

高速液体クロマトグラフ用 高性能充てんカラム

CoreFocus

Shim-pack™ Mix-HILIC

取扱説明書

■ はじめに

Shim-pack Mix-HILIC は陰イオン交換基を有するポリマーゲルを充填した親水性相互作用クロマトグラフィー(Hydrophilic Interaction Chromatography: HILIC) 用カラムで、高極性化合物を分離します。

■ 仕様

項目	Shim-pack Mix-HILIC
部品番号 (P/N)	227-32751-01
カラムサイズ	内径 2.1 mm × 長さ 150 mm
カラムボディ	ステンレス管
充てん剤基材	ポリメタクリレート
充てん剤粒径	5 μm
官能基	ポリアミン
出荷時の封入液/保管液	アセトニトリル : [40 mmol/L 炭酸水素アンモニウム + 6 mmol/L ギ酸 (pH 約7.0)] = 40 / 60 (v/v)

*使用条件は、「■ カラムの取り扱い」の項に記載します。

■ カラムの性能

本カラムは製品ごとに品質検査された後に出荷されています。その結果は検査成績書にまとめられ、製品に添付されています。検査成績書にはカラムシリアルNo.、カラム性能、検査条件 などが記載されていますので大切に保管してください。

ご購入後のカラムは「■ カラムの保管方法」の2)項の記載条件でカラム内の液を置換してから分析にご使用ください。未使用のまま保管される場合は、「■ カラムの保管方法」の1-2)項の記載条件による月単位での液入替を推奨します。

また出荷時において、製品は成績書記載の規格を満たしていますが、この規格は本カラムが適用できるすべての化合物に対して、保持時間やピーク形状を保証するものではありません。

注記 化合物の溶出時間、およびピーク形状は使用状態によって変化します。分析法を開発、検証するときはあらかじめカラムが規格を満たしていることを確認して下さい。

■ ご使用にあたって

移動相や洗浄液の調製、交換の際は、以下にご留意ください。

- 有機溶媒（アセトニトリル）は、引火性の高い液体で、皮膚に接触すると危険です。保護手袋・保護めがね等の保護具を着用し、換気の良い場所で使用してください。

■ カラムの取り付け

カラムを装置に取り付けるときは、以下の点に留意して下さい。

- 流路内の汚れや空気がカラムの中に入ると、カラムが劣化することがあります。カラムを接続する前に、使用する移動相などを流路に通液して洗浄を行ってください。
- カラムには通液方向があります。カラムラベルに表示された方向(→)を確認して接続してください。
- カラム入口の接続配管には、通常、内径 0.1 mm、外径 1.6 mmのSUS製チューブを使用してください。カラム外要因によるピークの広がりを抑えるために、配管は必要以上に長くしないでください。
- PEEK製の配管やメイルナットは耐圧を考慮し、カラム出口などで使用してください。
- カラムの接続にはメイルナットもしくはフィッティングを使用してください。接続の際には、余分な空隙が生じないように気を付けてください。なお、メイルナットもしくはフィッティングは次表に示す製品名、製品番号 (P/N) で入手できます。

品名	P/N	備考	耐圧
メイルナット フィッティングキット	228-45717-01	2個 入り	35 MPa
UHPLCフィッティング 2 S	228-56867-41	1個 入り	130 MPa
メイルナットPEEK	228-18565-84	5個 入り	20 MPa

- 溶出の早いピークがテーリングする場合、その原因のひとつとしてデッドボリュームが考えられます。カラムジョイント部分に接続配管が奥まで挿入されている状態で締めてください。
- 検出器のフローセルはセミマイクロ用もしくはUHPLC用などの低容量タイプをご使用ください。

■ カラムの取り扱い

長期間性能を維持するため、下表に示す圧力/pH/温度範囲で使用してください。使用限界付近での連続使用や急激な圧力変化は性能を低下させる要因となるため避けてください。

項目	値
使用上限圧力	35 MPa
使用 pH 範囲	2.0 - 13.0
使用上限温度	50 °C
使用推奨流量	0.3 mL/min

- ・ カラムを落としたり、ぶつけたりしないでください。強いショックを与えるとカラムが劣化する原因となります。
- ・ 塩を含まない中性・酸性溶離液や緩衝液でない中性・酸性溶離液を水系比率が高い状態（水系比率 50% 以上）で通液するとカラム圧が上昇します。また、塩を含んだ移動相からの置換は平衡化まで通常よりも時間がかかるため、非常に緩やかに圧力が上昇する傾向があります。
- ・ 圧上昇によるカラム破損を避けるため、水系比率が100%に近い移動相を使用される際は、塩濃度 5 mmol/L以上の水溶液または緩衝液での使用を推奨します。また、システムの最大圧カリミッターを適切に設定してください。
- ・ 使用上限圧力を超えない範囲で流量はご調整ください。
- ・ 移動相を交換する場合、混合時に塩が析出する可能性があるため、中間液として水溶液/アセトニトリル＝1/1などの混合溶液を使用してください。
- ・ カラムの使用を終了する際は「■ カラムの保管方法」項に記載の条件でカラム内の液入替えを実施してください。
- ・ カラムを取り外す前に、必ず装置圧力計の表示が0 MPa になっていることを確認してください。
- ・ カラム内を乾燥させないでください。流路から取り外したら、必ず付属のプラグで密栓をしてください。

■ 移動相溶媒

HILIC分離では、有機溶媒比率を上げることにより保持が増大します。また、本カラムの充填剤に修飾されている陽イオン性官能基は、有機溶媒比率を下げて陰イオン性化合物が強く保持されます。

本カラムで使用する移動相は、アセトニトリル / 塩を含む水溶液（緩衝液を推奨）の混合液が適しています。

アセトニトリル 0 – 95%、水溶液は 5 – 100% の範囲でご使用ください。充填剤表面に安定した水和層を形成させ分離再現性を高めるため、少なくとも 5% 以上の水系溶媒を含む移動相を使用してください。

ご使用の際は、以下の点にご注意ください。

- ・ 水系溶媒と有機溶媒との接触により塩析出ししないことを、あらかじめ確認してください。塩濃度と有機溶媒比率が高い移動相は、混合液を調製することを推奨します。
- ・ 移動相をグラジエントミキサーでオンライン混合される場合、吸熱によって析出が発生することがあります。グラジエントミキサーはカラムオープン内に設置してください。混合性能の良いものを推奨します。
- ・ 移動相は用時調製してください。保管される場合は、ボトルは密栓してください。アルミホイルだけで覆うなどの低気密な状態での長期保管は組成変化を招きます。
- ・ グラジエント溶離では、分析中にカラム圧が変動しますので使用上限圧力を超えないか、確認してください。

【有機溶媒についての注意】

- ・ 移動相に使用する有機溶媒はアセトニトリルをご使用ください。その他の有機溶媒の使用はカラムの安定性を損なう恐れがあるため、使用は控えて下さい。

【塩を含む水溶液についての注意】

- ・ 炭酸水素アンモニウム、酢酸アンモニウム、ギ酸アンモニウムなどが適します。リン酸塩など有機溶媒への溶解性が低い塩は避けてください。pH 調整にはアンモニア水やギ酸など塩が析出ししないものを使用してください。
- ・ 移動相中の塩濃度は、用いる検出器や分離・溶解性に依りて移動相全体の 5 - 100 mmol/L の範囲を目安に調製してください。標準的条件では40 mmol/Lを使用します。
- ・ 移動相中に残った溶解しない不溶物は、メンブランフィルターでろ過してから、分析に使用してください。

■ 試料

試料は移動相と同じ組成の溶媒（グラジエント溶離時は初期溶媒）に溶かすことを推奨します。移動相よりも溶出力の高い溶媒に溶解した場合、ピークがブロードになり分離能や再現性が低下することがあります。

詰まり防止のため、試料はメンブランフィルター（0.2-0.45 μm ）などでろ過してから注入してください。また、試料や試料溶解溶媒に含まれる塩類がカラム内で析出することがないよう、これらの移動相への混和性を確認してから注入してください。

タンパク質や多糖類などの高分子化合物がカラムに吸着した場合、洗浄により除去することは一般的に困難です。これらを含む試料や夾雑物の多い試料の場合、あらかじめ固相抽出等により前処理（クリーンアップ）を行うことをお勧めします。

■ カラムの洗浄

カラムの性能は、洗浄液の通液で改善場合があります。カラムに強く保持される成分を以下の方法で洗浄してください。

- ・ 親水性物質は、水系溶媒の比率を上げて（50～100%など）、カラム容量の20倍以上を通液して洗浄してください。
- ・ 強く保持される陰イオン性化合物は、塩を含む水系溶媒（緩衝液）で洗浄してください。
- ・ カラム入口で詰まりや汚れが疑われるときは、カラムを逆向きに接続して低圧力（流量0.2 mL/min以下）で通液してください。（通常時は順方向接続でご使用ください。）
- ・ 水系比率の高い条件でご使用されて疎水性物質の吸着の可能性がある時は、有機溶媒比率を上げて洗浄してください。

■ カラムの保管方法

カラムを使用しないときは、本項に記載の方法でカラム内の液を入れ替えることを推奨します。

新しいカラムも未使用で長期保管する場合は、性能維持のため、本項1-2)での定期的な(推奨は一か月を超えない範囲)液置換を推奨します。

また、新しいカラムや長期保管したカラムを使用開始されるときは、本項の2)を参照してください。

1-1) 使用後の保管

装置をしばらく止める際は、流路やカラム内での塩析出を回避するため、ご使用の移動相でアセトニトリル比率の少し低い液（80% など）などに置換してください。

1週間以上使用しない場合は、カラムを流路から取り外し、付属のプラグで密栓をして、温度変化が小さく、湿気の少ない涼しい清浄な暗所に保管してください。LC流路は塩を含まない液に置換してください。

1-2) カラムを出荷時初期状態で保管する場合

以下の手順で、新しい出荷時の封入溶媒に入れ替えてください。

1. アセトニトリル：40 mmol/L 炭酸水素アンモニウム水溶液
* = 40 / 60 (v/v) を流量 0.2 mL/min・40 °C の条件で 20 min 通液する。
2. アセトニトリル：[40 mmol/L 炭酸水素アンモニウム+6 mmol/L ギ酸 (pH約7.0)]= 40 / 60 (v/v) を流量 0.2 mL/min・40 °C の条件で 60 min 通液する。

2) 新しいカラム/長期保管後カラムの使用開始時

アセトニトリル：40 mmol/L 炭酸水素アンモニウム水溶液
* = 40 / 60 (v/v) を流量 0.2 mL/min・40 °C の条件で 60 min 通液してから、ご使用予定の移動相へ変更することを推奨します。

また移動相による平衡化は、事前に移動相の水系溶媒の比率を上げて（50～100%など）カラム容量の10倍以上通液すると安定しやすくなります。

*40 mmol/L 炭酸水素アンモニウム水溶液の調製方法：

炭酸水素アンモニウム (3.16 g) を水1 Lに溶解し、25 %アンモニア水7.2 mLを加えて混合する。(pH約9.8)

■ カラムの廃棄

カラムは産業廃棄物として、「廃棄物の処理及び清掃に関する法律(廃棄物処理法)」および各自治体の条例に従って処理してください。

■ テクニカルサポート

本製品は厳しい品質管理のもとで製造、検査、包装、出荷 されておりますが、万一不具合がございましたら、下記の窓口までご連絡ください。ただし、前記取り扱い注意事項に従わないで使用して劣化したものにつきましては、保証いたしかねます。

株式会社 島津ジーエルシー

本社

住所：東京都台東区浅草橋5-20 -8 CSタワー5F
TEL：03-5835-0120

関西支店

住所：大阪市北区豊崎3-1-22 淀川6番館6F
TEL：06-7220-9086
<https://solutions.shimadzu.co.jp/glc/>
gsupport@glc.shimadzu.co.jp