

逆相クロマトグラフィー用シリカ充填材

製品紹介

UniSil®逆相クロマトグラフィー充填材は、生物学向けシリーズ製品で、高度な表面修飾とエンドキャッピング技術を用いた単分散多孔球状シリカを基盤としています。UniSil®逆相クロマトグラフィー充填材は、高密度の修飾、良好なエンドキャッピング、均一な粒径、高い機械的強度を備えており、化学的に安定性が高く（アルカリに耐性があり）、充填容易で、長寿命、優れたカラム性能、高い解像度、低いバックプレッシャーなどの特徴を持っています。有機化合物、天然物、生体高分子のクロマトグラフィー分析や大量分離精製に使用されています。

UniSil®シリカクロマトグラフィー充填カラムは、優れた品質のUniSil®単分散充填材を使用し、少量または大量精製で優れた再現性を確保し、ラインスケールアップが容易で柔軟性が高まりました。優れた充填材と高度な充填技術により、カラムベッドの安定性が確保されています。テストによると、10 μmの理論プレート数は40,000 T.P./M以上であり、5 μmの理論プレート数は80,000 T.P./M以上です。さらに、単分散充填材には、洗浄の集中化で溶媒の節約などの利点があり、大量精製のコストを大幅に削減し、ユーザー様の関連製品のコストパフォーマンスと競争力の向上に繋がります。

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、プロパノ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に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液口バルブを閉じます。
- 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

一般的に、クロマトグラフィーカラム用充填材を使用する前に、カラムの性能試験を行い、その結果を保存して、今後のクロマトグラフィー性能の変化を評価する重要な参考にします。UniSil®シリーズの逆相クロマトグラフィー充填材の場合、推奨される流動相はメタノールであり、トルエンのカラム効果、対称度、および保持時間をクロマトグラフィーカラム性能の基準として設定しますが、テスト前に流動相でシリカクロマトグラフィーカラムを4～5倍のボリュームで平衡してください。具体的なテストパラメータについては、下の表をご参照ください。

表1. 逆相シリカクロマトグラフィーのカラム効果テスト

項目	逆相シリカクロマトグラフィー法
サンプル	2%（体積比）のトルエンのメタノール溶液
サンプル量	カラム体積の0.1%
流動相	メタノール
線流速	100～250 cm/h
検測波長	254 nmのUV

流動相の選択

逆相シリカゲル充填剤は、イソプロパノール、メタノール、エタノール、アセトニトリル、テトラヒドロフランなどの有機溶媒、またはTFAなどのイオン対試薬を使用して分離効果を改善することができます。耐水性のない逆相充填剤の場合、充填剤の表面には強力な疎水基がキープされているため、流動相を100%水相に設定することは適切ではありません。また、有機相の比率が10%未満の場合、長時間運転することは適していません。使用後は、有機相の比率が50%以上の流動相を使用して洗浄保存する必要があります。

洗い流し

クロマトグラフィー充填材料は長期間使用すると、強い保持物質が表面に蓄積し、洗浄が困難になる場合があります。これは、クロマトグラフィー充填材料の性能や後の使用効果に重大な影響を与える可能性があります。充填材料を洗浄するために（オンラインで洗浄することも、容器に移して処理することもできます）、より極性の低い流動相を使用して繰り返し洗浄することをお勧めします。純アセトニトリル、メタノール、または95%：5%の塩化メチレンとメタノールの混合溶液を使うことができます。上記の洗浄方法が効果がない場合は、ジメチルスルホキシドまたはジメチルアセトアミドなどの極端な方法を使用することができますが、異なる極性の溶媒を切り替える際には、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必要があります。

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はば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

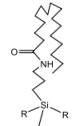
クロマトグラフィーカラムは長期間使用すると、カラム効果の低下（カラムの理論プレート数の減少）が起こります。この場合、カラムを再生することができます。一般的に、再生プロセスはカラム体積の10倍を1つの洗浄サイクルとします。反相シリカ充填材では、カラムを一連の極性が高くなっていく溶媒で洗浄することができます。たとえば、アセトニトリル（メタノール）→イソプロパノール→塩化メチレンといった順に洗浄し、その後逆の順序で元の流動相に戻します。。

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。

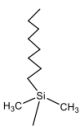
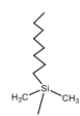
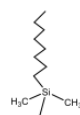
短期保存：アセトニトリルまたはメタノール中で保存してください。

表2. UniSil®逆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 使用 範囲	特性と応用
UniSil®C18	オクタデシル		8.0/10	100	~450	~0.60	17	2~8	通常のクロマトグラフィーの応用で、適用性が高く、ほとんどのペプチド、抗生物質、およびそれらの天然生成物の小分子の分離精製に適し
				120	~350	~0.55	16		
				200	~200	~0.50	12		
				300	~100	~0.45	7		
			15/20/30/50	120	~350	~0.55	16		
UniSil®C18 AQ	オクタデシル		3.0/5.0/10	120	~350	~0.55	15	2~8	100%水相でも使用でき、通常のC18よりも極性化合物の保持力と選択性が高い
UniHybrid™ C18			10	120	~300	~0.55	17	1~11	より広いpH使用範囲と、より長い寿命を備え、アルカリ性化合物の分離および精製に適し
UniSil® C18 Polar	アミド基内部にオクタデシル基		3.0/5.0/10	120	~350	~0.55	16	2~8	100%水相に適用可能であり、アミド機能基を含み、UniSil® C18 AQとは異なる極性化合物に対する選択性を持っています。

続き

表2. UniSil®逆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 ($\text{\AA}$)	比表面積 (m^2/g)	堆積密度 (g/cm^3)	炭素 含有量 (%)	PH 使用 範囲	特性と応用
UniSil®C8	オクタン 基		8.0/10	100	~450	~0.55	11	2~8	C18鍵合相に比べて疎水性が弱く、選択性はC18と同等であり、比較的大きな分子量のペプチドの分離精製に適合
				120	~350	~0.50	10		
				200	~200	~0.45	7		
			15/20/ 30/50	120	~350	~0.50	10		
UniHybrid™ C8			8.0/10	120	~300	~0.50	11	1~11	耐アルカリ性が高くpHの適用範囲が広く長い寿命を持ち、独自の分離選択性があり、特にアルカリ性化合物の分離に適合
UniSil®C4	ブチル基		8.0/10	120	~350	~0.45	6	2~8	疎水性および極性化合物に対する強い保持能力を有し、生物サンプルの分離に適合
				300	~100	~0.40	3		
UniSil® Phenyl	フェニル 基		10	120	~350	~0.5	12	2~8	優れた封端と π - π 作用による選択性を持ち、特に芳香族化合物の分離に適合
Uni® InsulinC8 Type A	オクタン 基		8	/	/	/	/	2~12	機械的強度が高く、解像度が高く、強力なアルカリ耐性を有しており、インスリン製品の精製に適合
Uni® InsulinC8 Type B	オクタン 基		8	/	/	/	/	2~12	機械的強度が高く、解像度が高く、強力なアルカリ耐性を有しており、インスリン製品の精製に適合
UniSil® Lira	/	/	8	/	/	/	/	2~12	機械的強度が高く、解像度が高く、強力なアルカリ耐性を有しており、リラルペプチドの分離純化専用のシリカゲルクロマトグラフィー充填材

注：特別仕様の要求に対して、カスタマイズサービスを提供しています。Uni™Hybrid耐酸アルカリシリーズ（pH=1-11）、一般シリーズ（pH=2-8）も提供しています。Uni® InsulinC8 Type A、Uni® InsulinC8 Type B は、次のインスリン製品や類似物に適用できる専用のシリカ充填材です。再組成インスリン、ウンドリンインスリン、ガンシンインスリン、デヒドインスリン、ディティンインスリン、ライフィンインスリン。

表 3. UniSil®逆相プレパラティブカラム仕様書

カラム名称	仕様 mmxmm	粒径 μ m	孔径 (Å)	炭素含有量 (%)
UniHybrid™ C18 プレパラティブ カラム (pH 1-11)	10x100	5 8 10	100 120	17~16
	10x150			
	10x250			
	21. 2x150			
	21. 2/250			
	30x150			
	30x250			
	50x250			
	耐アルカリ性のプレパラティブカラムは、小分子薬物、アミノ酸、PTC-アミノ酸、ビタミン、ペプチド、アルカリ性薬物、漢方薬などの分離精製に使用されます。			
UniSil® C18 プレパラティブ カラム (pH 2-8)	10x100	5 8 10 15 20 30	100 120 200 300	20~14
	10x150			
	10x250			
	21. 2x150			
	21. 2/250			
	30x150			
	30x250			
	50x250			
	小分子医薬品、アミノ酸、PTC-アミノ酸、ビタミン、ペプチドなどの分離精製に使用されます。			
UniSil® C18 AQ プレパラティブ カラム	10x250	5 8 10	100 120 200 300	12~11
	21. 2/250			
	30x250			
	50x250			
	親水性基が表面に結合され、強極性化合物、医薬品、抗生物質、ペプチド/タンパク質核酸の分離に適しています。			
UniHybrid™ C8 プレパラティブ カラム (pH 1-11)	10x150	5 8 10	100 120 200 300	11~10
	10x250			
	21. 2x150			
	21. 2/250			
	30x150			
	30x250			
	50x250			
	耐アルカリ性のC8プレパラティブカラムは、エストロゲン、タンパク質、ペプチド、ジケトピペラジン、ジェニンなどの酸性、塩基性、中性化合物の分離および精製に使用されます。			

続き
 表 3. UniSil®逆相プレパラティブカラム仕様書

カラム名称	仕様 mmxmm	粒径 μ m	孔径 (Å)	炭素含有量 (%)
UniSil® C8 プレパラティブ カラム	10x150	5 8 10	100 120 200 300	11~10
	10x250			
	21. 2x150			
	21. 2/250			
	30x150			
	30x250			
	50x250			
UniSil® C4 プレパラティブ カラム	10x150	5 8 10	100 120 200 300	11~10
	10x250			
	21. 2x150			
	21. 2/250			
	30x150			
	30x250			
	50x250			
	常規経済型C4プレパラティブカラムは、生物サンプル（大口径）、タンパク質、極性化合物などの分離精製に使用されます。			

注：特殊な仕様のカスタマイズ製品を提供しています。また、多分散充填材料で充填されたNMSilシリーズのプレパラティブカラム製品も提供しています。

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	バッファー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用逆相填充材仕様書

製品名称	標準包装	仕様	製品名称	標準包装	仕様
UniSil®1.7-120 C18	100 g	19001-017012-4100	UniSil®10-200 C18	100 g	19001-100020-4100
	500 g	19001-017012-4500		500 g	19001-100020-4500
	1 Kg	19001-017012-3001		1 Kg	19001-100020-3001
	10 Kg	19001-017012-3010		10 Kg	19001-100020-3010
	20 Kg	19001-017012-3020		20 Kg	19001-100020-3020
UniSil®3-120 C18	100 g	19001-030012-4100	UniSil®10-300 C18	100 g	19001-100030-4100
	500 g	19001-030012-4500		500 g	19001-100030-4500
	1 Kg	19001-030012-3001		1 Kg	19001-100030-3001
	10 Kg	19001-030012-3010		10 Kg	19001-100030-3010
	20 Kg	19001-030012-3020		20 Kg	19001-100030-3020
UniSil®5-120 C18	100 g	19001-050012-4100	UniSil®15-120 C18	100 g	19001-150012-4100
	500 g	19001-050012-4500		500 g	19001-150012-4500
	1 Kg	19001-050012-3001		1 Kg	19001-150012-3001
	10 Kg	19001-050012-3010		10 Kg	19001-150012-3010
	20 Kg	19001-050012-3020		20 Kg	19001-150012-3020
UniSil®8-120 C18	100 g	19001-080012-4100	UniSil®20-120 C18	100 g	19001-200012-4100
	500 g	19001-080012-4500		500 g	19001-200012-4500
	1 Kg	19001-080012-3001		1 Kg	19001-200012-3001
	10 Kg	19001-080012-3010		10 Kg	19001-200012-3010
	20 Kg	19001-080012-3020		20 Kg	19001-200012-3020
UniSil®10-120 C18	100 g	19001-100012-4100	UniSil®30-120 C18	100 g	19001-300012-4100
	500 g	19001-100012-4500		500 g	19001-300012-4500
	1 Kg	19001-100012-3001		1 Kg	19001-300012-3001
	10 Kg	19001-100012-3010		10 Kg	19001-300012-3010
	20 Kg	19001-100012-3020		20 Kg	19001-300012-3020

続き

クロマトグラフィーカラム用逆相填充材仕様書

製品名称	標準包装	仕様	製品名称	標準包装	仕様
UniSil®50-120 C18	100 g	19001-500012-4100	UniSil®8-120 C8	100 g	19002-080012-4100
	500 g	19001-500012-4500		500 g	19002-080012-4500
	1 Kg	19001-500012-3001		1 Kg	19002-080012-3001
	10 Kg	19001-500012-3010		10 Kg	19002-080012-3010
	20 Kg	19001-500012-3020		20 Kg	19002-080012-3020
UniSil®10-120 C18 AQ	100 g	19006-100012-4100	UniSil®10-120 C8	100 g	19002-100012-4100
	500 g	19006-100012-4500		500 g	19002-100012-4500
	1 Kg	19006-100012-3001		1 Kg	19002-100012-3001
	10 Kg	19006-100012-3010		10 Kg	19002-100012-3010
	20 Kg	19006-100012-3020		20 Kg	19002-100012-3020
UniSil®10-120 C18 Polar	100 g	19004-100012-4100	UniHybrid™ 10-120 C18	100 g	19501-100012-4100
	500 g	19004-100012-4500		500 g	19501-100012-4500
	1 Kg	19004-100012-3001		1 Kg	19501-100012-3001
	10 Kg	19004-100012-3010		10 Kg	19501-100012-3010
	20 Kg	19004-100012-3020		20 Kg	19501-100012-3020
UniSil®10-120 C4	100 g	19003-100012-4100	UniHybrid™ 10-120 C4	100 g	19503-100012-4100
	500 g	19003-100012-4500		500 g	19503-100012-4500
	1 Kg	19003-100012-3001		1 Kg	19503-100012-3001
	10 Kg	19003-100012-3010		10 Kg	19503-100012-3010
	20 Kg	19003-100012-3020		20 Kg	19503-100012-3020

注：直径10/21.2/30/50 mmで、長さが100/150/250 mmのプレパラティブカラムも提供できます。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。

お問合せ 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