

超臨界クロマトグラフィー(SFC)は、順相HPLCに近い分離モードとされ、かつ、移動相の最適線速度が速いなどの利点があることから、近年注目を集めています。しかし、その分離カラムについては、HPLCにおけるC18カラムのように王道と言える地位を確立しているカラムはまだ存在していないと言われています。そのため、カラム選定の際には、何本かのカラムを用意してスクリーニングを行ったり、仮説を立てて検証をするというプロセスを繰り返したりする必要があります。

そこで今回は、弊社の6種類のSFC対応カラムを同一条件で測定した際のデータをご紹介します。溶出挙動の違いを見比べることで、各カラムのSFCにおけるおおまかな傾向をイメージしていただけるかと思います。

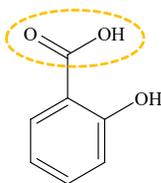
※ 本テクニカルノートに掲載されているSFCのデータはすべて、日本分光株式会社様と共同で取得したものです。

なお、今回は各カラムの傾向をご紹介しますことを目的としており、メソッドスカウティングシステムで得られたクロマトグラムをそのまま載せています。

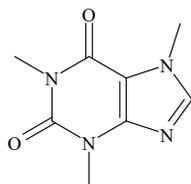
今回使用したサンプルについて

以下に化学構造を示した5種類の低分子化合物をサンプルとして使用しました。1.Salicylic acidと3.Loxxoprofenは、酸性のカルボキシ基を持っています。4.Chlorpheniramineと6.Amitriptylineは3級アミン等を有する塩基性化合物と言えます。2.Caffeineと5.Carbamazepineは、HPLCの移動相として一般的に使われるようなpH領域においては、イオンの状態にはならないものとして考えることができる化合物です。

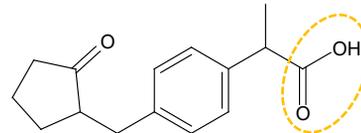
1. Salicylic acid



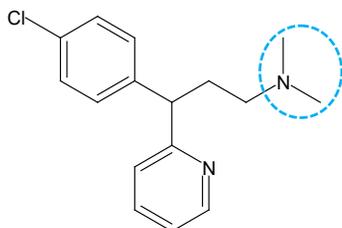
2. Caffeine



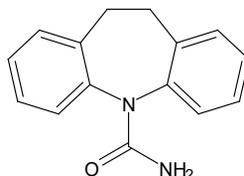
3. Loxxoprofen



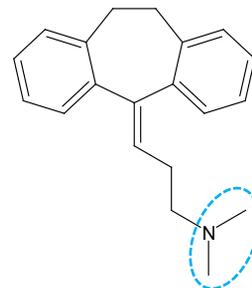
4. Chlorpheniramine



5. Carbamazepine

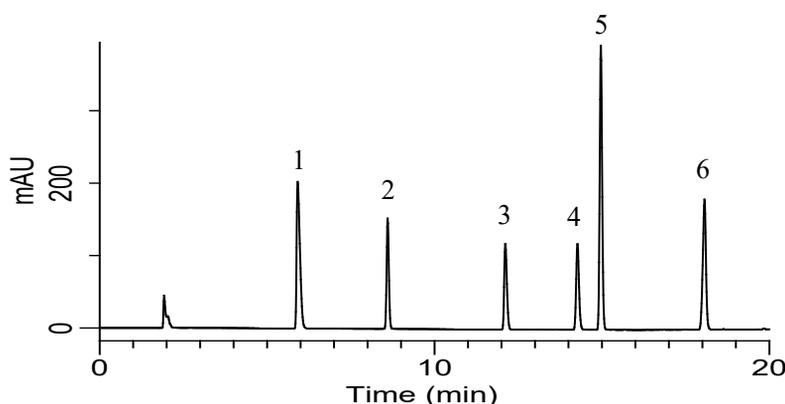


6. Amitriptyline



HPLCでの測定結果

この6種類の化合物(各濃度 100 µg/mL)をHPLCでODSカラムを使って測定すると、以下のようなクロマトグラムが得られます。移動相のpHが中性付近の場合、1~6の順番に各化合物が溶出しています。



HPLC条件

カラム:	InertSustainSwift C18 (5 µm, 150 x 4.6 mmI.D.)
溶離液:	A) CH ₃ OH B) 5 mM CH ₃ COONH ₄ in H ₂ O A/B = 5/95 – (20 min) – 95/5, v/v
流量:	1.0 mL/min
温度:	40 °C
検出器:	UV 230 nm
注入量:	5 µL

今回使用したカラムについて

今回は6種類のカラムを選定しました。

Inertsil ODS-EP

極性基を介してオクタデシル基を化学結合させた極性基内包型(エンベッド型)ODSカラムです。

Inertsil Diol

シリカゲルにジオール(ジヒドロキシプロピル)基を化学結合させたカラムです。

InertSustain Amide

カルバモイル基を化学修飾したHILICカラムです。

InertSustain Cyano

ジーエルサイエンスが持つ最新の技術で開発・設計されたシアノカラムです。

InertSustain Phenyl

シリカゲルに直接フェニル基を結合させているため、一般的なフェニルカラム(アルキルフェニル基結合カラム)に比べて芳香族化合物の電子状態の差をより大きく認識する特性を有しています。

InertSustain PFP

ODSカラムやフェニルカラムとは異なる独特の分離挙動を示し、異性体分離や高極性塩基性化合物の保持に優れた性能を発揮するカラムです。

SFCに対応可能な充填剤の種類

InertSustainシリーズ

- ・ InertSustain C18
- ・ InertSustain AQ-C18
- ・ InertSustainSwift C18
- ・ InertSustain AX-C18
- ・ InertSustainSwift C8
- ・ InertSustain C8
- ・ InertSustain PFP
- ・ InertSustain Phenylhexyl
- ・ InertSustain Phenyl
- ・ InertSustain Cyano
- ・ InertSustain Amide
- ・ InertSustain NH2 (*)

Inertsilシリーズ

- ・ Inertsil ODS-HL
- ・ Inertsil ODS-4
- ・ Inertsil ODS-3
- ・ Inertsil ODS-SP
- ・ Inertsil ODS-P
- ・ Inertsil ODS-EP
- ・ Inertsil WP300 C18
- ・ Inertsil C8-4
- ・ Inertsil C8-3
- ・ Inertsil WP300 C8
- ・ Inertsil Ph-3
- ・ Inertsil WP300 C4
- ・ Inertsil Diol (*)
- ・ Inertsil WP300 Diol (*)
- ・ Inertsil CN-3 (*)
- ・ Inertsil SIL-100A (*)
- ・ Inertsil WP300 SIL (*)
- ・ Inertsil NH2 (*)

※ その他のInertsilシリーズについても対応可能です。お問合せください。

※ (*) の充填剤を選択した場合は、カラム内にヘキサンとエタノールの混液が封入された状態で出荷されます。

それ以外の充填剤についてはメタノールが封入された状態で出荷されます。

※ 出荷検査はSFCではなく、HPLCのみで行っています。あらかじめご了承ください。

SFCでの測定条件

モディファイアとしてはSFCにおいて一般的に使用されているメタノールを選択し、そこに0.1% (w/v)の濃度となるように酢酸アンモニウムを溶かしたものを使用しました。測定時間は10分間とし、その間にモディファイアの濃度を5%から40%まで変化させました。

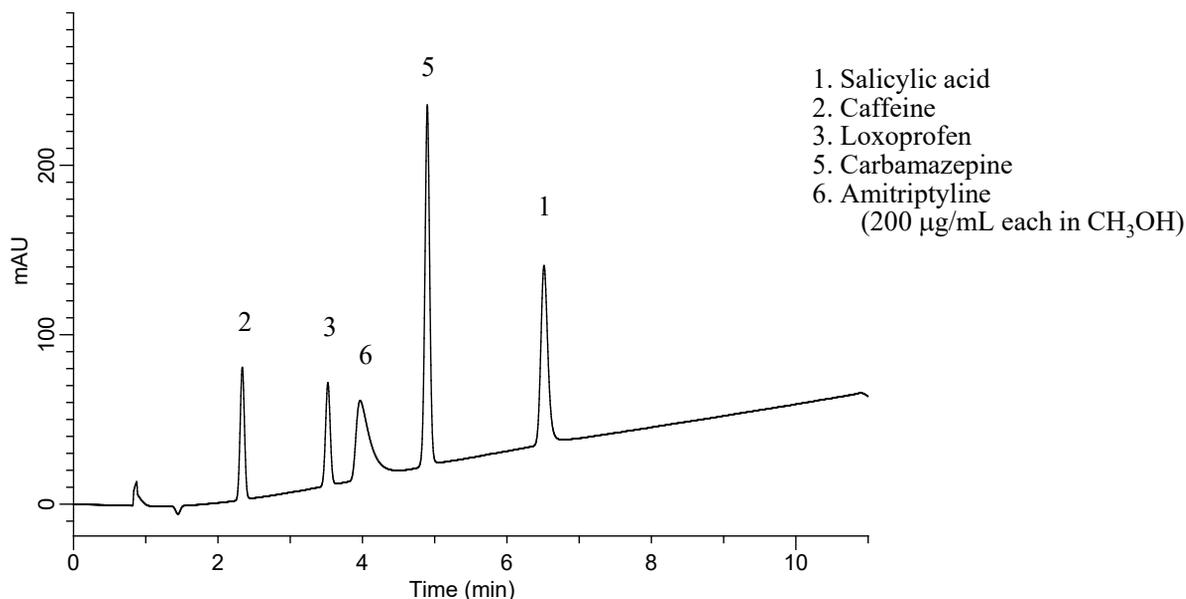
SFC条件

システム:	EXTREMA UFC (分析スケール)	流量:	3.0 mL/min
カラムサイズ:	5 μ m, 250 x 4.6 mm I.D.	温度:	40 °C
溶離液:	A) Supercritical carbon dioxide	検出器:	UV 230 nm
	B) 0.1% (w/v) CH ₃ COONH ₄ in CH ₃ OH	注入量:	5 μ L
	A/B = 95/5 – (10 min) – 60/40, v/v	BPR*:	10 MPa

*BPR: Back Pressure Regulator

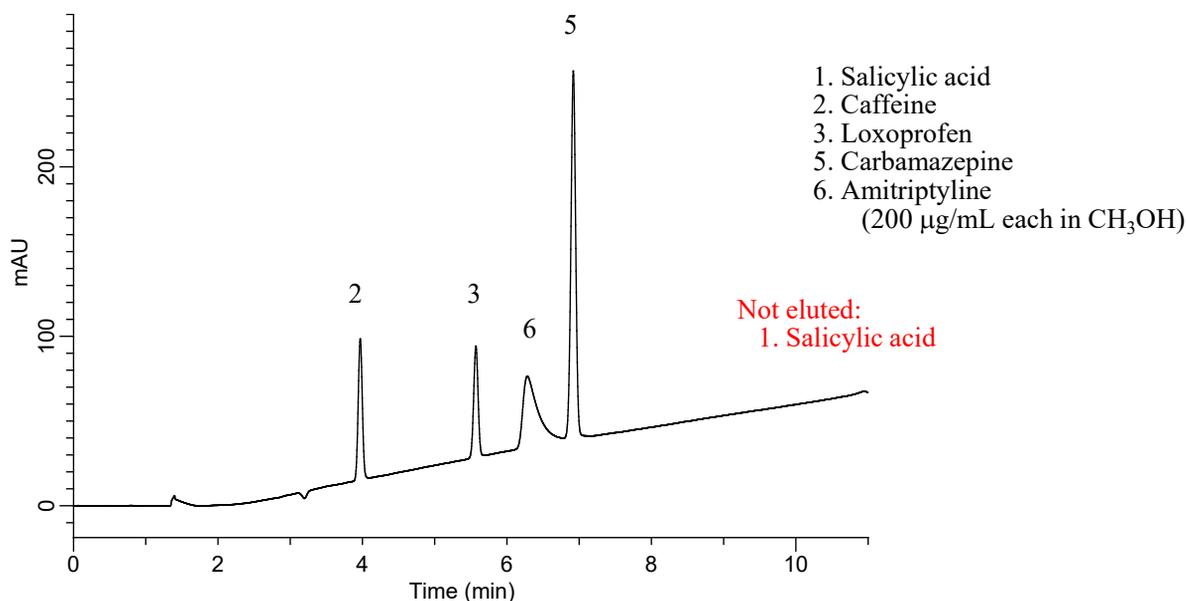
Inertsil ODS-EP

弊社のSFC対応カラムの中でも使用実績の多い、Inertsil ODS-EPを使用したところ、以下のようなクロマトグラムが得られました。Inertsil ODS-EPは、ODS基の根元に極性基が導入されているカラムであるため、SFCでも各化合物を適度に保持させることができます。なお、4.Chlorpheniramine は3.Loxoprofen と重なって溶出していたため、他のカラムの測定においても、4.Chlorpheniramine を除いた5種類の化合物のメタノール溶液をサンプルとして使用しました。



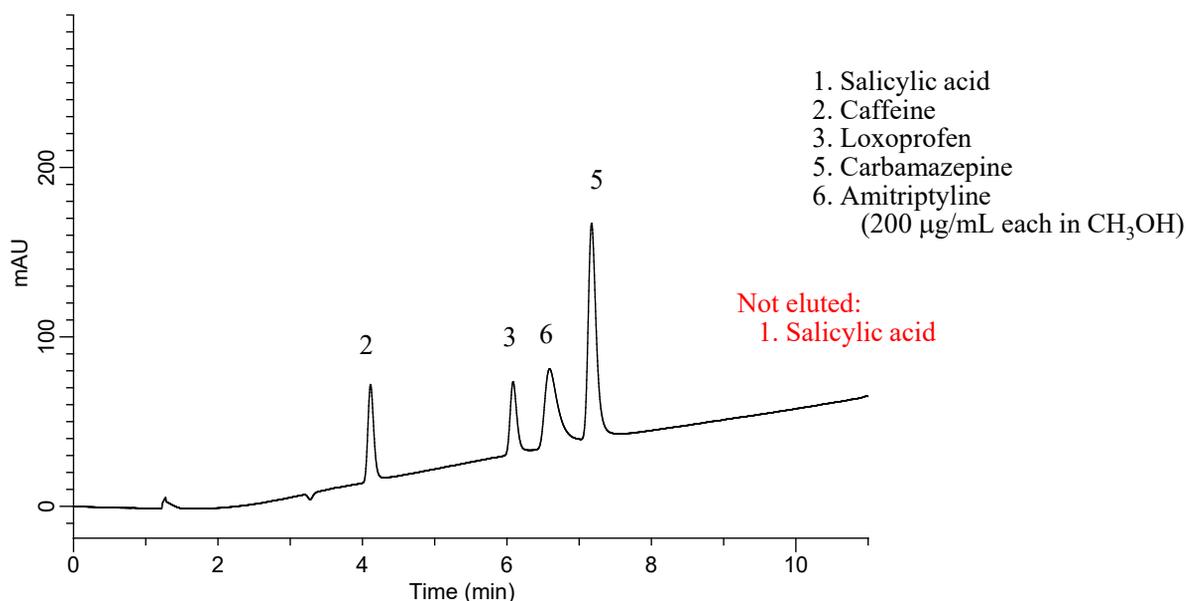
Inertsil Diol

順相HPLCで弊社のファーストチョイスカラムとなっているInertsil Diolでも、溶出順はInertsil ODS-EPと同じでした。しかし、全体的な保持がInertsil Diolの方が強く、最後に溶出するはずの1.Salicylic acidは、今回の測定時間内にはカラムから溶出しませんでした。



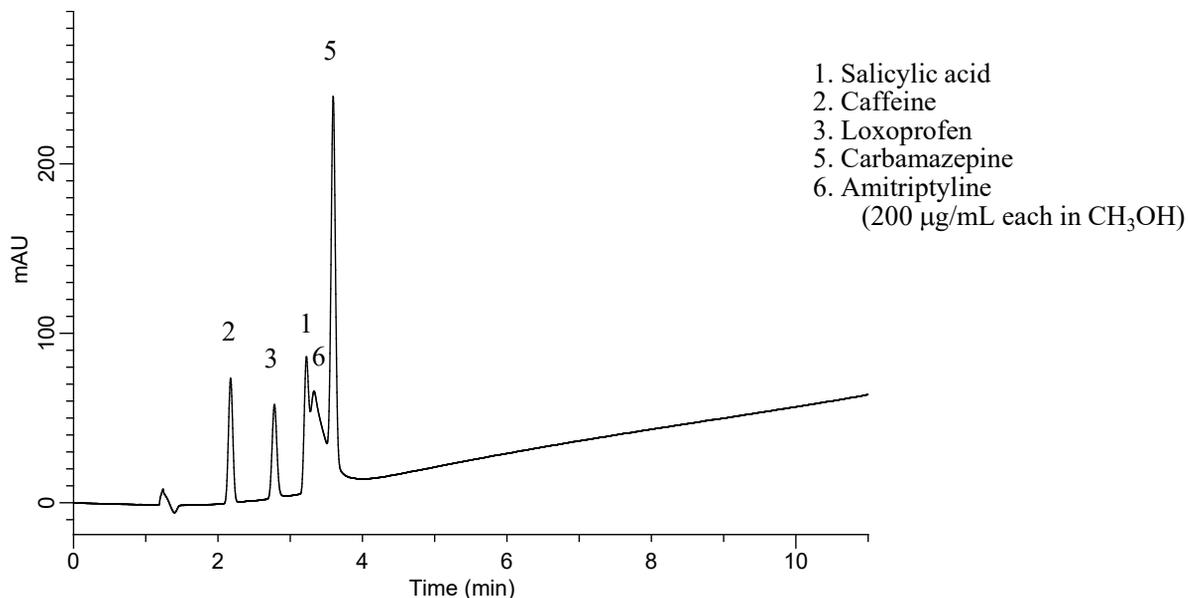
InertSustain Amide

Inertsil Diolと同じく中性の極性官能基が修飾されているInertSustain Amideも、Inertsil Diolと似たデータが得られました。全体的な保持はややInertSustain Amideの方が強いのですが、6.Amitriptyline 以外の化合物のピーク形状は、Inertsil Diolの方が良好でした。



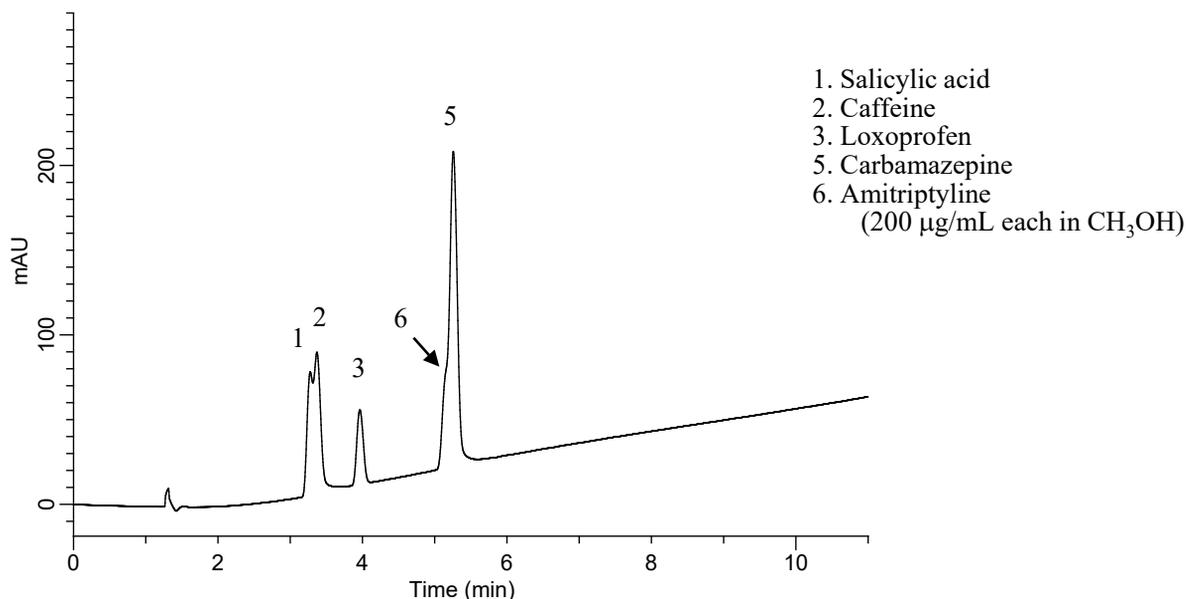
InertSustain Cyano

シアノプロピル基が修飾されているInertSustain Cyanoは、順相HPLCではInertsil Diolと比べて全体的に早く溶出する傾向があります。SFCでも同様の傾向が見られましたが、それだけでなく、1.Salicylic acid の溶出がかなり早くなっていました。Inertsil ODS-EPやInertsil Diolとは異なる分離パターンが必要な場合にも有用かもしれません。



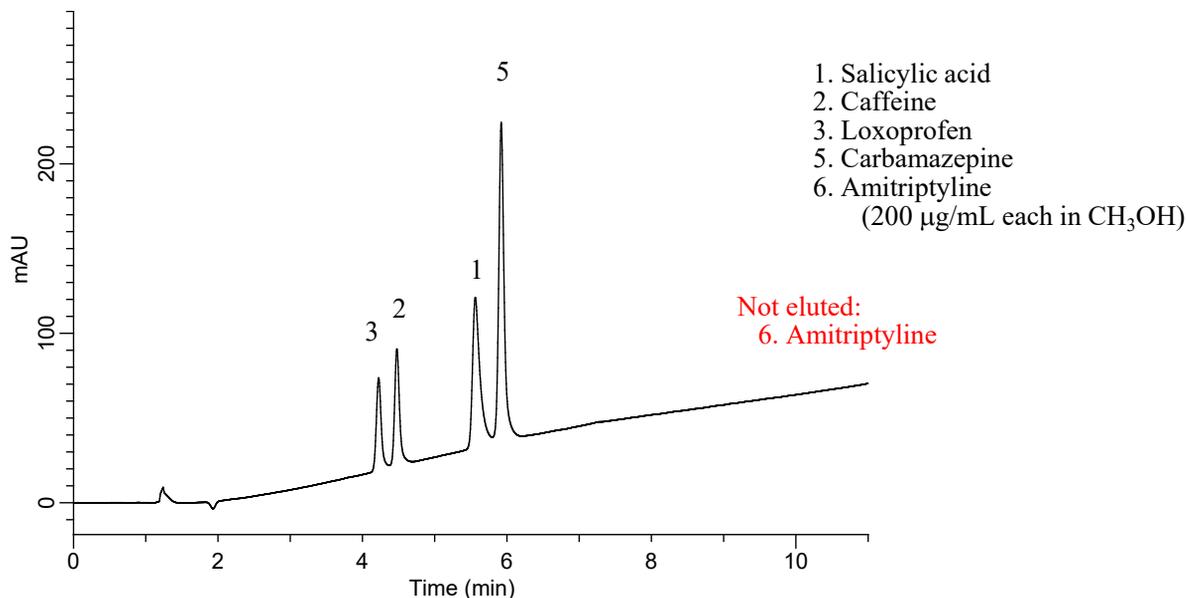
InertSustain Phenyl

疎水性の官能基であるフェニル基が表面修飾されているInertSustain Phenylでは、逆相HPLCに近い順番で各化合物が溶出していました。逆相系のカラムであるにもかかわらず適度な保持が見られていたのは、 π 電子相互作用が働くほか、エンドキャップを行っていない関係で充填剤表面にシラノール基が残存しているためかと考えられます。



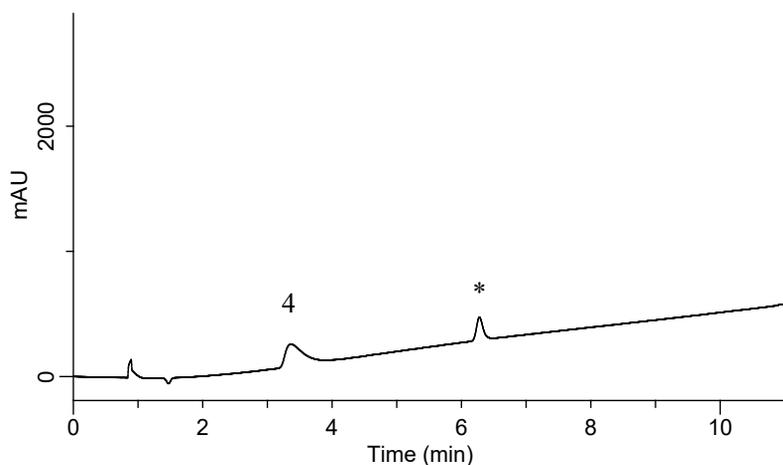
InertSustain PFP

InertSustain PFPは塩基性の高極性化合物の保持が強くなるように設計されたカラムです。SFCでも塩基性の化合物は強く保持され、6.Amitriptyline は今回の測定時間内に溶出されませんでした。それ以外の化合物は、適度に保持され、さらに他のカラムとも異なる順番で溶出しています。



Chlorpheniramineの測定結果について(Inertsil ODS-EP)

今回、4.Chlorpheniramineのサンプル溶液を調製する際に、そのマレイン酸塩の試薬を溶かして使用しました。SFCで測定したところ、4.Chlorpheniramineだけでなく、マレイン酸と思われるピークも同時に検出されていました。(その他のカラムでの4.Chlorpheniramineの分析結果につきましては、お問い合わせください。)



4. Chlorpheniramine
(200 µg/mL each in CH₃OH)

* Maleic acid

SFC対応カラムの注文方法

SFC対応カラムは、標準で下記の5種類のサイズを用意しています。

ご注文の際は、充填剤の種類を指定してください。

● 内径2.1 mm、4.6 mm：高圧ガス保安協会（KHK）認定シール付き

品名	内径(mm)	長さ(mm)	Cat.No.
高圧ガス保安協会認定証票版 SFC対応カラム	2.1	150	5020-01107
	4.6	150	5020-01105
	4.6	250	5020-01106

注1) 上記製品にはSFC対応各種書類は付属しません。書類が必要な場合は別途お問い合わせください。

注2) 充填剤の粒子径は5 µmとなります。5 µm以外の粒子径をご希望の場合はお問い合わせください。



カラムとしてのKHK認定第一号は
ジーエルサイエンスです！

● 内径10 mm、20 mm：SFC対応書類付き

品名	内径(mm)	長さ(mm)	Cat.No.
SFC対応分取カラム	10	250	5020-01008
	20	250	5020-01009

注1) 充填剤の粒子径は5 µmのみとなります。

※SFCでの使用推奨最大圧力は20 MPa (≒2900 psi) です。カラムジョイント形式は、UP型（パーカー型）です。

SFC対応書類

- ・強度計算書
- ・材料証明書（ミルシート）
- ・カラムの図面
- ・耐圧気密試験結果



ジー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薦めします。

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っております。お困り際には、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@gl.s.co.jp



【アプリケーションの検索はこちら】

https://www.gl.s.co.jp/technique/app/app_search.html