

コスモシール® HILICパックドカラム

1. はじめに

このたびはコスモシール HILIC (ヒリック) パックドカラムをお買い上げ頂きましてありがとうございます。このカラムの優れた性能を十分発揮させ、長期間ご使用して頂くために、下記の注意事項をご一読くださるようお願い申し上げます。

2. コスモシール HILIC パックドカラムについて

本品は、全多孔性球状シリカゲルにトリアゾールを化学結合した充填剤をステンレススチールカラムに高度な充填技術を用いて充填した親水性相互作用クロマトグラフィー用カラムです。逆相クロマトグラフィーでは保持されない極性が高い化合物の分離に適しています。

表1、製品仕様、および、推奨使用条件

充填剤名称	2.5HILIC	HILIC
基材	全多孔性球状シリカゲル	
平均粒子径	約 2.5 μ m	約 5 μ m
平均細孔径	約 13nm	約 12nm
固定相	トリアゾール	
カラムサイズ	内径 1.0~3.0mm、長さ 50~150mm	内径 1.0~28mm、長さ 10~250mm
流速	内径 2mm:0.4ml/min, 内径 3mm:1.0ml/min	内径 4.6mm:1.0ml/min, 内径 10mm:5.0ml/min
使用圧力	30MPa 以下	20MPa(内径 10mm 以上は 15MPa) 以下
検出器のレスポンス	0.1sec 以下	1.0sec

3. 使用上の注意事項

- (1) カラムに大きな衝撃を与えないでください。
- (2) コスモシールカラムの接続タイプは、従来のWatersタイプ (HPLC型接続) です。Waters UPLC®カラムと同タイプの接続 (UHPLC型接続) の装置をお使いの場合は、適合するフィッティングもしくはPEEK製フィッティングを使用してコスモシールカラムを接続してください。適合しないフィッティングにカラムを無理に接続すると、フィッティングがカラムエンドから外れなくなることがあります。【図1参照】

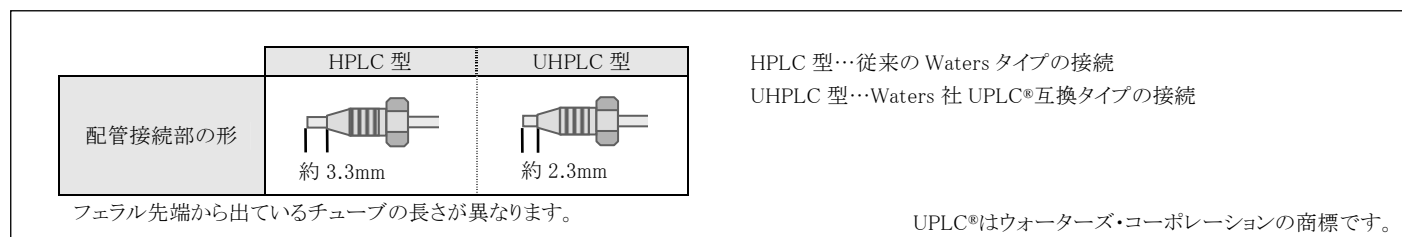


図1、HPLC型およびUHPLC型の配管接続部の形状比較

- (3) カラムへの送液方向はカラムラベルの指示に従ってください。
- (4) 大量の空気の注入、急激な流速の変化、高流速での移動相の交換等による急激な圧力変化は避けてください。
- (5) 試料は必ずろ過してから注入してください。また、注入した時に結晶が析出しないようご注意ください。
- (6) カラム性能を最大限に発揮させるために装置の流路体積は最小にしてください。例えば、接続チューブの長さを短くし、内径を細くしてください。
- (7) カラムの温度コントロールをする時は、カラムだけでなく接続チューブも同じ温度を保つようにしてください。不完全な温度コントロールはデータの再現性を悪くします。
- (8) 接続チューブ、密栓は必要以上に強く締めつけないでください。
- (9) カラムを保管する場合には、カラムを酸や塩の含まない溶媒で洗浄後、90%アセトニトリルに置換し、密栓して室温で保管してください。

4. 移動相の選択

COMOSIL HILICカラムは、親水性相互作用（おもに水素結合による）と陰イオン交換によって、保持と分離を行います。下記をご参照になり、適切な移動相条件をご選択ください。

(1) 有機溶媒の種類と濃度の効果

- 一般には、アセトニトリル／水系の移動相を使用します。
- アセトニトリル濃度を高くすると保持は大きくなり、低くすると保持は小さくなります。（図2）
- アセトニトリル濃度は0～95%（通常50～95%）の範囲でご使用ください。
- メタノール／水系は保持が小さくなります。（図3）
- 有機溶媒および水は必ず高速液体クロマトグラフ用をご使用ください。

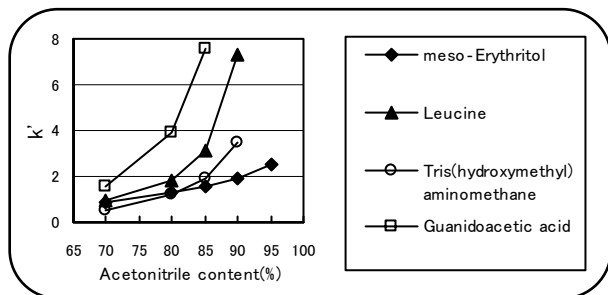


図2、アセトニトリル濃度と保持との関係

Column; COSMOSIL HILIC

Mobile phase; Acetonitrile/ 10mmol/l CH₃COONH₄

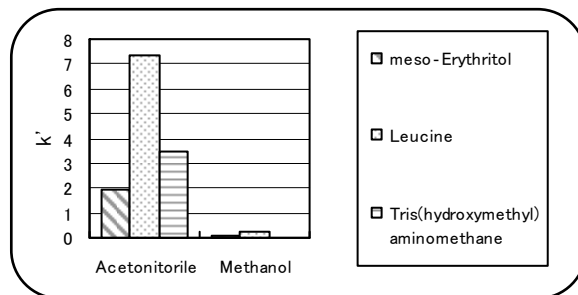


図3、アセトニトリルとメタノールの保持力の違い

Column; COSMOSIL HILIC

Mobile phase; Organic solvent/ 10mmol/l CH₃COONH₄ = 90/10

(2) pHの効果

- 移動相のpHは2～7.5の範囲でご使用ください。
- 中性付近のpHで使用すると保持は大きくなります。（図4）

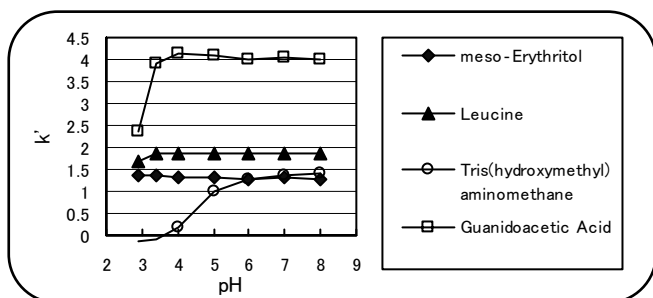


図4、pHと保持との関係

Column; COSMOSIL HILIC

Mobile phase; Acetonitrile / 10mmol/l buffer = 90/10

(3) 緩衝液の種類と濃度の効果

- 解離性の試料を分析する場合には、移動相に塩や緩衝液を添加する必要があります。
- HILICモードでは高濃度のアセトニトリルを移動相としますが、これらは塩に対する溶解性が低いので注意が必要です。特に逆相クロマトグラフィーで汎用されるりん酸塩は溶解性が低いためにHILICモードでの使用は不向きです。もし、使用する場合には、アセトニトリル濃度を70%以下にしてください。また、ご使用前には移動相に塩が析出していないか、必ず確認してください。
- 緩衝液の種類としては、高濃度のアセトニトリル中でも溶解性の高い、酢酸アンモニウムやギ酸アンモニウムをおすすめします。
- 緩衝液の濃度は、5～100mmol/lの範囲でご使用ください。また、アセトニトリルと混合後、塩の析出がないか確認してください。
- 塩濃度を高くすると、イオン交換能が抑制され、保持が小さくなります。（図5）
- 移動相に緩衝液を使用する場合には、使用前に必ず 0.45 μm以下のフィルターでろ過してください。

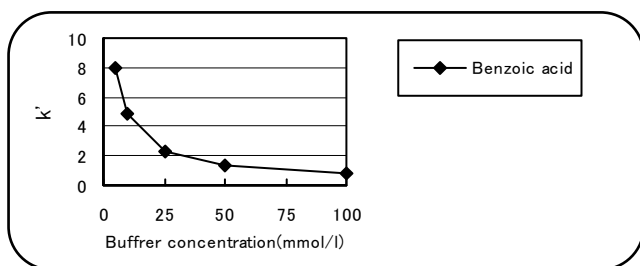


図5、塩濃度と保持との関係

Column; COSMOSIL HILIC

Mobile phase; Acetonitrile / x mmol/l CH₃COONH₄ = 50/50

(4) 移動相選択フロー

ここでは、化合物の特性から、第一選択の移動相を提示致します。保持時間の増減は主にアセトニトリル濃度で調整してください。

中性化合物	→ Acetonitrile / Water = 90/10
塩基性化合物	→ Acetonitrile / 10mmol/l CH ₃ COONH ₄ = 90/10
両性化合物	→ Acetonitrile / 10mmol/l CH ₃ COONH ₄ = 70/30
酸性化合物	→ Acetonitrile / 10mmol/l CH ₃ COONH ₄ = 50/50
↓ 溶出しない場合	
Acetonitrile / 10mmol/l Phosphate buffer(pH7.0) = 50/50	

(5) テーリング時の対処法

ピークがテーリングする場合には、下記の移動相を試してください。ピーク形状が改善する場合があります。(図6)

- ・移動相に5mmol/l のEDTAを添加する。
- ・クエン酸緩衝液にする。[例 10mmol/l Citrate buffer(pH7.0)]

80%Acetonitrile/ 10mmol/l CH ₃ COONH ₄	80%Acetonitrile/ 10mmol/l CH ₃ COONH ₄ + <u>5mmol/l EDTA</u>
---	---

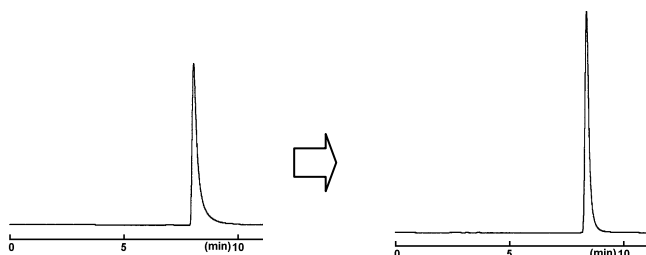


図6、ピーク形状の改善

Column: COSMOSIL HILIC(4.6mmI.D.-250mm)

Sample: Tryptophan(1ng), Flow rate: 1.0ml/min

Detection: UV254nm, Temperature: 30℃

(6) その他

- ・気泡発生は送液装置の作動不良、検出ノイズの発生、カラム劣化の原因となりますので、移動相は必ず脱気してからご使用ください。
- ・頻繁な移動相交換はカラム性能を早く低下させます。用途を限定してできるだけ同一移動相を使用して頂くとカラム寿命を延ばすことができます。

5. トラブル対策

トラブル内容	原因	処置
圧力上昇	カラムエンドフィルターの目詰まり	(1)
	充填剤の目詰まり	(1)
	カラム内での沈殿の発生	(2)
分離能の低下	充填剤の汚染 充填状態の乱れ	(3) 再生不可
ピークの分裂	カラム内での隙間の発生	再生不可
ベースラインの乱れ	充填剤の汚染	(3)
	移動相の汚染	(4)

(処置方法)

- (1) 移動相をカラムラベルの指示方向の逆から約30分間、通常の半分程度の流速で送液してください。この場合カラムは検出器に接続しないでください。
- (2) 移動相中の塩が析出したと考えられる場合、蒸留水で洗浄してください。
- (3) 50%アセトニトリルを約30分間送液してください。
- (4) 新しい蒸留水や液体クロマトグラフィー用の溶媒を使用してください。

6. 品質保証について

本品は、理論段数、ピーク非対称性、溶出時間など多くの項目について厳しく管理されています。カラム毎に規定に従った検査条件と検査結果を示した検査成績書が添付されています。

(クレームについて)

- (1) 現品到着時、輸送中の事故等でカラムに異常があった場合。
- (2) 現品到着時、規定の検査条件(検査成績書に記載)で測定したカラムの理論段数が、極端に低い場合(デッドボリユームの大きな装置を使用したとき、あるいは注入量が多い時は低い理論段数を示す場合がありますのでご注意ください)。
- (3) 上記の場合、現品到着後、2週間以内にご連絡くだされば、新しいカラムと交換させていただきます。2週間を過ぎたものについては良品とみなさせていただきますので、ご了承ください。
- (4) カラムの寿命に関する問題はクレームの対象とは致しません。また、カラムエンドフィティングを取り外して修理、補修された後にカラム性能が大きく低下した場合もクレーム対象と致しません。
- (5) いかなる場合も、事前のご連絡なしにカラムを返品されることはお断り致します。