

高速液体クロマトグラフ
フラクションコレクタ FRC-10A
オペレーションサマリ

本書は通常の分析で最低限必要と考えられる操作について説明しています。詳しくは、取扱説明書をご参照ください。

〈FRC-10A 概要〉

- 本フラクションコレクタは、分画口を X-Y 方向に作動させて、バイアルに溶出液を滴下する方式を採用しており、次の2つの分画口タイプがあります。
 - バルブ付きフラコレヘッド…分画口に電磁弁が装着されており、必要部分をバイアルに分画し、不要部分はドレインチューブへ廃出する。
 - フラコレヘッド…全溶出液をバイアルに分画する。
- 分画方式は大きくわけて、マニュアル分画方式と、自動分画方式があります。
 - マニュアル分画…**[frc]** キーを押して分画の開始・終了をマニュアル操作で行う。自動分画中でも **[frc]** キーを押すと、自動設定は解除され、マニュアル分画方式に移行できる。
 - 自動分画…クロマトグラムの形状からピークを自動認識させ分画を行う。また、時間により分画を行うこともできる。

〈操作の流れ〉

① 装置セッティング → ② 分画条件の設定 → ③ 分取実行 → レポート***

① 装置セッティング (1. 配線 (2. 配管*) (3. LC 本体パラメータ)	② 分画条件の設定 (1. イニシャルパラメータ画面 (2. タイムプログラム画面 (3. クロマトグラム画面**	③ 分取実行 (1. ANAL SEQUENCE (2. RUN)
---	--	---

* RID-6A を使用する場合、検出器～フラコレヘッド間の配管は内径 0.8mm を使用してください。

** クロマトグラム画面；SCL-10A のクロマト表示画面から SLOPE, LEVEL の読み取りができます。(使用しなくても設定は可能)

*** レポート結果；SCL-10A とクロマトバックがリンクしている場合、分析終了毎に、バイアル番号ごとの分画開始・終了時間をクロマトバックへプリントアウトすることができます。

④ 装置セッティング

1. 検出器、クロマトバック、FRC-10A 間の接続

	レポート形式	配線
①	<ul style="list-style-type: none"> クロマトグラムにマーカーを記入 ピーク定量計算も必要 	
②	<ul style="list-style-type: none"> マーカーを記入 ピーク定量計算は不要 	
③	<ul style="list-style-type: none"> マーカーは記入しない ピーク定量計算は必要 	

2. SCL-8A, SCL-10A 間の接続

	動作	配線
① 通常方式 (SCL-8A シーケンス優先)	<ul style="list-style-type: none"> SIL-8A の試料注入動作時間は、分析時間と無関係 	
② 分析毎個別捕集方式* (SCL-10A シーケンス優先)	<ul style="list-style-type: none"> SIL-8A の試料注入動作時間が真の分析時間に加算される クロマトグラムも時間方向に平行移動する 	

* 分析毎個別捕集方式…連続繰り返し分取の際に、同じピーク成分であっても分析毎に別のバイアルに分画する方式で、分析毎に異なるフラクションファイルを用いる。(©-2 参照)

㊦ 分画条件の設定

1. イニシャルパラメータ画面

パラメータ	機能概要												
SLOPE	(マニュアル分画) の場合 <table border="1"> <tr> <td>SLOPE</td> <td>0</td> <td>→ 「SLOPE」によるピーク検出は行わないことを意味する。</td> </tr> <tr> <td>LEVEL</td> <td>1,000,000</td> <td>→ 「LEVEL」によるピーク検出は行わないことを意味する。</td> </tr> <tr> <td>WIDTH</td> <td>10</td> <td></td> </tr> </table>	SLOPE	0	→ 「SLOPE」によるピーク検出は行わないことを意味する。	LEVEL	1,000,000	→ 「LEVEL」によるピーク検出は行わないことを意味する。	WIDTH	10				
	SLOPE	0	→ 「SLOPE」によるピーク検出は行わないことを意味する。										
LEVEL	1,000,000	→ 「LEVEL」によるピーク検出は行わないことを意味する。											
WIDTH	10												
LEVEL	(自動分画) の場合… ピーク幅, ベースライン状態より決定する。												
WIDTH	<table border="1"> <tr> <td>ピーク幅 (min)</td> <td>~1</td> <td>5~</td> </tr> <tr> <td>WIDTH</td> <td>2</td> <td>10</td> </tr> </table>	ピーク幅 (min)	~1	5~	WIDTH	2	10						
	ピーク幅 (min)	~1	5~										
WIDTH	2	10											
	<table border="1"> <tr> <td>ベースライン</td> <td>安定</td> <td>少し変動</td> <td>大きく変動</td> </tr> <tr> <td>SLOPE</td> <td>0</td> <td colspan="2">クロマトグラム両面で求める</td> </tr> <tr> <td>LEVEL</td> <td colspan="2">ベースラインより少し高い値</td> <td>タイムプログラムを設定</td> </tr> </table>	ベースライン	安定	少し変動	大きく変動	SLOPE	0	クロマトグラム両面で求める		LEVEL	ベースラインより少し高い値		タイムプログラムを設定
ベースライン	安定	少し変動	大きく変動										
SLOPE	0	クロマトグラム両面で求める											
LEVEL	ベースラインより少し高い値		タイムプログラムを設定										
RACK CODE	<table border="1"> <tr> <td>No.1</td> <td>No.2A,2B</td> <td>No.3</td> <td>クーラ L</td> <td>No.5</td> <td>テーチング</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>2</td> <td>3</td> <td>4</td> <td>5</td> <td>6~9</td> </tr> </table> <p>• 5,9は, (バルブなし) フラコレヘッド専用</p>	No.1	No.2A,2B	No.3	クーラ L	No.5	テーチング	1	2	3	4	5	6~9
No.1	No.2A,2B	No.3	クーラ L	No.5	テーチング								
1	2	3	4	5	6~9								
I. VIAL	<ul style="list-style-type: none"> 順送り分画のとき → -1 (表示は -) ↑ (前回の最後に分画したバイアルに続けて分画を開始) 												
F. VIAL	<ul style="list-style-type: none"> ラックの最終番号まで分画に利用するとき → -1 (表示は -) ↑ (各ラックの最終番号と同義) 												
VIAL VOLUME	<ul style="list-style-type: none"> 使用バイアルの 7~8 割の容量を設定 同一バイアルに繰り返し分取するとき → $\{(\text{バイアル1本の容量}) \div (\text{繰り返し回数})\}$ を入力する。 無制限容量で分画するとき → 0 												
AUTO DELAY OFFSET	<ul style="list-style-type: none"> SCL-10A よりポンプ流量制御を <table border="1"> <tr> <td>する</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>しない</td> <td>0</td> </tr> </table> → FLOW RATE に流量を入力する 	する	1	しない	0								
する	1												
しない	0												
DELAY VOLUME	<ul style="list-style-type: none"> 検出器セル~フラコレヘッド間の容量を計量して入力 (取扱説明書 11.3 章) 												
SIGNAL DELAY VOLUME	<ul style="list-style-type: none"> タイムプログラムで HI/LO. WRL を利用するとき以外はどんな値が入っていてもよい 												
RESPONSE	<ul style="list-style-type: none"> 検出器の応答時間 (= レスポンス時間) [単位: 秒] 												

2. タイムプログラム画面

LOCK <ロック>		<ul style="list-style-type: none"> 不要ピークを LOCK 1~LOCK 0 で囲む <p>(例) 10.00 LOCK 1 15.00 LOCK 0</p>	<p>分画したくない</p>
SLOPE <スロープ>		<ul style="list-style-type: none"> 目的ピーク出現前で SLOPE 値を変更 <p>(例) 10.00 SLOPE 50</p>	<p>ピーク全体を分画したい</p>
SLOPE (-)		<ul style="list-style-type: none"> 下りの SLOPE 値のみ変更 <p>(例) 10.00 SLOPE -50 マイナス値 ↓</p>	<p>テーリング部も分画したい</p>
LEVEL <レベル>		<ul style="list-style-type: none"> 目的ピーク出現前で LEVEL 値を変更 <p>(例) 10.00 LEVEL 1000</p>	<p>このピークも分画したい</p>
SOR.LV <スロープ・オーバーライド・レベル>		<ul style="list-style-type: none"> 検出器信号がスケールアウトする場合, 800,000 μV を目安に設定 <p>(例) 10.00 SOR.LV 800000</p>	<p>スケールアウト 1つのピークを不規則に分画してしまう</p>
VLV.OPN/CLS <バルブ・オープン/クローズ>		<ul style="list-style-type: none"> ピーク検出されないところを強制的に分画 <p>(例) 10.00 VLV.OPN 15.00 VLV.CLS</p>	
		<ul style="list-style-type: none"> ピーク検出されないところを強制的に分画後, ピーク検出を再開 <p>(例) 10.00 VLV.OPN 15.00 VLV.CLS 15.00 LOCK 0</p>	

I./F.VIAL <イニシャル/ファイナル・バイアル>

(ア) I.VIAL10 I.VIAL20 I.VIAL30
F.VIAL10 F.VIAL20 F.VIAL30

• 各ピーク出現前に I./F.VIAL を設定

(例) 5.00 I.VIAL 10
5.00 F.VIAL 10
10.00 I.VIAL 20
10.00 F.VIAL 20
15.00 I.VIAL 30
15.00 F.VIAL 30

(イ) I.VIAL10 I.VIAL20 I.VIAL30
F.VIAL10 F.VIAL20 F.VIAL30

※ (イ) のようなクロマトグラム形状になっても、目的ピークは指定バイアルに分画される。

PK.NO <ピーク・ナンバー>

PK.NO 1 2 3

• 検出ピークのうち、PK.NO 以降のピークを分画

(例) 5.00 PK.NO 2

このピークは分画したくない

DIV.TM <ディバイド・タイム>

DIV.TM

• 検出ピークのうち、1つ目のピークのみを細分割

(例) 5.00 DIV.TM 0.1

細分割して分画したい

HI/LO.WRL <ハイ/ロー・ウェイブレングス・レシオ・リミット>

• 2つの検出器信号のレベル比で分画

(例) 10.00 HI.WRL & 0.9
10.00 LO.WRL & 0.7
10.00 LOCK 1
15.00 LOCK 0
25.00 LOCK 1
35.00 LOCK 0

LOCK1 LOCK0 LOCK1 LOCK0

CH1 CH2

PURGE <パージ>

PURGE

• 分画終了毎に、次のバイアルにパージ分画 [単位: 秒]

(例) 5.00 PURGE 20

BAND <バンド>

(ア) BAND

• BAND 時間設定後、初めに出現した検出ピークの認識点を起点として分画 Ready 区間と分画 Lock 区間を交互に繰り返す。

Ready Lock Ready

LOCK1 LOCK0
⇓ 保持時間が変動

(例) 5.00 BAND 3.0
5.00 BAND 4.0
5.00 BAND 4.0

保持時間の変動にあわせて分画区間も移動

5 LOCK1 LOCK0
⇓ 違うピークを分画してしまう。

(イ) BAND

• 直前のピークのコントラミネーションが生じるときは、分画したいピークを2分割する。

Ready Lock Ready

(例) 10.00 BAND 0.1
10.00 BAND 0
10.00 BAND 2.0

(BANDの動き)

BAND SLOPE LEVEL

BAND命令直後から SLOPE, LEVEL を満足した点から 分画Ready 区間、分画Lock区間が機能しはじめる。

分画Ready区間

分画Lock区間

分画Ready 区間で、SLOPE, LEVEL を満足したピークのみを分画

分画Lock 区間内は、何も分画されない。

3. クロマトグラム画面

① クロマトグラムデータ情報 (タイムプログラム画面に表示)

CHROM MEM: [] : []

(ENPTY: メモリされていない) (SAVE NEXT: 次の分析をセーブする)
(SAVING: セーブ中) (NO SAVE: 次の分析をセーブしない)
FULL: メモリされている

② クロマトグラムのセーブ方法 (タイムプログラム画面で設定)

- **SAVEC** キーを押して SAVE NEXT 表示にした後、分析実行
- ※ **SAVEC** キーをもう一度押すと NO SAVE に戻る。

③ クロマトグラムの呼び出し方法 (タイムプログラム画面から呼び出す)

- **DISPC** キーを押す。

③ 分取実行

1) マニュアルインジェクタのとき

① ANAL SEQUENCE 画面 (MENU 5) を設定する。


(例)

#	SMPL# XX-XX	# INJ	VOL	FILE# /RUNT	PRET FILE#	FRAC FILE#
0	-1-	1		F0	-	0

-1を入力
 自動的にスキップ
 フラクションファイルを入力
 ENTER キーを押してスキップ

② インジェクタレバーを INJ 方向に回すと同時に **run** キーを押す。

③ 分析中、ピークが現れたところで **frc** キーを押すと分画を開始する。ピークが出終わったところで再度押すと分画が終了し、フラコレヘッドは次のバイアル上に移り待機する。

④ バイアルをスキップしたいときは **frc**  キーを押す。

2) オートインジェクタのとき

① ANAL SEQUENCE 画面 (MENU 5) を設定する。

(分析毎個別捕集方式例)

#	SMPL# XX-XX	# INJ	VOL	FILE# /RUNT	PRET FILE#	FRAC FILE#
0	0-0	1	400	F0	0	0
1	0-0	1	400	F0	0	1
2	0-0	1	400	F0	0	2

フラクションファイルを入力

- FRAC FILE# 0, 1, 2 の各バイアル指定 No. (I/F. VIAL) を変えておけば、同じピーク成分であっても分析毎に別々の指定バイアルに分画される。
- この捕集方式例による繰り返し分取では、仮に設定ミス等で分画の失敗があっても損失を最低限に抑えることができる。また、分画したバイアルを見渡して結果の目視確認も容易に行える。

② **run** キーを押してスタート。

注) SCL-10A 前面の frc ランプは、実際に分画動作と同期しているため、みかけ上の分画より遅れ時間 (= 検出器セル～フラコレヘッドまでの移動に要する時間) だけ遅れて点滅する。

トラブルシューティング

	現象	原因	対策
1	分析終了後、レポート結果をプリントアウトしない。	① SCL-10A とクロマトバック間のリンクがオープンしていない。 ② システム画面 (MENU 7) 中の P. FRCR が off になっている。	① リンクをオープンする。(OPEN TRS) ② on にする。
2	ピークトップやショルダー部の途中で分画が終了してしまう。	SLOPE によるピーク判別を行っており、傾きが一瞬設定値以下になった。	<ul style="list-style-type: none"> SLOPE=0 とし、LEVEL のみでピーク判別を行う。 WIDTH を大きくする。 SLOPE を小さくする。 SOR. LV を設定する。
3	① クロマトグラム画面の LEVEL 値と、クロマトバック・モニタ画面の LEVEL 値が異なる。 ② クロマトグラム画面のピーク高さ、クロマトバックの計算結果のピーク高さが異なる。	① クロマトグラム画面は、検出器信号の生データを表示しているため、クロマトバックの値と異なることがある。クロマトバックのモニタ画面上で ZERO 調整を行った。 ② クロマトバックの計算結果のピーク高さは、ベースラインからの高さであり、0 時間 (開始時) の LEVEL やドリフトした LEVEL が相殺されている。	LEVEL の設定はクロマトグラム画面を利用する。
4	シャープなピークを分画しない。また、分画の開始と終了のタイミングが遅れる。	① WIDTH が大きい。 ② SLOPE によるピーク判別を行っている。	① WIDTH を小さくする。 ② SLOPE=0 とし、LEVEL のみでピーク判別を行う。
5	① 分画中に突然分画が終了した。 ② レポート結果の on/off 時間が正しくない。 ③ バルブ付フラコレヘッドがホームポジション位置にもかかわらず、分画口から液を滴下している。	遅れ時間 * 中に、タイムプログラムの命令が実行された。 * 遅れ時間 … 検出器からの信号によりピーク判別を行った時間から、実際に電磁弁が作動するまでの時間。	遅れ時間中にタイムプログラムが変更されないように、タイムプログラムの設定時間を変更する。