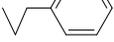


HPLC用のカラムは、数多くのメーカーから様々なカラムがリリースされています。LCテクニカルノートNo.50では、「数が多いとどれを選べば良いのか分からない」というお客様の声にお応えするべく、弊社が提供する逆相系のHPLC用カラムの比較を行いました。このテクニカルノートは非常に好評でしたが、その後、弊社もInertSustain C18を筆頭としてさらにカラムのラインアップを増やしました。そこで、No.100として再び、逆相系カラムの比較データをご紹介します。

(C. Aoyama)

## 今回ご紹介するカラム

カラムの種類	官能基	特徴
InertSustain C18		逆相系のファーストチョイスカラムです。それまでのInertsilシリーズのほぼ全ての長所を引き継いだようなカラムになっています。
Inertsil ODS-4		不活性度に優れたODSカラムです。InertSustain C18やODS-3と比べると、全体的に溶出が早くなるように設計されています。
Inertsil ODS-3		1994年に発売開始して以来、保持の強さと安定した品質が高く評価され、現在も世界中で多くお使いいただいているカラムです。
Inertsil ODS-2		高純度シリカゲルを初めてHPLC充填剤に用いたロングセラーカラムです。日本のHPLC充填剤の良さを世界に知らしめた功労者です。
MonoClad C18-HS		汎用の装置での高速分析に適したカラムです。シリカモノリスを母体としているので空隙率が高く、圧力が低く抑えられます。
Inertsil ODS-SP		高疎水性化合物の溶出時間を早くするために、オクタデシル(ODS, C18)基の導入量をコントロールしたカラムです。
Inertsil ODS-EP		オクタデシル基の根元に極性基を導入したエンベッドタイプカラムです。通常のODSカラムとは異なる分離パターンが得られます。
Inertsil ODS-P		オクタデシル基を高密度に修飾させたカラムです。立体認識能が高いので、よく似た構造の成分を分離する際に特に役立ちます。
Inertsil WP300 C18		大きな細孔を持つため、大きな分子をシャープに溶出させることができるカラムです。WP300 C8よりも強く保持させたい時に使います。

カラムの種類	官能基	特徴
InertSustain C8		C8カラムにおけるファーストチョイスです。オクタデシル基の代わりにオクチル(C8)基が導入されたカラムです。不活性度にも優れています。
Inertsil C8-4		同じく不活性度に優れたC8カラムです。InertSustain C8と比べて溶出が早く、かつ、高い立体認識能を示します。
Inertsil C8-3		C8カラムとしては保持が強めに設計されており、また、InertSustain C8ともやや異なる分離パターンが得られるカラムです。
Inertsil WP300 C8		分子量が5000を超えるような高分子の逆相分離におけるファーストチョイスカラムです。WP300 C18と同じ母体にオクチル基を導入しています。
InertSustain Phenyl		フェニル基を導入したカラムです。疎水性相互作用の他にπ電子相互作用が働くため、分離パターンを変化させたい時に使用します。
Inertsil Ph-3		同じくπ電子相互作用が働きますが、InertSustain Phenylとは立体認識能が異なるため、別の分離パターンが得られます。
Inertsil Ph		InertSustain PhenylやInertsil Ph-3とは異なり、フェニル基と充填剤の間にエチル基が導入されているカラムです。

## ①ODSカラムにおけるパターン比較

弊社ODSカラムのスペックと比較結果を示します。次のページ以降では、右側にクロマトグラムの全体を、左側にはその4分までを拡大したものを示しました。

カラム名	化学結合基	エンドキャップ	炭素量	細孔径	表面積
InertSustain C18	オクタデシル基	あり	14%	100Å	350 m <sup>2</sup> /g
Inertsil ODS-4	オクタデシル基	あり	11%	100Å	450 m <sup>2</sup> /g
Inertsil ODS-3	オクタデシル基	あり	15%	100Å	450 m <sup>2</sup> /g
Inertsil ODS-2	オクタデシル基	あり	18.5%	150Å	320 m <sup>2</sup> /g
MonoClad C18-HS	オクタデシル基	あり	14%	180Å*	200 m <sup>2</sup> /g
Inerstil ODS-SP	オクタデシル基	あり	8.5%	100Å	450 m <sup>2</sup> /g
Inertsil ODS-EP	オクタデシル基	なし	9%	100Å	450 m <sup>2</sup> /g
Inertsil ODS-P	オクタデシル基	なし	29%	100Å	450 m <sup>2</sup> /g
Inertsil WP300 C18	オクタデシル基	あり	9%	300Å	150 m <sup>2</sup> /g

\* MonoClad C18-HSはシリカモノリスを母体としているため、充填粒子の細孔径に相当するメソポアの径を記載しました。

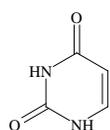
## HPLC条件

- ・ カラム : 逆相系カラム  
(5 μm, 250 × 4.6 mm I.D.)\*
- ・ 溶離液 : A) CH<sub>3</sub>OH B) H<sub>2</sub>O  
A/B= 80/20, v/v, 1.0 mL/min\*
- ・ 温度 : 40 °C
- ・ 検出器 : UV 254 nm
- ・ 注入量 : 5 μL\*

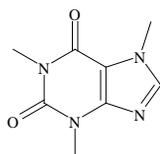
\* MonoClad C18-HSについては内径3 mmのカラムでの測定となる関係で、流量は0.4 mL/min、注入量は2 μLとしました。

逆相カラムの選択性と疎水性相互作用を比較する条件を左に示しました。移動相はメタノール水系を使用し、カラムサイズはすべて同じもの、同じ粒径のものを使用しました。

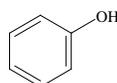
## 評価に使用した成分と構造式



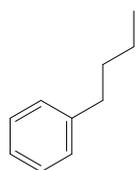
1. Uracil



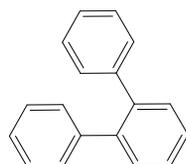
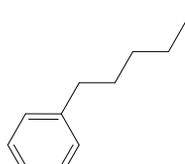
2. Caffeine



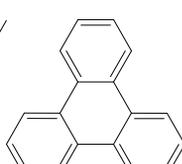
3. Phenol



4. Butylbenzene

5. *o*-Terphenyl

6. Amylbenzene



7. Triphenylene

評価に使用した成分の構造式を左に示します。塩基性物質や酸性物質、アルキルベンゼンや多環芳香族化合物の分離の差から、分離に及ぼす様々な要因が明らかとなります。

充填剤に使われるシリカゲル表面の弱酸性官能基であるシラノールが多いほど、フェノール(3)に対してカフェイン(2)が遅れて溶出します\*。

疎水性が強いカラムほどブチルベンゼン(4)に対してアミルベンゼン(6)が遅れて溶出します。

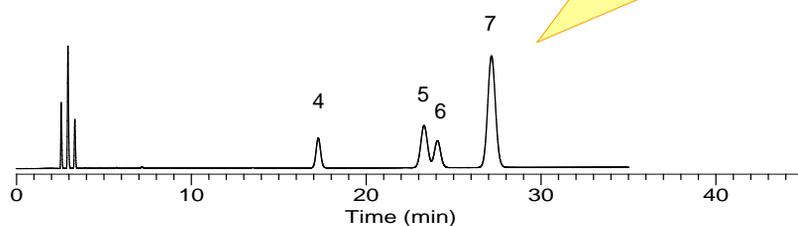
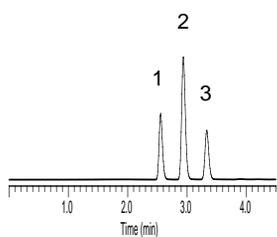
平面認識能が高いカラムほど*o*-ターフェニル(5)に対してトリフェニレン(7)が遅れて溶出します。

※参考文献

K. Kimata, K. Iwaguchi, S. Onishi, K. Jinno, R. Eksteen, K. Hosoya, M. Araki, N.Tanaka, J. Chromatogr. Sci. 1989, 27, 721-728.

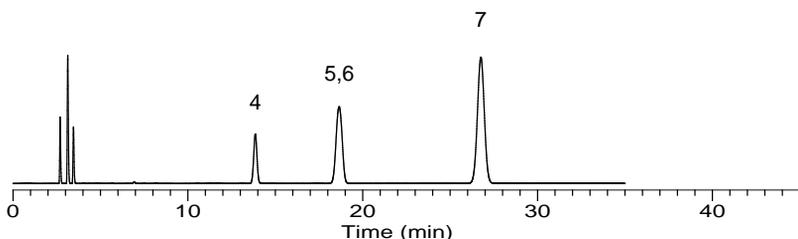
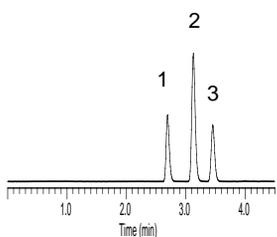
1. Uracil 2. Caffeine 3. Phenol 4. Butylbenzene 5. *o*-Terphenyl 6. Amylbenzene 7. Triphenylene

## InertSustain C18



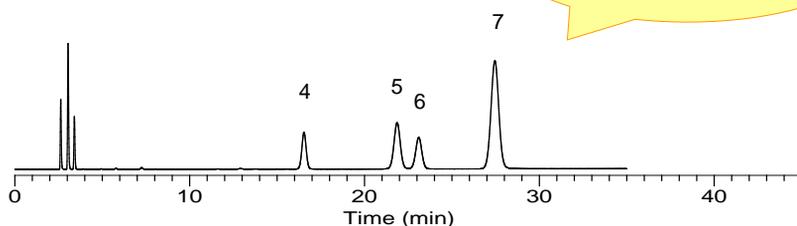
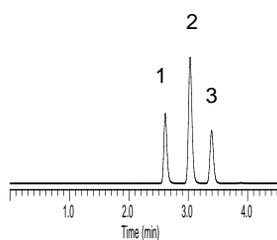
ODSカラムを使うなら  
一番のオススメです!

## Inertsil ODS-4



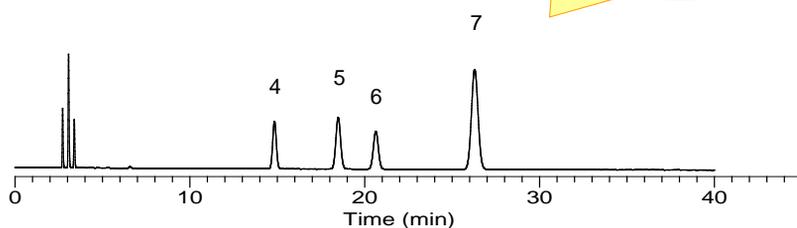
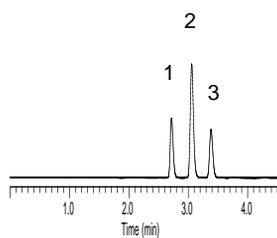
InertSustain C18よりも  
全体的に少し溶出が早く、  
平面認識能もやや高めです。

## Inertsil ODS-3



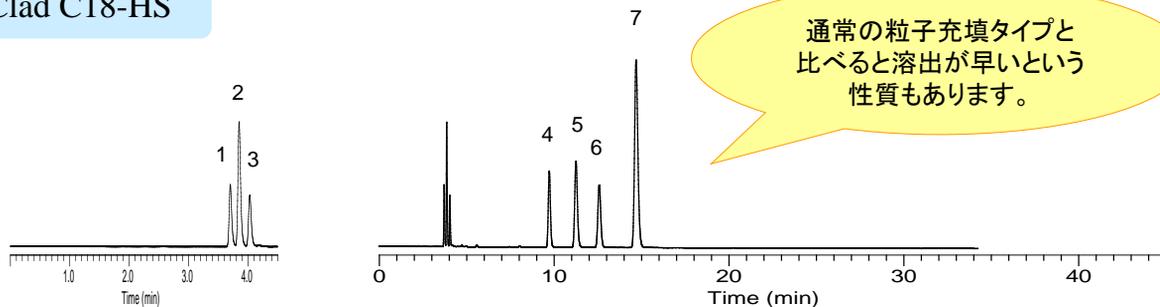
InertSustain C18に  
比較的に似た分離  
パターンを示します。

## Inertsil ODS-2



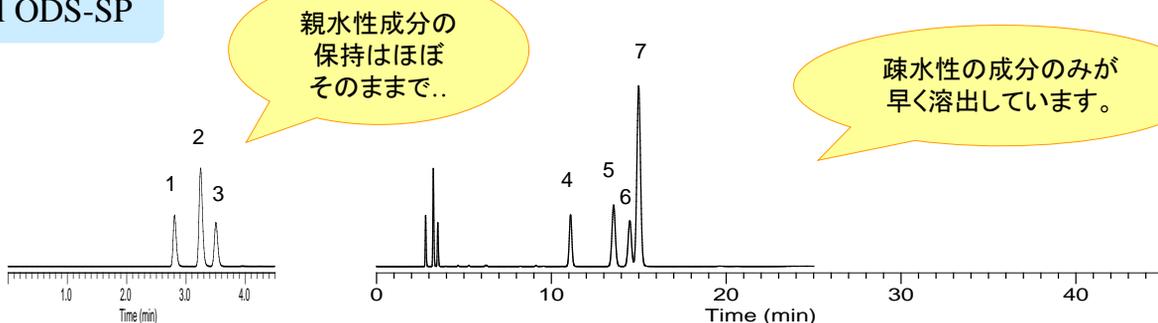
適度な強さの保持力と  
立体選択性を持った  
カラムです。

## MonoClad C18-HS



通常の粒子充填タイプと比べると溶出が早いという性質もあります。

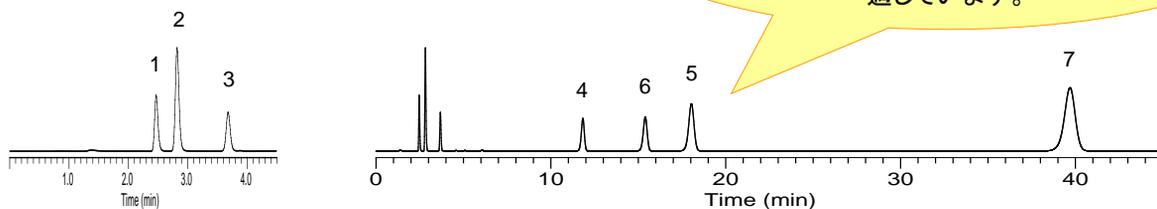
## Inertsil ODS-SP



親水性成分の保持はほぼそのまま..

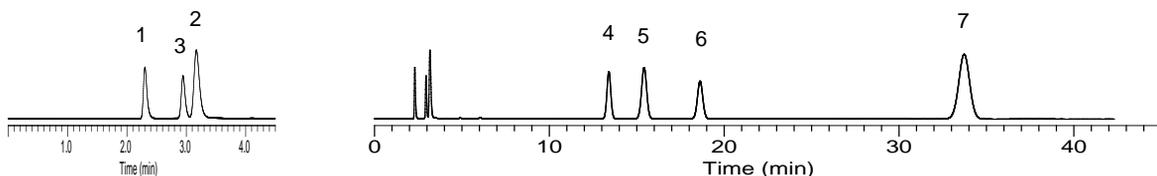
疎水性の成分のみが早く溶出しています。

## Inertsil ODS-EP



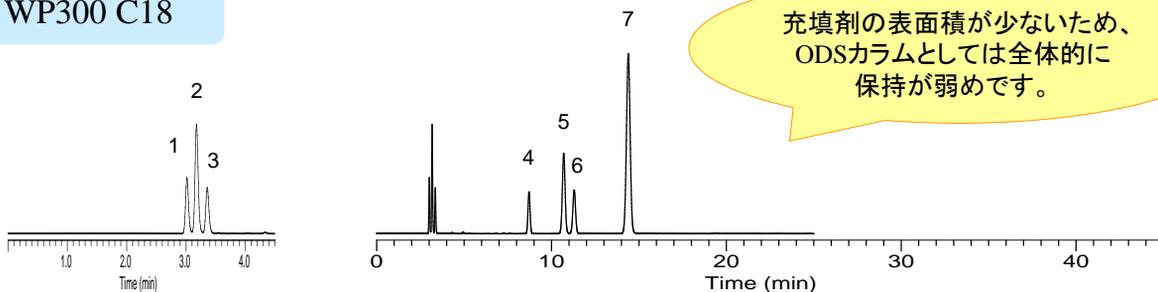
他のカラムとは分離パターンがかなり異なります。ODSを指定されているが、パターンを変えたい時に適しています。

## Inertsil ODS-P



立体認識能が高いため、5と7の保持時間の差が他よりも大きくなっています。

## Inertsil WP300 C18



充填剤の表面積が少ないため、ODSカラムとしては全体的に保持が弱めです。

## ② C8カラムにおけるパターン比較

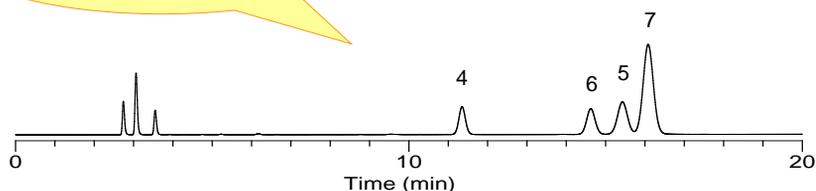
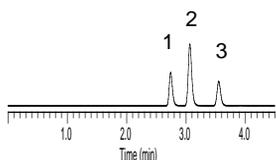
先ほどと同様に、弊社C8カラムのスペックと比較結果を示します。測定条件は①と同じです。

カラム名	化学結合基	エンドキャップ	炭素量	細孔径	表面積
InertSustain C8	オクチル基	あり	8%	100Å	350 m <sup>2</sup> /g
Inertsil C8-4	オクチル基	あり	5%	100Å	450 m <sup>2</sup> /g
Inertsil C8-3	オクチル基	あり	9%	100Å	450 m <sup>2</sup> /g
Inertsil WP300 C8	オクチル基	あり	4%	300Å	150 m <sup>2</sup> /g

1. Uracil 2. Caffeine 3. Phenol 4. Butylbenzene 5. *o*-Terphenyl 6. Amylbenzene 7. Triphenylene

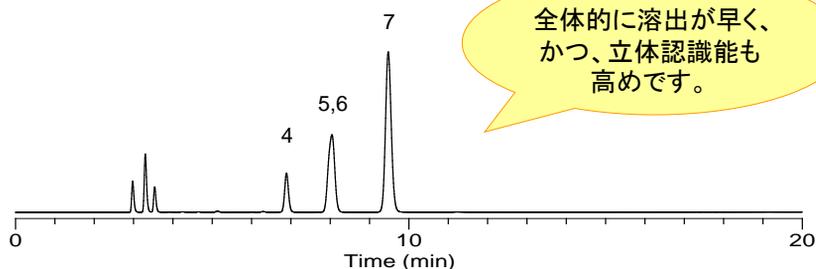
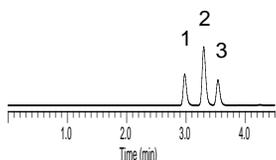
### InertSustain C8

C8カラムを使うなら  
一番のオススメです!



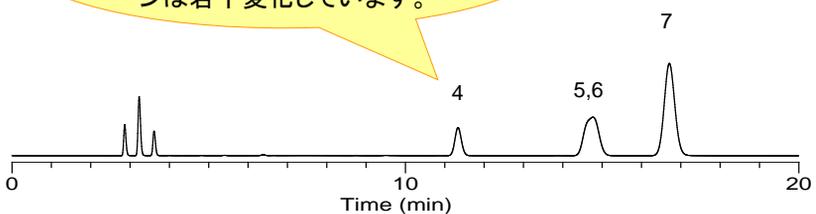
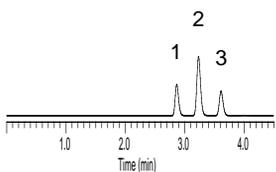
### Inertsil C8-4

全体的に溶出が早く、  
かつ、立体認識能も  
高めです。



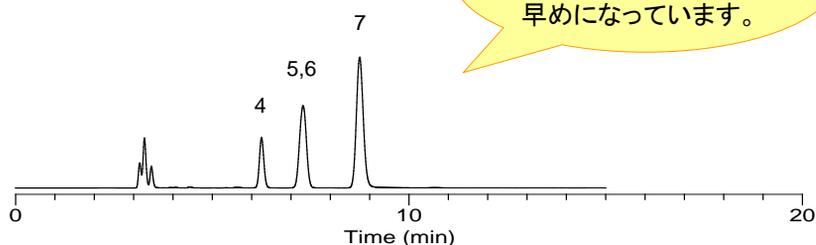
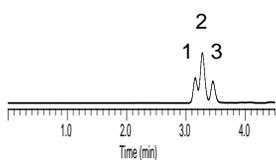
### Inertsil C8-3

保持の強さはInertSustain C8と  
ほぼ同等ですが、分離パター  
ンは若干変化しています。



### Inertsil WP300 C8

表面積が少ないため、  
WP300 C18と同様に  
早めになっています。



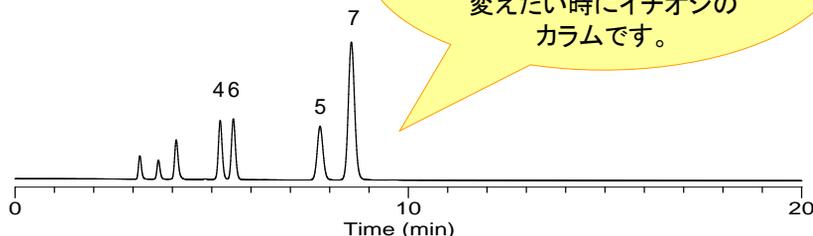
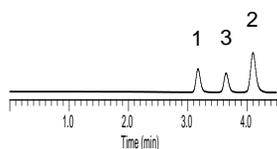
### ③フェニルカラムにおけるパターン比較

先ほどと同様に、弊社フェニルカラムのスペックと比較結果を示します。測定条件は①、②と同じです。

カラム名	化学結合基	エンドキャップ	炭素量	細孔径	表面積
InertSustain Phenyl	フェニル基	なし	10%	100Å	350 m <sup>2</sup> /g
Inertsil Ph-3	フェニル基	なし	9.5%	100Å	450 m <sup>2</sup> /g
Inertsil Ph	フェネチル基	あり	10%	150Å	320 m <sup>2</sup> /g

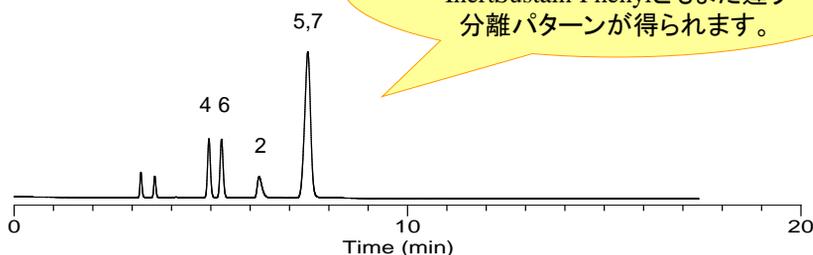
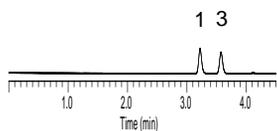
1. Uracil 2. Caffeine 3. Phenol 4. Butylbenzene 5. *o*-Terphenyl 6. Amylbenzene 7. Triphenylene

#### InertSustain Phenyl



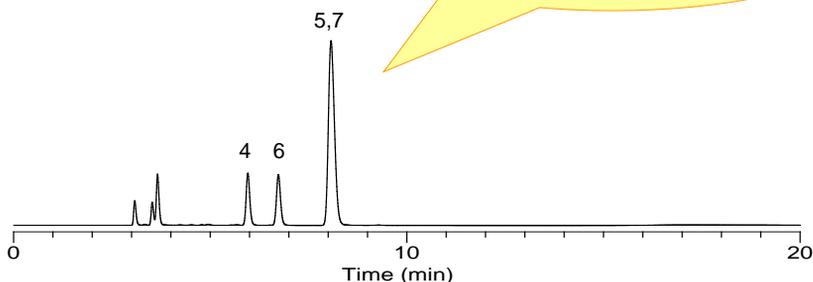
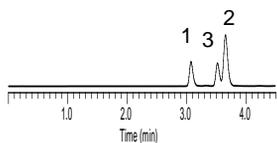
C18やC8のカラムとは溶出順序が大きく変化しています。分離パターンを変えたい時にイチオシのカラムです。

#### Inertsil Ph-3



主に立体認識能が異なるため、InertSustain Phenylともまた違う分離パターンが得られます。

#### Inertsil Ph

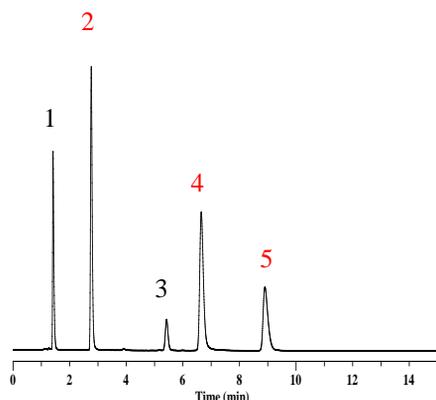


アルキル鎖が導入されている分、他2つのフェニルカラムと比べて4と6の保持時間の差が大きくなっています。

## 最後に..

多くのカラムの比較データを紹介してきましたが、その中でもInertSustain C18は、単に保持が強いというだけでなく様々な長所を併せ持っています。以下にその一部を紹介しております。ODSカラムの選択で困った場合には、まずはInertSustain C18をお試しいただくことをお勧めしております。

### <塩基性化合物のピーク形状>



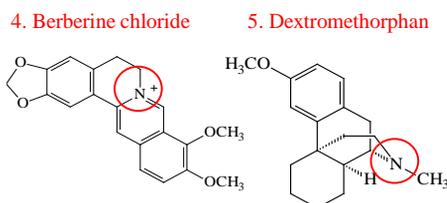
塩基性化合物の2と4と5のピーク、特に4と5の化合物は、充填剤表面の残存シラノール基と吸着してピーク形状が悪くなる化合物です。

#### Conditions

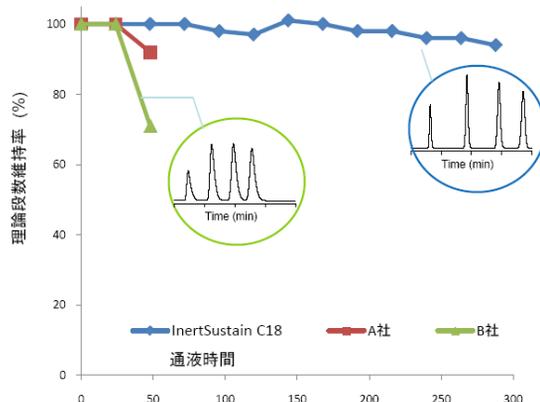
Column : InertSustain C18 (3  $\mu$ m, 2.1 x 150 mm)  
 Eluent : A) CH<sub>3</sub>CN  
 B) 25 mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (pH 7.0, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)  
 A/B = 30 / 70, v/v  
 Col. Temp. : 40°C  
 Detection : UV 230 nm  
 Flow Rate : 0.2 mL/min

Sample;

- 1: Uracil
- 2: Pyridine
- 3: Phenol
- 4: Berberine chloride
- 5: Dextromethorphan



### <アルカリ性条件下での耐久性>



新開発のシリカゲル母体とInertsilの合成技術によって、高いpH領域においてもInertSustain C18は高い耐久性を有しています。また、市販耐アルカリ性カラムと比べても良い結果が得られています。

#### Conditions for flowing alkaline solution

Eluent : 50 mM Triethylamine (pH10.0) / CH<sub>3</sub>OH = 70/30, v/v  
 Flow Rate : 1.0 mL/min  
 Col. Temp. : 50 °C

#### Conditions for obtaining the number of theoretical plates

Column : 5  $\mu$ m, 150 × 4.6 mm I.D.  
 Eluent : CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O = 65/35, v/v  
 Flow Rate : 1.0 mL/min  
 Col. Temp. : 40 °C  
 Detection : UV 254 nm  
 Sample : Naphthalene



ジエルサイエンス株式会社

〒163-1130 東京都新宿区西新宿 6-22-1 新宿スクエアタワー 30F  
 TEL.03-5323-6611 FAX.03-5323-6622

※各試験法は、変更される場合がありますので、分析の前に確認されることをお勧めします。

データに起因し、直接的または間接的に生じたいかなる損害に対しても、当社が責任をおうものではありません。また、記載事項につきましては、予告無しに改訂する場合がありますので、あらかじめご了承ください。

カスタマーサポートセンターでは、ノウハウのご提供と分析に関するフォローを行なっております。お困りの際には、カスタマーサポートセンターまでお気軽にお問い合わせください。

カスタマーサポートセンター (土・日・祝除く 9:00-17:00)

☎ 04-2934-1100      ✉ info@glsc.co.jp



【アプリケーションの検索はこちら】

[https://www.glsc.co.jp/technique/app/app\\_search.html](https://www.glsc.co.jp/technique/app/app_search.html)