

ULTRON ES-OVM

ULTRON ES-OVM-C

ULTRON ES-OVM-E

(光学異性体分離用カラム)

取扱説明書

1. はじめに

この度は ULTRON ES-OVM シリーズをご購入頂きありがとうございます。本カラムの充填剤は、アミノ化シリカゲル (5 μ m、3 μ m) に、変性に強い安定な酸性糖タンパク質 (オボムコイド) を共有結合しています。分析対象物は、主として芳香環に塩基や酸性の置換基を有する化合物で、それらの光学異性体を逆相条件で分離します。

2. 仕様

内径 (粒子径)	2.0 ϕ (5 μ m) 2.1 ϕ (3 μ m)	3.0 ϕ (3 μ m)	4.6 ϕ , 6.0 ϕ (5 μ m)
エンドフィッティング	ウォーターズタイプ		
pH	推奨値 pH 3.0~7.5		
有機溶媒	推奨値 1~10% (最大 50%)		
温度	推奨値 5~30°C (最高使用温度 40°C)		
圧力	5 μ m : 推奨値 15MPa 以下 (最高使用圧力 20MPa) 3 μ m : 推奨値 40MPa 以下 (最高使用圧力 50MPa)		

3. 使用上の注意事項

- ULTRON ES-OVM と ULTRON ES-OVM-C は同じ充填剤を使用し、カラム性能は同等です。大きな違いは ES-OVM は出荷検査でベンゾインの分離を確認し、ES-OVM-C は出荷検査に Clopidogrel bisulfate と関連化合物の分離を確認しております。
- ES-OVM (5 μ m) は 33%2-プロパノール水溶液、ES-OVM (3 μ m) と ES-OVM-C、ES-OVM-E は 30%アセトニトリル水溶液が封入されております。塩濃度の高い移動相や粘性の高い移動相を封入液から置換する際は、急激な圧力上昇を起こす危険性がございますのでカラムサイズが 150 x 4.6mm I.D.の場合、流速を 0.2mL/min で通液し分析圧が安定したのを確認し、0.2mL/min ずつ同様に目的の流速まで上げて下さい。
- 本カラムをご使用する前に、試料及び移動相は 0.45 μ m 以下のメンブレンフィルターで濾過して下さい。移動相等の濾過を怠るとカラムフィルター部分に目詰まりを起こし分析圧が上昇する危険性がございます。
- 移動相は十分に脱気してご使用下さい。移動相の脱気が不十分な場合、装置内、カラム内に気泡が発生することが考えられトラブルの原因となります。
- 変性に強いタンパク質をシリカゲルに固定化しておりますが、逆相の移動相条件において有機溶媒の濃度は最大 50%までとして下さい。但し推奨する有機溶媒の濃度は 1~10%が分離において効果的です。有機溶媒の濃度が著しく高い場合、タンパク質の変性が起こり分析に影響を及ぼす可能性がございますのでご注意下さい。
- 分析温度は 5~30°Cを推奨しております。なお、最高使用温度は 40°Cですが、分析温度が著しく高くなった場合、熱によりリガンドのタンパク質の変性が起こり分析に影響を及ぼすことがございますのでご注意下さい。
- カラムを長くご使用頂くために、分析圧力は 15MPa 以下 (ES-OVM (3 μ m) は 40MPa 以下) を推奨しております。な

お、最大使用圧力は 20MPa (ES-OVM (3 μ m) は 50MPa 以下) ですが、著しく分析圧力が上がるとカラム内にボイドが発生しピーク形状が悪くなる可能性がございますのでご注意ください。

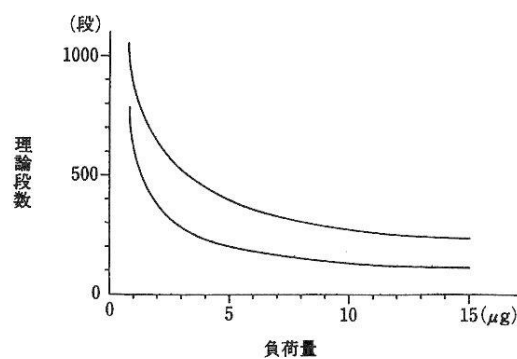
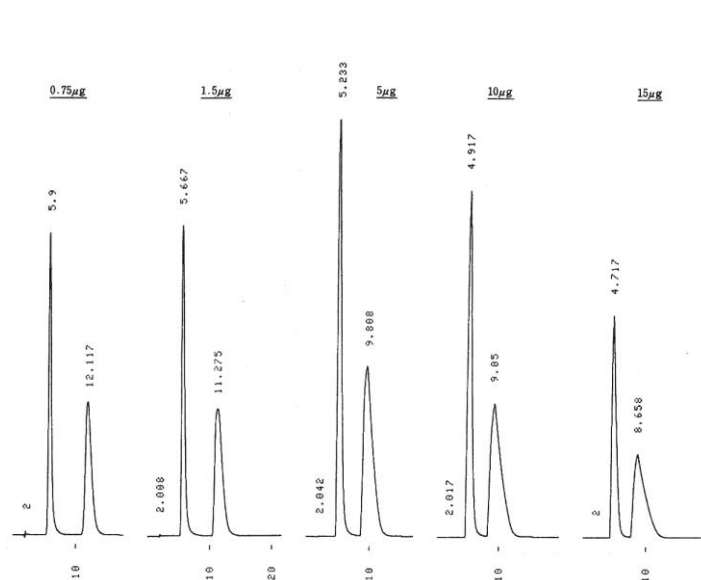
- ・ご使用頂く移動相の pH の範囲は 3.0~7.5 です。酸性が強すぎるとリガンドであるタンパク質の脱離やタンパク質の変性が起こります。また塩基性が強すぎると基材のシリカゲルの溶解やタンパク質の変性が起こります。
- ・スケールなどによる汚れを防ぎ、分析カラムの寿命を延ばすためにガードカラムの使用をお勧めします。なお、ガードカラムの使用による分離度などへの悪影響はございません。
- ・移動相の平衡化について、本カラムの分離モードにはイオンの相互作用も含まれており、移動相の平衡化には少し時間を要します。特に充填剤に使用しているオボムコイドの等電点(pI4.1)付近での平衡化は時間を要し注意が必要です。たとえば pH3.0 から pH4.6 に移動相を変える場合などは十分に平衡化するまでには時間が掛かります。

4. 分析条件の検討について

・試料の負荷量について

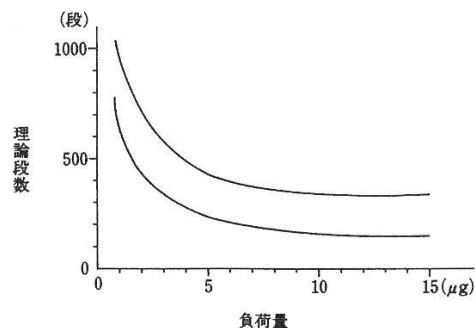
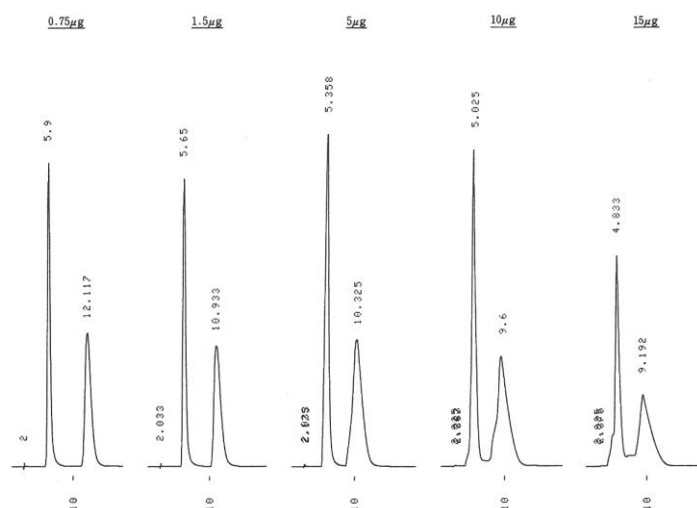
試料の負荷量が増すに従い理論段数が低下します。シャープなピークを得るには、試料の負荷量を少なくすることをお勧めします。

(1) 重量負荷量の影響



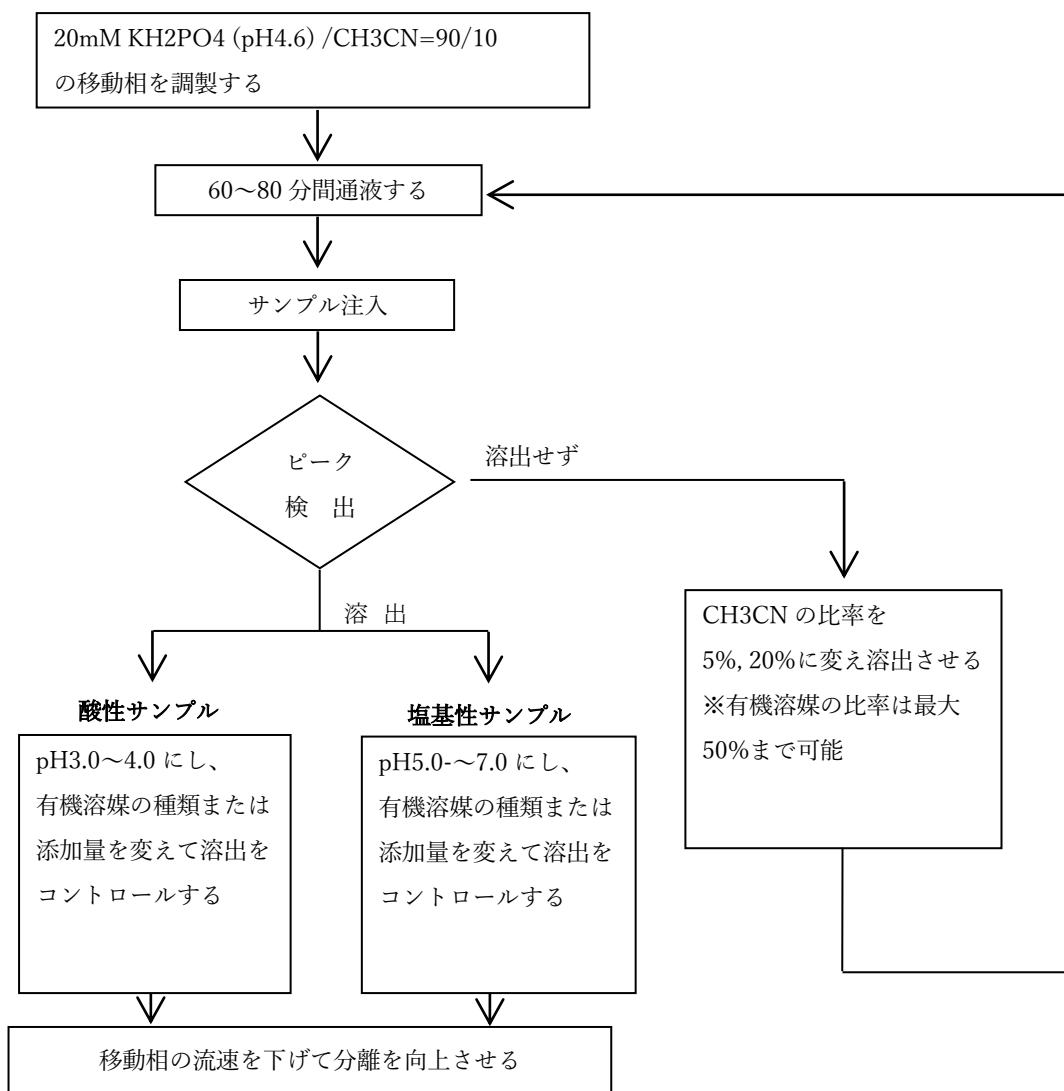
Column : ULTRON ES-OVM (4.6mm ϕ \times 150mm)
 Mobile phase : 20mM KH_2PO_4 (pH=5.5)/ $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$
 = 100/4
 Flow rate : 1.0 mL/min.
 Column temp. : 25 $^\circ\text{C}$
 Detector : UV-254nm
 Injection Volume : 0.5 μL 一定
 Sample : Tolperison

(2) 容量負荷量の影響



分析条件は、上記の重量負荷量と同様
 注入量 順に 0.5, 1.0, 3.3, 6.7, 10 μL

5. 移動相条件の適正化フロー



6. 分析温度の影響

・分析温度は 20℃ 近辺が比較的分離も良いです。以下に Propranolol の分析温度による影響をまとめましたので参考にして下さい。

	Column Temperature				
	5℃	11℃	19℃	28℃	40℃
k'1	18.67	11.49	7.79	4.97	2.59
k'2	23.94	14.59	9.68	6.05	3.06
α	1.28	1.27	1.25	1.22	1.18
N1	446	722	1059	1224	1899
N2	380	563	796	890	1282
Rs	1.12	1.35	1.44	1.21	1.08

Column : ULTRON ES-OVM (4.6mm φ × 150mm)
Mobile phase : 20mM-KH₂PO₄ (pH=4.6)/C₂H₅OH
= 100/10

Flow rate : 1.0 mL/min.
Detector : UV-220nm (0.08AUFS)
Sample : Propranolol

7. カラムの洗浄方法及び保管

- ・ 150 x 4.6mm I.D.サイズのカラムを洗浄する場合、ご使用の移動相（例えば 20mM KH₂PO₄/アセトニトリル=90/10）の緩衝液を精製水に変え、有機溶媒の比率は同じか（水/アセトニトリル=90/10）、もしくは少し高い比率で調製した溶液を 0.2mL/min で一晩洗浄して下さい。さらにカラムが汚れている場合は、pH3.5 リン酸水溶液/2-プロパノール=80/20 の溶液を 0.2mL/min で 2 時間以上洗浄して下さい。
- ・ 数日間測定を中止される場合は、30%アセトニトリル水溶液でカラム内を置換の上、冷蔵庫内(4°C前後)の保管を推奨します。（保管温度の許容範囲は 4°C～25°Cです。）
- ・ 保管温度を逸脱して保管しますと、カラムの劣化を引き起こす可能性がありますので、ご注意下さい。

ULTRON充填カラムは厳しい品質管理のもとで製造、検査、梱包、出荷を行っておりますが、万一不具合がございましたら現品受取後14日以内に弊社までご連絡下さい。但し、寿命に関する事項や取扱い注意事項に従わないで使用し、劣化したものにつきましては保証致しかねます。



50-2 Kagekatsu-cho, Fushimi-ku, Kyoto 612-8307 JAPAN

TEL 075-621-2360 URL <https://shinwa-cpc.co.jp>