

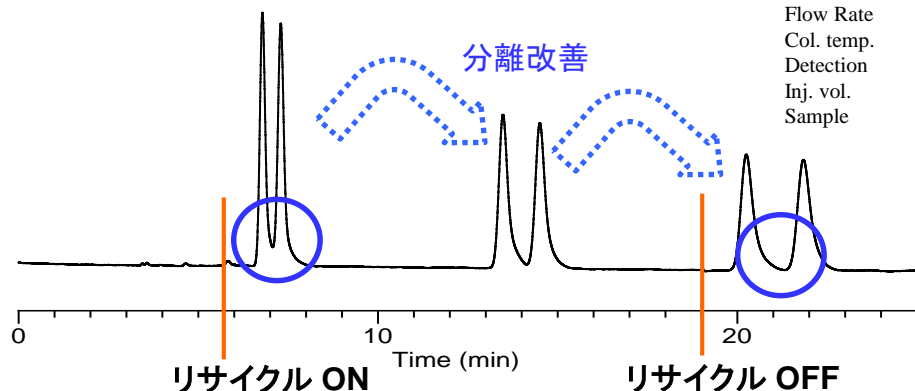
カラムスイッチングリサイクル分取システム ～シイタケ抽出液の分取例～

リサイクルLCは分離不十分なピークを改善するため、特に分取に有効な手法です。しかし、目的成分の後に夾雑成分が溶出しないことなどリサイクルLCが適応が難しい場合も多いです。今回は、リサイクルバルブとスイッチングバルブを組み合わせることで、従来はリサイクルLCを適応することが難しかったケースでもリサイクル分離を可能にするシステムをご紹介します。＜弊社特許：特許第5148632号＞

(K. Kanno)

リサイクルLCのメリット

リサイクルLCは分離不十分なピークの分離を改善できることが最大のメリットです。



Conditions

Column	: Inertsil Diol 5 μm, 250 × 20 mm I.D.
Eluent	: A) Hexane B) Ethanol A/B = 85/15, v/v
Flow Rate	: 15 mL/min
Col. temp.	: 35 °C
Detection	: UV 300 nm
Inj. vol.	: 500 μL
Sample	: Androsterone and Epiandrosterone (0.5 % each in Eluent)



しかし、リサイクルLCでは適応が難しいケースも多いです。

適応が難しいケースの例

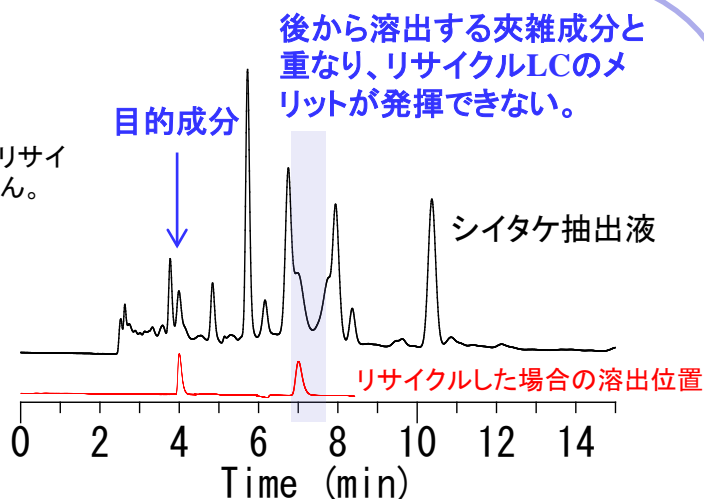
<ケース1>

夾雑成分が多い場合はリサイクルLCは不向きです。特に、目的成分の後に夾雑成分が溶出する場合は、リサイクルした成分が夾雑成分と重なり上手く分取できません。

～解決方法～

カラムスイッチングリサイクル分取LC利用で解決できるケースがあります。

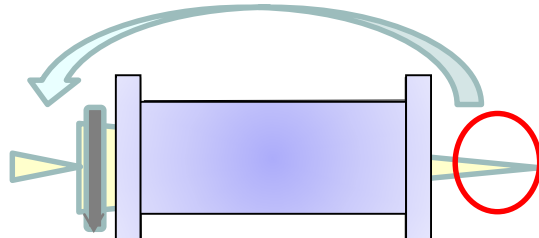
⇒本テクニカルノートで紹介



<ケース2>

リサイクルLCでは移動相もリサイクルすることになるため、カラムの入口と出口で溶媒組成が変化するグラジエント分取には不向きです。また、グラジエント溶出ではミキサーが必須ですが、ミキサーをサンプルが通過することでサンプル拡散により分離が悪化してしまいます。リサイクルLCではイソクラティック条件にて分取を行うのが一般的です。

グラジエントでは溶媒組成が変化

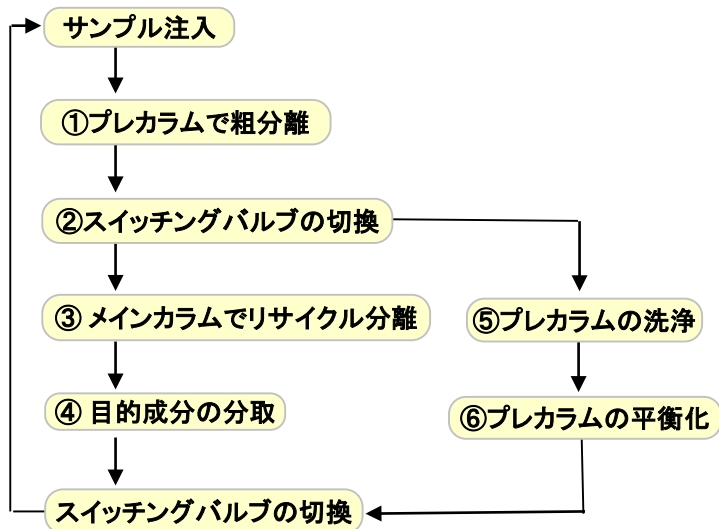


ミキサー

デットボリュームとなりリサイクル効率の低下

シイタケ抽出液サンプルの処理例

シイタケ抽出液には分取対象の目的成分以外に多くの夾雑成分がありリサイクル分離が難しいです。そこで、目的成分よりも後に溶出する夾雑成分をプレカラムで分離しスイッチングバルブを切り換えることで、リサイクル分離を可能とすることができました。



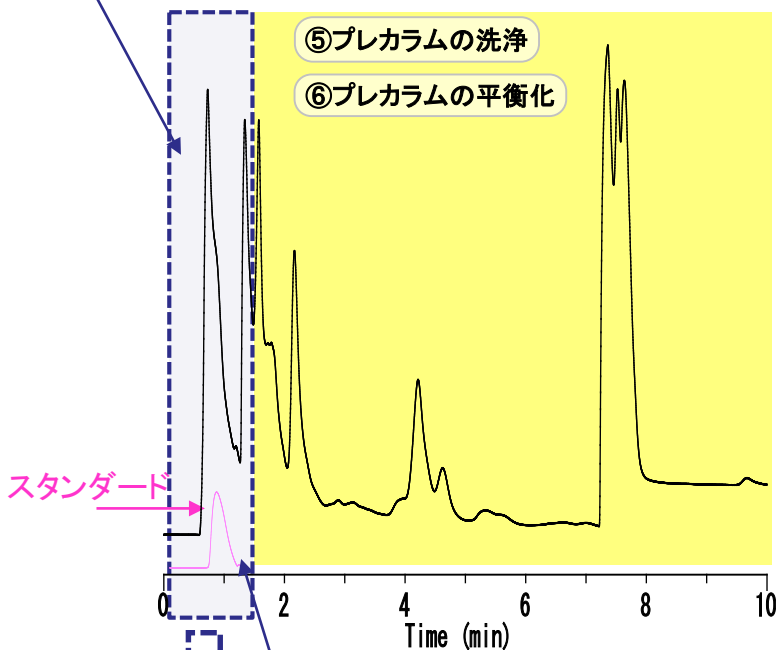
分取用送液ポンプ:PU714M



分取用送液ポンプPU714M(最大流量:20 mL/min)は低圧グラジエントユニットを付けることで最大4液のグラジエント送液が1台のポンプで可能です。

分取対象の目的成分までがプレカラムを通過後、スイッチングバルブを切り換えます。切換後、プレカラムを洗浄し、移動相にて平衡化します。この洗浄→平衡化の操作はメインカラムでリサイクル分離している間に終了します。

①プレカラムで粗分離



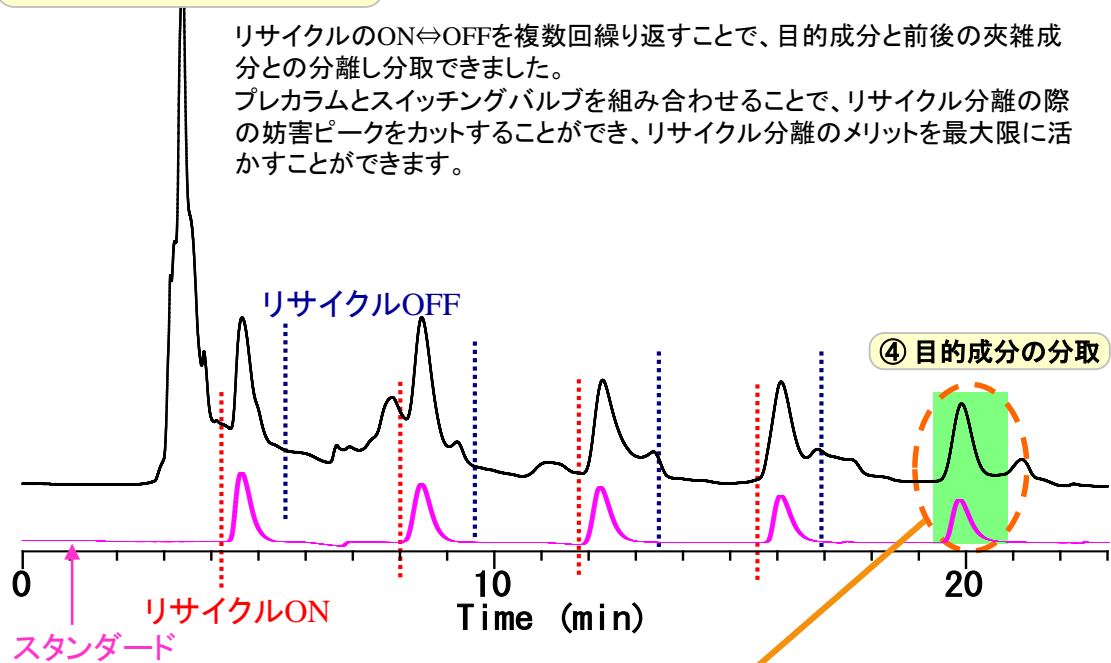
②スイッチングバルブの切換

粗分離成分のみをメインカラムへ導入しリサイクル分離(次項)



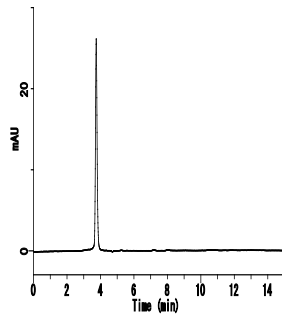
③ メインカラムでリサイクル分離

リサイクルのON⇔OFFを複数回繰り返すことで、目的成分と前後の夾雑成分との分離し分取できました。
 プレカラムとスイッチングバルブを組み合わせることで、リサイクル分離の際の妨害ピークをカットすることができ、リサイクル分離のメリットを最大限に活かすことができます。



純度確認

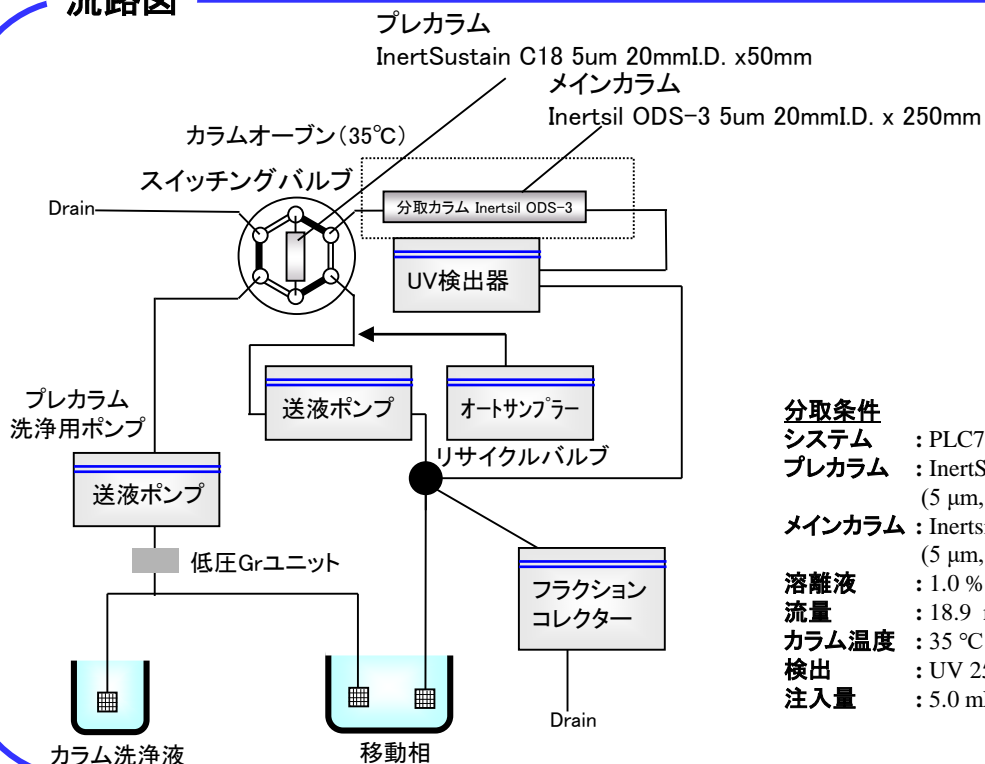
分画液をHPLCにて分析し、夾雑成分と分離して良好に分取できていることを確認しました。



HPLC条件

- システム : GL7700 HPLC System
- カラム : Inertsil ODS-3 (5 μm, 250 x 4.6 mm I.D.)
- 溶離液 : 1.0% CH₃COOH in H₂O
- 流量 : 1.0 mL/min
- カラム温度 : 35 °C
- 検出 : UV 250 nm
- 注入量 : 10 μL
- サンプル : 分画液

流路図



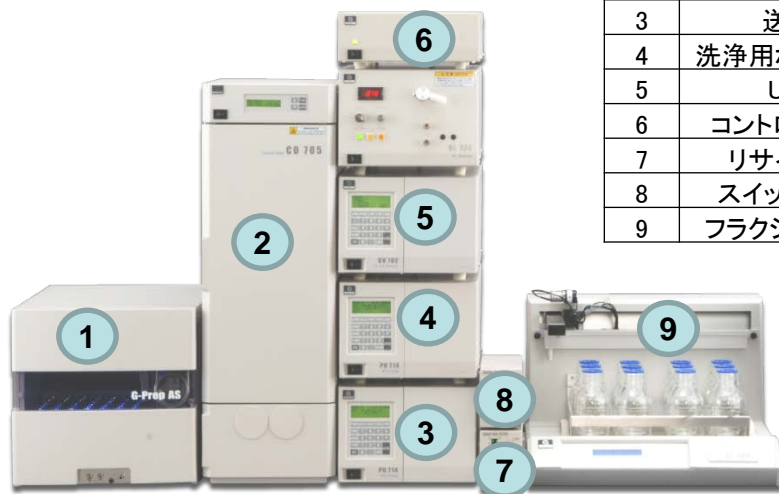
分取条件

- システム : PLC761 System
- プレカラム : InertSustain C18 (5 μm, 50 x 20 mm I.D.)
- メインカラム : Inertsil ODS-3 (5 μm, 250 x 20 mm I.D.)
- 溶離液 : 1.0% CH₃COOH in H₂O
- 流量 : 18.9 mL/min
- カラム温度 : 35 °C
- 検出 : UV 250 nm
- 注入量 : 5.0 mL

分取HPLC装置:PLC761

カラムスイッチングリサイクル分取システムではリサイクルバルブとスイッチングバルブの切換があり非常に煩雑な操作が必要になりますが、PLC761分取システムではすべての切換操作がPLC761ソフトウェアにて自動化することができます。

番号	品名	型式
1	オートサンプラー	G-Prep AS
2	カラムオープン	CO705C
3	送液ポンプ	PU714M
4	洗浄用ポンプ(低圧Gr)	PU714M LPG
5	UV検出器	UV702
6	コントロールボックス	SC762
7	リサイクルバルブ	PLC-6RcA
8	スイッチングバルブ	VF-11
9	フラクションコレクター	FC204



分取カラム

分取LCでは内径を太くすることでスケールアップします。Inertsil シリーズは分取サイズカラムでも分析サイズカラムと同等の性能を有するため、分析用カラムで構築した条件をスムーズにスケールアップできます。

条件
システム : PLC761 System
プレカラム : Inertsil ODS-3 (5 μ m, 250 mm)
 (内径は各クロマトグラムに記載)
溶離液 : 水/アセトニトリル = 35/65, v/v
流量 : 線速度 1 mm/secにに合わせて流量
検出 : UV 254 nm

