

L-column シリーズ セミ分取カラム・分取カラム

製品情報
Vol. 02

分取液体クロマトグラフィーとは、分析種を含む画分を集めることを目的とした液体クロマトグラフィーです。得られるクロマトグラムのピーク部分に相当する溶出液を採取することによって、分離された分析種の分取・精製を行うことができます。JIS K 0124:2011では、カラムの内径が10 mm以上、50 mm未満のカラムをセミ分取カラムと分類しています。

L-column シリーズのセミ分取カラム・分取カラムは、汎用カラムと同じ形状のカラム(内径10 mm, 20 mm)と、再充填可能なスプリング式カラム(内径25 mm, 50 mm)をご用意しています。大量分取も可能です。



■ 分取の基礎

一般に分取を行う前に、分析用のカラムで分離状態を確認後、目的成分の必要量から分取に用いるカラムの内径を選択し、スケールを大きくします。

最適流速は、内径の断面積に比例します(Table 1)。内径20 mm以上のカラムを使用するときは、送液量が多いので、専用の送液ポンプが必要になります。

Table 1 カラム内径と移動相流速

| 内径(mm) | 断面積(mm ²) | 最適流速 | 注入量の目安 |
|--------|-----------------------|------------|--------------|
| 4.6 | 16.61 | 1 mL/min | 20 μ L |
| 10 | 78.5 | 5 mL/min | 100 μ L |
| 20 | 314 | 20 mL/min | 400 μ L |
| 25 | 490.6 | 30 mL/min | 600 μ L |
| 50 | 1962.5 | 120 mL/min | 2400 μ L |

分析用のカラムと分取用のカラムは同じ充填剤のものを用いるのが望ましく、L-column2 は、どの内径でもほぼ同じ分離状態が得られます(Fig.1①②③)。

粒子径を変更する場合は、カラム長さで粒子径の値が同程度になるようにカラム長さを選択し、移動相の線速度を最適化するとほぼ同じ分離状態が得られます※1。分離度(R_s)とカラム長さ(L)、粒子径(dp)は、次の関係にあります。

$$R_s \propto \frac{L}{dp}$$

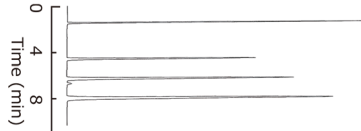
例えば、以下のように選択します。

分析用(Fig.1④): 3 μ m, 100 mmL. ($L/dp \approx 3.33$)
分取用(Fig.1②③): 5 μ m, 150 mmL. ($L/dp = 3$)

微量成分の分取の場合は、分析種の損失を少なくするために非特異的吸着の少ないカラムを使用することが望ましくなります。L-column2 はシリカ系逆相カラムの二次的相互作用(シラノール基や金属不純物との相互作用)を排除し低吸着なので、分取用カラムとしても最適です。

① 5 μ m, 4.6 mm I.D. \times 150 mmL.

Cat.No.722070

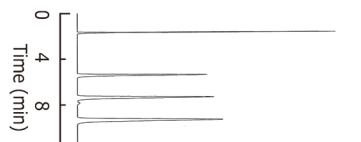


Flow rate: 1 mL/min
Inj.vol.: 1 μ L

$t_{R(4)} = 8.09$
 $N_{(4)} = 15700$
 $R_{S(3,4)} = 6.70$

② 5 μ m, 10 mm I.D. \times 150 mmL.

Cat.No.742510

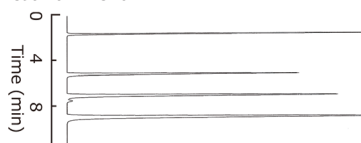


Flow rate: 4 mL/min
Inj.vol.: 20 μ L

$t_{R(4)} = 9.35$
 $N_{(4)} = 13500$
 $R_{S(3,4)} = 6.19$

③ 5 μ m, 20 mm I.D. \times 150 mmL.

Cat.No.742520

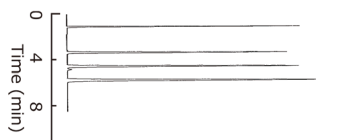


Flow rate: 17 mL/min
Inj.vol.: 100 μ L

$t_{R(4)} = 8.88$
 $N_{(4)} = 13300$
 $R_{S(3,4)} = 6.17$

④ 3 μ m, 4.6 mm I.D. \times 100 mmL.

Cat.No.721180



Flow rate: 1 mL/min
Inj.vol.: 1 μ L

$t_{R(4)} = 5.40$
 $N_{(4)} = 14000$
 $R_{S(3,4)} = 6.20$

[Analytical conditions]

Column: L-column2 ODS
Mobile phase: CH₃CN/H₂O (60/40)
Temp.: Ambient; Detection: UV 254 nm
Sample: 1. Uracil; 2. Benzene; 3. Toluene; 4. Naphthalene

Fig. 1 L-column2 性能試験※2

※1 USPでは粒子径、カラム長さを移管する際(Isocratic)、 L/dp の値が-25%~+50%までは可とし、同等の性能であるとされています(First Supplement to USP 37-INF 32<621>chromatography Aug 1, 2014)
※2 移動相流速や注入量により、LCシステムを変更して測定しています。そのため理論値と実測値は異なります。

■ アプリケーション① 生薬有効成分(Fig.2)

分取分画するには、溶出時間、液滴数、検出ピークによって分取する方法などがあります。分取はいかに効率良く目的成分を分取できるかが重要です。このため、分離度や負荷量がポイントになります。負荷量が多くなると、分離度が低下しピーク形状が悪くなります。夾雑物との分離が十分で、負荷量を超えない範囲で注入量を増やします。

Fig.2では、甘草抽出液中のグリチルリチンの分析条件を内径4.6 mmのカラムで決定後(Fig.2①)、溶出時間で分画位置を決定し、内径20 mmのカラムで分取しました(Fig.2②)。不純物との分離が十分であるため、目的物質を高純度で分取できました。Fig.2③のように負荷量を超えると、ピーク割れを起こし、効率良く分取ができないので注意が必要です。

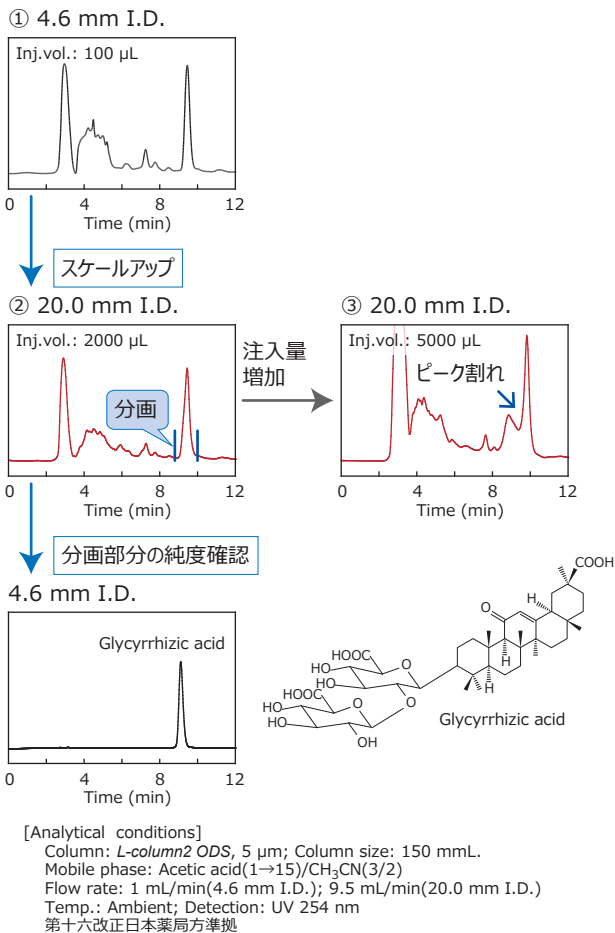


Fig.2 甘草抽出液中のグリチルリチン

■ アプリケーション② 解熱鎮痛剤(Fig.3)

分取用のカラムにスケールアップする際は、分析用のカラムで分離を損なわない程度の最大注入量を把握します。

Fig.3では、市販カラムにて大量注入したときの分離度の変化を比較しました。L-column2 ODS は、分析用カラムでの分離度が十分なため、大量注入しても分離度を保つことができます。分取用のカラムへスケールアップしても分離は十分なので、さらに注入量を増やし、分取効率を向上することも可能です。

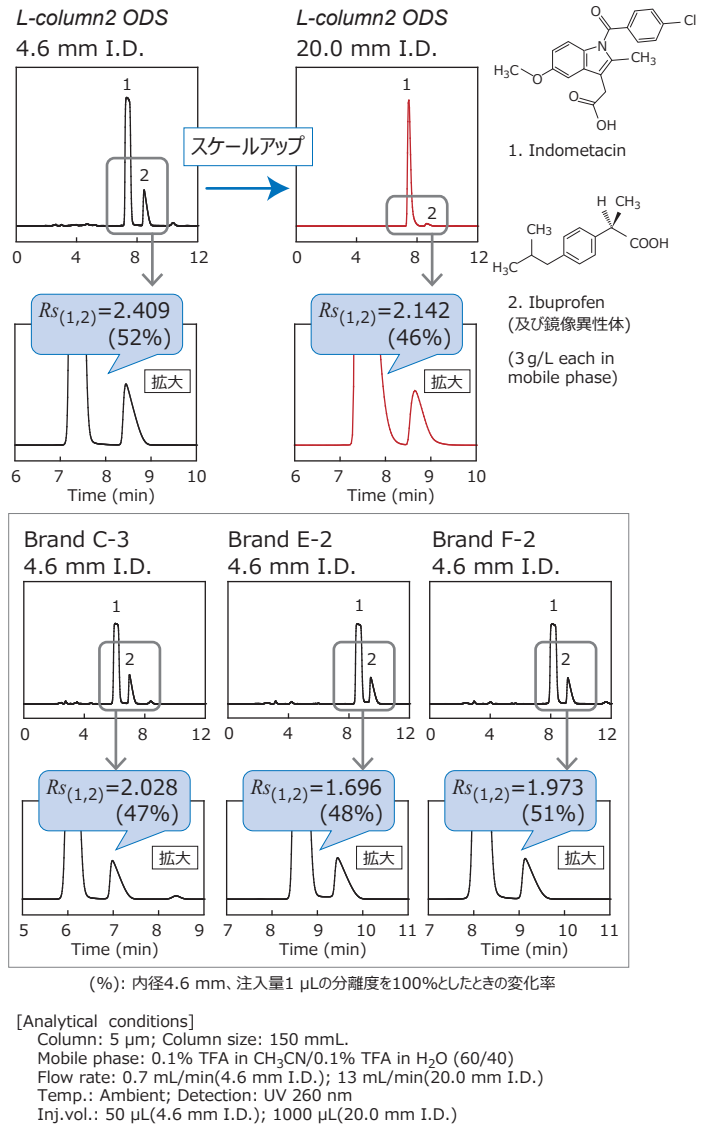


Fig.3 解熱鎮痛剤(インドメタシン、イブプロフェン)

参考 高速液体クロマトグラフィー通則(JIS K 0124:2011)

リーフレット内容に関してのお問合せは、東京事業所クロマト技術部又は最寄りの代理店までご連絡ください。

CERI 一般財団法人 化学物質評価研究機構
Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan
<http://www.cerij.or.jp>



東京事業所 クロマト技術部
e-mail chromato@ceri.jp

TEL 0480-37-2601 FAX 0480-37-2521
〒345-0043 埼玉県北葛飾郡杉戸町下高野1600番地