

正相クロマトグラフィー用シリカ充填材

製品紹介

UniSil®は、ナノテックが独自の特許技術を利用して製造される単分散多孔高純度シリカクロマトグラフィー充填材であり、高効率液体クロマトグラフィー（HPLC）分析や産業生産など様々なニーズに対応できます。粒径の均一性が高く、球形が整え、機械強度が優れ、仕様が多くあります。また、カラムの充填が容易で、カラム効率がよく、解像度が高く、圧力損失が低いなどの特徴を持つため、UniSil®は有機化合物、天然物質、および生物高分子などのクロマトグラフィー分析や産業生産に広く利用されています。4種類の正相シリカクロマトグラフィー充填材を提供しています。つまり、未結合のシリカヒドロキシ充填材、および結合したジオール基、アミノプロピル基、シアノプロピル基充填材の4種類の製品です。これらは、異なる極性化合物の分離と精製に使用され、特に極性化合物の分離が容易になります。

さらに、品質の優れたUniSil®単分散均一充填材を使用することで、ナノテック製造のカラム製品は、小規模試験、中規模試験、および大規模生産での優れた再現性を確保し、線形スケールアップがより簡単で柔軟に行われます。優れた充填材と高度な充填技術を組み合わせることで、カラムベッドの安定性が確保され、10 μmの場合、理論プレート数は40,000 T.P./Mを超え、5 μmの場合、理論プレート数は100,000 T.P./Mを超え、ピークの対称性は0.97~1.15の狭い間にあります。

製品の特長

- (a) シリカ正相充填材の事前充填が可能です。
- (b) カラムベッドが安定し、カラムの効率がよく、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比率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。正相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. 正相シリカクロマトグラフィーのカラム効果テスト

項目	正相シリカクロマトグラフィー法
サンプル	2%（体積比）のメチル安息香酸のヘキサン溶液
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

ナノテックの正相シリカ充填材では、イソプロパノール、酢酸エチル、エタノール、メチレンクロロホルム、およびヘキサンなどの有機溶媒を使用することができます。充填材の寿命を延ばすために、流動相中で水溶液や極性の強い溶媒を使用しないでください（洗い流し効果を得るためには、適量の水を添加することができます。）

洗い流し

色素充填材は長期間使用されると、サンプル中のいくつかの強い保持物質が充填材の表面に吸着して洗い流すことが困難になります。これは色素充填材の性能や後の充填材の適用効果に重大な影響を与える可能性があります。このような場合には、次の手順で洗い流しを行います。

低い流速から始めて、カラム圧が一定の水準で安定すると、流速を適度に上げます。他の添加剤を含まない弱溶媒流動相10 BV（例：ヘキサン）を使用して、カラムを逆洗します。

次に、強溶媒流動相20 BV（例：メチレンクロロホルム、イソプロパノールなど）を使用して、カラムを逆洗します。100%のイソプロパノールを使用すると、正相カラム上の残留物をほぼすべて除去できます。これらの操作の後も、充填材の性能が回復しない場合は、充填カラムのベッドに崩壊や空洞が発生している可能性があります。

再生

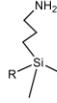
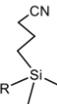
クロマトグラフィーカラムは長期間使用すると、カラム効率の低下（理論プレート数の減少）が発生することがあります。この場合、クロマトグラフィーカラムを再生することができます。一般的に、洗い流しプロセスは10倍のカラム体積とされます。正相シリカ充填材は、次のような極性が徐々に高まる溶媒で順序に洗い流し、その後逆の順序で元の流動相に戻します。例えば、ヘキサン→メチレンクロロホルム→イソプロパノール→メタノールの順序で洗い流し、それから逆の順序で流動相に戻します。

保存

長期保存：充填材は十分に洗浄し、完全に乾燥させ、密閉性の高い袋や容器に詰めて、冷暗所で密閉して保存します。保存期限は5年です。

短期保存：正相シリカ充填材をヘキサンまたはイソプロパノール中で保存します。

表2. UniSil®正相シリカ充填材の特性概要

製品名	結合相名称	結合相構造式	粒径 (μm)	孔径 (Å)	比表面積 (m ² /g)	堆積密度 (g/cm ³)	炭素含有量 (%)	PH 範囲	特性と応用
UniSil®	/	/	1.7/2.0/ 2.7/3/5/ 5L/8/10	100	~450	~0.50	/	2~8	超純多孔シリカは、主に有機小分子、脂溶性ビタミン、トコフェロールなどの分離精製に使用
				120	~350	~0.50	/		
				200	~200	~0.45	/		
				300	~100	~0.45	/		
				500	~50	~0.4	/		
				1000	~30	~0.4	/		
			15/20/30 /50	100	~450	~0.50	/		
				120	~350	~0.50	/		
UniSil® Diol	ジオール基		3.0/5.0/ 10	120	~350	~0.50	7	2~8	SEC使用に適しており、正相シリカと相補的
UniSil® NH ₂	アミノプロピル基		3.0/5.0/ 10	120	~350	~0.50	5	2~8	正相、逆相、および弱陰イオン交換に使用でき、主に糖類、核酸、水溶性ビタミンの分離精製に適合
UniSil® CN	シアノプロピル基		3.0/5.0/ 10	120	~350	~0.50	8	2~8	裸のシリカに比べて、より速い平衡が可能であり、表面活性が一致しているため、正相シリカの代わりに使用することができ、タンパク質、ステロイドなどの分離精製に適合

注：1.7 μm、2 μm、2.7 μm、3 μm、5 μmの充填材は、以下の標準包装：10g、50g、100g、500g、1Kgで、8 μm、10 μm、15 μm、20 μm、30 μm、50 μmの充填材は、以下の標準包装：100g、500g、1Kg、5Kg、10Kg、20Kgで提供しています。

表3. 正相シリカクロマトグラフィーカラム仕様表

カラム名称	仕様	粒径	孔径	炭素含有量
	mm x mm	μm	(Å)	
UniSil® Silicaカラム	10x150	5/8/10	100 120 200 300	NA
	10x250			
	21.2x150			
	21.2/250			
	30x150			
	30x250			
	50x250			
正相モードのカラムは、有機小分子、脂溶性ビタミン、トコフェロール、フルオロクロルピリフオン、マクロライド内脂肪酸エステル、クロロシアノピリホンなどの分離精製に使用されます。				

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	流速を低下させる
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
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
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

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の結合	色相柱でのバランスとサンプル投入プロセス中に濃縮される微量のイオン性不純物を洗脱する

クロマトグラフィーカラム填充材仕様書

製品名称	標準包装	仕様	製品名称	標準包装	仕様
UniSil®10-100	100 g	19000-100010-4100	UniSil®50-120	10 Kg	19000-500012-3010
	500 g	19000-100010-4500		20 Kg	19000-500012-3020
	1 Kg	19000-100010-3001	UniSil®10-1000	100 g	19000-100100-4100
	10 Kg	19000-100010-3010		500 g	19000-100100-4500
	20 Kg	19000-100010-3020		1 Kg	19000-100100-3001
UniSil®8-120	100 g	19000-080012-4100	UniSil®10-1500	10 Kg	19000-100100-3010
	500 g	19000-080012-4500		20 Kg	19000-100100-3020
	1 Kg	19000-080012-3001		100 g	19000-100150-4100
	10 Kg	19000-080012-3010	500 g	19000-100150-4500	
	20 Kg	19000-080012-3020	1 Kg	19000-100150-3001	
UniSil®10-120	100 g	19000-100012-4100	UniSil®10-120 Diol	10 Kg	19000-100150-3010
	500 g	19000-100012-4500		20 Kg	19000-100150-3020
	1 Kg	19000-100012-3001		100 g	19009-100012-4100
	10 Kg	19000-100012-3010	500 g	19009-100012-4500	
	20 Kg	19000-100012-3020	1 Kg	19009-100012-3001	
UniSil®20-120	100 g	19000-200012-4100	UniSil®10-120 CN	10 Kg	19009-100012-3010
	500 g	19000-200012-4500		20 Kg	19009-100012-3020
	1 Kg	19000-200012-3001		100 g	19008-100012-4100
	10 Kg	19000-200012-3010	500 g	19008-100012-4500	
	20 Kg	19000-200012-3020	1 Kg	19008-100012-3001	
UniSil®30-120	100 g	19000-300012-4100	UniSil®10-120 NH2	10 Kg	19008-100012-3010
	500 g	19000-300012-4500		20 Kg	19008-100012-3020
	1 Kg	19000-300012-3001		100 g	19005-100012-4100
	10 Kg	19000-300012-3010	500 g	19005-100012-4500	
	20 Kg	19000-300012-3020	1 Kg	19005-100012-3001	
UniSil®50-120	100 g	19000-500012-4100		10 Kg	19005-100012-3010
	500 g	19000-500012-4500		20 Kg	19005-100012-3020
	1 Kg	19000-500012-3001			

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