であった. 1 m あたりの理論段数にすると約 2300 段となり, 理論段数は 46000 段となる. ただし, HETP 値の計算に用いた保持時間は試料導入時から測定した値を, キャリヤーガス流量は室温で測定した値を用いた.

Fig. 6 Relation between HETP and carrier gas flow rate (ml/min) for 20m(L), 0.25 mm (I. D.) glass capillary column coated with 10% (w/v) OV-17 in *n*-hexane

Coating velocity: (1) 1.7 cm/sec, (2) 2.8 cm/sec, (3) 5.5 cm/sec, (4) 8.3 cm/sec, (5) 14.0 cm/sec; Sample: Cholestane; Column temp.: 250°C; Injection port detector temp.: 280°C; Coating solution: 0.3 ml

3.4 コーティング溶液移動速度と分配比の関係

3.3 で製作したカラムについて, プラグの線速度と分配比 k の関係を検討した. 分配比 k は, $k = (t_R - t_M) / t_M$ という式から求めた. ただし t_R は注入時からのコレスタンピークの保持時間, t_M はメタンピークの保持時間である. 縦軸に k , 横軸にプラグの線速度をとりプロットした結果を Fig. 7 に示した. Fig. 7 からプラグの線速度と分配比 k との間には比例関係があることがわかる. また一般に分配比の増加はキャピラリー内壁にコーティングされた固定相液体層の厚さの増加を意味するもので, 固定相液体層の厚さは, コーティング溶液の移動速度に比例するという結果が得られたことになる. この結果は Kaiser¹⁷⁾ が報告している内容と一致している.

Fig. 7 Relation between capacity ratio k and coating velocity (cm/sec) for 20m(L) 0.25 mm (I. D.), glass capillary columns coated with a 10% (w/v) solution of OV-17 in *n*-hexane

Column temp.: 250°C; Injection, detector: 280°C; Carrier gas flow rate: 1.5 ml/min

3.5 カラム寿命の検討

カラムの寿命を検討するために, 3.3 の実験において最も低い HETP 値を示したカラム (プラグ線速度 5.5 cm/sec) を用い, カラム温度 250°C, 試料気化室温度 280°C, 検出器温度 280°C, キャリヤーガス流量 1.0

ml/min に設定し、連続 840 時間運転し、連続運転後、連続運転前に測定したときと同条件で HETP 曲線を作成し、カラムの劣化状態を比較検討した結果を Fig. 8 に示した。また連続運転中のコレステロールピークの保持時間の移動を測定した結果を Fig. 9 に示した。840 時間の連続運転は通常 1 日 8 時間使用するとすれば、105 日間 (3.5 か月) に相当し、Halasz の場合の 2~3 日に比べて非常に長い期間である。この長期にわたる使用後のカラムの性能は、Fig. 8 の HETP 曲線からわかるように、ある程度の劣化が認められる。しかし最小 HETP 値に関しては、3.5 か月前の 0.043 cm (理論段数にして約 2300 段/m) に対して、0.063 cm (理論段数にして約 1600 段/m) と約 30% の変動にすぎず、理論段数 1600 段/m はじゅうぶんまだ使用できる値である。また Fig. 9 に示した保持時間の減少曲線からあ

Fig. 8 Comparison of HETP curves before and after 840 hours continuous operation

(1) After 840 hours running; (2) before 840 hours running

Fig. 9 Variation of the retention time during the continuous run

Fig. 10 Chromatogram of steroids

Conditions—20m (L), 0.25 mm (I. D.) glass capillary column coated with 10% (w/v) OV-17 in *n*-hexane, column: 250°C, injection port, detector: 280°C; (1) Cholestane; (2) Cholesterol

Fig. 11 Chromatogram of trimethylsilyl sterols in soybean

Conditions—50m (L), 0.25 mm (I. D.) glass capillary column coated with 10% (w/v) OV-17 in *n*-hexane, column: 260°C, injection port, detector: 320°C; (1) Campesterol; (2) Stigmasterol; (3) β-Sitosterol

る程度減少すればそれ以降は著しい減少はみられないことがわかる。たとえば Fig. 9 において、480 時間以降 840 時間までの保持時間の減少は 10.4 min から 9.3 min と約 10% の減少ということになる。またこの期間は 1 日 8 時間の使用とすれば 45 日間に相当する。その

うえ実際の定性操作は保持時間の変動に左右されない相対保持比を利用するのが普通なので, 実用上は大きな問題ではない. 連続運転後のクロマトグラムを Fig. 10 に示した. このクロマトグラムからもまだじゅうぶん使用できることがわかる. 以上の結果, 試作したガラス製 WCOT カラムは 250°C においてじゅうぶん使用に耐えることがわかった. またこれらのデータはカラム温度 250°C の場合であるが, 当然カラム温度を低くすれば劣

化の状態は緩和され, 使用期間 (カラム寿命) はより長くなるものと思われる.

3.6 応 用

応用例として, OV-17, OV-101, Poly I-110 などの固定相液体を用いて, 種々の長さのガラス製 WCOT カラムを製作し, ガラス製である特長を生かした分析例として, 大豆中のコレステロール (Fig. 11), コレステロールとコレスタノール (Fig. 12), アミノ酸 (Fig. 13), およびステロイド混合物 (Fig. 14) の分離を示した. その他の応用例としてガソリン (Fig. 15), 軽油 (Fig. 16), パラフィンワックス (Fig. 17) のクロマトグラムを示した. これらのクロマトグラムから, ステロイド類, ステロール類, アミノ酸など従来もっぱら比較的直径の大きい

Fig. 12 Chromatogram of trimethylsilyl cholesterol and cholestanol

Conditions—50m (L), 0.25 mm (I. D.) glass capillary column coated with 2% (w/v) Poly I-110 in a mixture of toluene and isopropanol (95:5), column: 260°C, injection port detector: 300°C; (1) Cholesterol; (2) Cholestanol

Fig. 13 Chromatogram of amino acids (*N*-TFA, *n*-butyl esters)

Conditions—34m (L), 0.25 mm (I. D.) glass capillary column coated with 10% (w/v) OV-101 in *n*-hexane, injection port, detector: 300°C

Fig. 14 Chromatogram of model trimethylsilyl steroids

Conditions—20m (L), 0.25 mm (I. D.) glass capillary column coated with 2% (w/v) Poly I-110 in a mixture of toluene and isopropanol (95:5), injection port, detector: 300°C; (1) Androsterone; (2) Etiocholanolone; (3) Dihydrocypandrosterone; (4) Pregnandiol; (5) Testosterone; (6) Cholestane; (7) Cholesterol; (8) Progesterone

Fig. 15 Chromatogram of regular gasoline

Conditions—34m (L), 0.25 mm (I. D.) glass capillary column coated with 10% (w/v) OV-101 in *n*-hexane, injection port, detector: 150°C

Fig. 16 Chromatogram of light oil

Conditions—34m (L), 0.25 mm (I. D.) glass capillary column coated with 10% (w/v) OV-101 in *n*-hexane, injection port, detector: 250°C

Fig. 17 Chromatogram of paraffin wax (mp 62~64°C)

Conditions—20m (L), 0.25 mm (I. D.) glass capillary column coated with 2% Poly I-110 in a mixture toluene and isopropanol (95:5), injection port, detector: 300°C; (1) C₂₅; (2) C₃₀; (3) C₃₅

4 結 言

ガラス製充填カラムで分析され、かつ分離が非常に困難であった物質に対しても、これらのガラス製 WCOT カラムがじゅうぶんに適用でき、かつより高い分離能が得られることがわかった。たとえば大豆中のステロールである campesterol と stigmasterol の分離度 R は 3.6 であった。また通常充填カラムでは分離不可能であるコレステロールとコレスタノールも完全分離ができ、この時の分離度 R は 2.0 であった。

従来、製作および使用困難であるとされている内面処理をしないガラス製 WCOT カラムを試作し、コーティ

ング条件の検討, およびカラムの性能を検討した. その結果, カラム効率も高く, 寿命もかなり長くじゅうぶんに使用可能であることがわかった. このガラス製 WCOT カラムは, 従来充てんカラムしか使用されていず, より以上の高分離分析が望まれている生化学分野において, 大いに威力を発揮するものと考えられる.

(1973 年 4 月 5 日, 日本化学会第 28 春季年会において一部発表)

文 献

- 1) M. Novotny, A. Zlatkis : *J. Chromatog. Sci.*, **8**, 346 (1970).
- 2) M. Novotny, A. Zlatkis : *J. Chromatog.*, **56**, 353 (1971).
- 3) R. G. Mathews, R. D. Schwartz, M. Novotny, A. Zlatkis : *Anal. Chem.*, **43**, 1161 (1971).
- 4) J. A. Völlmin : *Chromatographia*, **3**, 233 (1970).
- 5) J. A. Völlmin : *ibid.*, **3**, 238 (1970).
- 6) K. Tesarik : *J. Chromatog.*, **65**, 295 (1972).
- 7) K. Grob : *Helv. Chim. Acta*, **51**, 718 (1968).
- 8) M. Novotny, K. Tesarik : *Chromatographia*, **1**, 332 (1968).
- 9) M. Novotny, K. D. Bartle : *ibid.*, **3**, 272 (1970).
- 10) E. L. Ilkova, E. A. Mistryukov : *ibid.*, **4**, 77 (1971).
- 11) M. J. E. Golay (D. H. Desty, Ed.) : "Gas Chromatography 1958", p. 36 (1958), Butterworths, London).
- 12) G. Dijkstra, J. Goey (D. H. Desty, Ed.) : *ibid.*, p. 56 (1958), (Butterworths, London).
- 13) D. H. Desty, A. Goldup, B. H. F. Whyman : *J. Inst. Petrol.*, **45**, 287 (1959).
- 14) L. S. Ettre : "Open Tubular Columns in Gas Chromatography", p. 76 (1965), (Plenum Press, New York).
- 15) D. H. Desty, J. N. Haresnape, B. H. F. Whyman : British Patent 899,909, April 9, (1959).
- 16) J. Bouche, M. Verzele : *J. Gas Chromatog.*, **6**, 501 (1968).
- 17) R. Kaiser : "Gas Phase Chromatography", Vol. II, p. 45 (1963), (Butterworths, London).
- 18) M. Novotny, K. D. Bartle, L. Blomberg : *J. Chromatog.*, **45**, 469 (1969).
- 19) M. Novotny, L. Blomberg, K. D. Bartle : *J. Chromatog. Sci.*, **8**, 390 (1970).
- 20) T. Boogaerts, M. Verstappe, M. Verzele : *ibid.*, **10**, 217 (1972).
- 21) R. L. Levy, D. A. Murray, H. D. Gesser, F. W. Hougen : *Anal. Chem.*, **40**, 459 (1968).

☆

A study on glass open tubular columns used in gas chromatography. Hisashi SAITÔ and Osamu FURUKAWA (Scientific and Industrial Instrument Division, Shimadzu Seisakusho Ltd., Nishioji Sanjo,

Nakagyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto)

In most of papers relating to the making of the glass wall coated open tubular (WCOT) columns, the pre-treatment process, which means the inner surface modification of the glass capillary by various corrosive reagents, was regarded as indispensable to achieve the uniform stationary phase coating. We aimed in this paper to dispense with this complicated pre-treatment process and produced glass WCOT columns which have no modification on their inner surfaces to investigate the column characteristics.

For the preparation of glass WCOT columns, glass capillaries (0.7 mm outside diameter, 0.25 mm inside diameter, 20 m long) were produced by using a commercially available glass drawing machine, and they were coated with different stationary phases by the dynamic coating method by the use of a newly constructed coating apparatus. The coating apparatus was so constructed that the flow in the glass capillary could be switched without any pressure change by the one-touch action from the gas to the stationary phase solution and *vice versa*, and that the fluctuation of the flow rate of the stationary phase solution in the capillary was minimized by the two auxiliary capillary attached before and after of the main. For searching the optimum coating conditions, the relationship between the coating flow rate and the column efficiency, and the relationship between the coating flow rate and the partition ratio k were studied by using 0.3 ml of a 10% (w/v) OV-17/*n*-hexane solution. The suitable coating flow rate was found to be in the range 5 to 8 cm/sec, and the average film thickness coated on the capillary inner wall was confirmed to be proportional to the coating flow rate. From these results, glass WCOT columns having no modification on inner surface were produced, and attached to the newly constructed all-glass capillary column holder, then examined by gas chromatography. The maximum number of theoretical plates determined at 250°C for cholestane was 2300/m. To examine the temperature stability and lifetime, these columns were used continuously for 840 hrs under the condition of the 250°C column temperature, and the minimum HETP values before and after that were compared. Only 30% change could be found out between them. These results show that the glass WCOT columns having no modification on inner surface is promising for the practical use.

For the application, various samples mainly related to biochemical substances such as sterols in soybean, a mixture of cholesterol and cholestanol, amino acids, a mixture of steroids, etc. were analysed with the glass WCOT columns coated with OV-17 (phenyl methyl silicone), OV-101 (dimethyl silicone), Poly I-110 (polyimide). Campesterol and stigmasterol, cholesterol and cholestanol, which were very difficult to resolve completely with a conventional packed column, were separated with these glass WCOT columns by 3.6 and 2.0 of peak resolution R respectively. Good results were obtained for other substances with these glass WCOT columns.

(Received May 18, 1973)