

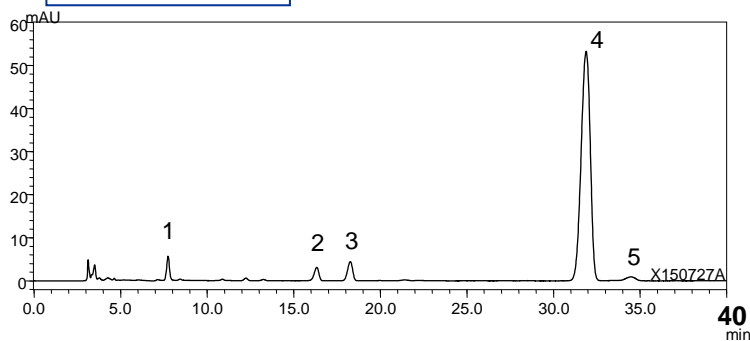
Vitamin D₃および関連化合物のSFC高速分析メソッドの開発

T150727A

超臨界流体クロマトグラフィー(SFC)では、移動相に用いる超臨界流体が液体に比べ粘性が低く、拡散係数が大きいという特長を有しているため、高速高分離を達成することが可能です。

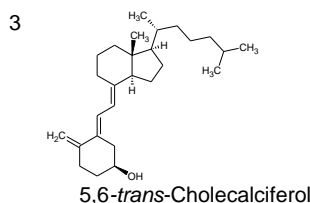
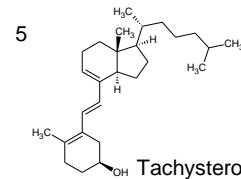
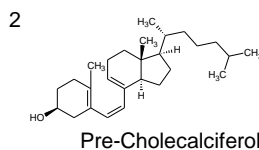
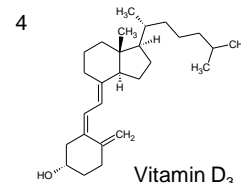
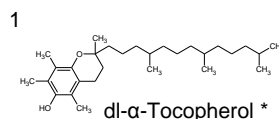
ここでは、Alcyon SFCの各種のカラムを用いたメソッドスカウティングおよび分離最適化の例を紹介します。Alcyon SFC Triart Diolを用いたメソッドで、Vitamin D₃(Cholecalciferol)とその類縁体の5成分について、順相HPLCの約1/4の分析時間で完全分離を達成しています。Alcyon SFC Triart Diolは有機シリカハイブリッド粒子を基材に使用しており、耐久性にも優れています。

HPLC分析



◆HPLC条件

Column : YMC-Pack SIL (3 μm, 12 nm) 250 X 4.6 mm.I.D.
 Eluent : *n*-hexane/1-pentanol (1000/6)
 Flow rate : 1.0 mL/min
 Temperature : 25 °C
 Detection : UV at 254 nm
 Injection : 50 μL



* dl-α-Tocopherolは酸化防止剤

Sample :

Concentrated cholecalciferol powder, thermally stressed (25 μg/mL)
 Supplied by DSM Nutritional Products
 Intentionally prepared to cholecalciferol related compounds
 Not commercially available.

SFC分離条件を探索

分離条件設定方法

1st STEP <メソッドスカウティング>

【カラム】

Alcyon SFC

- ① Triart Diol
- ② Triart PFP
- ③ Triart C18
- ④ SIL
- ⑤ CN

5 μm, 150 X 4.6 mm.I.D.

【移動相】

- ① A) CO₂
B) methanol
- ② A) CO₂
B) ethanol
- ③ A) CO₂
B) 2-propanol

組成: A/B (98/2)

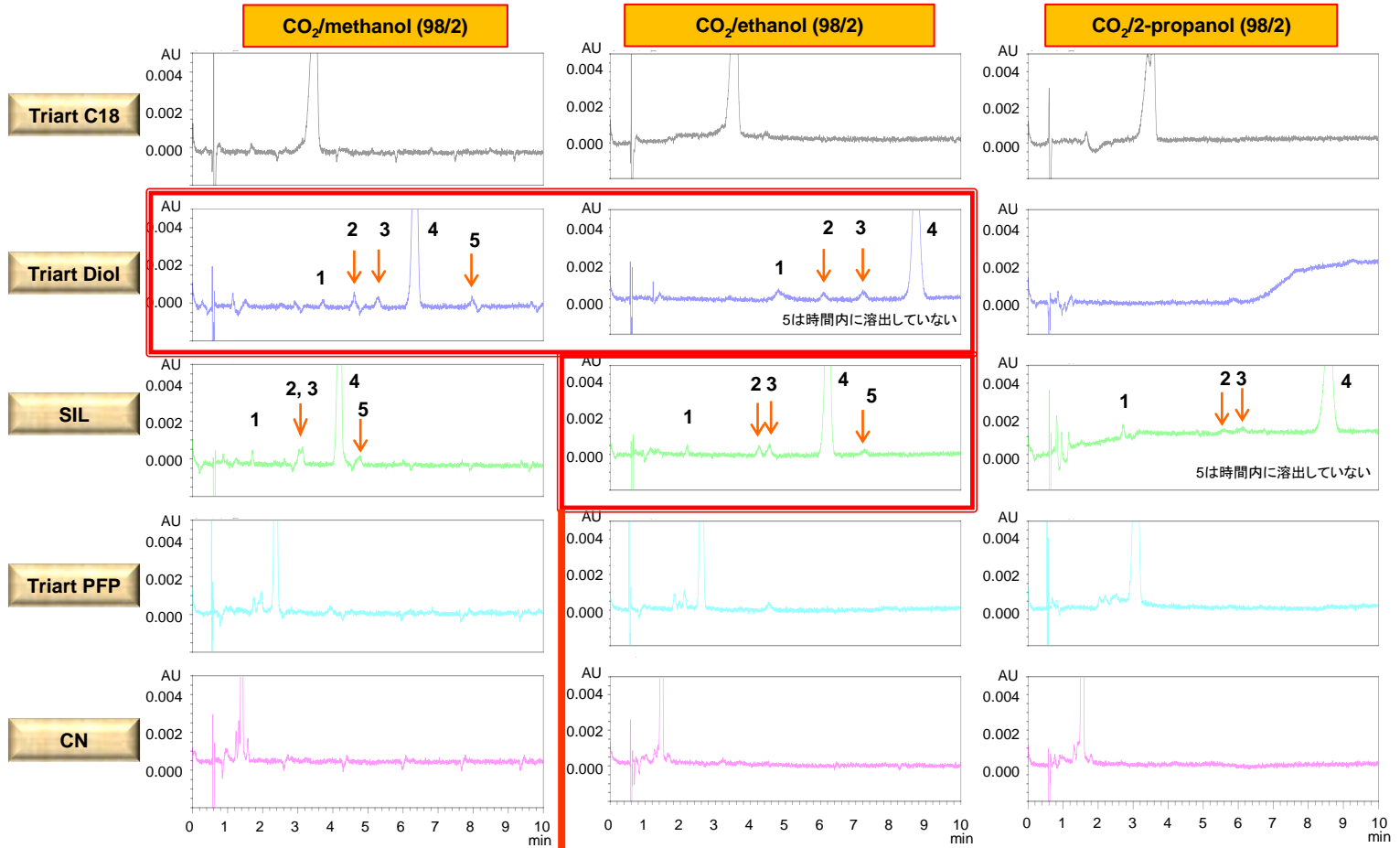
2nd STEP <分離最適化>

【最適化項目】

- モディファイヤー比率
- 充填剤の粒子径 (5 μm → 3 μm)
- カラムサイズ (150 X 4.6 mm.I.D. → 250 X 4.6 mm.I.D.)
- カラム温度

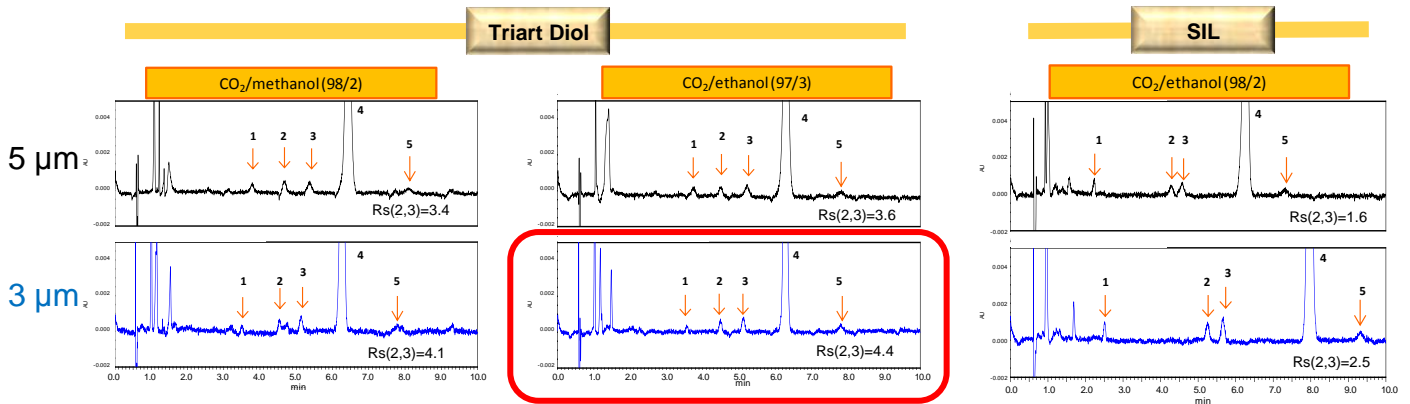
Flow rate : 3.0 mL/min
 Temperature : 35°C
 Detection : UV (254 nm)
 Back pressure : 13.8 MPa (2000 psi)
 Injection : 10 μL

1st STEP <メソッドスカウティング>

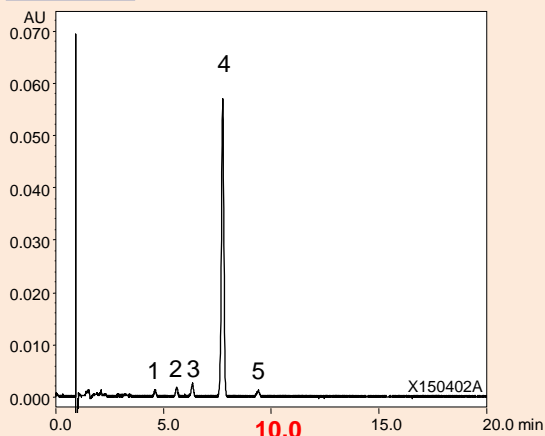


移動相比率、カラム粒子径の検討

2nd STEP <分離最適化>



SFC



上記結果から最も分離の良いTriart Diol 3 μm 、CO₂/ethanolを用いた条件について、カラムサイズ、移動相比率、カラム温度を最適化し条件決定。

- ◆SFC条件
- Column : Alcyon SFC Triart Diol (3 μm , 12 nm) 250 X 4.6 mm I.D.
- Eluent : CO₂/ethanol (96/4)
- Flow rate : 3.0 mL/min
- Temperature : 40°C
- Detection : UV at 254 nm
- Back pressure : 13.8 MPa (2000 psi)
- Injection : 20 μL