

Shim-pack FC-ODS

取扱説明書

1 はじめに

Shim-pack FC-ODSは、全多孔性高純度3 μ mシリカゲルを基材として、オクタデシル基(ODS)を化学結合し、エンドキャッピング処理を施した、逆相クロマトグラフィーカラムです。

2 仕様

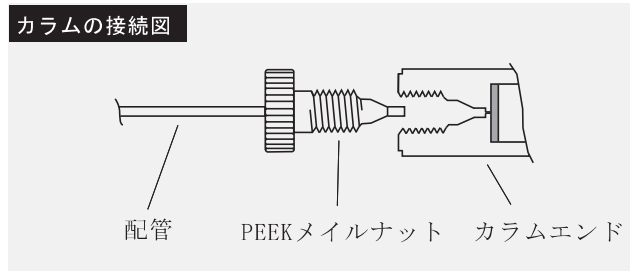
充てん剤	カラム
シリカ基材 全多孔性高純度シリカゲル	サイズ 30 x 4.6 mm 75 x 4.6 mm 150 x 4.6 mm 75 x 2 mm 150 x 2 mm
粒子径 3 μ m	部品番号 228-40511-91(ALL) 228-40511-92(ALL) 228-40511-93(ALL) 228-40511-94(ALL) 228-40511-95(ALL)
金属含有量 30ppm以下	最大使用圧力(MPa) 20
ODS官能基 多官能オクタデシル基	使用pH範囲 1.5 - 9
エンドキャッピング あり	封入溶媒 アセトニトリル / 水 / 酢酸 = 60 / 40 / 0.1

特長

ハイスループット分析用カラムです
高理論段カラムです
ピーク形状や選択性に優れたカラムです
バッチ間やカラム間の製造均一性を保証しています

3 カラムの取り付け

- カラムラベルには移動相の流れ方向 **FLOW** を示しておりますので、HPLCシステムの移動相の流れの方向に合わせてカラムを取り付けてください。
- カラムと配管の接続は左図のように、メイルナットを用いて、配管とカラムエンドをしっかりと固定してください。ポンプ送液したときに液漏れのある場合は、以下のことを確認して対処してください。
メイルナットの締め付けが緩い。
配管の先端がカラムエンドの奥にあたっていない。
配管の先端部分が平坦になっていない。
- なお、カラム接続に必要なPEEK製メイルナットは右記のような製品名、製品番号で入手できます。



品名	部品番号	備考
PEEK製メイルナット	228-18565-84	5個入り

4 移動相溶媒について

- 移動相溶媒の種類は、逆相クロマトグラフィーで一般に用いられる、アセトニトリル/水やメタノール/水の混合系が基本となります。
- イオン性物質の分析では、りん酸二水素カリウムなどの塩類の添加、りん酸緩衝液、トリフルオロ酢酸などのpH調整剤の添加によって、溶質の解離状態を一定にしてください。ただし、このときの使用可能なpHの範囲には充分留意してください。

- イオン対試薬(たとえばテトラブチルアンモニウム塩やペンタンスルホン酸塩)の添加により、溶質の保持を調整することができます。このとき、イオン対試薬の濃度が少し変化しても溶質の保持があまり変化しない条件を設定してください。

5 分析条件の設定について

- 本カラムは従来の5 μ mODSカラムに比べて、粒子径の小さな高性能カラムです。分析条件を設定するにあたり、以下の項目を参考にしてください。
- 流量は基本的には従来と同様の流量設定が可能です。150mmカラムなどで圧力が高いと判断される場合は、0.5-0.6 mL/min(内径4.6mm)、0.1-0.15mL/min(内径2mm)に設定流量を下げてください。
- 流量設定においては、最大使用圧力(20MPa)以下になるような設定が望まれます。

- カラム温度は、ピーク形状やカラムの寿命を考慮して、15 - 65 $^{\circ}$ Cの範囲に設定してください。
- カラム注入試料を調製するときは、ピーク形状を良好にするために、できるだけ移動相組成に近くなるように希釈してください。試料溶媒のpHも移動相と類似するようにしてください。
- 試料注入量は通常100 μ L以下で使用してください。ただし注入量が多いとき、試料溶媒の極性が溶出の早いピーク形状に影響を与えることがありますのでご注意ください。

6 カラムの洗浄について

■極性の低い中性物質がカラム内に残っている場合は、メタノールあるいはアセトニトリルを0.5-1.0mL/min(内径4.6mm)、0.1-0.2mL/min(内径2mm)で、10-20分送液してカラムを洗浄してください。このとき有機溶媒に溶解しない塩類(りん酸塩など)が残っている場合は、塩類が析出しないように、あらかじめ水を同様の流量で送液して塩類を洗い流しておいてください。

■酸・塩基などのイオン物質やイオンペア試薬がカラムに残っている場合は、0.1%酢酸のメタノールまたはアセトニトリル溶液で洗浄してください。
■タンパク質や核酸などの親水性高分子がカラムに残っている場合の洗浄は困難です。このような高分子を含有する試料を取り扱うときは、予め限外ろ過などの前処理によって、試料から高分子を除去しておいてください。

7 カラム取り扱い時の注意

■カラム接続時、メイルナットの締め付けすぎは接続部分の破損につながりますので注意してください。
■カラムには、床に落とすなどの衝撃を与えないように注意してください。

■移動相や試料溶液は、あらかじめメンブランフィルタなどを用いてろ過してから使用してください。浮遊物がある場合は、カラムの目づまりによる圧力上昇のトラブルの原因となります。

8 カラムの保管について

■カラムを装置からはずして保管するときは、必ずカラム両端に栓をして、カラム内の溶媒が乾燥しないように注意してください。

■長期間カラムを使用しないときは、約60%アセトニトリル水溶液に置換後、カラム両端に栓をしてから保管してください。

9 カラム品質証明(Certificate of analysis)について

■本カラムには、充てん剤の品質やカラム充てん状態に関する品質証明書類が添付されています。各項目の内容については以下のとおりです。

充てん剤品質 (PACKING MATERIALS)

●D50 [μm]
シリカ基材の粒度分布50%点における粒子径 (μm) をあらわしています。

●D90/D10
シリカ基材の粒度分布90%点と10%点の各粒子径の比率で、粒子径の分布状態をあらわす均等係数です。

●Pore size [nm]
シリカ基材の平均細孔径をあらわしています。

●Specific surface area [m^2/g]
シリカ基材の比表面積をあらわしています。

●Pore volume [mL/g]
シリカ基材の細孔容量をあらわしています。

●Trace metal contents [ppm]
シリカ基材に含まれる金属不純物の含有量が規格内であることをあらわしています。

●tR(1) [t_0 , min]
充てん剤検査時の t_0 (非保持時間) マーカーの溶出時間を示しています。

●k'(7)
安息香酸ブチルの保持係数により、充てん剤の疎水性が所定の値になっていることを示しています。

● α (7/4)
塩基性化合物であるアミトリブチリンの安息香酸ブチルに対する分離係数により、エンドキャッピングの状態が適切であることを示しています。

ることを示しています。

● α (7/5)
疎水性化合物どうしの安息香酸プロピルとブチルの分離係数により、疎水性の認識能が規格内にあることを示しています。

● α (7/6)
ステロイドであるプロゲステロンと安息香酸プロピルに対する分離係数により、固定相の水素結合性が規格内にあることを示しています。

●N(2)
酸性化合物である4-ヒドロキシ安息香酸の理論段数が規格内にあることを示しています。

●N(3)
配位性化合物である8-キノリノールの理論段数が規格内にあることを示しています。

●N(4)
塩基性化合物であるアミトリブチリンの理論段数が規格内にあることを示しています。

●N(6)
水素結合性を示すプロゲステロンの理論段数が規格内にあることを示しています。

●Pressure [MPa]
充てん剤粒子が所定の分布内にあることを示しています。

カラム品質 (COLUMN PERFORMANCE)

●Retention time [min]
 t_0 マーカーとしてのウラシルの保持時間が規格内にあることを示しています。充てん剤の充てん密度が適切であることをあらわしています。

●Capacity factor
第2ピークの溶出位置を保持係数で示しています。カラムとしての疎水性が規格内にあることをあらわしています。

●Plate number
第2ピークの理論段数をJP法により測定しています。カラムの充てん状態が適切であることをあらわしています。

●USP Tailing factor
第2ピークのシメトリー係数をUSP法により測定しています。カラム充てんに依存するピーク形状が適切であることをあらわしています。

●Column pressure [MPa]
システム全体の圧力から、ライン圧を引いたカラムにかかる圧力の値を示しています。カラムの充てん状態が適切であることをあらわしています。

※外観および仕様は改良のため、予告なく変更することがありますのでご了承ください。

Shim-pack FC-ODS

Instruction Sheet

1 Introduction

The Shim-pack FC-ODS is a high performance reversed-phase column for HPLC. The packing material is composed of 3µm to tally porous spherical silica particles. These silica particles are chemically bonded with octadecylsilyl (ODS) groups and thoroughly end-capped.

Features of the Shim-pack FC-ODS column include:

- High throughput analysis is obtained.
- High theoretical plates are obtained.
- Excellent peak shapes and superior chromatography are assured.
- Reproducibility between columns or column batches is assured.

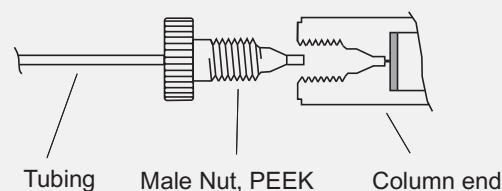
2 Specifications

Packing		Column					
Silica particles	Spherical, porous, high purity silica gel	Dimensions	30 x 4.6 mm	75 x 4.6 mm	150 x 4.6 mm	75 x 2 mm	150 x 2 mm
Particle size	3µm	Product No.	228-40511-91(ALL)	228-40511-92(ALL)	228-40511-93(ALL)	228-40511-94(ALL)	228-40511-95(ALL)
Trace metal contents	Less than 30ppm	Max. operating pressure	20 MPa				
ODS functional group	Multi-functional	pH range	1.5 - 9				
Other	End-capped	Storage solvent	acetonitrile /water /acetic acid = 60/40/0.1				

3 Column Installation

- The flow direction of the column is shown on the column □ (). When installing the column, ensure that this flow direction matches the mobile phase flow direction.
- The column is connected with PEEK malenuts as is shown in the figure. Ensure that the fittings are connected tightly to avoid leaking liquid from the connection. If the leakage occurs when mobile phase is flowed, check the following points:
 - The connection of the malenuts becomes loose.
 - The tubing is not inserted fully to the column interface.
 - The edge of the tubing is not flat.
- The product name and parts number of the PEEK male nuts used for connection are as follows;

Column Connection



Item Name	Part No.	Comment
Male Nut, PEEK	228-18565-84	5/pkg

4 Mobile Phase

- Generally, in reversed-phase chromatography, the mobile phase consists of a mixture of methanol or acetonitrile and water.
- When analyzing ionic substances, the separation characteristics of the compounds are kept uniform by the addition of salts, such as potassium dihydrogen phosphate, or pH modifiers, such as phosphate buffer or trifluoroacetic acid. However, the pH must be carefully monitored to

ensure that it is within an acceptable range for stationary phase stability.

- The retention of ionic substances can also be controlled by the addition of an ion-pair reagent, such as a tetrabutylammonium or pentane sulfonate. Set conditions such that the solute retention remains constant, even if the ion-pair concentration fluctuates.

5 Chromatographic conditions

- The Shim-pack FC-ODS is a high-performance column having packing materials smaller than those of conventional ODS columns. Pay attention to the followings when determining the chromatographic conditions.
- Basically, the same flow rate used for the conventional columns can be set. However, it may be reduced to 0.5-0.6mL/min for 4.6mm ID, or 0.1-0.15mL/min for 2mm ID, in case of the column 150mm long.
- Set the flow rate not to exceed the maximum pressure (20MPa).

- Set the column temperature in the range of 15 - 65°C considering peak shape and column lifetime.
- When preparing sample solutions, dilute the sample with an appropriate solvent to make the composition and pH close to those of the mobile phase. It leads the peak shape sharp.
- Inject a sample of 100µL or less. Too large volume injection may distort the peak shape of polar compounds.

6 Flushing the Column

- To remove neutral, low polarity substances from the column, flush with methanol or acetonitrile at a flow rate of 0.5-1.0 mL/min (4.6mm i.d. column) or 0.1-0.2mL/min (2mm i.d. column) for 10-20 minutes. If salts insoluble in such organic solvents are present, first flush the column with water at these flow rates so that the salt does not precipitate.
- For flushing out an ion-pair reagent or other ionic substances, use a 0.1% acetic acid solution of methanol or acetonitrile.
- It is difficult to remove hydrophilic polymers, such as proteins and nucleic acids, from the column. For such applications, use ultrafiltration prior to injection in order to remove macromolecules from the sample.

7 Column Handling Precautions

- Do not overtighten the column malenuts during installation. This may damage the fittings.
- Do not shock the column by banging it or dropping it.
- Mobile phase and sample solutions must be filtered with a membrane filter, or an equivalent, before use. Suspended particles will lead to column clogging, which will increase the column pressure.

8 Column Storage

- Do not allow the column packing material to dry out. When removing the column from the chromatograph, plug both ends of the column so that the solvent cannot evaporate.
- For long-term storage, replace the mobile phase with a 60% acetonitrile aqueous solution, then plug both ends of the column before storage.

Certificate of Analysis

- This column comes with a quality assurance certificate that refers to the physical properties of packing materials and column performance. These items are described below.

Packing Materials

■ D50 [μm]

The halfway point of the particle size distribution of the silica base material.

■ D90/D10

The ratio of the 90% and 10% point of the particle size distribution indicating the equality coefficient of the distribution.

■ Pore size [nm]

The average pore size of the silica gel.

■ Specific surface area [m^2/g]

The specific surface area of the silica gel.

■ Pore volume [mL/g]

The pore volume of the silica gel.

■ Trace metal contents [ppm]

The individual trace metal contents of the silica gel are measured to ensure that the contents are within the criteria.

■ tR(1) [t₀, min]

The retention time of the t₀ marker (a non-retained compound).

■ k'(7)

The capacity factor of butylbenzoate is measured to ensure that the hydrophobicity of the packing materials meets the specification.

■ $\alpha(7/4)$

The separation factor of butylbenzoate to amitriptyline is measured to ensure that the packing materials were well end-capped.

■ $\alpha(7/5)$

The separation factor of butylbenzoate to propylbenzoate is measured to ensure that the packing materials have the fixed hydrophobic recognition ability.

■ $\alpha(7/6)$

The separation factor of butylbenzoate to progesterone is measured to ensure that the hydrophilicity of the packing materials meets the specification.

■ N(2)

The number of theoretical plates is calculated for 4-hydroxybenzoic Acid to evaluate the peak shape of acidic compounds.

■ N(3)

The number of theoretical plates is calculated for 8-quinolinol to evaluate the peak shape of chelating compounds.

■ N(4)

The number of theoretical plates is calculated for amitriptyline to evaluate the peak shape of basic compounds.

■ N(6)

The number of theoretical plates is calculated for progesterone to evaluate hydrophilic interaction.

■ Pressure [MPa]

The pressure indicates that the particle size distribution is within the criterion.

Column Performance

■ Retention time [min]

The retention time of uracil as a t₀ marker is measured to evaluate the packing density.

■ Capacity factor

The capacity factor of the second eluting compound is measured to determine whether the column meets hydrophobic level requirements.

■ Plate number

The number of theoretical plates is calculated for the second peak by the JP method to ensure that the column is packed properly.

■ USP Tailing factor

The tailing factor of the second peak calculated by the USP method is used to determine that the column is uniformly packed.

■ Column pressure [MPa]

The column head pressure is measured to ensure that the column is packed properly.

The contents of this instruction sheet are subject to change without notice.