

사 용 설 명 서

YMC-Triart Diol-HILIC, Accura Triart Diol-HILIC

HPLC 용: 5 μm, 3 μm / UHPLC 용: 1.9 μm

① 머리말

항상 저희 고속 액체 크로마토그래피용 충전 Column 인 YMC-Triart Diol-HILIC 및 Accura Triart Diol-HILIC Column 을 이용해 주셔서 감사합니다.

YMC-Triart Diol-HILIC 은 Hybrid 형 Silica gel 기재에 Hydroxypropyl 기를 화학 결합한 친수성 상호작용 Chromatography (Hydrophilic Interaction Chromatography : HILIC) 용 Column 입니다. 역상 Column 에서는 극성이 높아 Retention 이 작은 화합물을 유기용매 비율이 높은 이동상 조건으로 분석할 수 있습니다.

당사는 YMC-Triart Diol-HILIC 제조에 엄격한 품질 관리를 실시하여, 항상 안정된 품질의 제품을 제공하고 있습니다. (검사 성적서 「COLUMN INSPECTION REPORT」를 참조하여 주십시오.) YMC-Triart Diol-HILIC Column 의 성능을 충분히 활용하고, 오랜 기간 사용하기 위하여 본 사용설명서를 충분히 읽으신 후 Column 사양에 맞추어 사용하여 주시기 바랍니다.

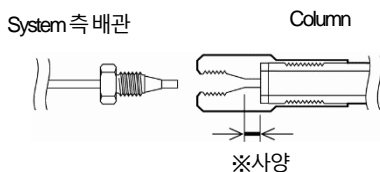
② Column 하드웨어 연결부 재질

YMC-Triart	Accura Triart	YMC-Triart [Metal Free]
Stainless	Bioinert 코팅	PEEK

③ Column 연결 및 주의점

- Column 연결 방식은 제품 번호 끝이 「PT」, 「PTH」, 「PTC」, 「PTP」가 Parker Type 이며, 「WT」는 Waters Type 입니다.

Column 연결부 사양



제품번호 끝	※ 사양 (Ferrule 선단 길이)	연결부
PT/PTH/PTC/PTP	약 2mm	Parker Type
WT	약 3mm	Waters Type

- YMC-Triart 「Metal Free」는 Column 하드웨어내부(접액부)는 PEEK, 외부는 Stainless 의 이중 구조로 되어 있습니다. Column 을 연결할 시 주의가 필요하므로, 별도 [Column 연결 시의 주의 사항: YMC-Triart Metal Free Column]을 참조하여 주십시오.
Column 접속 시 주의 사항 YMC-Triart [Metal Free] https://www.ymc.co.jp/data/download/metal_free_column_connection.pdf
- 배관 연결 부분에 공극이 있으면 Leak 가 발생하거나 column 성능 (이론단수, peak resolution) 저하의 원인이 됩니다. 공극이 생기지 않도록 배관의 Ferrule 끝 면이나 절단면에 주의하여 주십시오.
- UHPLC (초고속 LC) 용 1.9μm Column 은 5 μm 나 3 μm Column 과 비교하여 압력이 높게 걸립니다. 분석 System 이나 연결 배관의 내압에 주의하여 주십시오. Column 연결용으로 사용하는 고내압 Fitting (내압 137 MPa)의 사용에도 주의하여 주십시오. 자세한 내용은 문의하여 주시기 바랍니다.

④ 출하시 봉입 용매

Acetonitrile/water (90/10)입니다. Column 을 장기간 보관하는 경우에도 이 용매로 치환하여 주십시오. 완충액이나 염이 들어있는 이동상을 사용하는 경우에는 염이 석출되지 않도록 치환 순서에 주의하여 주시기 바랍니다.

⑤ 사용 상 유의점

- Flow 방향은 Column 에 표시된 화살표 방향입니다.
- Column 을 System 에서 분리할 때에는 System 의 압력 표시가 제로(0)가 된 것을 확인한 후에 실시하여 주십시오.
- Column 의 압력 상한 및 일반적인 권장 유속은 다음 표의 수치를 기준으로 합니다.

Particle Size	제품번호 끝	상한압력 ^{*1}	Column 내경과 권장 유속 ^{*3} (Acetonitrile 계 이동상 조건)
1.9µm	PT/PTP/PTC	100 MPa	2.0mmI.D. : 0.2~0.8 mL/min 3.0mmI.D. : 0.4~1.6 mL/min
5µm, 3µm	PTH/PTP/PTC	45 MPa ^{*2}	2.1 mmI.D. : 0.2 mL/min 3.0 mmI.D. : 0.4 mL/min 4.6 mmI.D. : 1.0 mL/min
	WT	Column 길이 50~150 mm : 20 MPa Column 길이 250mm : 25 MPa 내경 10mm 이상 : 10 MPa	2.0 mmI.D. : 0.2 mL/min 3.0 mmI.D. : 0.4 mL/min 4.6 mmI.D. : 1.0 mL/min

- ^{*1} : 상한 압력에서 연속으로 사용하거나 급격한 압력 변화는 Column 수명 저하의 원인이 되므로 주의하여 주십시오.
- ^{*2} : PTH/PTP/PTC Type 은 통상 30MPa 이하에서 사용하여 주십시오.
- ^{*3} : 압력은 Column 길이, Column 온도, 유기용매 종류에 등에 따라 차이가 있으므로 유속을 적당히 조절하여 주십시오.
- Column 의 사용 pH 및 사용 온도는 다음과 같은 범위를 기준으로 하여 주십시오.

사용 가능한 pH 범위	사용 온도 범위	
	상용 온도 (권장)	상한 온도
pH2-10	20-40°C	50°C

- ※ Column 수명은 사용 pH 외에도 온도나 이동상 조건 등에 따라 크게 달라집니다. 일반적으로 Column 온도와 완충액, 첨가제의 농도가 높을수록, 유기용매의 농도는 낮을수록 Column 의 수명 저하가 나타날 수 있습니다.
- ※ 알칼리 이동상을 장기간 사용하는 경우, 5~10 mM 등 낮은 농도의 유기계 완충액을 이용하여 저온 (<30°C 등)으로 분석하는 것을 권장 드립니다.

- 이동상은 Acetonitrile/Water 또는 완충액 90/10~60/40 정도가 제일 적합하며, 그 외에는 아래의 예시처럼 일반적인 수용성 유기용매의 사용이 가능합니다. HILIC 분리에서는 역상 분리와는 반대로 이동상의 극성을 낮추거나 유기용매 농도를 높이면 Retention 이 증가합니다. 충전제 표면에 안정된 Hydration 을 형성하여 분리 재현성을 확보하기 위해서는 최소한 3% 이상의 수용액을 포함한 이동상을 사용하여 주십시오.

[사용가능 용매와 용매강도(용출력 저~고)] THF < Acetonitrile < 2-propanol < Ethanol < Methanol < Water

※ THF 사용 시에는 PEEK 배관 등 내용매성에 주의하여 주십시오.

- 이동상으로 사용하는 완충액은 Ammonium acetate 완충액 또는 Ammonium formate 완충액이 적합합니다. 염 농도는 이동상에 10~20mM 정도로 하여, 분리나 용해성에 따라 5~200mM의 범위 안에서 조절하여 주십시오.
Gradient를 사용하는 경우, 분석 중 염 농도가 일정하게 되도록 각 이동상의 조성을 조절하여 주십시오. 이동상 사용 전이나 치환 시에는 염이 석출되지 않는지 충분히 확인하며, 인산염 등 유기용매에서 용해성이 낮은 염은 사용하지 않도록 하여 주십시오.
- 시료는 되도록 초기 이동상과 같은 조성의 용매로 용해시켜 주십시오. 이동상보다 용출력이 높은 용매에 용해시키는 경우, Peak가 Broad하게 나타나며 분리능이나 재현성이 저하될 수 있습니다. 또한, 시료나 시료 용해 용매에 포함되는 염이 Column 내에서 석출되지 않도록, 이동상의 혼화성을 확인한 후 주입하여 주십시오.
- Column 막힘에 의한 압력 상승을 방지하기 위하여 이동상 및 시료는 미리 0.2 μm 이하의 Membrane filter로 여과시켜 주십시오.
- System 연결 배관에서 시료의 확산 (Column 외 확산)은 Column 성능에 큰 영향을 미칩니다. 특히 내경 2mm 이하의 Column을 이용하는 경우는 아래와 같이 분석 System의 사용 환경을 최적화하여 주십시오.
 - 1) Injector-Column 간, Column-Detector 간 배관은 가능한 한 짧고 내경이 작은 (0.15mm 이하) 것을 이용하는 동시에 접속 부분에 공극이 생기지 않도록 주의하여 주십시오.
 - 2) Detector의 Flow Cell은 Semi-micro 용 혹은 micro 용 등의 저용량 Type을 사용하여 주십시오.
 - 3) Injector는 semi-micro 용 혹은 micro 용을 사용하는 동시에 Sample loop를 최소화하여 주십시오.
- Detector의 Response나 Data 처리 장치의 Sampling 속도는 Peak 당 10 Data Point 이상이 되도록 Peak 폭에 따라 최적화하십시오. 1.9μm Column을 이용한 UHPLC 분석의 경우, Sharp한 Peak에 대응할 수 있도록 Response는 0.1sec 이하, Data Sampling 속도는 10points/sec 이상을 기준으로 하여 주십시오.

⑥ Column 세정 (일반적인 방법)

- Acetonitrile/물 (50/50) 등, 이동상보다 용출력이 높은 유기용매/물의 혼합액을 흘려서 Column에 남아 있는 물질을 세정하여 주십시오. 물의 비율은 50% 정도가 적당하지만, 세정이 더 필요한 경우는 Acetonitrile/물 (5/95)로 흘려주십시오.
- 단백질이나 당류 등 고분자 화합물이 Column에 흡착되어 있는 경우, 세정만으로 제거하기 어렵습니다. 고분자 화합물이 포함된 시료나 불순물이 많은 시료의 경우, 미리 고상추출법(SPE: Solid Phase Extraction) 등을 이용하여 전처리(Clean Up)하는 것을 권장드립니다.