

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2015-114273

(P2015-114273A)

(43) 公開日 平成27年6月22日(2015.6.22)

(51) Int.Cl. F I テーマコード (参考)
GO 1 N 30/60 (2006.01)
 GO 1 N 30/60 B
 GO 1 N 30/60 Z

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号	特願2013-258264 (P2013-258264)	(71) 出願人	000003300 東ソー株式会社
(22) 出願日	平成25年12月13日 (2013.12.13)	(72) 発明者	村上 卓司 山口県周南市開成町4560番地 東ソー株式会社 南陽事業所内
		(72) 発明者	荻野 慎士 山口県周南市開成町4560番地 東ソー株式会社 南陽事業所内
		(72) 発明者	印藤 大昭 山口県周南市開成町4560番地 東ソー株式会社 南陽事業所内
		(72) 発明者	田村 明彦 山口県周南市開成町4560番地 東ソーハイテック株式会社 南陽事業所内 最終頁に続く

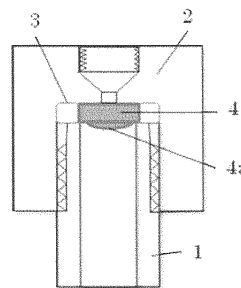
(54) 【発明の名称】 凸型フィルターを有する液体クロマトグラフィー用カラム

(57) 【要約】

【課題】 圧力を開放した状態でフィルターとカラムエンドを取り付けるといった一般的な方法により、特に小容量の分析用カラムに適用することが容易で、高圧下で高密度に充填された状態を保ち得るフィルターを提供することを目的とする。

【解決手段】 液体クロマトグラフィー用カラムのカラムエンドに用いられるフィルターであって、充填されるべきカラム充填剤を通過させない孔を有し、底面は平面であり、他面は凸状面であってその少なくとも一部が液体クロマトグラフィー用カラム内部に侵入して該カラム内部空間の一部を占める、フィルター。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

液体クロマトグラフィー用カラムのカラムエンドに用いられるフィルターであって、充填されるべきカラム充填剤を通過させない孔を有し、底面は平面であり、他面は凸状面であってその少なくとも一部が液体クロマトグラフィー用カラム内部に侵入して該カラム内部空間の一部を占める、フィルター。

【請求項 2】

液体クロマトグラフィー用カラムの製造方法であって、充填されるべきカラム充填剤を通過させない孔を有し、底面は平面であり、他面は凸状面であってその少なくとも一部が液体クロマトグラフィー用カラム内部に侵入して該カラム内部空間の一部を占めるフィルターをカラム端に圧着固定することを特徴とする、液体クロマトグラフィー用カラムの製造方法。

10

【請求項 3】

カラム内部に侵入して該カラムの内部空間の一部を占めるフィルター凸状の部分が、カラム内部空間の 0.5% から 5% を占めることを特徴とする、請求項 2 の液体クロマトグラフィー用カラムの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、その形状が凸型のフィルターを有する液体クロマトグラフィー用カラムに関するものである。

20

【背景技術】

【0002】

液体クロマトグラフィーによる分析では、分析の高速化、高分離化のため、3 μm 以下という、より微細化されたカラム充填剤（以下単に微粒子などともいう）を充填した小容量のカラム（例えば内径 5 mm、長さ 40 mm 程度）の利用が進んでいる。このような小容量のカラムに微粒子を充填する工程は、一般的に、微粒子分散懸濁液をカラムに取り付けたリザーバに一定量分注する工程、リザーバ 上部に十分な耐圧性を有するチューブを取り付け、高圧ポンプを用いて溶媒を送液し、リザーバ 内の懸濁液をカラム内に圧送する工程、高圧下で微粒子をカラムに充填する工程、ポンプの送液を停止し、リザーバからカラムをはずして圧力を開放した状態で、微粒子を通過させないフィルタなどを備えたカラムエンドを取り付ける工程とからなるが、弾性変形しやすい微粒子であればあるほど、高圧下で高密度に充填された状態を圧力開放後も保つことが重要となる。圧力開放時に微粒子の充填状態はわずかに変化するが、そのわずかな変化がカラムの分離性能などに大きく影響し得るからである。一方、分取に利用される大型カラムでは、カラム充填剤を充填するに際し、高圧下で高密度に充填された状態を保ち得る装置として例えば特許文献 1 や特許文献 2 に開示された装置がある。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

40

【特許文献 1】特開平 4 - 9 8 1 5 6 号

【特許文献 2】特表平 8 - 5 0 9 5 5 1 号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

比較的大きなサイズのカラムに比較的大きなサイズのカラム充填剤を充填するのであれば、圧力を開放した状態でフィルターとカラムエンドを取り付けるといった一般的な方法で十分な効果が得られる。しかし、この方法で小容量のカラムに微粒子を充填する場合には、高圧下で高密度に充填された微粒子の状態を圧力開放後に保つことが困難である。特許文献 1 や特許文献 2 が開示する装置では、カラムの構造が複雑で小容量カラムへの適用は

50

難しく、適用できたとしても製造に多大なコストがかかるため、分析対象に応じて種々のカラムを都度交換して使用することが多い分析カラムとしては不都合であるし、また可動栓や弁等の可動部分の目詰まりなどが生じるとそれによりカラムの分離能などが影響を受けてしまう。

【0005】

そこで本発明は、圧力を開放した状態でフィルターとカラムエンドを取り付けるという一般的な方法により、特に小容量の分析用カラムに適用することが容易で、高圧下で高密度に充填された状態を保ち得るフィルターを提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0006】

前記目的を達成するためになされた本発明は、液体クロマトグラフィー用カラムに用いられるフィルターであって、充填されるべきカラム充填剤を通過させない孔を有し、底面は平面であり、他面は凸状面であってその少なくとも一部が液体クロマトグラフィー用カラム内部に侵入して該カラム内部空間の一部を占めるフィルターである。以下、本発明を詳細に説明する。

【0007】

本発明のフィルターは、液体クロマトグラフィー用カラムのカラムエンドとともに用いられるものである。液体クロマトグラフィー用カラムは、例えば金属や樹脂で製造された、通常は円筒状のものをいい、分子排除液体クロマトグラフィー、イオン交換液体クロマトグラフィー、アフィニティ液体クロマトグラフィー、逆相液体クロマトグラフィーなど、種々の液体クロマトグラフィー用カラムをいう。またカラムエンドは、カラム両端を閉塞する部材をいい、カラムとは異なる材質であっても良いし、同じ材質であっても良い。カラムエンドがカラム端を閉塞する機構は、例えばカラム端へのねじ込み式等を例示できるが特に制限はない。

【0008】

カラム充填剤は、カラムの一端を予め第1のフィルター及びカラムエンドで閉塞した状態でカラムに充填され、充填後に他端が第2のフィルター及びカラムエンドで閉塞される。本発明はカラム充填材を充填した後にカラムを閉塞する第2のフィルターとして用いられるものであるが、第1のフィルターとして用いることに制限はない。

【0009】

フィルターは、耐圧性を有し、カラム充填剤は通過させないが液体クロマトグラフィーで使用する溶離液などは通過させることが必要である。本発明のフィルターとして、例えば金属片を焼結して製造した多孔質焼結フィルター、PEEK、テフロン（登録商標）、ポリエチレンなどの樹脂で製造した多孔質フィルターを例示することができる。フィルターの孔の径は、カラム充填剤の粒径に基づいて決定すれば良く、また液体クロマトグラフィーにて分析しようとする対象物との干渉を抑制するために親水化又は非親水化など種々の処理を行っても良い。フィルターの形状は、カラム端を閉塞し得る形状であれば良く、通常のカラムが円筒状態であることに鑑みれば、円柱状や多角形の柱状などを例示できる。

【0010】

本発明のフィルターは、カラムエンドにより液体クロマトグラフィー用カラムの端に固定され、分析されるべき試料の導入口やカラム充填剤で分離された試料の排出口となる。従って、試料がフィルターを通過する際に拡散が不均一化することを防ぐため、その底面は平面であることが好ましい。フィルターの底面に対抗する面は、一部が液体クロマトグラフィー用カラム内部に侵入して該カラム内部空間の一部を占める凸状面である。ここでカラム内部に侵入するとは、カラム端に固着されたときにカラムの容量を減少せしめることをいう。本発明では、カラム容量を0.5%から5%減少せしめるような凸状面を有するフィルターが好ましい。なお、凸状面は、別の観点からみると、平面上に構成した突起と考えることができる。例えば円柱の一方の面上に棒状、円錐状、球体の一部を切り取った形状の突起を一又は複数構成することも可能である。特に好ましくは、充填されたカラ

10

20

30

40

50

ム充填剤に対し、均一に圧力を負荷し得る形状、例えば円柱の一方の平面上に、球体の一部を切り取った形状（例えば、半月状）の突起を一つ設け、球体の円弧部分でカラム端を閉塞することを例示できる。

【 0 0 1 1 】

以下、図面に記載した本発明の一態様について説明する。図 1 は、本発明のフィルターとカラムエンドを示す図である。フィルター 4 は、シールド部材 3 を介してカラムエンドに組み込まれており、円筒形状のカラム本体 1 の一端にカラムエンドをねじ込むことでカラム端に圧着固定される。フィルター 4 の底面（カラムエンド側）は平面（フラット）であるが、その反対の面（カラム充填剤側）4 a は、円柱の本体の面上に球体の一部を切り取った突起物を構成した凸状である。この凸状面 4 a は、カラム端へのカラムフィッティング取り付け時に当該凸状の部分がカラム内に圧入されることで、圧力開放されたカラム中の充填剤を再度加圧し、圧力開放前の高密度に充填された状態を再現する。

10

【 0 0 1 2 】

図 1 の例では、カラムは内径が 5 mm、長さ 20 mm で、その容積は 392 μ l であり、フィルター 4 のカラム内部に侵入してその内部空間の一部を占めるフィルター凸状の部分 4 a は、その容積（カラム内部空間）の 3 % を占めるように設計してある。

【発明の効果】

【 0 0 1 3 】

本発明のフィルターを用いることにより、例えば内径 5 mm、長さ 40 mm 程度という小容量のカラムに 3 μ m 以下の微粒子を充填する場合などに、いったん圧力開放されたカラム中の充填剤を再度加圧し、圧力開放前の高密度に充填された状態を再現することが可能となる。この結果、微粒子の充填状態の変化に起因するカラム分離性能の変動を抑えることが可能となり、高性能かつ均質なカラムを大量に製造することが可能となる。また実施例に示したように、劣化し難いカラム（耐久性の高いカラム）を提供することも可能となる。しかも本発明は、従来のカラムに適用することが可能である。従って、その実施にあたりコスト的な負担や新たなカラムを製造するといった無駄が発生することもない。

20

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 4 】

【図 1】図 1 は、本発明を説明するための図であり、カラム、フィルター及びカラムエンドの取り付けの様子を示す断面図である。

30

【図 2】図 2 は、実施例 1 の検体数と理論段数の関係を示す図である。

【図 3】図 3 は、比較例 1 の検体数と理論段数の関係を示す図である。

【符号の説明】

【 0 0 1 5 】

- 1 液体クロマトグラフィー用カラム
- 2 カラムエンド
- 3 シールド部材
- 4 フィルター
- 4 a フィルターの凸状部

【実施例】

40

【 0 0 1 6 】

本発明を更に詳細に説明するために実施例を示すが、本発明は実施例に限定されるものではない。

【 0 0 1 7 】

実施例 1

粒子径 3 μ m の非多孔性陽イオン充填剤（1 ml）を、内径 5 mm、長さ 20 mm の SUS 製カラムに 50 MPa の充填圧力で充填した。カラムエンドは図 1 に示した形状のもので、SUS フィルター（平面部は直径 5 mm の円、1 μ m の多孔性）は、シールド部材（材質 テフロン（登録商標））を介して SUS 製カラムエンドに組み込まれており、カラム本体にカラムエンドをねじ込むことでカラム端に圧着固定される。フィルターの底面

50

(カラムエンド側)は平面(フラット)であるが、その反対の面(カラム充填剤側)は、円柱の本体の面上に球体の一部を切り取った突起物(高さ0.8mm)を構成した凸状である。この凸状面は、カラム内部空間の3%を占めるものである。

【0018】

上記カラムを市販のグリコヘモグロビン分析計(商品名HLC-723G9、東ソー株式会社製)に取り付け、溶離液に当該装置用の市販品(G9HSi溶離液1液、G9HSi溶離液2液及びG9HSi溶離液3液、いずれも商品名、東ソー株式会社製)を使用して、人血液中の安定型糖化ヘモグロビン(以下、HbA1cという)を測定した。この時のカラム圧力は約11MPaであった。

【0019】

カラム耐久性を、HbA1cの分離の目安となるHbA1cピークの理論段数を用いて評価した。結果を図2に示す。0検体測定時の理論段数と2000検体測定時の理論段数を比較すると理論段数の低下は約20%であり、ヘモグロビン類の分離について、十分な耐久性が得られていることが分かる。

10

【0020】

比較例1

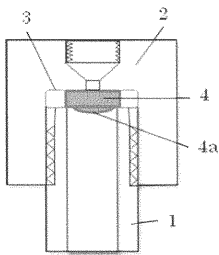
粒子径3µmの非多孔性陽イオン充填剤を、実施例1と同様のカラムに同様の操作を行って充填した。ただし、フィルターとしては実施例1とは異なり、凸状の部分を持っていない、円柱状のフィルターを使用した。

【0021】

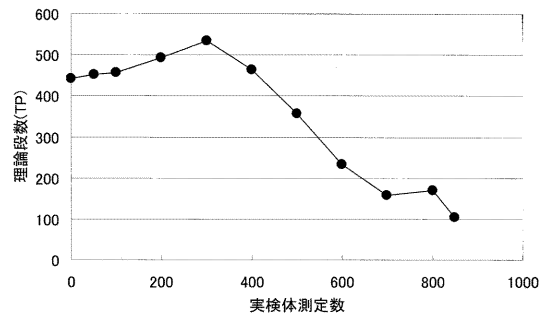
実施例1と同条件でカラム耐久性を評価した結果を図3に示す。カラムの圧力は約11MPaと、実施例1と見かけ上の差はなかったが、0検体測定時の理論段数と850検体測定時の理論段数を比較すると70%以上と著しく低下し、実施例1のカラムと比較して十分な耐久性が得られていないことがわかる。

20

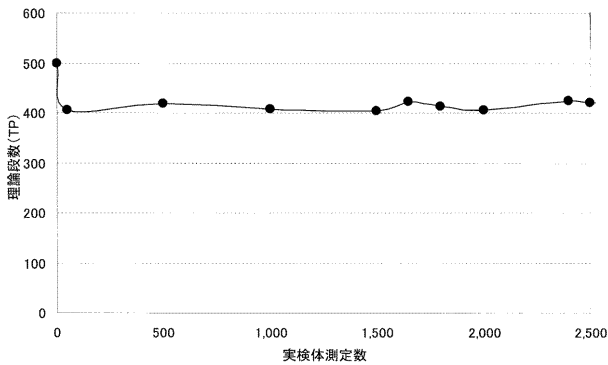
【図1】



【図3】



【図2】



フロントページの続き

(72)発明者 坪井 基宏

山口県周南市開成町4560番地 東ソーハイテック株式会社 南陽事業所内