

CHIRALPAK® CBH カラム 取扱説明書



ご使用の前に必ずお読み下さい

カラムの詳細

カラムエンド : ウォーターズタイプ
 不斉識別剤 : セロビオヒドロラーゼ
 粒子径 : 5 µm
 出荷時の封入溶媒 : 水 / 2-プロパノール = 85/15 (v/v)

(カラムは全て出荷前に品質検査を実施しています。検査条件と検査結果およびカラムロット番号は、同封の品質検査レポートをご参照下さい。)

この取扱説明書は、本カラムについてのみ有効です。他のカラムには絶対に適用しないで下さい。
 下記のガイドラインに従ってお使い頂ければ、本カラムを長期間安定してお使い頂けます。

カラム使用条件

通液方向	カラムのタグに明示されています。
pH	pH 4.0 ~ 7.0
推奨温度範囲	20~30°C
有機溶媒比率	0~15%(体積比)
緩衝液の濃度	~100mM (推奨範囲 : 10~20mM)
添加剤量	~10mM

※ 一般的な流量範囲は、カラムの内径が 4mm の場合、0.9ml/min となります。それ以外のサイズの場合は、末尾の換算表を参考に、カラムの断面積比によって流速を調節して下さい。

重要注意事項

- ⇒ **本取扱説明書の内容は、他のダイセルのキラルカラムには適用できません。**
- ⇒ カラムを長くお使い頂くために、CBH 専用のガードカートリッジをご使用下さい。CBH 専用ガードカートリッジには、本体カラムと同じ充填剤が充填されています。ガードカートリッジを使用することで、移動相中の微粒子や固定相に強吸着するような不純物が本体カラムに流入することを防止できます。特に生体成分の分析をされる場合は、ガードカートリッジを定期的に交換してください。
- ⇒ 本カラムはセロビオヒドロラーゼをシリカゲルに化学結合した充填剤を使用しています。そのため移動相および試料溶媒の項に記載された以外の溶媒の使用、混入は充填剤のタンパク質を変性させ、カラム性能を損なわせます。使用の前に、HPLC 装置内やサンプルループ等を使用可能移動相で十分置換して下さい。
- ⇒ 塩基性の強い試料の注入または移動相の使用は、担体であるシリカゲルを劣化させる可能性があります。
- ⇒ カラムに強い衝撃を与えた後、カラムを分解しないで下さい。
- ⇒ 本カラムの使用に関するご質問あるいはカラムに関するトラブルについては、キラルヘルプデスク (0120-780-104) または末尾記載の連絡先までお問い合わせ下さい。

平衡化

- ⇒ 本カラムは出荷時に水/2-プロパノール = 85/15 (v/v) が封入されています。使用にあたっては、下記条件でカラムを置換した後、使用的移動相を通液し、ベースラインが安定するまで平衡化してください。
- (1) 水(HPLC グレード)置換
 HPLC 装置を水に置換します。カラムを HPLC 装置に接続し、0.1mL/min で通液を開始し、約 1 分で 0.5mL/min まで徐々に流速を上げて下さい。そのまま流速 0.5mL/min で約 2 分間通液し、さらに 0.8~0.9mL/min まで流速を上げて約 10 分間通液して下さい。(4mm 内径の場合の流速です。2mm 内径、3mm 内径のカラムをご使用の場合は、線速が同じになるよう設定してください。)
- (2) その後、使用移動相でカラム平衡化を行って下さい。

推奨移動相条件

下記以外の溶媒をご使用になりたい場合は、弊社までお問い合わせ下さい。

A 移動相の初期条件

	中性試料	塩基性試料
初期条件	10mM 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 5.8) ^① / 2-プロパノール = 95 / 5 (v/v)	

- ① 緩衝液の調製法をご参照下さい。

B 緩衝液の調製法

10mM 酢酸アンモニウム緩衝液の調製(1L 調製)

- ① 酢酸アンモニウム($\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 、純度 $\geq 99\%$) 770.8mg をビーカーに量り取る。
- ② 水 (HPLC グレード) 約 800mL を加え、室温(20~25°C)で溶解させる。
- ③ 希釈した酢酸もしくはアンモニウム水溶液で調整したい pH に合わせる。
- ④ 0.22μm のフィルターを通してから、1L メスフラスコに入れる。
- ⑤ 1L メスフラスコの標線まで水を加え、密栓後、均一になるまでよく混ぜる。

緩衝液を有機溶媒と混合して使用する場合は、メスフラスコまたはメスピペットを使って、容積で測定してください。混合した後、移動相は超音波槽で脱気して下さい。

移動相にイオン性添加剤を加える際には、イオン性添加剤を pH 調製前に加えてください。

C 移動相

有機溶媒含有量が少ないか、もしくは含まれない移動相中では、微生物が繁殖しやすくなります。そのような移動相を使用する場合には、使用直前に移動相調製をして下さい。

❖ 緩衝液

酢酸アンモニウムの濃度は、通常10~20mMで使用しますが、100mMまで使用できます。他の種類の緩衝液(リン酸ナトリウム、リン酸カリウム、酢酸ナトリウム緩衝液、ギ酸塩緩衝液、クエン酸塩緩衝液など)も使用することができますが、LC-MS測定には、適さない場合があります。

❖ 有機溶媒

2-プロパノールが最もよく使用されますが、メタノール、エタノール、アセトニトリルも使用することができます。一般に、有機溶媒の溶出力は、2-プロパノール > エタノール \geq アセトニトリル > メタノールの順です。

❖ イオン性添加剤

イオン性添加剤の添加は必要としません。

D 試料

試料の注入量は可能な限り少なくしてください。推奨のサンプル濃度は 0.20mg/mL 以下、打ち込み量は 5~10μL です。

また、試料は可能な限り移動相に溶かしてください。もし十分溶解しない場合には、なるべく少量の有機溶剤を添加して溶解させてください。試料溶液は、0.5μm 程度のメンブレンフィルターで濾過してからご使用下さい。

注意：サンプルを 100% もしくは高濃度の有機溶媒に溶解させると、注入後にサンプルが析出し、装置配管を詰まらせる原因となります。不溶解物を含む溶液は打ち込まないで下さい。

カラムの洗浄・保管

- 疎水性の強い化合物を分析し、カラムへ吸着した場合は、検出器には繋がず、EDTA-2Na(*)を 2.5mM となるよう加えた移動相を通常のカラム通液方向とは逆向きに通液して洗浄してください。洗浄後もカラム性能が回復しない場合は、通常のカラム通液方向とは逆向きに 10mM リン酸緩衝液(pH=3.5)/2-プロパノール = 85/15(v/v)を低流速(内径 4mm のカラムの場合 0.3mL/min)で 1 時間通液してください。
*エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物
- カラム使用後、HPLC 装置から取り外す前に、塩もしくは緩衝液を含まない移動相(例：水/2-プロパノール=90/10(v/v))でカラムを洗浄してください。
- カラムを保管する場合は、水/2-プロパノール = 85/15(v/v)で封止することを推奨します。
短期間(週末など)の保管では常温(< 30°C)、長期間にわたる場合は冷蔵で保管することを推奨します。

分析条件設定までの流れ

次のフローで、分析条件の開発や最適化ができます。

初期条件

10mM 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 5.8) / 2-プロパノール = 95 / 5

$k_2' < 1-2$ $1-2 < k_2' < 15$ $k_2' > 15$

pH 7.0

pH 4.5

$Rs=0$

2-プロパノール % (0-15%)

ACN, EtOH, MeOH, NPA
(≤15%)

他のカラムを検討

条件決定

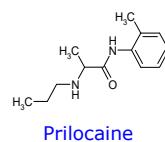
CHIRALPAK® AGP, または他のダイセルのキラルカラム

CHIRALPAK® CBH
4 x 100 mm



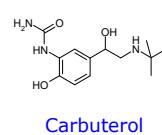
0 2 4 6
Minute

Buffer (pH 5.0) / 2-PrOH = 95 / 5
Buffer : 10mM Ammonium acetate



0 2 4 6 8
Minute

Buffer (pH 7.0) / MeOH = 95 / 5
Buffer : 10mM Ammonium acetate



0 2 4 6
Minute

Buffer (pH 5.8) / NPA = 95 / 5
Buffer : 10mM Ammonium acetate

(参考) 換算表

□ 内径・流速 換算表

内径(mm)	2.0	3.0	4.0	10
流速(ml/min)	0.23	0.51	0.9	5.6

□ 圧力換算表

MPa	bar	kg/cm ²	psi
1	10	10.197	145.038
0.1	1	1.020	14.504
9.807×10^{-2}	0.981	1	14.223
6.895×10^{-3}	6.895×10^{-2}	7.031×10^{-2}	1

CHIRALCEL, CHIRALPAK, CROWNPAK は、日本、米国、EU、中国、インドにおいて登録された株式会社ダイセルの登録商標です。
日本における商標登録番号:CHIRALCEL(登録商標第 5413634 号)、CHIRALPAK(登録商標第 1814811 号)、CROWNPAK(登録商標第 5413635 号)

株式会社ダイセル

CPI カンパニー : 〒108-8230 東京都港区港南 2-18-1 TEL: 03-6711-8222 FAX: 03-6711-8228
〒530-0011 大阪市北区大深町 3-1 TEL: 06-7639-7221 FAX: 06-7639-7228