

Shodex®

充てんかんカラム取扱説明書

Standard Operation Procedure

SUGAR シリ-γ

SUGAR Series

SH1011, SH1821, SC1011, SC1821, SP0810, SC1211, SZ6532

[必ずお読み下さい]

この度は Shodex 製品をお買い上げいただき誠にありがとうございます。
カラムライフや性能を永く保持してご使用いただくために、この取扱説明書を
読んでからご使用ください。

Thank you for purchasing a Shodex product. Prior to use, be sure
to read this instruction manual so that the maximum service life
and performance of your column can be achieved.



SHOWA
DENKO



1. はじめに

Shodex SUGAR シリウスは、糖類の分離・分析のための高性能充填カララムです。充填剤には糖分析のために特に設計した硬質の Styrene-DBV 系強化カチオン交換樹脂を使用しています。食品分野をはじめとして生化学、天然分野における糖類の分離・分析に最適です。分離モードは、分子サイズ分離 (SEC, GPC) モードですが、分配モードや、対イオンと試料間の相互作用 (配位子交換) が加味されるため、糖類間の分離の様な微妙な分離も可能です。また、SUGAR SH タイプは、イオン排除効果が強く働くため、有機酸と糖類の同時分析が可能です。

2. Shodex SUGAR シリウスのカラム仕様
SUGAR シリウスには、7種類のタイフがありますが、それぞれ対イオン、ポアサイズ、ポア構造が異なり、糖類に対する選択性が異なります。

表1 Shodex SUGAR シリウス種類と仕様
SUGAR シリウス仕様の表1にまとめて示します。

タイフ	対イオン	分離モード	カララム (内径×長さ)	排除限界 分子量	理論段数 (段/本)	出荷時封入液
SH1011	H ⁺	SEC+イオン排除	8mm × 300mm	1,000	17,000 以上	H ₂ O
SH1821	H ⁺	SEC+イオン排除	8mm × 300mm	10,000	17,000 以上	H ₂ O
SC1011	Ca ²⁺	SEC+配位子交換	8mm × 300mm	1,000	13,000 以上	H ₂ O
SC1821	Ca ²⁺	SEC+配位子交換	8mm × 300mm	10,000	13,000 以上	H ₂ O
SP0810	Pb ²⁺	SEC+配位子交換	8mm × 300mm	1,000	11,000 以上	H ₂ O
SC1211	Ca ²⁺	分配+配位子交換	6mm × 250mm		5,500 以上	25%CH ₃ CN /H ₂ O
SZ5532	Zn ²⁺	分配+配位子交換	6mm × 150mm		5,500 以上	70%CH ₃ CN /H ₂ O

カララム材質: SUS-316

カララム末端接続ネジ: オシネジ型 No.10-32UNF

上記カララムのガーダカララムとして、表2の5種類があります。目的に応じて使い分けてください。

注意 SP0810, SZ5532 各カラムの対イオンは Pb^{2+} と Zn^{2+} です。
 これらのカラムに溶解液や試料として、酸、アルカリ、対イオン以外
 の無機塩が入ると、対イオンが脱離・溶出します。
 Pb^{2+} および Zn^{2+} は、水質汚濁防止法による規制の対象物質です。
 カラムの溶出液の廃棄には十分ご配慮ください。

2) 使用可能条件

表4に使用可能条件を示します。

タイプ	溶解液	流量 (ml/min)	カラム温度 (°C)
SH1011	0.01N H_2SO_4	0.5~1.0	50~60
SH1821	0.01N H_2SO_4	0.5~1.0	50~60
SC1011	H ₂ O	0.5~1.0	70~80
SC1821	H ₂ O	0.5~1.0	70~80
SP0810	H ₂ O	0.5~1.0	70~80
SC1211	25% CH_3CN/H_2O	0.5~1.0	50~60
SZ5532	70% CH_3CN/H_2O	0.5~1.0	50~60

表3 標準的な使用条件

3. 使用条件と使用範囲
 1) 標準的な使用条件
 標準的な使用条件を表3に示します。

1) SUGAR KS-800 シリ-ズ用のガードカラムですが、SUGAR シリ-ズにも適用できます。

タイプ	対イオン	カラム径 (内径×長さ)	出荷時封入液	適応カラム
SH-G	H ⁺	6mm×50mm	H ₂ O	SH
SC-LG	Ca ²⁺	6mm×50mm	H ₂ O	SC, SP
SP-G	Pb ²⁺	6mm×50mm	H ₂ O	SP
SC-G	Ca ²⁺	4.6mm×10mm	25% CH_3CN/H_2O	SC1211
SZ-G	Zn ²⁺	4.6mm×10mm	70% CH_3CN/H_2O	SZ5532
KS-G ¹⁾	Na ⁺	6mm×50mm	H ₂ O	SC, SP

表2 Shodex SUGAR シリ-ズ用保護カラム

4. 溶解液

溶解液に使用する純水は、脱イオン水を0.45μニルタでろ過したものを使用してください。SUGAR シリ-ズは、カラムを加温して使用します。カラム内およびカラム出口での気泡の発生を防ぐために、溶解液は必ず脱気した後使用してください。脱気装置の使用をお勧めします。

SH タイプは、脱イオン水のみを溶解液に用いて分離を行うことができます。塩基性物質が吸着すると分離パターンが変化します。そのため溶解液に、硫酸やリン酸等の酸を加えて使用することをお勧めします。硫酸溶液の調製には容量分析用 1N 硫酸を希釈して使用すると便利です。

SC および SP タイプは、基本的に脱イオン水を溶解液として使用します。糖アルコール類の分離の改善や疎水性吸着を減少させるために、極性有機溶解液を添加することができます。その場合添加する濃度は、20%以下としてください。

SC タイプは、イオン性物質の分離の改善のために、塩類を添加して使用することができます。使用する塩は $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ か、 CaSO_4 を用い、必ず pH 3~7 の間で使用します。また、重金属を多く含む試料の分析では、溶解液に 10~50ppm 程度の Ca-EDTA を添加することによりカラム性能の劣化を防ぎます。

SC1211 および SZ5532 は、基本的に水と有機溶解液（一般的にはアセトニトリル）の混合溶媒系で、分配モードで使用します。使用範囲は表4を参照してください。

表4 使用可能条件

タイプ	溶解液	最高使用流量 (mL/min)	カラム温度 (°C)	最高使用圧力 (MPa)
SH1011	$\text{H}_2\text{O} \sim 0.05\text{N H}_2\text{SO}_4$	1.5	95 以下	5.0
SH1821	$\text{H}_2\text{O} \sim 0.05\text{N H}_2\text{SO}_4$	1.5	95 以下	5.0
SC1011	$\text{H}_2\text{O} \sim 20\%\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$	1.5	95 以下	4.0
SC1821	$\text{H}_2\text{O} \sim 20\%\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$	1.5	95 以下	4.0
SP0810	$\text{H}_2\text{O} \sim 20\%\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$	1.0	95 以下	3.0
SC1211	$\text{H}_2\text{O} \sim 40\%\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$	1.0	95 以下	4.0
SZ5532	$\text{H}_2\text{O} \sim 95\%\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$	2.0	80 以下	4.0

注意 SP0810 を使用する時は特別の注意が必要です。後述の「SP0810 取扱注意事項」もあわせてお読み下さい。

5. 測定流量
通常は、表3に示してある条件での使用をお勧めします。また、使用可能な範囲は、表4を参照してください。一般的に、糖類は水溶液中での拡散が他の物質に比べ遅いので、測定流量は遅いほど高分離が得られます。特にオリゴマーや溶出容量の差が小さい物質の分離では、測定流量を遅くしたほうが好結果が得られます。

6. カラムの加温

「5.1」で述べたように糖類は拡散が遅いため、カラムを高い温度に加温して使用したほうが高分離が得られます。通常は表3にしたがって使用してください。SCやSPタイズを50°C以下で使用しますと、糖のアノマーが分離してきますのでカラム温度には注意を払う必要があります。また、SHタイズの樹脂は、Sucrose や Raffinose に対して分解触媒として働きます。したがって、これらの糖の分離には適しません。しかし、やむをえず SH タイズを使用する場合には、カラム温度を40°C程度に下げることにより試料の分解をおさえることができます。SCやSPタイズは、低温でアノマーを分離しますので、SCやSPタイズのガーボカラムを使用するときはガーボカラムも加温する必要があります。ガーボカラムを加温しないとアノマーの分離やピークの広がりが起きます。ガーボカラムを加温できない場合には、SUGAR KS-Gの使用をお勧めします。

7. カラムの組合せ

分離が不十分な場合には、同じタイズのカラムを追加して分離を改善する方法が一般的ですが、異なるタイズのカラムをつなぎ合わせることにしても分離を改善することができます。カラムの組合せはSC、SPタイズとSUGAR KS タイズの3種での組合せを行ってください。組合せは必ず次の順序で接続します。
インジエクタ ①SUGAR KS タイズ+②SC タイズ+③SP タイズ
カラムの組合せを行った時に使用するガーボカラムは、組合せの中でインジエクタに近い方のカラムと同じタイズのものを使用します。
カラムの組合せ、選択についてはリータ集、技術資料等をご参照ください。

8. 試料の前処理

一般に試料は、使用する溶離液に溶解します。溶解した試料は0.45μm
 フィルタでろ過した後、カラムに注入してください。ダイスボーマル
 ヌタユニットの使用をお勧めします。
 タンパク質を含む試料は、必ず除タンパクを行った後ろ過して注入し
 ます。タンパク質に吸着するような重金属イオン、界面活性剤（乳化剤）、油性物
 質等を含む試料はH型のカチオン交換樹脂を通した後ろ過してから注入
 します。
 有機酸を多く含む試料は、OH型のアニオン交換樹脂を通して有機酸類を
 除去した後、ろ過してから注入します。SHタイプの場合は、直接注入し
 てもかまいません。
 アルカリ性の試料は、必ず中和した後注入します。そのまま注入すると
 カラム性能が低下することがあります。

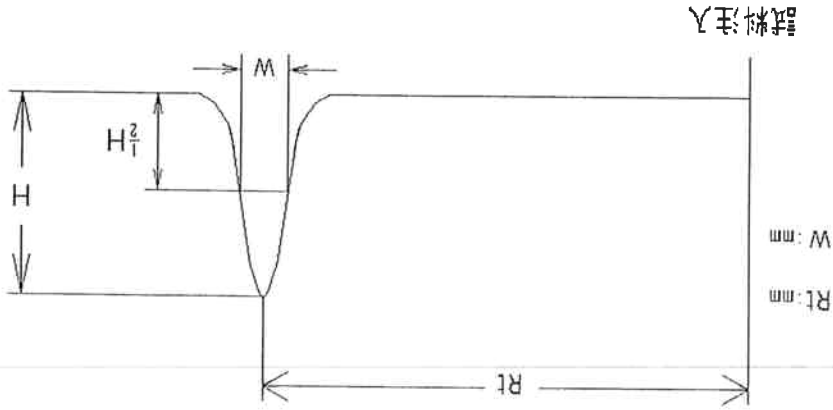
9. カラムの再生

SUGAR シリーズは、種々の対イオン型のイオン交換樹脂であるため試
 料中のイオンにより吸着、イオン交換が起こり、対イオンが変化します。
 この様な現象が起こると分離のパターンが変化します。この様な性能変化
 を直し、予防するために時々次の様な操作でカラムを再生します。

表5 カラムの再生

タイプ	再生液	カラム温度 (°C)	操作
SHタイプ	0.005N H ₂ SO ₄	50	0.5mL/minで50mLを送液する。
SCI1011 SCI1821	0.1M Ca(NO ₃) ₂	50	0.5mL/minで50mLを送液する。
SPタイプ	0.2M Pb(NO ₃) ₂	70~95	溶離液に脱イオン水 (0.5mL/min)を用い再生液50 μLを3~4回インジェクタで注 入する。
SC1211 ¹⁾	0.1M Ca(NO ₃) ₂	50	0.5mL/minで30mLを送液する。
SZ5532 ²⁾	0.1M Zn(NO ₃) ₂	50	0.5mL/minで30mLを送液する。

¹⁾ このタイプのカラムは、まず、脱イオン水で置換した後、表5の操
 作を行います。再生後は、脱イオン水で充分洗浄した後、徐々に有
 機溶媒を加えながら、使用溶媒に換えます。



N : 理論段数、Rt : 保持時間、W : 半値幅

$$N = 5.54 (Rt / W)^2$$

理論段数の計算は次式により行います。

タイプ	溶離液	流量 (ml/min)	カラム温度 (°C)	試料	注入量 (μL)
SHタイプ	0.01N H ₂ SO ₄	1.0	50	1% Glycerol	5
SC1011	H ₂ O	1.0	80	1% Glycerol	5
SPタイプ	H ₂ O	1.0	80	1% Glycerol	5
SC1211	25%CH ₃ CN/H ₂ O	1.0	50	1% Glycerol	10
SZ5532	70%CH ₃ CN/H ₂ O	1.0	50	1% Glucose	5

表6 性能チェックのための測定条件

下記の条件で、カラム性能をチェックします。

1.1. カラム性能のチェック法

10. カラムの取りはずしと保存
 *SP0810については第12章に記します。
 測定が終わったら、恒温槽のスイッチを切り、ポンプの流量を0.3~0.5ml/minに落とします。カラム温度が室温まで下がったらポンプを止め、装置よりカラムを取りはずし栓をしっかりと締めます。
 カラムは、納入時に入っていた箱の中に入れ、温度変化の少ない所に保存します。SHタイプのカラムは、カラム内の溶離液を脱イオン水に置換した後、同様に保存します。

1 2. SP0810 取扱注意事項

使用方法を誤るとカラムの性能が低下する恐れがあります。ご注意ください。

Shodex SUGAR SP0810 は他のタイプの比べ若干数質の充てん剤を使用しているため、取扱いは特別の注意が必要です。特にポンプの始動時、停止時には充分注意を払います。

下記取扱注意をよくお読みの上ご使用ください。

I. カラムの取り付けと取り外し

(1) カラムの取り付けとポンプの始動

1) ポンプの流量を 0.2~0.3mL/min にセットします。

2) カラムは通常 70℃以上に加温します。まず、カラム両端の栓を外

し、カラム末端に残っている気泡を追い出すために、配管を接続せ

ずに加温を開始し、両端から液があふれ出るのを確認します。

3) ポンプを 0.2~0.3mL/min で始動し、配管内の気泡を押し出します。

この時、再度流量をチェックします。

4) 送液を続けながら、溶離液がフロワーの矢印の方向に流れるよ

うにカラムを装置に接続します。この時、接続部での漏れがないか

をチェックします。

5) 上記流量のままでカラムが所定の温度になるまで加温します。

6) 所定の温度になったら、時間をかけて徐々に所定の流量まで上げま

す。

(2) 分析の終了 (カラムを取り外さず翌日も分析を続ける場合)

1) 流量を 0.2~0.3mL/min に下げ送液を続けます。

2) 恒温槽のヒータースイッチを切ります。

3) カラムが室温になったらポンプを停止します。

4) カラムは装置に接続したままでしておきます。

(3) 分析の再スタート

1) ポンプの流量が 0.2~0.3mL/min にセットされていることを確認し

ます。

2) 恒温槽のヒータースイッチを入れカラムを加温します。

3) カラムが所定の温度になるまで加温します。

4) カラムが所定の温度になったら、0.2~0.3mL/min の流量でポンプ

を始動します。

5) 時間をかけて、徐々に所定の流量まで上げます。

(4) 分析の終了 (カラムを取り外す場合)

- 1) ポンプの流量を 0.2~0.3mL/min まで下げます。
- 2) 恒温槽のヒータースイッチを切ります。
- 3) カラムが室温になるまで 0.2~0.3mL/min で送液を続けます。
- 4) カラムが室温になったらポンプを止め、装置から取り外します。
- 5) カラムの両端に栓をして、温度変化の少ない場所に保管します。

II. 使用上の注意

(1) 溶解液に添加する有機溶媒は、エタノールかアセトニトリルとし、濃度は 20%以下を厳守してください。

(2) 急激な圧力や流量の変化は絶対に避けてください。脈動の無いポンプを使用するか、バルブスワッチを付け、脈動を消した状態で送液してください。

(3) カラム温度が適切でないとき、フノアが分離しピークがブロードになりますので、カラムを 70~95°C に加温して使用します。

(4) カラム 1 本当たりの最高使用圧力は 3.0MPa です。リミッター付の 10MPa フルスケールの圧力計の使用をお勧めします。

(5) 最高使用流量は、1.0mL/min です。ただし 40°C 以下で使用する場合合は 0.5mL/min です。始動時、停止時は「I」項に従ってください。

(6) ガードカラムは試料中の汚れからカラムを保護するだけでなく、脈動や圧力変化からもある程度保護する効果がありますので、できるだけガードカラムを付けてご使用ください。ガードカラムの選択については表 2 を参照してください。

◎規定圧力、規定流量を超えて使用すると、カラム性能が低下し元に戻らなくなりしますので充分注意してください。

13. カラムの保証について

1) 性能保証

取扱説明書に従ってご使用いただいた場合、本製品が裏面の検査成績書(Certificate of Analysis)に記載された性能に合致していることを保証いたします。本製品につきまして、その他の保証は一切いたしかねます。販売店や特約店が行います性能、品質等の説明に関しまして、上記以外の事項は、保証事項とはいたしかねます。また、お客様が意図されています用途に本製品が適合しているか否かは、お客様の責任にて、ご判断いただくようお願いいたします。

2) 交換

取扱説明書に従ってご使用いただいたにもかかわらず、万一、検査成績書に記載された規格値に合致しない場合には、お客様の検収日から起算して10日以内に販売店や特約店または昭光通商(株)にご連絡ください。良品と交換させていただきます。10日を過ぎた場合は、良品との交換はご容赦ください。当社の責任は以上の範囲に限定させていただきます。如何なる場合にも、逸失利益等の消極的損害、間接的損害、派生的損害の賠償には応じかねます。

3) 保証除外項目

- 以下の場合には、上記保証期間(10日間)以内であっても保証の対象外といたします。
- ①本製品が取扱説明書に適合しない方法で使用された場合。
 - ②当社もしくは当社の指定する保守サービス会社以外の者により、本製品のエンドフィッティングを外す等の改造が行われた場合。
 - ③本製品が廃棄された場合。
 - ④本製品が、当社に事前の通知なく、転売された場合。
 - ⑤本製品を日本国外で使用した場合。
 - ⑥本製品を日本国外に持ち出した場合。
 - ⑦検査成績書に記載された性能に達しない理由が、以下の原因による場合。
 - (a) コンピュータウイルス
 - (b) お客様が使用される試料、試薬、ガス、エア、冷却水に混入する不純物
 - (c) 本製品と組み合わせて使用される装置、器具、部品等の故障、動作不良等
 - (d) 火災、地震、洪水、その他の天災地災、犯罪、暴動、テロ行為、戦争、放射能汚染などの不可抗力または、本製品の使用に伴う労働災害、事故等につきましても、責任を負いかねます。

- 4) 分析結果および分取物
本製品を使用して得られた分析結果および分取物は、本製品の保証の対象ではありません。分析結果および分取物につきましては、その信頼性、有効性、安全性等一切保証しません。
- 5) 用途の範囲
本製品は試験・研究用のみ使用するものです。臨床診断等、その他の用途には使用することはできません。試験、研究用以外の使用による事故については、当社は一切の責任を負いません。

1. Introduction
 Packed with rigid styrene/DVB-based strong cation-exchange resin designed exclusively for separation of sugars, the columns of the Shodex SUGAR series demonstrate high performance in separation and analysis of sugars. They are best suited to the application in food, biochemicals and natural products.

Although size-exclusion chromatography is the basic mode of separation for those columns, partition chromatography and interaction, i. e., ligand exchange, between counterions and the sample are combined with the basic mode to enable subtle separation like that of monosaccharides.
 Also, the columns of the SH type enable simultaneous separation of organic acids and sugars because of their marked effectiveness in excluding ions.

2. Types and specifications

The columns come in seven types, each different in counterions, pore size, pore structure and sugar selectivity.

Table 1 Types and specifications

Type ¹⁾	Counterion	Separation mode	Size (mm)	Exclusion limit	Plate number per column	Solvent ²⁾
SH1011	H ⁺	SEC+IE ³⁾	8 × 300	1,000	≧ 17,000	H ₂ O
SH1821	H ⁺	SEC+IE	8 × 300	10,000	≧ 17,000	H ₂ O
SCI011	Ca ²⁺	SEC+IE ⁴⁾	8 × 300	1,000	≧ 13,000	H ₂ O
SCI1821	Ca ²⁺	SEC+IE	8 × 300	10,000	≧ 13,000	H ₂ O
SP0810	Pb ²⁺	SEC+IE	8 × 300	1,000	≧ 11,000	H ₂ O
SCI2111	Ca ²⁺	P ⁵⁾ +LE	6 × 250		≧ 5,500	25%CH ₃ CN/H ₂ O
SZ5532	Zn ²⁺	P+LE	6 × 150		≧ 5,500	70%CH ₃ CN/H ₂ O

Notes: 1) Material: stainless steel, SUS-316

End fittings: Internally-threaded type, No.10-32 UNF

2) Solvent filled by manufacturer

3) Stands for ion exclusion

4) Stands for ligand exchange

5) Stands for partition