

# 大量処理用 DAC カラムを 利用したリサイ クル分離



LC-Prep本体 可動柱式カラム(画像は内径φ300mm)

## 「大量処理」には「リサイクル分離」

プロセス(工業規模)における分離精製は、いかに「低コスト」で、目的成分を「希望純度」で取り出すかにかかっています。それゆえ「経済性」および「操作性」、また多量処理を行う過程での「安全性」が要求されます。

リサイクル分離クロマトグラフィーは上記の要求項目の「経済性」、「操作性」を満たす方法です。

「経済性」においては「充填剤量」、「移動相溶媒量」、「カラム充填操作」など多面的な優位性が得られます。「操作性」に関しても同様に「移動相置換性」、「分離条件の固定化」(目的成分の多様性により

変更が必要な場合があります。)により優位に利用できます。

弊社「LC-Prep Series」は、大量分離精製の上記ニーズにお応えするために、リサイクル分離機能を最大限発揮して分離に対する「経済性」および「操作性」を重視した装置として設計されています。さらに、タッチパネル操作を採用することで感覚的な操作を実現し、さらなる「操作性」を有した装置です。また、分析レベルでのHPLCに比較して、多量の溶媒を使用するため、操作の「安全性」に関しても十分に配慮した設計が施されています。

## 「リサイクル分離」による「経済的効果」

リサイクル分離クロマトグラフィーを使用して得られる「経済的効果」は、充填剤量、使用溶媒量の低減および目的成分の高回収率化です。

充填剤量はカラム径を固定したものとして考えた場合に、主として目的成分の「希望純度」(実際には負荷量限界に対しては、カラム長さの平方根に比例して負荷量限界を増すことができます。)に依存して増量しなければなりません。「希望純度」が高く、夾雑する成分の溶出位置が近い成分の分離に関しては、その分離に合わせて多量の充填剤を必要とします。また、分離に使用したいカラム内の充填剤量が、「希望純度」を得るために必要な分離度を与えられない場合に、充填剤量

を増加してカラムの再充填を行う操作が必要となります。

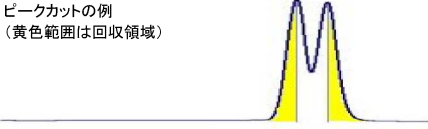
リサイクル分離を使用することにより、擬似的にカラム長を長くし、近接する成分同士の分離度を高めて、目的に応じた「希望純度」での目的成分の精製を、充填剤量の増減なしに行うことができます。さらに、本来の「希望純度」を得るためのカラム長よりも短いカラムでの分離が可能となり、「充填剤量」のみではなくコンディショニング時およびランニング時(リサイクル分離中は移動相を消費しません。)の「移動相溶媒量」を低減することができます。

>>>次ページへ

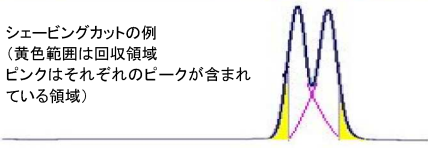
## リサイクル機能を搭載した プロセス HPLC

上記の写真は平成 19 年度新連係対策補助金および平成 21 年度ものづくり中小企業製品開発等支援補助金により開発されたリサイクル機能搭載のプロセス HPLC「LC-Prep Series」です。「LC-Prep Series」には使用流量領域に合わせて 3 タイプ(1 L/min、2.5 L/min、4 L/min)がラインナップされています。いずれもリサイクル分離機能を最大限発揮できるよう設計されました。50 μm 充填剤を用いた吸着精製にも使用できるようにグラジエント機能も付加することも可能です。本テクニカルニュースに登場するクロマトグラムは、すべてリサイクル分離時の装置内拡散やポンプ脈動による検出不具合/機械的ダメージなどを軽減するために最大限の工夫がなされた「LC-Prep Series」によって測定されたクロマトグラムです。

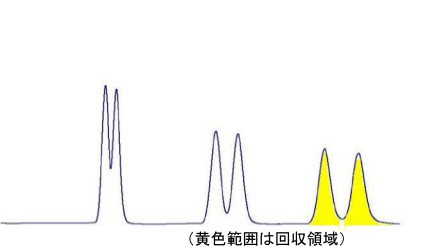
ピークカットの例  
(黄色範囲は回収領域)



シェービングカットの例  
(黄色範囲は回収領域  
ピンクはそれぞれのピークが含まれている領域)



リサイクル分離例



前ページより>>>

完全分離を行うことのできない近接したピークの場合(「希望純度」達成のためにカラム長を長くできない条件下において)、分取物の純度を犠牲にしたハートカット(近接したピーク同士の変曲点での分離分取)、およびピークカット(ピークトップでの分離分取、近接したピーク間の成分は破棄)やシェービングカット(近接したピークがまじりあわないと推測されるピーク部位のみを分取)のような回収率を犠牲にした分取操作が行われます。これらの分取方法の中でリサイクル分離法は最も優れた方法で、分取物の純

度や回収率を犠牲にせず、「高負荷注入時」に「高い回収率」で「希望純度」にあった分取を行うことが可能です。

当社の大量処理用 DAC カラム(100 mm I.D.以上)を使用する装置においては、ポンプ吸引による試料注入法が取られています。

ポンプ吸引による注入法においては、注入直後に溶解性の乏しい溶媒と拡散されていない試料とが混和するため、析出を防ぐ意味で溶解性の良い条件で分離を促進させなくてはなりません。

リサイクル分離を使用することで溶解性を損なわない移動相条件での注入も可能です。

一般的な分離に使用する移動相溶媒量の約 1/5 の溶媒使用量により完全分離

## リサイクル分離とは？

リサイクル分離とは、注入した試料のピークを拡散の少ないポンプを使用し、同一カラム、検出器内を再循環させ分離能力を向上させて分離を行う方法です。使用するカラムにわずかでも分離する能力があれば、そのわずかな分離能力を繰り返し使用することで完全分離することができます。

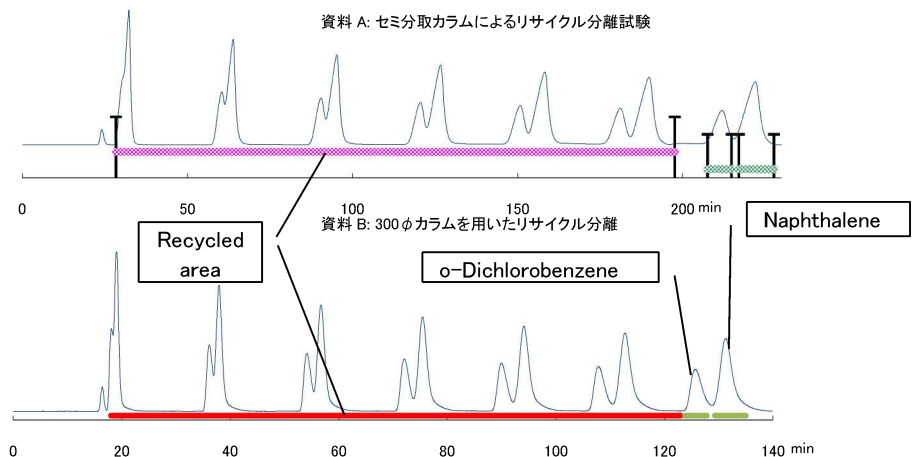
リサイクル分離による分離促進中は循環系の流路を取るため、新たな溶媒を使用せずに分離を行うことができ、一本のカラムを用いて同様の分離を行う場合と比べて必要とされる移動相溶媒量を極端に低減することができます。

## DAC カラム\*<sup>1</sup> を利用した「リサイクル分離」

DAC カラムを用いたリサイクル分離による大量分離精製は、書籍等で記述されていますが、実際のリサイクルクロマトグラムが公開されているケースは稀です。下のクロマトグラムは弊社装置「LC-Prep Series」及び DAC カラムによって測定を行った、実際のリサイクルクロマトグラムです。

資料 A はラボスケールの装置で分離試験を行った 20 mm I.D.のセミ分取カラムを用いた分離クロマトグラムで、資料 B は 300 mm I.D.の DAC カラムを用いた分離クロマトグラムです。大量処理用の DAC カラムを使用して、リテンションタイムの近接した 2 ピーク (o-Dichlorobenzene および Naphthalene) を分離試験と同様に、リサイ

クル分離により完全分離することができました。同様の分離を移動相条件の変更や充填剤量の調整により行った場合、一分離あたり 280 L もの溶媒を必要としますが、リサイクル分離においては 76 L (約 1/3) の移動相溶媒により分離を行うことができます。コンディショニング時の液相置換を加算すると計算上、約 1/5 の移動相溶媒使用量となり、低コスト化が図れます。また、試料の注入量に関してもより溶解性の高い溶媒を移動相溶媒として使用できるため、高負荷で注入することができます。



資料 B における分離条件

Instrument: LC-Prep2500

Column: 300 mm I.D.

Gel: JAIGEL-ODS-BIO, SP-120-15 (充填剤: 15 kg; カラム長: 430 mm)

Detector: UV @ 230 nm

Flow rate: 2000 mL/min

Sample: 20 g/500 mL (A:o-Dichlorobenzene/B:Naphtalene (3/2))

\*1 DAC カラムとは Dynamic Axial Compression カラムの略で可動柱カラムのことを指します。また、本テクニカルニュース上で DAC カラムと表現している記述は、100 mm I.D.以上の DAC カラムを指しています。

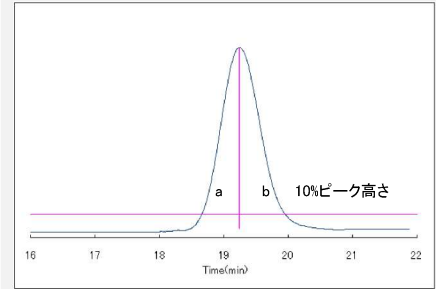
## ピーク対称性がリサイクル分離の「カギ」

DAC カラムは分離精製用途として、内径 50 mm~1 m 程度のものまで試料負荷量に合わせて様々な口径のものが市販されています。それらは分離目的に合わせて充填剤を購入し、再充填することができるという特徴があることから、高分解能パックドカラムがラボスケールで多用されているのと同様に、工業用クロマトグラフィーの分野において精製用の分離管として使用されています。

一般的に、DAC カラムは内径が 50 mm よりも大きく、カラム長を 300 mm よりも長く充填した場合において、ゲル充填密度の均一化を行うことが非常に困難です。

最大負荷量(吸着量)を稼ぐために大きく、そして長いカラムを作成した場合、そのカラムによって得られるピーク形状は「ピーク割れ」もしくは「非対称ピーク」として溶出され、ピーク対称性が悪化してしまふことがあります。

リサイクル分離効率においてはカラム分離性能もさることながら、ピーク対称性がその分離効率に対して大きく関与します。対称性の得られないピークにおいてはリサイクル回数に従い、そのピーク形状の非対称性も増長されていきます。その結果、ラボスケール用のパックドカラムを用いてリサイクル分離できていた分離ができなくなることがあります。



## ピーク対称性とは？

ピーク対称性とはカラムから溶出してきた試料バンドの広がり均一性を示すパラメータです。5%ピーク高さでの対称性を見る「テーリング係数」と、10%ピーク高さで見る「非対称係数」のいずれかで数値として示されます。流路方向に対して垂直な平面における充填密度の均一化、およびカラム内部での流れ軸方向の均一化により 1(完全対称)に近づきます。通常 0.9-1.3 の範囲内にあることが理想的であると考えられています。

上のクロマトグラムは弊社 DAC カラム(内径 300 mm)に 15 μm 粒子径の ODS 充填剤(品名:JAIGEL-ODS-BIO, SP-120-15) 15 kg を充填したカラムより得られたナフタレンピークです。(カラム長:実測 430 mm)弊社独自の充填方法を採用することにより、非対称係数 1.1(図上の b/a の値)という良好な対称性を得ることができました。

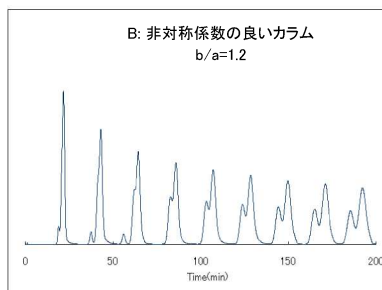
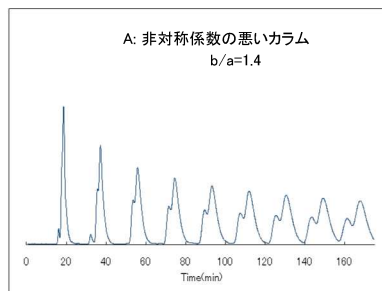
## ゲル充填密度均一化の重要性

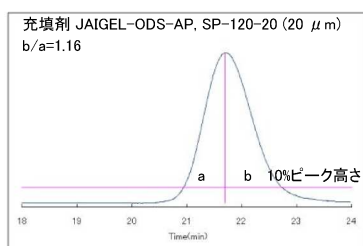
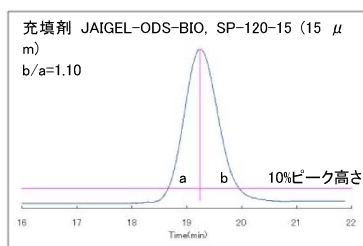
ゲル充填密度が均一なカラム、いわゆるピーク対称性が良いカラムとそうでないカラムを使用し、リサイクル分離にどのような影響を与えるのか、実際のリサイクルクロマトグラムを右に示します。

ほぼ同じ理論段数(半幅法により算出)およびカラム長を持つように充填した DAC カラム(300 mm I.D. × 430 mmL)でそれぞれリサイクル分離試験を行ったものです。従来の充填方法で行った資料Aのテーリング傾向を示す充填状態のカラムには 15 μm 粒子径の分解能の高い充填剤を使用しているにもかかわらず、リサイクル回数に伴いピーク幅が広がってしまい、リサイクルによる有意な分離促進が望めないことが分かります。

一方、資料Bのピーク非対称係数の良いカラムにおいては 20 μm 粒子径の分解能の劣る充填剤を使用しているにもかかわらず、分離が促進されていくことから、リサイクル分離においてピーク形状の対称性が如何に重要であるかをこの結果から読み取ることができます。

ピーク対称性の良いカラムによってリサイクル分離が効率的に行われているクロマトグラムは、弊社独自の新しい充填方法により充填された対称性のいいピーク形状を与える充填状態のカラムを使用しています。





## JAI 日本分析工業株式会社

### Address

#### <本社>

〒190-1213

東京都西多摩郡瑞穂町武蔵 208

Tel 042-557-2331

Fax 042-557-1892

#### <大阪営業所>

〒532-0002

大阪市淀川区東三国 5-13-8-303

Tel 06-6393-8511

Fax 06-6393-8525

#### <名古屋営業所>

〒465-0025

愛知県名古屋市長区上社 3-609-3D

Tel 052-709-5400

Fax 052-709-5403

### Web Address

<http://www.jai.co.jp>

## 粒子径に左右されない充填条件

内径が 50 mm を超える大口径カラムにおいて、従来から問題とされているピーク形状の歪みは「ディストリビュータ」および「フリッド」形状、「充填スピード」および「充填剤分散率」など、多種の要因が複合的に作用することにより起こってしまうと考えられています。

これらはハード的およびソフト的に解決策を模索され続けていますが、すべての充填剤に対して同一の充填方法で対称性の高いピークを得ることは難しいというのが現状です。

弊社は独自の充填技術を使用することにより、カラムの各相(流れ軸方向に対して垂直方向に広がる面)における充填密度の均一化を図ること

で、DACカラム内にリサイクル分離に適した充填状態を作り出すことが可能です。

また、この充填方法は充填剤粒子径により充填方法の変更を行わずとも適切な充填が可能であることが分かりました。

左に充填剤粒子径が異なるものを充填した DAC カラムにより得られたナフタレンピーク形状を示します。内径 300 mm × カラム長 430 mm カラムにおいても、ピーク非対称係数が分析仕様カラムの基準値(0.9-1.3)として規定されているものの範囲内に収まっていることが分かります。

## LC-Prep 1000/2500/4000

### ■仕様

	LC-Prep 1000	LC-Prep 2500	LC-Prep 4000
送液ポンプ	P-1000	P-2500	P-4000
送液方法	3 連無脈動定量ポンプ		
送液モード	定流量制御		
最大吐出圧力	15MPa	9.4MPa	11.7MPa
最大流量 (ℓ/min)	1.4ℓ	2.3ℓ	4.0ℓ
注入方式	リポートインジェクタ方式		
試料注入量	25~1,000ml	60~2,500ml	80~5,000ml
採取モード	マニュアル・タイム・ピーク		
オートリプレイ機能	直前の操作を記憶 99 回まで操作繰返し		
採取ノズル	5 本		
コントローラユニット	PLC によるタッチパネル入力・PC コントロール		
試料注入間隔	最大 99 時間(標準)		
試料注入回数	最大 99 回(標準)		
リサイクル制御	開始時間:最大 999 分・終了時間:最大 999 分(標準)		
リサイクル回数	最大 99 回(標準)		
リサイクルシステム	背進防止機能付きリサイクルシステム(特許)		
安全装置	漏液・高圧・漏電・過昇温度による保護		
本体寸法(mm)	1050(W) × 1400(H) × 880(D)	1050(W) × 1400(H) × 1000(D)	
電源寸法(mm)	580(W) × 1150(H) × 560(D)		
電源	AC200~240V、3000VA		
質量	本体:約 400Kg、電源:約 100Kg		

\* グラジェント機能搭載装置はポンプ二台による高圧グラジェント仕様になります。

\* 可動栓カラムはご要望のサイズによりご対応させていただきます。

\* 可動栓カラム径により装置のスペックをご確認ください。

(選定目安 LC-Prep 1000: 150 mm I.D., LC-Prep 2500: 300 mm I.D., LC-Prep 4000: 300 mm I.D.以上)