

クロマトグラフィー用両極性シリカ充填材

製品紹介

超高純度で単一分散、粒径均一のシリカ微粒子（純度>99.999%、CV値<5%）と特許を取得した結合技術によって開発されたUniSil®クロマトグラフィー用両極性シリカ充填材が高い官能基カバレッジ率を持ち、広範囲のアプリケーションに適しており、非常に理想的で経済的な製品選択肢を提供しています。このシリーズの充填材は通常、NH₂アミノ充填材とCNシアン充填材の2種類を指し、これらの充填材はほとんどの場合、正相モード、逆相モード、または弱アニオン交換モードに使用できます。

品質の優れたUniSil®単一分散均一充填材を使用することで、カラム製品は半製備または製造のスケールで良好な再現性を確保し、線形拡大がより容易で柔軟に行えます。優れた充填材とカラム充填技術の組み合わせにより、カラムベッドの安定性が十分に確保され、テスト結果によると、10 μm理論プレート数は40,000/mを超え、5 μm理論プレート数は100,000/mを超え、ピーク対称性は0.97~1.15の範囲にあります。さらに、単一分散充填材には洗浄が集中し、洗浄溶媒が節約できるという利点もあります。

製品の特長

- (a) 線形拡大がより容易で柔軟に行える。
- (b) カラムベッドが安定し、カラムの効率が高く、カラム圧力が低い。
- (c) 洗出がより集中し、洗出溶媒の使用量が減少します。
- (d) より高い流速と圧力が可能であり、寿命が長くなります。

純化操作手順

カラム充填（推奨：ダイナミックアクシャルコンプレッションカラム充填法）
均質化液の濃度とは、充填材の体積が一定になるまで沈降した後の体積と均質化液の総体積の比率を指します。最適な充填効果を得るために、プロピルアルコールを均質化溶媒とし、均質化液の濃度が50~60%を推奨します。

均質化液の濃度は以下の方法で調製できます。

1) まず、充填クロマトグラフィーカラムの体積V_cを計算し、次にその体積に必要な充填材の質量mを計算します。次の式で計算します。

$$V_c = h \times \pi r^2$$
$$m = \rho \times V_c$$

*V_c: クロマトグラフィーカラムの体積; h: クロマトグラフィーカラムの高さ; r: クロマトグラフィーカラムの半径; ρ: 充填材の堆積密度。密なカラムベッドを得るために、充填材の過剰質量は通常では必要な充填材mの1.05~1.10倍を推奨します。

- 2) カラムを用意し、カラム総体積は均質化液が十分に入れることを確認して下さい。
- 3) 洗浄瓶または逆流法で、カラムの底部のスクリーンプレートを均質化溶媒で湿らせ、カラム底に1～2 cmの液体を残しクロマトグラフィーカラムの出力バルブを閉じます。
- 4) 均質化液を再びよくかき混ぜ、均一に分散させます。
- 5) 気体の混入がないように均質化液をゆっくりとカラムに注ぎ入れます。
- 6) 均質化液が完全にカラムに注入した後、洗浄瓶を使ってカラム内壁を均質化溶媒により洗浄します。
- 7) ダイナミックアクシャルコンプレッションカラムを充填するには、粒径が10 μmのシリカ充填材の場合、80～100バールの圧力を設定することをお勧め、粒径が20～40 μmのシリカ充填材の場合、40～70バールの圧力設定をお勧めします。

カラム効果評価

通常、クロマトグラフィー充填材を使用する前に、クロマトグラフィーカラムの性能試験が行われ、その結果が将来のクロマトグラフィー性能の変化を評価するための重要な参考にされます。双極性シリカ充填材の場合、流動相配合比はヘキサン/酢酸エチル=90/10を推奨し、テストの前にシリカクロマトグラフィーカラムを流動相で4～5倍のカラム体積で平衡させます。詳細なテストパラメーターは以下の表に示します。

表1. 両極性シリカクロマトグラフィーのカラム効果テスト

項目	双極性シリカクロマトグラフィー法
サンプル	2%（体積比）のベンジルメチルカルバミンのヘキサン溶液
サンプル量	カラム体積の0.1%
流動相	ヘキサン/酢酸エチル=90/10
線流速	100～250 cm/h
検測波長	254 nm

流動相の選択

両極性シリカ充填材は、正相条件ではヘキサン、酢酸エチル、塩化メチレン、クロロホルムなどの有機溶媒を使用し、逆相条件ではメタノール、イソプロパノールを使用します。両極性充填材を使用する場合、両相系の流動相を変更する際には、まず元の流動相（例：ヘキサン/酢酸エチル系、イソプロパノール）を低流速（0.5 mL/min）でカラムに約30 BV流し込み、その後流動相の洗浄を行います。また、使用する流動相系に緩衝塩が含まれる場合は、両相系を変更する前に含水率80%の混合溶液を低流速（0.5 mL/min）で流動相を変更し、分析カラムでの緩衝塩の析出を避ける必要があります。両極性充填材を使用する際に、イソプロパノールなどの保存溶媒と流動相が互いに溶けることができることを確認することが非常に重要です。

洗い流し

両極性シリカクロマトグラフィー充填材は、正相条件で使用した後、プロパノールを流速0.5mL/minで約30BV分のカラムを洗浄し、その後、メタノールを流速1mL/minで約10BV分のカラムを洗浄し、最後にプロパノールを流速0.5mL/minで約10BV分のカラムを洗浄します。分析に使用される流動相に緩衝塩が

含まれている場合、分析が完了した後に、緩衝塩を含まない同じ比率の流動相で約30 BV分の洗浄を行い、その後、上記の方法で洗浄を行います。また、反相条件で使用した後は、極性の低い流動相を使用して反復的に洗浄します。例えば、純粋なアセトニトリル、メタノール、または二塩化メチレンとメタノールの95%:5%混合溶液を選択し（上記の洗浄方法が効果的でない場合は、極端な方法であるジメチルスルホキシドやジメチルホルムアミドを低流速で使用することができますが、異なる極性の溶媒を使用する際には、前回の洗浄溶媒と互いに溶ける溶媒を使用して充填材の液体環境を置換することに注意してください、例えば、プロパノール）。ただし、洗浄溶媒中の有機相の濃度が10%未満にならないように注意してください。

再生

長期間使用した後、クロマトグラフィー柱の効果が低下することがよくあります（カラムの理論プレート数が減少する）。この場合、充填材柱を再生することができます。両極性シリカ充填材については、段階的に極性が增強される溶媒の系列を使用してカラムを洗浄します。例えば、ヘキサン→ジクロロメタン→イソプロパノール→メタノールなどです。その後、元の流動相に逆の順序で戻します。充填材の寿命を確保するために、流動相中の水溶液の体積比率が50%未満であることをお勧めします。

表2. UniSil®両極性シリカ充填材の特性概要

製品名	粒径 (μm)	孔径 (\AA)	PH 範囲	特性	応用
UniSil® NH ₂ 基 充填材	1.7/2.7 /3/5/6 /8/10/15 /20/30	100	2~8	正相、反相、どちらにも適用可能で、汎用性が高い	反相モード： さまざまな単糖の分離に使用できますが、アルデヒド基、カルボニル基を含む化合物や還元性糖の分析には適しません。 正相モード： 極性化合物、トコフェロールおよびアルカン、オレフィン、およびアロマティック炭化水素に溶解する有機物の分析に適しています。
UniSil® Amide基 充填材		120			
		300			
UniSil® CN基 充填材	5/6/8 /10/15	100	2~8	正相、反相、どちらにも適用可能で、汎用性が高い	反相モード： 疎水性の分子が速やかに洗出され、極性化合物に特異的な選択性を示します。また、強塩基性の化合物（アンモニウム塩など）の分離ピーク形状も良好です。 正相モードで： 通常正相シリカ充填材に代わり、より速やかにバランスが実現され、非誘導体シリカよりも表面活性が高い。
		120			
		300			

両極性シリカ充填材の応用範囲が非常に広く、例を次のように挙げます。

	UniSil®NH ₂ 基充填材	UniSil®CN基充填材
応用例	非還元糖（D-ラクトース、D-アセチルグルコサミン、D-リボース、オリゴ糖など）、核酸酵素、水溶性ビタミン、プロピオン酸ジエン、アスパラギン酸とセリン及びそれらの原料、アルギニン、フマル酸、アスパラギン酸カリウム、L-カルニチン、尿素アルミニウムなど。	蛋白質ステロイド、カテコール、極性天然物質、イミプロチリン、アスロール塩酸塩、オランザピン、オラザピン、イソニアジド硫酸塩/ヒドララジン塩酸塩、クロゲリン、アジド化合物、臭化水素酸、ルドギリン、オルガリチン、メトキシベンジルピリジンおよび不純物 B、トリアゾン、など。

表 3. 両極性シリカクロマトグラフィーカラム仕様表

カラム名称	内径 x 高さ	粒径	孔径	炭素含有量
	mm x mm			(Å)
UniSil® Amideカラム	10x250 21.2x150 30x250 50x250	10以上	100 120 200 300	4
	逆相モードでは、各種単糖の分離が可能ですが、アルデヒド基やカルボニル基を含む化合物や還元糖の分析には適しません。一方、正相モードでは、極性化合物やアミド型の物質を分離しやすく、乳糖類物質の精製に適しています。			

注：特別仕様の場合、お客様向けにカスタマイズサービスを提供しています。また、単一分散均一粒径でない充填物のカラムも提供しています。

保管

充填剤の長期保存：充填剤を十分に洗浄し、完全に乾燥させ、密封性の良い袋や容器に入れて、陰涼で乾燥した場所に密封して保存してください。または、クロロホルムまたは異性プロパノールの中にクリーンな充填材を保存することもできます。保管期限は3年間です。

トラブルシューティング

正相シリカ製品の使用中に問題が発生した場合は、以下の表を参照して解決するか、お問い合わせください。

1, カラム圧力上昇

原因分析	提案措置
流速が高すぎる	流速を低くする
ポンプと収集器の間のバルブが開かれていない	バルブを開く
機器のオンラインフィルターが詰まっている	フィルターを取り外して清掃し、または交換し、サンプルと洗浄溶液を使用する前にフィルタリング
カラムの前方が詰まっている	20 BVの流動相でカラムをバックフラッシュする
一部のサンプルまたは不純物が十分に洗浄されていない	洗浄操作を実行する
サンプルがカラム上に沈殿が生じている	洗い流し手順に従い、サンプルの溶解度を維持するために洗浄液を調整する
カラムベッドが圧縮されている	カラムを再充填する
カラムの使用時間が長すぎる	カラムまたは充填材を交換する
pHが正常範囲を超えている	洗浄後にカラム圧力が回復しない場合は、カラムまたは充填材を交換する

2, 梯度洗浄前にサンプルが洗浄されてしまう

原因分析	提案措置
初期洗浄液中の洗浄剤濃度比が高すぎる	洗浄剤の濃度比を下げる
pHが不適切	pHを調整して結合を増やす
サンプルの注入回数が増加すると、一部のサンプルまたは不純物が完全に洗浄されていない可能性があります	洗浄操作を実行する

3, サンプルが洗浄プロセス中に洗浄されていない

原因分析	提案措置
洗浄液のイオン濃度が低すぎる	洗浄液の濃度を増やす
洗浄液の洗浄能力が不足している	より洗浄力の強い洗浄液に交換する
洗浄液のpHが沈殿を引き起こしている可能性がある	洗浄液のpHを調整する

4, 解像度の低下

原因分析	提案措置
洗浄条件が不適切、例えば勾配が急すぎるか流速が高すぎる	洗浄条件を変更し、緩やかな勾配洗浄や等度洗浄を採用し、流速を低下させる
カラムが適切に充填されていない	カラム効果を確認し、必要に応じて再充填する
カラムの上部や後部に混合空間が多く存在する	充填材の上部を高くするか、カラムの後部容積を減らす
カラムが過負荷	カラムを洗浄し、再バランスを取り、サンプル量を減らす
一部のサンプルや不純物が十分に洗浄されていない	洗浄操作を実施する
粒径が大きい	同じタイプのより小さい粒径の充填材に交換する
選択性が低い	イオン対試薬を追加するか、他のタイプの充填材に交換する
表面のシリカアルコールが混合モードの滞留を引き起こす	pHを下げてシリカアルコールを抑制するか、カラムを交換する

5, カラムベッドに気泡

原因分析	提案措置
洗浄液が脱気されていない	バッファを十分に脱気します。
流動相が混合後に気泡が発生する	可能であれば、流動相を混合した後、オフラインで脱気し、等濃度で洗浄します
適切に充填されていない	再充填を行う

6, ベースラインのずれ

原因分析	提案措置
カラムの適切なバランスが取れていない	バランスの取る時間を増やす
洗浄液A と B が同じ紫外線波長で異なる吸光度を持つ	異なる波長を使用するか、ブランクのグラデーションを採用する
洗浄液に不純物を含む	高純度のクロマトグラフィー用試薬を使用する

7, ゴーストピークが現われ

原因分析	提案措置
前のサンプルが完全に洗浄されていない	再生を行う
洗脱液が不純	空白対照を実行するか、高純度のクロマトグラフィー純度試薬を使用する
洗浄液そのものの吸収	空白対照を実行するか、UV吸収のない洗脱液に変更する
微量のイオン性不純物がカラムに結合し、平衡およびサンプル注入の過程で濃縮され、洗浄時にピークが発生します。	カラム洗浄を行う

クロマトグラフィーカラム用両極性シリカ填充材仕様書

製品名称	標準包装	仕様
UniSil®10-120 CN	100 g	19008-100012-4100
	500 g	19008-100012-4500
	1 Kg	19008-100012-3001
	10 Kg	19008-100012-3010
	20 Kg	19008-100012-3020
UniSil®10-120 NH ₂	100 g	19005-080012-4100
	500 g	19005-080012-4500
	1 Kg	19005-080012-3001
	10 Kg	19005-080012-3010
	20 Kg	19005-080012-3020
UniSil®10-120 Amide	100 g	19017-100012-4100
	500 g	19017-100012-4500
	1 Kg	19017-100012-3001
	10 Kg	19017-100012-3010
	20 Kg	19017-100012-3020

ご注意：直径 10/21.2/30/50 mm、長さ 100/150/250 mm のクロマトグラフィー用カラムもご提供できます。その他の仕様やカスタマイズについては、お問い合わせください。

お問い合わせ 三島国際貿易株式会社
 〒411-0044 静岡県三島市徳倉三丁目18-5
 TEL (055) 988-3590 E-mail: jaina@jaina-msm.com