



【vol.5】 粒子径と流量は順相フラッシュ精製にどのように影響するか

October 3, 2018

メディアの粒子径と溶媒流量は、フラッシュ精製を含むクロマトグラフィー分離において大きな役割を果たします。これは、逆相クロマトグラフィー（別名分配クロマトグラフィー）だけでなく、順相クロマトグラフィーにおいても当てはまります。役割は、化合物の全体的な質量移動速度とカラムを通過する際の拡散・分散に関連しています。粒子が小さいと、間質の体積が減少してサンプルの希釈が減少しますが、流量は多孔質粒子を効率的に通過する分子の能力に影響を与えます。この投稿では、粒子径と流量の両方がフラッシュクロマトグラフィーにどのように影響するかを示します。

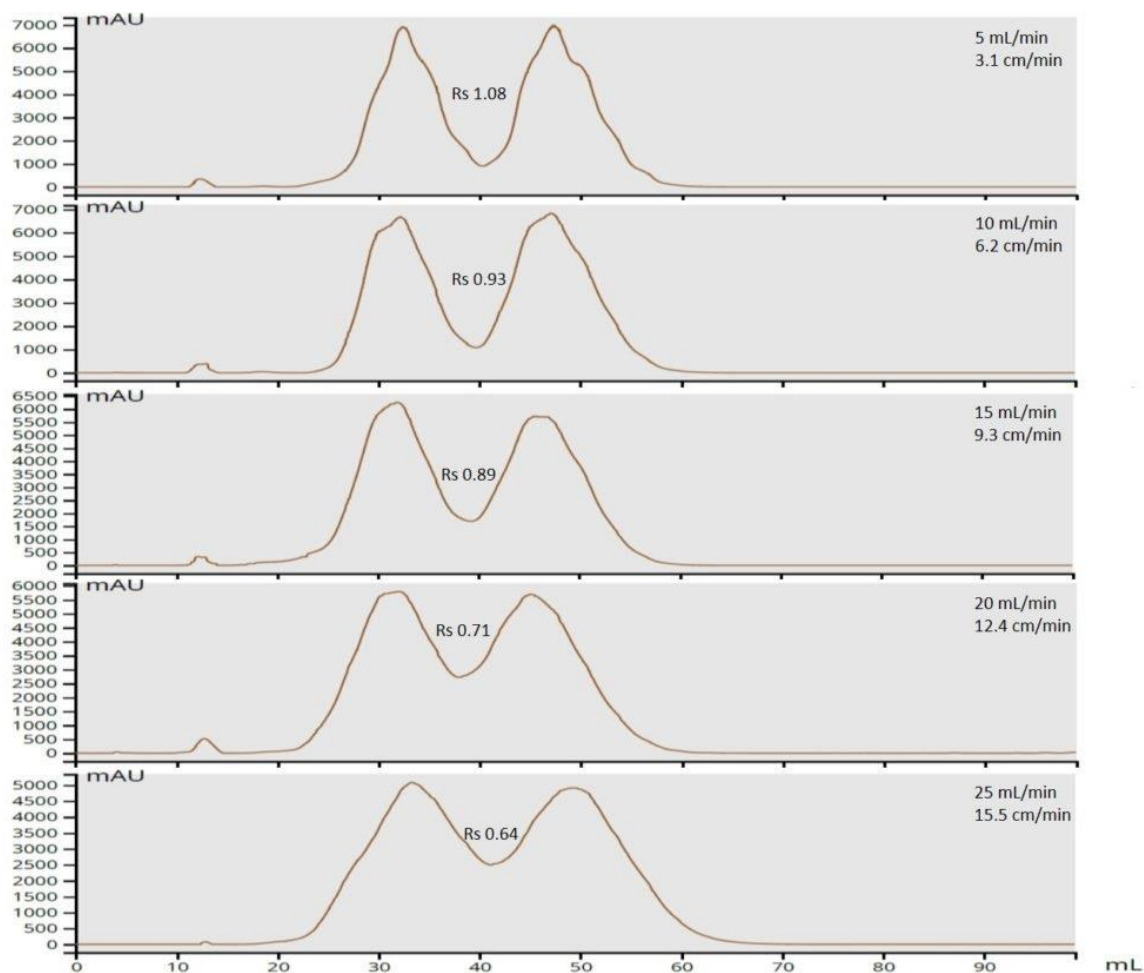
少し前に、逆相カラムを使用してこのトピックを投稿しました。それ以来、順相シリカカラムでこの問題に対処し、今日の質問に答えるように依頼されました。粒子径と流量は、順相フラッシュカラムクロマトグラフィーにどのように影響しますか？順相と逆相では分離メカニズムが異なるため（吸着/脱着 vs 分離）、逆相の場合と同じように粒子径と流量は同じ役割を果たし、同じ影響を与えるのか、という質問をするのは悪い考えではありません。私の中のクロマトグラファ―は、もちろんそうだと言っていますが、この仮説を検証してデータを示してみましよう。

これらのデータを生成するために、私は 80%のヘキサンと 20%の酢酸エチルを使用したアイソクラティックのメソッドを作成しました。私が使用しているフラッシュクロマトグラフィーシステムは、真新しい Biotage® Selekt ([製品情報ページ](#)) で、分離を生成するために、新しい 5 グラムの Biotage® Sfär カラムデザインに充填された 20 µm と 60 µm の球状シリカの両方を使用しました。

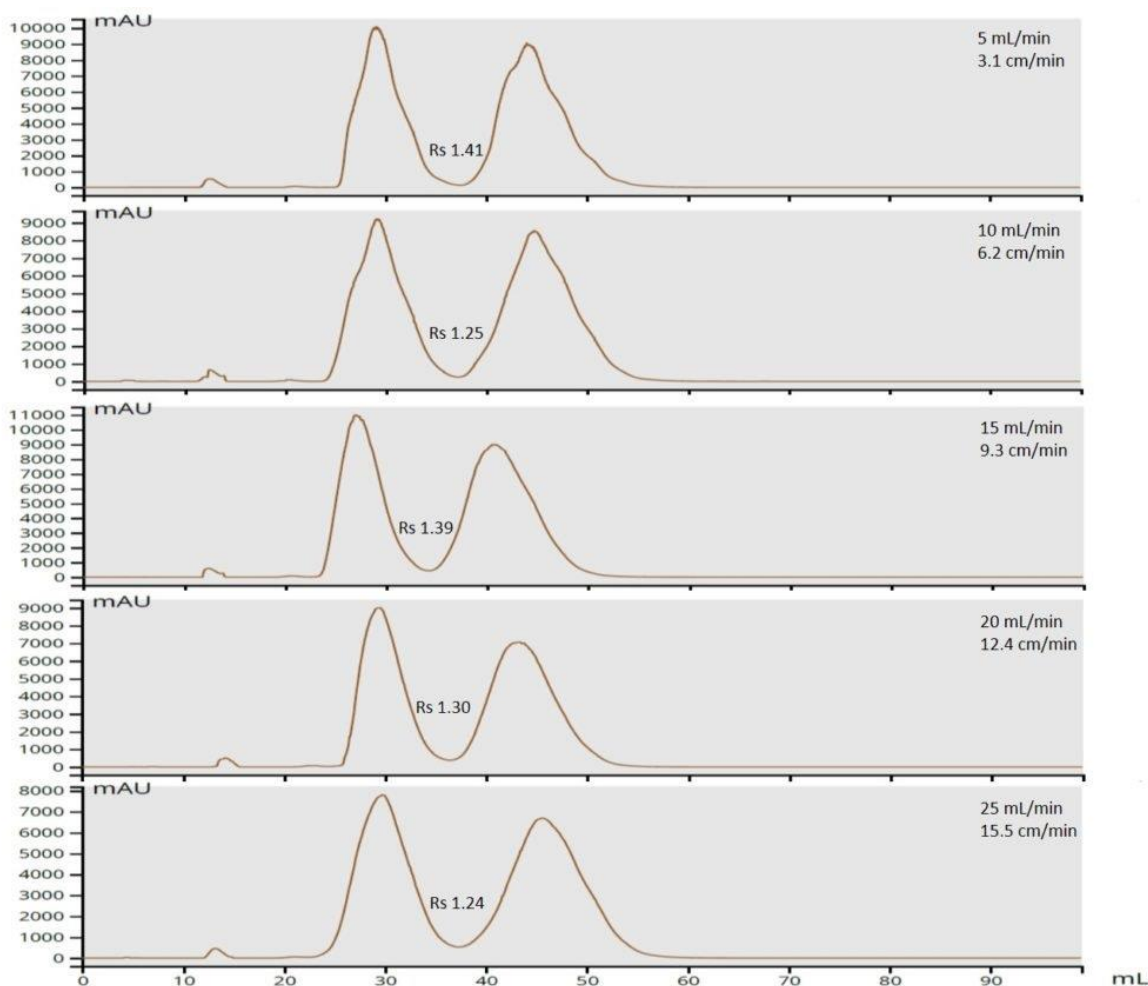
私のサンプルは、アセトンに溶解したメチル (100 mg / mL) とブチルパラベン (100 mg / mL) の 1 : 1 混合物でした。検出は UV フォトダイオードアレイ (200~400nm の間のすべての波長) でした。実験で検出器の応答を一定に保つために、注入量を低く抑えました (0.1 mL)。流量は分析ごとに変更し、5 mL / min、10 mL / min、15 mL / min、20 mL / min、25 mL / min を実行しました。化合物の保持とピーク幅を手で測定し (これを覚えている人はいますか?)、これらの値に基づいて分解能が計算されました。分離能は負荷容量とフラクションの純度の両方に影響します。分離能が高い=分離度が高い=純度が高い/負荷容量が高い、表 1。

流量(mL/min)	5	10	15	20	25
線速度(cm/min)	3.1	6.2	9.3	12.4	15.5
分離能(20 µm シリカ)	1.41	1.25	1.39	1.30	1.24
分離能(60 µm シリカ)	1.1	0.9	0.9	0.71	0.64

図 1 に示すデータは、60 μm メディアを使用したクロマトグラフィーの結果をまとめたものです。これらのデータから、流量（線速度）が増加するにつれて、パラベン間の分離（分離能）が高値の 1.08 から低値の 0.64（または 41%）まで低下していることがはっきりとわかります。以前にも投稿しましたが、溶媒の流量に関しては、異なるカラムサイズ間の流量を同等にするために、線速度の観点から考えること（およびスケールアップすること）が重要です。



しかし、より小さな 20 μm のシリカでは、流量が増加しても分離能の低下は劇的ではなく、1.41 から 1.24（または 12%）までしか減少しませんでした、図 2。



これらのデータが最終的に示しているのは、小さい粒子径を使用すると、流速に関係なく基本的に同じ分離を実現できることです。流速を上げることで（フラクション純度に大きなリスクを与えることなく）精製時間を短縮し、溶媒の消費量を減らすことができますので、これは非常に重要です（粒子径が小さいとシリカ 1 グラムあたりのサンプル負荷量が多くなります）。データはまた、より大きな粒子のメディアでは、化合物の分離能（負荷/純度）を最大化するために、溶媒の流速とサンプル負荷を低減する必要があることを示しています。

そのため、フラッシュ精製を使用し、流量とサンプル負荷を増やして（溶媒を減らしながら）スループットを最大化したい場合は、小粒子で表面積の大きいシリカカラムを高い流速で使用することを検討する必要があります。

Sfär の詳細については、こちらのリンクをクリックしてください。

↓バイオタージ・ジャパン Sfär HC/D 紹介ページ↓

https://www.biotage.co.jp/products_top/flash-purification/sfar/

元の記事 ; <https://www.biotage.com/blog/how-do-particle-size-and-flow-rate-affect-normal-phase-flash-column-chromatography>