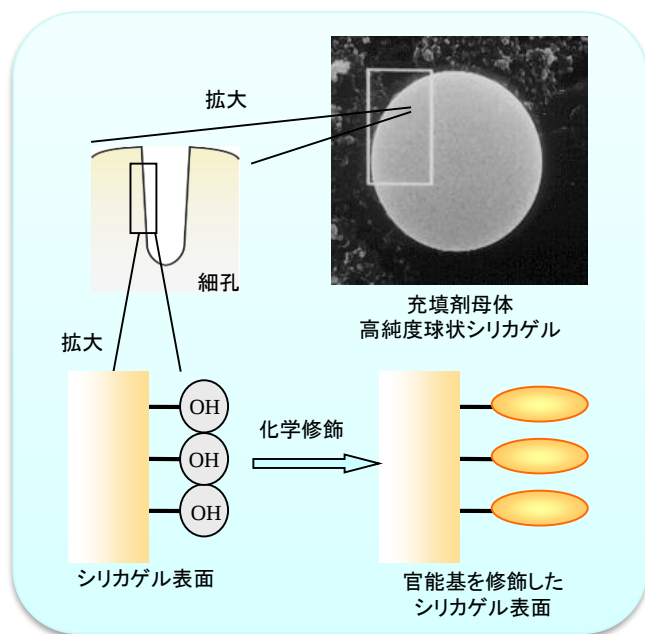


HPLC用のカラムは、数多くのメーカーから様々な種類のカラムがリリースされています。LCテクニカルノートNo.50とNo.100では、「種類が多すぎてどれを選べば良いのか分からない」というお客様の声にお応えするべく、弊社がご提供する逆相系のHPLC用カラムの比較を行いました。

前回のテクニカルノート発行後、弊社もさらにカラムのラインアップを増やしております。そこで、No.200として再び、逆相系カラムの比較データをご紹介します。

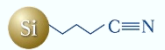
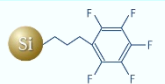
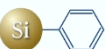
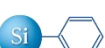
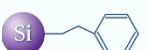
(K. Tanaka)



<今回ご紹介するカラム (ODSカラム) >

カラムの種類	官能基	特徴
InertSustain C18	$\text{Si}-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$	弊社独自の合成技術により不活性度と化学的安定性を追求して開発した逆相系カラムのファーストチョイスカラムです。
InertSustain AQ-C18	$\text{Si}-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$	水100%に近い溶離液条件下で親水性 (高極性) 化合物を逆相分析する際におすすめのカラムです。
InertSustainSwift C18	$\text{Si}-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$	一般的なODSカラムと比べて化合物を早く溶出するように設計された高速分析に適したカラムです。
InertSustain AX-C18	$\text{Si}-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$ $\text{Si}-\text{NR}_2$	C18基と3級アミノ基を化学修飾させたミックスモードのカラムです。酸性高極性化合物の保持を強めたい場合に有用です。
Inertsil ODS-HL	$\text{Si}-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$	一般的なODSカラムよりも炭素量を多く導入しているため、疎水性化合物の保持力が強いカラムです。
Inertsil ODS-4	$\text{Si}-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$	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	$\text{Si}-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$	1994年発売以来、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	$\text{Si}-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$	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。日本の充填剤の良さを世界に知らしめた功労者です。
Inertsil ODS-SP	$\text{Si}-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$	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	$\text{Si}-\text{PG}-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$ PG: 極性基	オクタデシル基の根元に極性基を導入したエンベッドカラムです。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	$\text{Si}-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$	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	$\text{Si}_{300}-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$	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。
MonoClad C18-HS	$-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$	スルーポアとメソポアの二重ポア構造をもつ円柱状のシリカロッドを分離担体としたHPLC用シリカモノリスカラムです。

＜今回ご紹介するカラム (その他の逆相カラム) ＞

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カラムです。不活性度・耐久性・ロット間再現性にも優れています。
InertSustainSwift C8		化合物が早く溶出するように設計されており、高速分析・高感度分析に適したC8カラムです。
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、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		大きな細孔を持つため、タンパク質やペプチドなど高分子化合物の迅速分析に最適です。
Inertsil C4		Inertsilのアルキル基結合型カラムとしては最弱の疎水性相互作用をもつ、ブチル基を導入したカラムです。
Inertsil WP300 C4		独自のエンベッド処理により吸着を抑えた、脂溶性の高いタンパク質やペプチドなどの逆相分析に最適なカラムです。
InertSustain Cyano		Phカラムと同様に π 結合による相互作用を持ち、さらに特徴的な挙動を示すカラムとして知られています。
InertSustain PFP		疎水性相互作用、双極子-双極子相互作用、 π 電子相互作用など様々な相互作用が働き、独特の分離挙動を示します。
InertSustain Phenylhexyl		アルキルフェニル基結合タイプのカラムです。ODSカラムでの分離パターンを少し変えたい場合に有用です。
InertSustain Phenyl		フェニル基を導入したカラムです。 π 電子相互作用が働くため、分離パターンを大きく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		他のフェニル系カラムとは異なり、フェニル基と充填剤の間にエチル基(フェネチル基)が導入されているカラムです。



① ODS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%	100 Å	350 m ² /g
InertSustain AQ-C18	オクタデシル基	あり	13%	100 Å	350 m ² /g
InertSustainSwift C18	オクタデシル基	あり	9%	200 Å	200 m ² /g
InertSustain AX-C18	オクタデシル基+3級アミノ基	あり	8%	200 Å	200 m ² /g
Inertsil ODS-HL	オクタデシル基	あり	23%	100 Å	450 m ² /g
Inertsil ODS-4	オクタデシル基	あり	11%	100 Å	450 m ² /g
Inertsil ODS-3	オクタデシル基	あり	15%	100 Å	450 m ² /g
Inertsil ODS-2	オクタデシル基	あり	18.5%	150 Å	320 m ² /g
Inertsil ODS-SP	オクタデシル基	あり	8.5%	100 Å	450 m ² /g
Inertsil ODS-EP	オクタデシル基	なし	9%	100 Å	450 m ² /g
Inertsil ODS-P	オクタデシル基	なし	29%	100 Å	450 m ² /g
Inertsil WP300 C18	オクタデシル基	あり	9%	300 Å	150 m ² /g
MonoClad C18-HS	オクタデシル基	あり	14%	180 Å*	200 m ² /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。

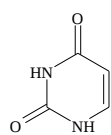
HPLC条件

- ・ カラム : 逆相系カラム
(5 μm, 250 × 4.6 mm I.D.)*
- ・ 溶離液 : A) CH₃OH B) H₂O A/B= 80/20, v/v
(InertSustain Cyanoのみ A/B= 60/40, v/v)
- ・ 流量 : 1.0 mL/min*
- ・ 温度 : 40 °C
- ・ 検出器 : UV 254 nm
- ・ 注入量 : 5 μL*

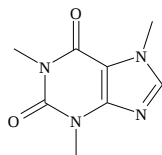
* MonoClad C18-HSについては内径3 mmのカラムでの測定となる関係で、流量は0.4 mL/min、注入量は2 μLとしました。

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。

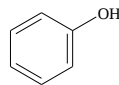
評価に使用した成分と構造式



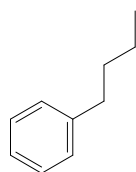
1. Uracil



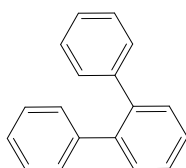
2. Caffeine



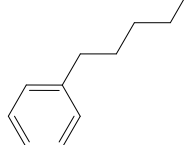
3. Phenol



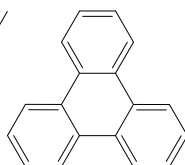
4. Butylbenzene



5. o-Terphenyl



6. Amylbenzene



7. Triphenylene

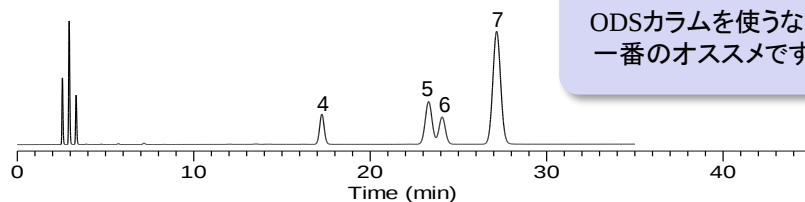
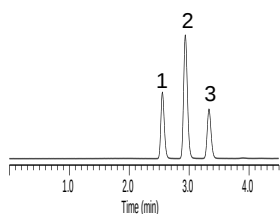
評価に使用した成分の構造式を左に示します。塩基性物質や酸性物質、アルキルベンゼンや多環芳香族化合物の分離の差から、分離に及ぼす様々な要因が明らかとなります。

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。

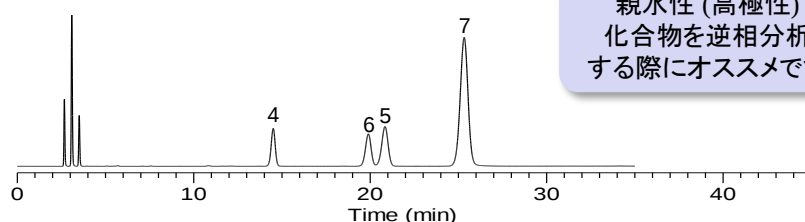
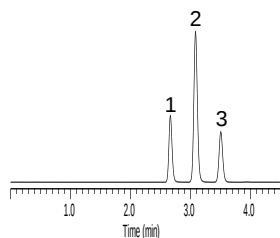
平面認識能が高いカラムほどo-ターフェニル(5)に対してトリフェニレン(7)が遅れて溶出します。

InertSustain C18



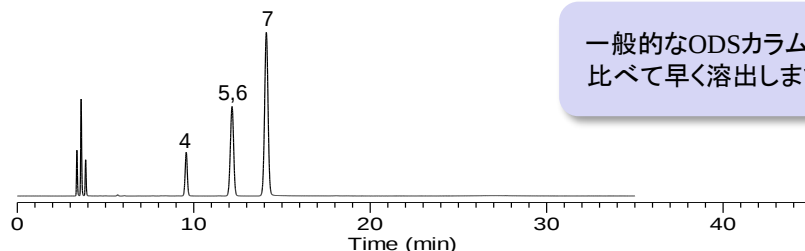
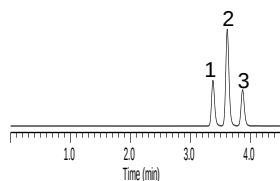
ODSカラムを使うなら
一番のオススメです!

InertSustain AQ-C18



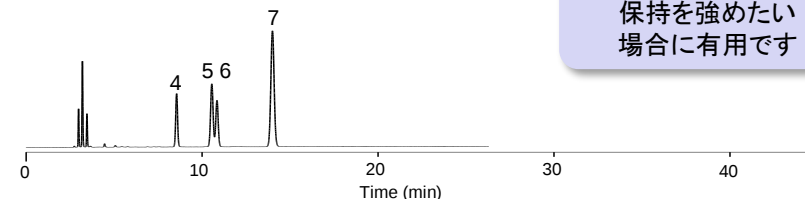
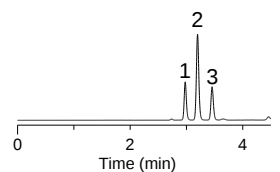
親水性 (高極性)
化合物を逆相分析
する際にオススメです

InertSustainSwift C18



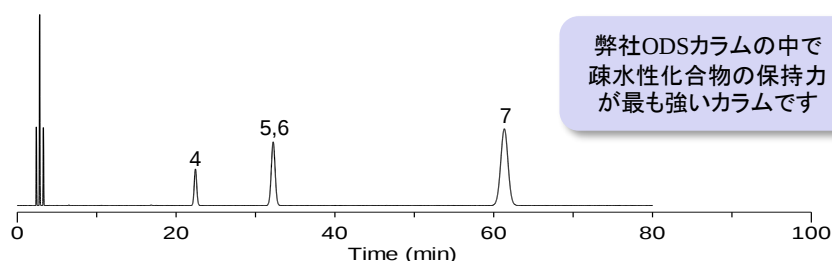
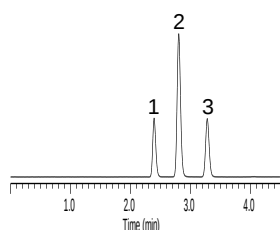
一般的なODSカラムと
比べて早く溶出します

InertSustain AX-C18



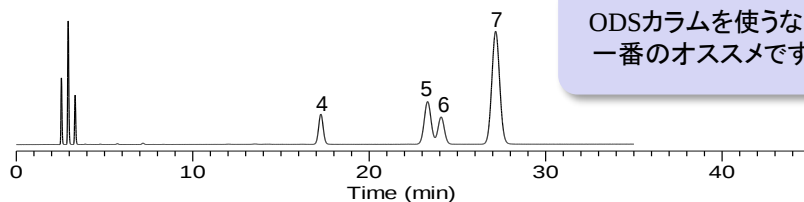
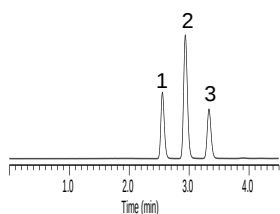
酸性高極性化合物の
保持を強めたい
場合に有用です

Inertsil ODS-HL



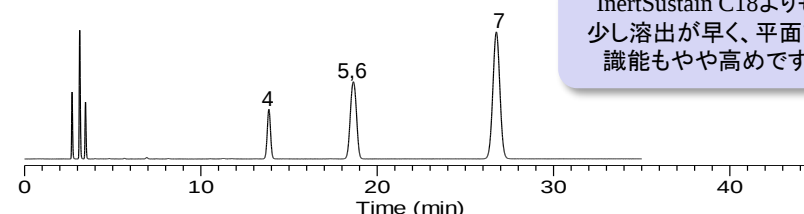
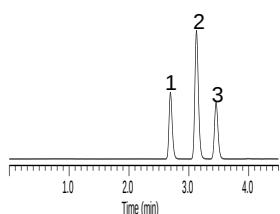
弊社ODSカラムの中で
疎水性化合物の保持力
が最も強いカラムです

InertSustain C18



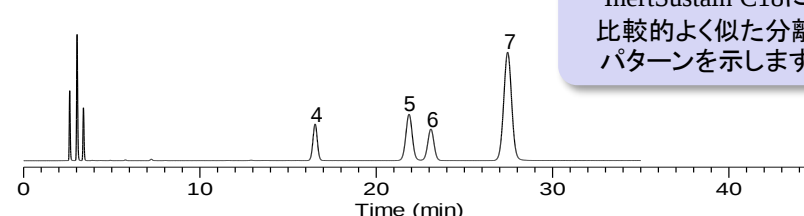
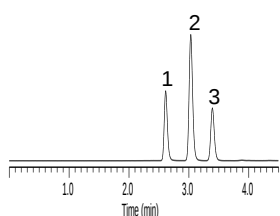
ODSカラムを使うなら
一番のオススメです!

Inertsil ODS-4



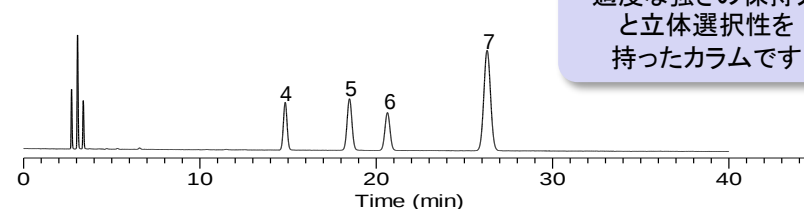
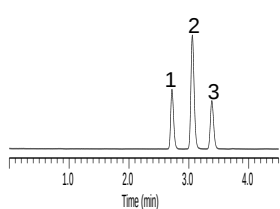
InertSustain C18よりも
少し溶出が早く、平面認
識能もやや高めです

Inertsil ODS-3



InertSustain C18に
比較的に似た分離
パターンを示します

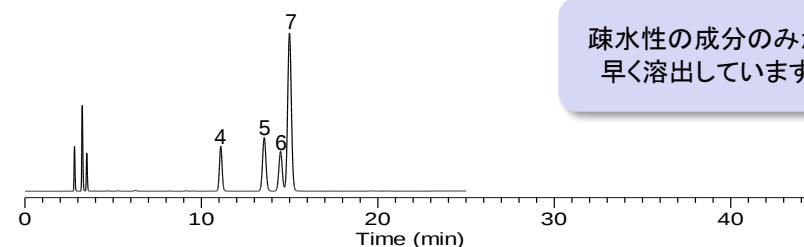
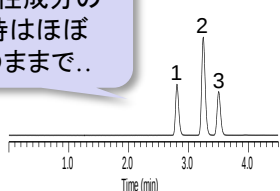
Inertsil ODS-2



適度な強さの保持力
と立体選択性を
持ったカラムです

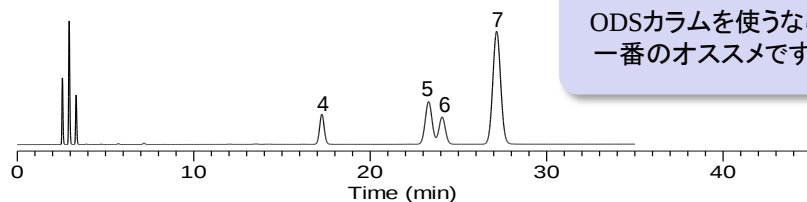
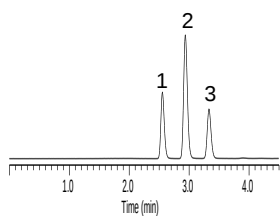
Inertsil ODS-SP

親水性成分の
保持はほぼ
そのままで..



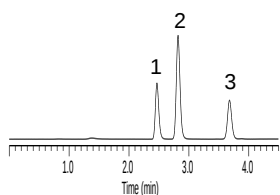
疎水性の成分のみが
早く溶出しています

InertSustain C18



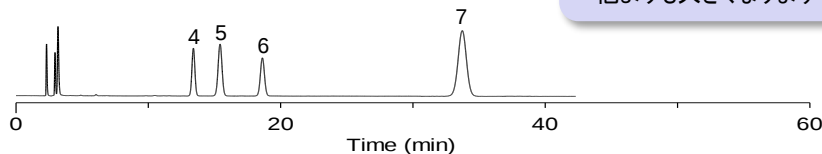
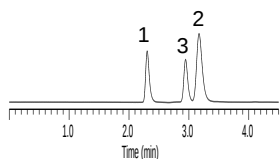
ODSカラムを使うなら
一番のオススメです!

Inertsil ODS-EP



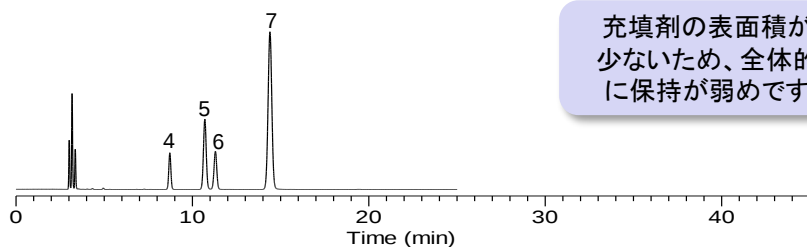
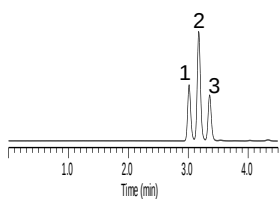
ODSを利用して、分離
パターンを変えたい時
に適しています

Inertsil ODS-P



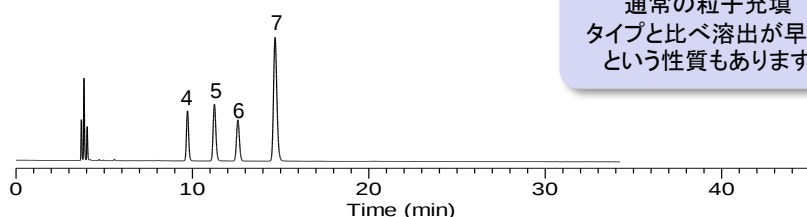
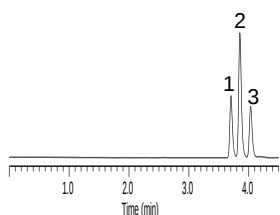
立体認識能が高いので
5と7の保持時間の差が
他よりも大きくなります

Inertsil WP300 C18



充填剤の表面積が
少ないため、全体的
に保持が弱めです

MonoClad C18-HS



通常の粒子充填
タイプと比べ溶出が早い
という性質もあります

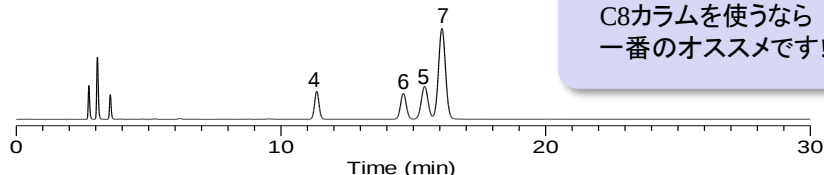
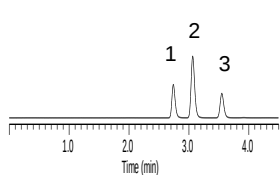
② C8カラムにおけるパターン比較

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%	100 Å	350 m ² /g
InertSustainSwift C8	オクチル基	あり	6%	200 Å	200 m ² /g
Inertsil C8-4	オクチル基	あり	5%	100 Å	450 m ² /g
Inertsil C8-3	オクチル基	あり	9%	100 Å	450 m ² /g
Inertsil WP300 C8	オクチル基	あり	4%	300 Å	150 m ² /g

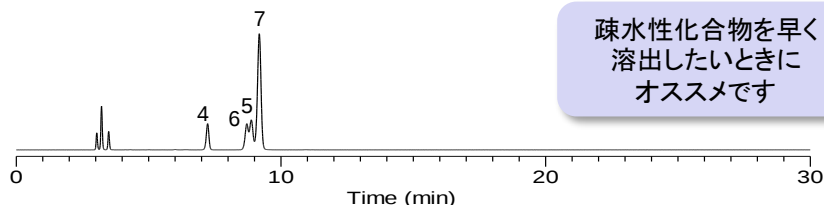
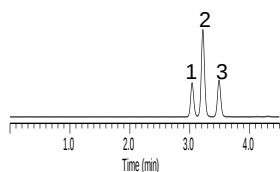
1. Uracil 2. Caffeine 3. Phenol 4. Butylbenzene 5. *o*-Terphenyl 6. Amylbenzene 7. Triphenylene

InertSustain C8



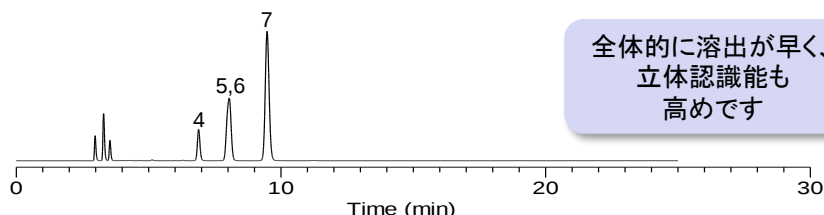
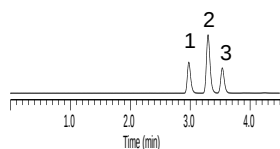
C8カラムを使うなら
一番のオススメです!

InertSustainSwift C8



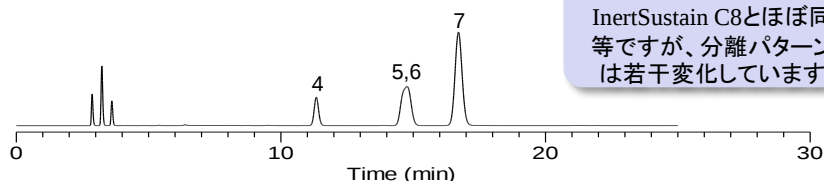
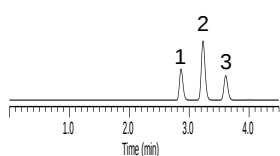
疎水性化合物を早く
溶出したいときに
オススメです

Inertsil C8-4



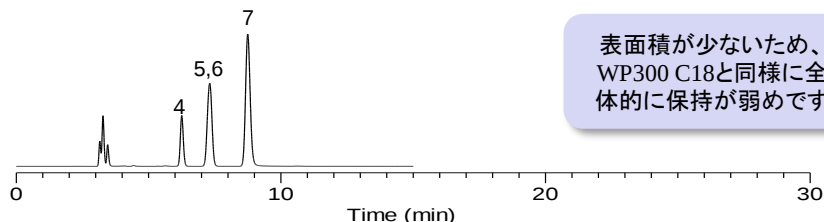
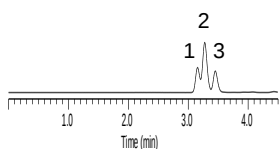
全体的に溶出が早く、
立体認識能も
高めです

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と同様に全
体的に保持が弱めです

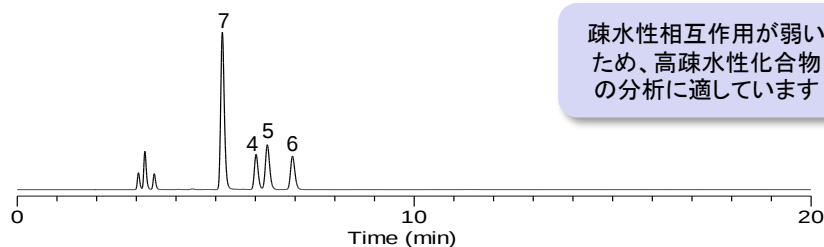
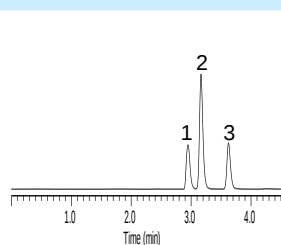
③ C4・シアノ・フェニルカラムにおけるパターン比較

先ほどと同様に、弊社C4・シアノ・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
Inertsil C4	ブチル基	あり	7.5%	150 Å	320 m ² /g
Inertsil WP300 C4	ブチル基	なし	3%	300 Å	150 m ² /g
InertSustain Cyano	シアノプロピル基	あり	8%	100 Å	350 m ² /g
InertSustain PFP	ペンタフルオロフェニルプロピル基	あり	10%	100 Å	350 m ² /g
InertSustain Phenylhexyl	フェニルヘキシル基	あり	9%	100 Å	350 m ² /g
InertSustain Phenyl	フェニル基	なし	10%	100 Å	350 m ² /g
Inertsil Ph-3	フェニル基	なし	9.5%	100 Å	450 m ² /g
Inertsil Ph	フェネチル基	あり	10%	150 Å	320 m ² /g

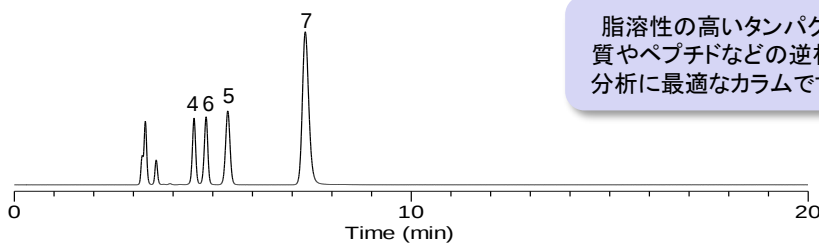
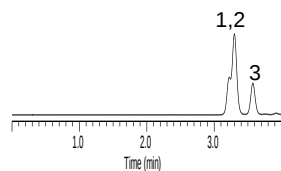
1. Uracil 2. Caffeine 3. Phenol 4. Butylbenzene 5. o-Terphenyl 6. Amylbenzene 7. Triphenylene

Inertsil C4



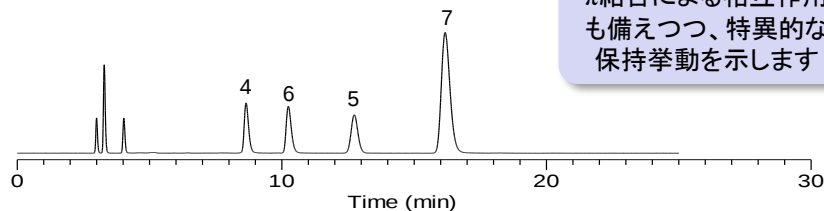
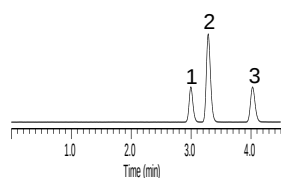
疎水性相互作用が弱い
ため、高疎水性化合物
の分析に適しています

Inertsil WP300 C4

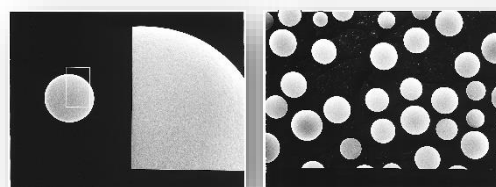


脂溶性の高いタンパク
質やペプチドなどの逆相
分析に最適なカラムです

InertSustain Cyano

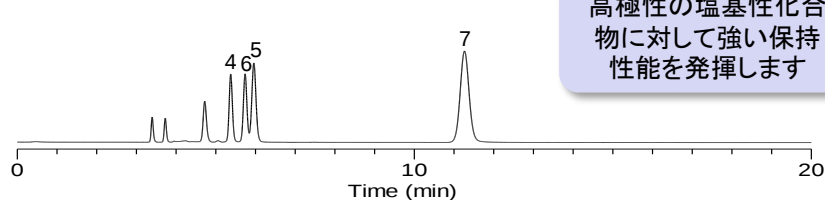
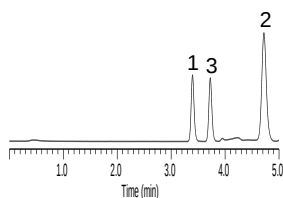


π結合による相互作用
も備えつつ、特異的な
保持挙動を示します



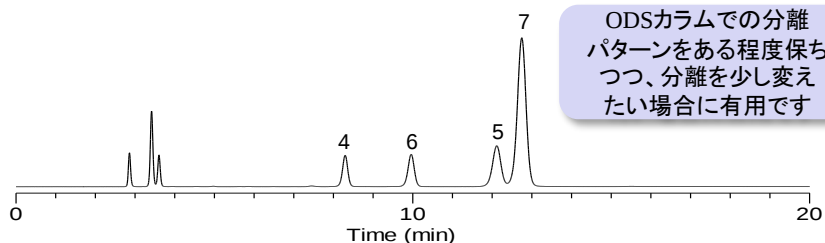
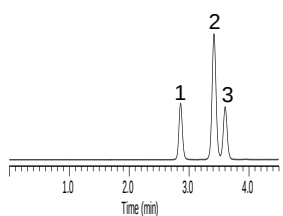
高純度球状シリカゲル

InertSustain PFP



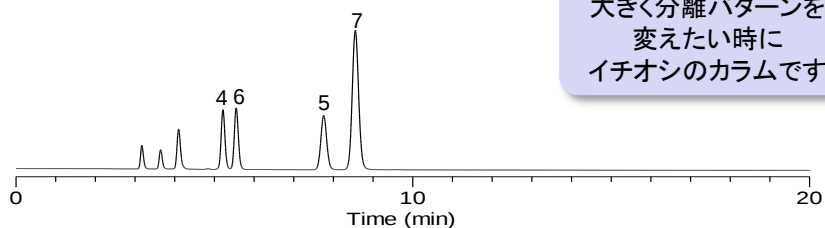
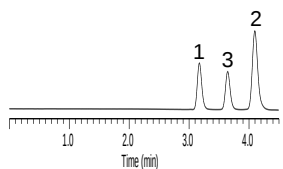
高極性の塩基性化合物に対して強い保持性能を発揮します

InertSustain Phenylhexyl



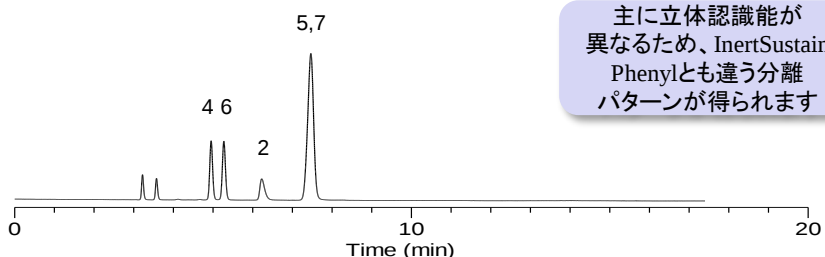
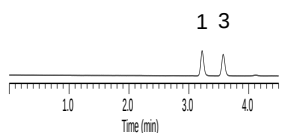
ODSカラムでの分離パターンをある程度保ちつつ、分離を少し変えたい場合に有用です

InertSustain Phenyl



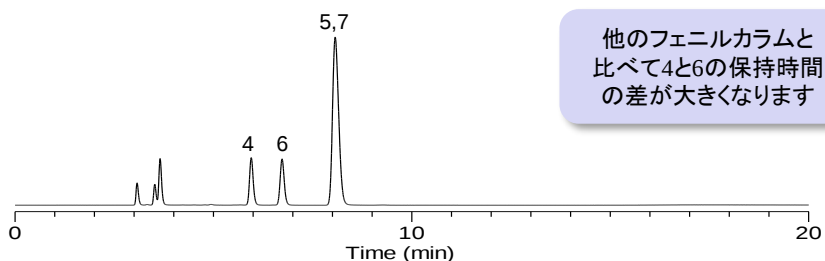
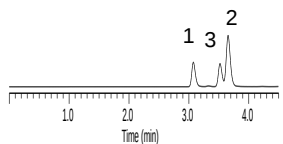
大きく分離パターンを変えたい時にイチオシのカラムです

Inertsil Ph-3



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

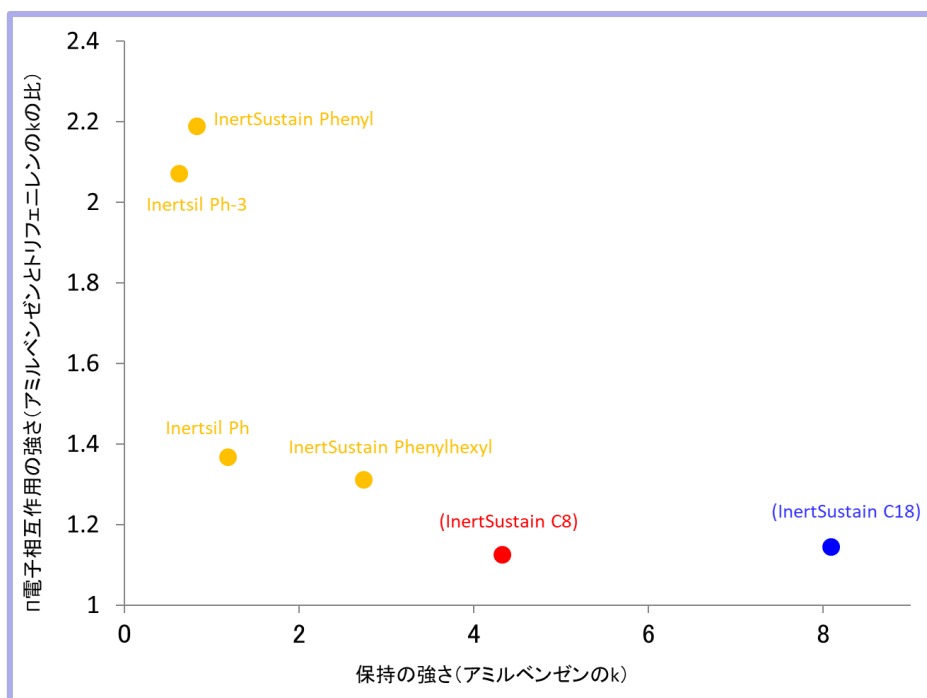
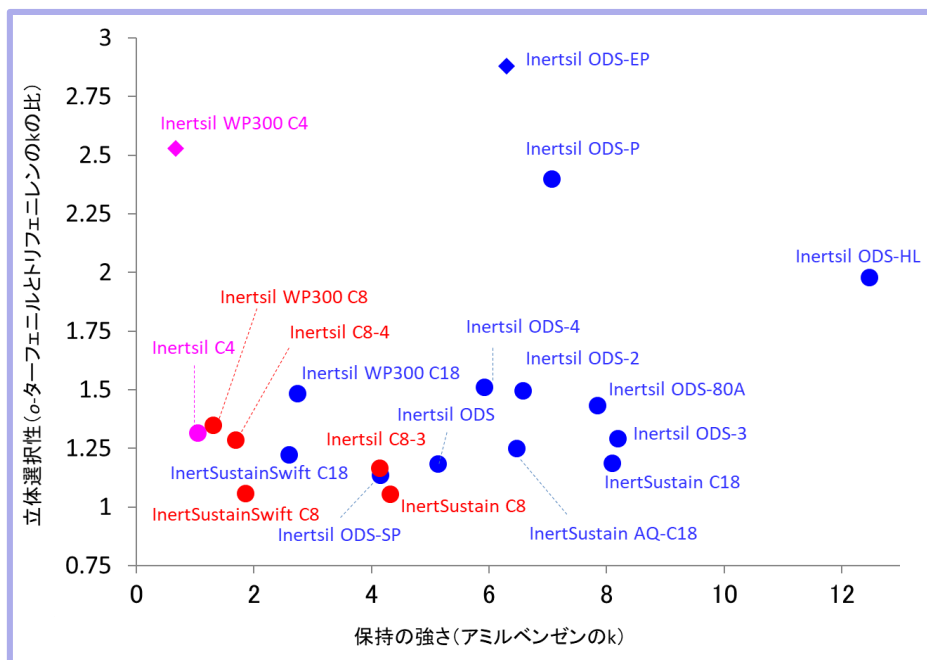
Inertsil Ph



他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ります

<InertSustain, Inertsil シリーズの分布モデル>

下図に逆相系カラムの保持の強さに対する立体選択性と π 電子相互作用の強さを示します。「保持の強さ」はアミルベンゼンの保持係数、「立体選択性」は o -ターフェニルとトリフェニレンの保持比、「 π 電子相互作用の強さ」はアミルベンゼンとトリフェニレンの保持比の値をそれぞれ用いてプロットしました。



ジー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