

高速液体クロマトグラフィー

HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

181

分取クロマトグラフィーの応用(その1)

Application Data of Preparative Liquid Chromatography (No.1)

LC-8Aを用いた簡便なスケールアップ法

Simple and Easy Scale-up Concept with LC-8A

近年、合成試薬や抽出物の精製、あるいは構造解析のために、広く分取クロマトグラフィーが用いられてきています。しかし、一般の分取用カラムの体積は分析用の10~10²倍となり、絶対注入量は分析時の10³~10⁶倍にも達し、分析時のデータを元にして直接分取を行うことがしばしば困難となります。そこで、LC-8Aを用いた簡便なスケールアップ法について紹介します。

手順としてまず、基本的に同特性の充てん剤をパックした分析用カラムと分取用カラムを準備します。これらに、同じ移動相を同じ線速度で送液しながら試料を注入し、同様な分離パターンが得られることを確認します。Fig.1では、4.6mm内径の分析用カラムと20mm内径の分取用カラム(この場合、断面積比、体積比とも約19倍)を用いて、ベンゼン誘導体混合物を分析しています。

同じ分離パターンが得られていることがわかります。ここで、注入量が20倍になっているにもかかわらず、両者の感度・面積値がほぼ等しいのは、流量比も19倍であるために、試料の希釈倍率が同等となるためです。

Table1 Fig.1の分析条件
Analytical Conditions of Fig.1

Sample	: Name and concentration are shown in Fig.1
Injection volume	: for analytical column 5 μ l for preparative column 100 μ l
Column	: for anal. Shim-pack PREP-ODS(H)kit (4.6mm I.D. \times 250mm L.) for prep. Shim-pack PREP-ODS(H)kit (20mm I.D. \times 250mm L.)
Mobile phase	: Methanol/10mM(Sodium) phosphate (pH2.6)=9/1
Flow rate	: for anal. 0.8ml/min for prep. 15ml/min
Column temp.	: Room temperature
Detection	: Absorbance at 250nm 0.32AUFS (using analytical cell)

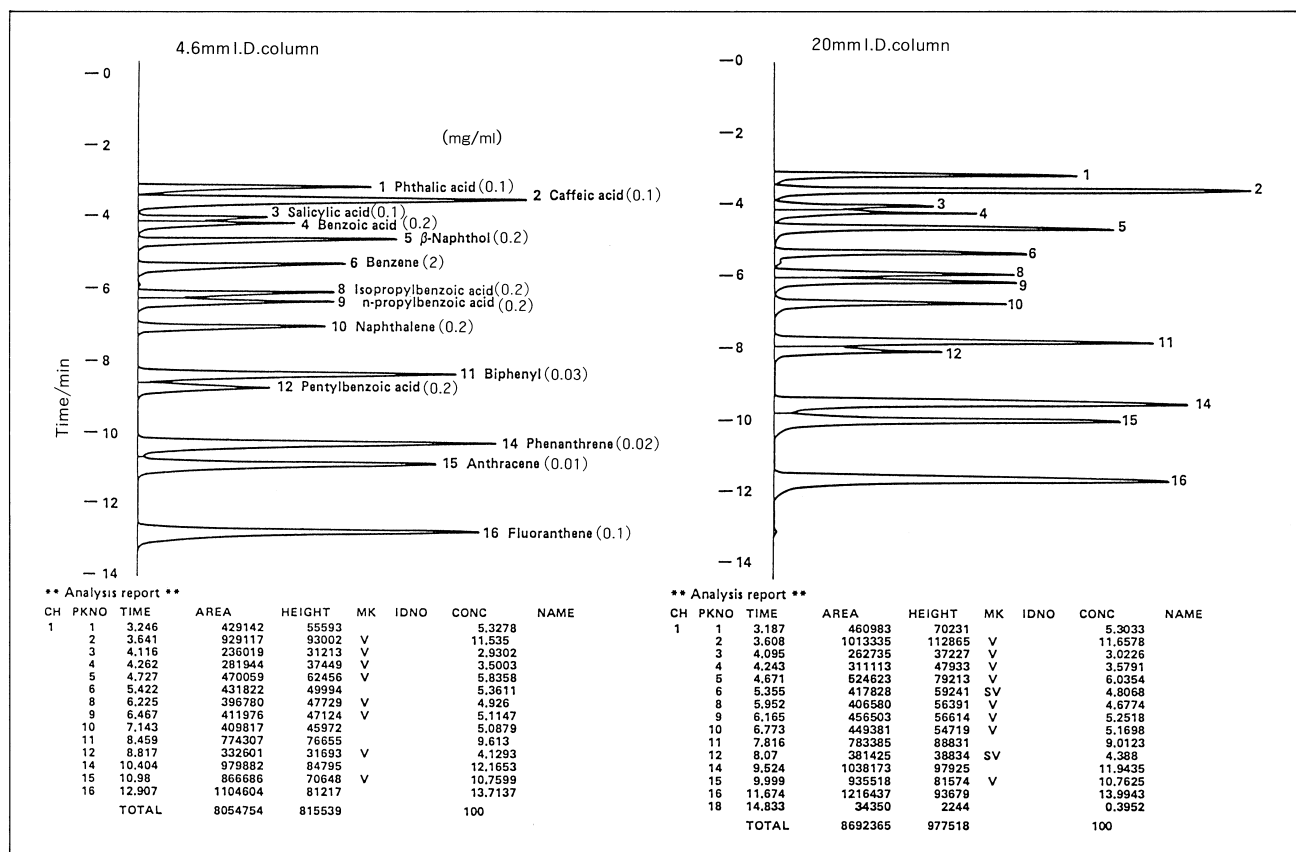


Fig.1 ベンゼン誘導体混合物の分析例
Chromatograms of Benzene Derivative Mixture

クロマトグラムに変化をもたらさない「同濃度の成分バンドが検出器のセルに同時間滞留しているもの」と理解されます。また、このように両者を比較していく場合、Fig.2に示すような流路をLC-8Aシステムで構成すれば、カラムスイッチングバルブを切替るだけで、分析用にも分取用にも使用することができます。

つぎに、分析用カラムを用いて最大負荷量試験を紹介します。Fig.3-A~Dは、500mg/mlベンゼンを含む混合液を容量を変えて注入した結果です。本条件では、ベンゼンのピークが検出スケールをオーバーしないように、波長を極大吸収からずらして270nmとしたために、相対的に小さなレスポンスとなっています。また、面積が注入量に比例せず飽和となっているのは、高い濃度のためにBeerの法則が成り立たなくなっているものと考えられます。この試験の結果、本分析条件で4.6mm内径のカラムに、絶対注入量25mg程度を負荷できることがわかりました。なお、負荷量は成分や分析条件によって異なります。したがって、もし負荷量を増加していく過程において、少ない負荷量でピークが極端に変形したり、他成分と未分離となる場合は、分析条件を検討し直さなければなりません。そして最後に、Fig.3-Eに示したように、分取用カラムに体積比に応じた負荷量（この場合は絶対注入量500mg）を注入します。Fig.3-Cと比べ、ほぼ同じパターンが得られています。

このような手順により、必要最少限の試料、移動相消費量で簡単にスケールアップを行うことができます。

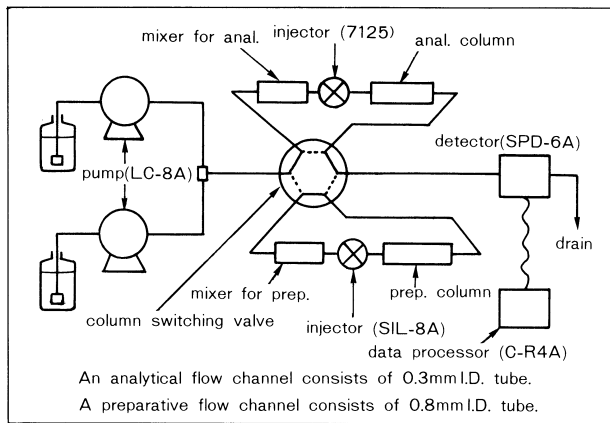


Fig.2 流路図
Flow System

Table2 Fig.3の分析条件
Analytical Conditions of Fig.3

Sample	: A Mixture including 500mg/ml benzene
Injection volume	: Shown in Fig.3
Column	: for anal. Shim-pack PREP-ODS(H)kit (4.6mm I.D. × 250mm L.) for prep. Shim-pack PREP-ODS(H)kit (20mm I.D. × 250mm L.)
Mobile phase	: Methanol/10mM(Sodium)phosphate (pH2.6)=9/1
Flow rate	: for anal. 0.8ml/min for prep. 15ml/min
Column temp.	: Room temperature
Detection	: Absorbance at 270nm 2.56AUFS (using analytical cell)

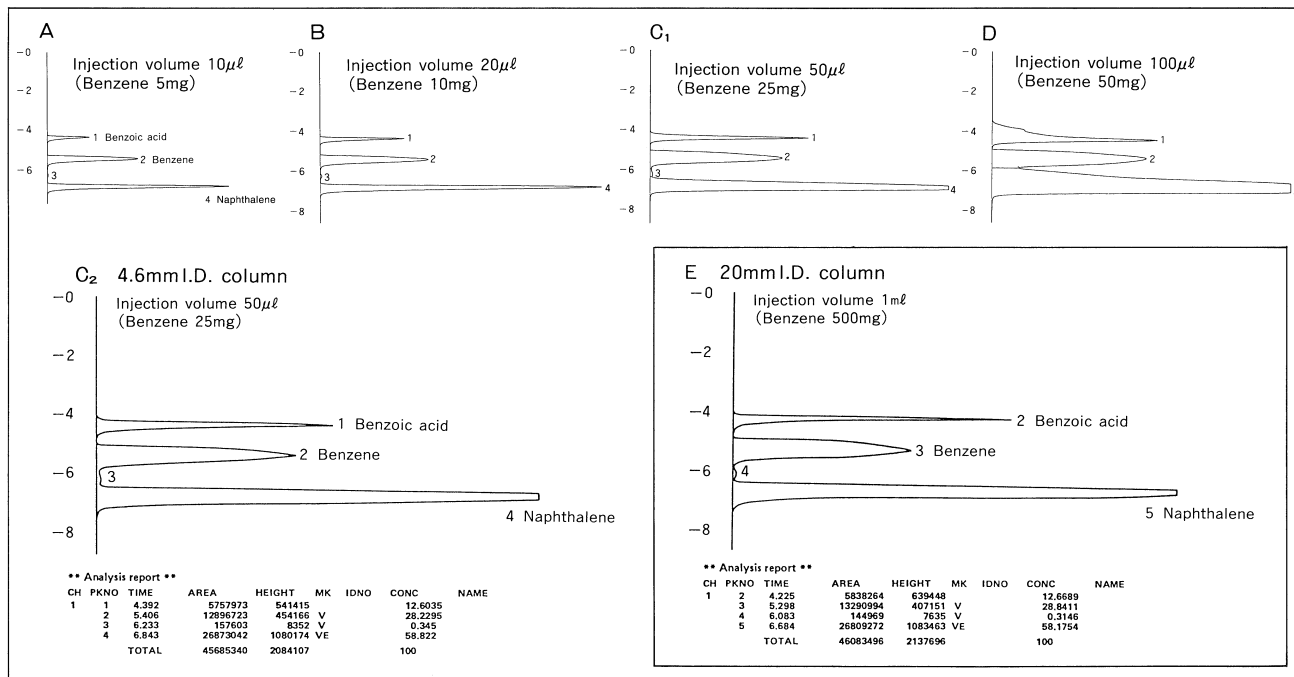


Fig.3 分析用カラムを用いた最大負荷量試験(A~D)と分取用カラムでのクロマトグラム(E)
Loadability Test onto Analytical Column (A~D) and Chromatogram with Preparative Column (E)

初版発行：1988年9月

島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

☎ 0120-131691(携帯電話不可)
● 携帯電話専用番号(075)813-1691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制Web Solutions Navigatorで閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>
会員制Webの閲覧だけでなくいろいろな情報サービスが受けられます。