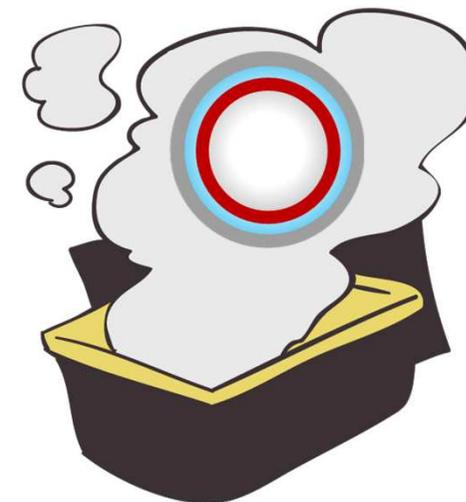
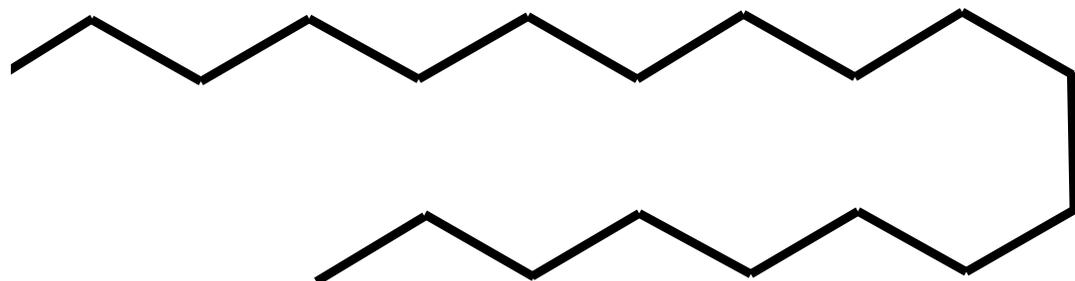


# 液クロ玉手箱

知って役立つ！  
C18(ODS)カラムの選び方



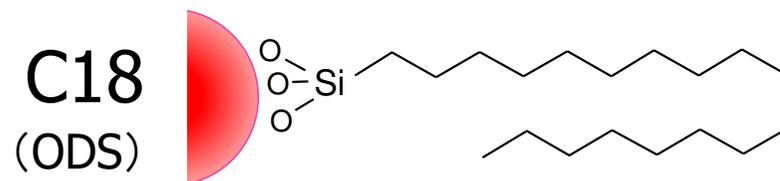
ChromaNik



(株)クロマニックテクノロジーズ  
カラムコンシェルジュ  
小山 隆次  
koyama@chromanik.co.jp

**ChromaNyk**  
ChromaNik Technologies Inc.

# C18 : 逆相LCでの、「ファーストカラム」



- C18は、逆相LCにおける最も汎用的な固定相
- USP(米国薬局方L1)でのC18登録数は1000以上

C18カラムの仕様と、情報公開度の目安 ( 公開 公開(※要注意) 殆ど非公開 非公開 )

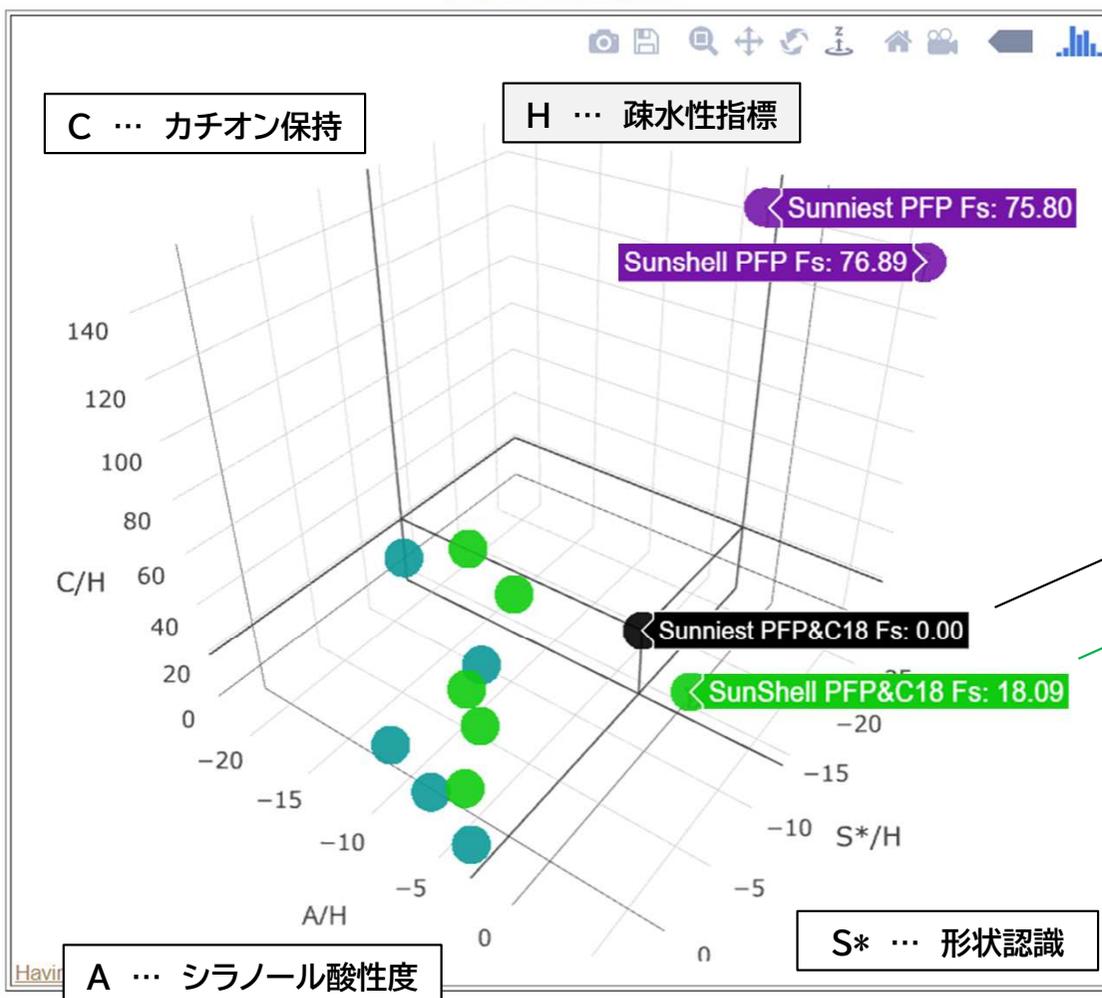
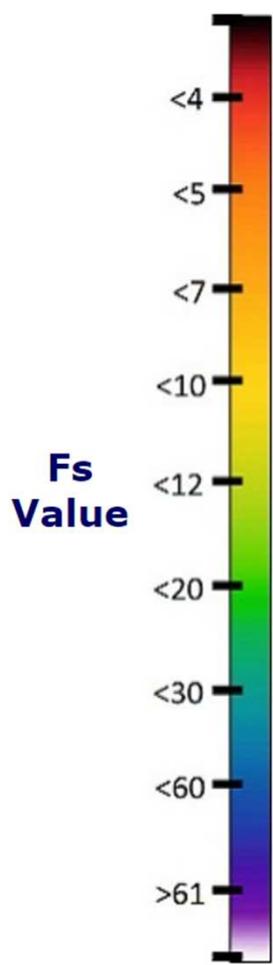
|         |           |                               |                              |
|---------|-----------|-------------------------------|------------------------------|
| 導入試薬の種類 | エンドキャッピング | 炭素含有率(%C)                     | 粒子径( $\mu\text{m}$ )         |
| 試薬類の製造元 | 全 / 表面多孔性 | 官能基の修飾密度                      | 細孔径(nm)                      |
| 金属不純物の量 | 耐圧        | 比表面積( $\text{m}^2/\text{g}$ ) | 細孔容量( $\text{mL}/\text{g}$ ) |
| 粒子の粒度分布 | カラムハードウェア | 使用可能pH範囲                      | 品質管理基準                       |

▶ ブラックボックスが多い & 単純な比較が困難

# 疎水性減算モデル(HSM)と類似性(Fs)

<参考>Fs:カラム間の類似性評価の指標  
(例:Fs 3未満…同等、Fs 10未満…近い)

## Compare Columns to Chromanik Sunniest PFP&C18



補足: C/Hは、疎水性指標(H)に対するカチオン保持(C; pH2.8条件)の指標

■クロマニック社登録カラム一覧

Sunniest PFP  
SunShell PFP

Sunniest PFP&C18  
SunShell PFP&C18

Sunniest PhE  
Sunniest Biphenyl  
Sunniest C8  
Sunniest RP-AQUA  
SunShell Biphenyl  
SunShell Phenyl  
SunShell C8  
SunShell RP-AQUA  
SunShell C18

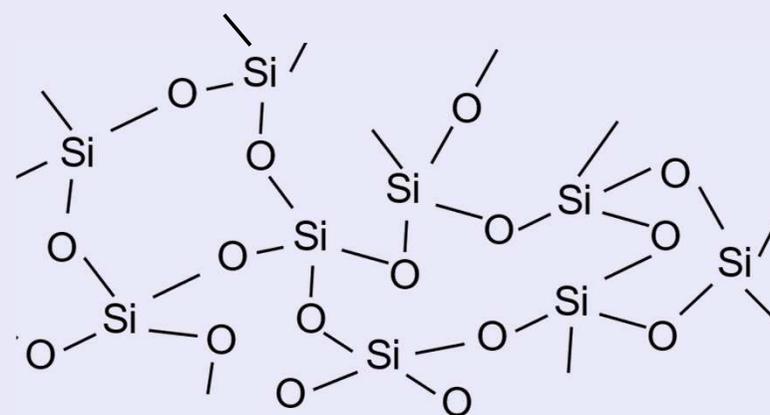
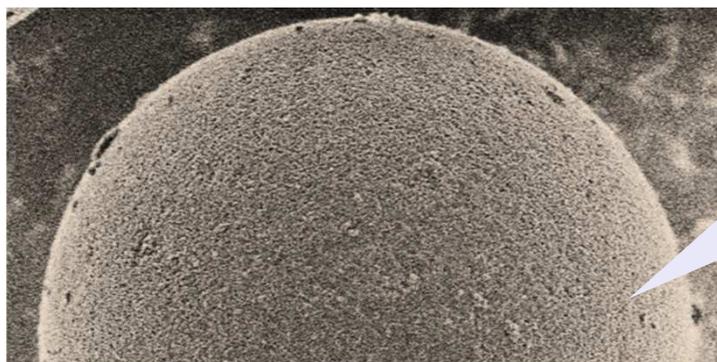
▶ カラム類似性の比較 → 目的に合致するかは不明

# シリカゲルの特徴

THE PERIODIC TABLE  
OF THE ELEMENTS

- 広範な多孔性高分子ネットワークを安定に形成
- 物理的強度に優れ、官能基の導入も比較的容易な酸性酸化物

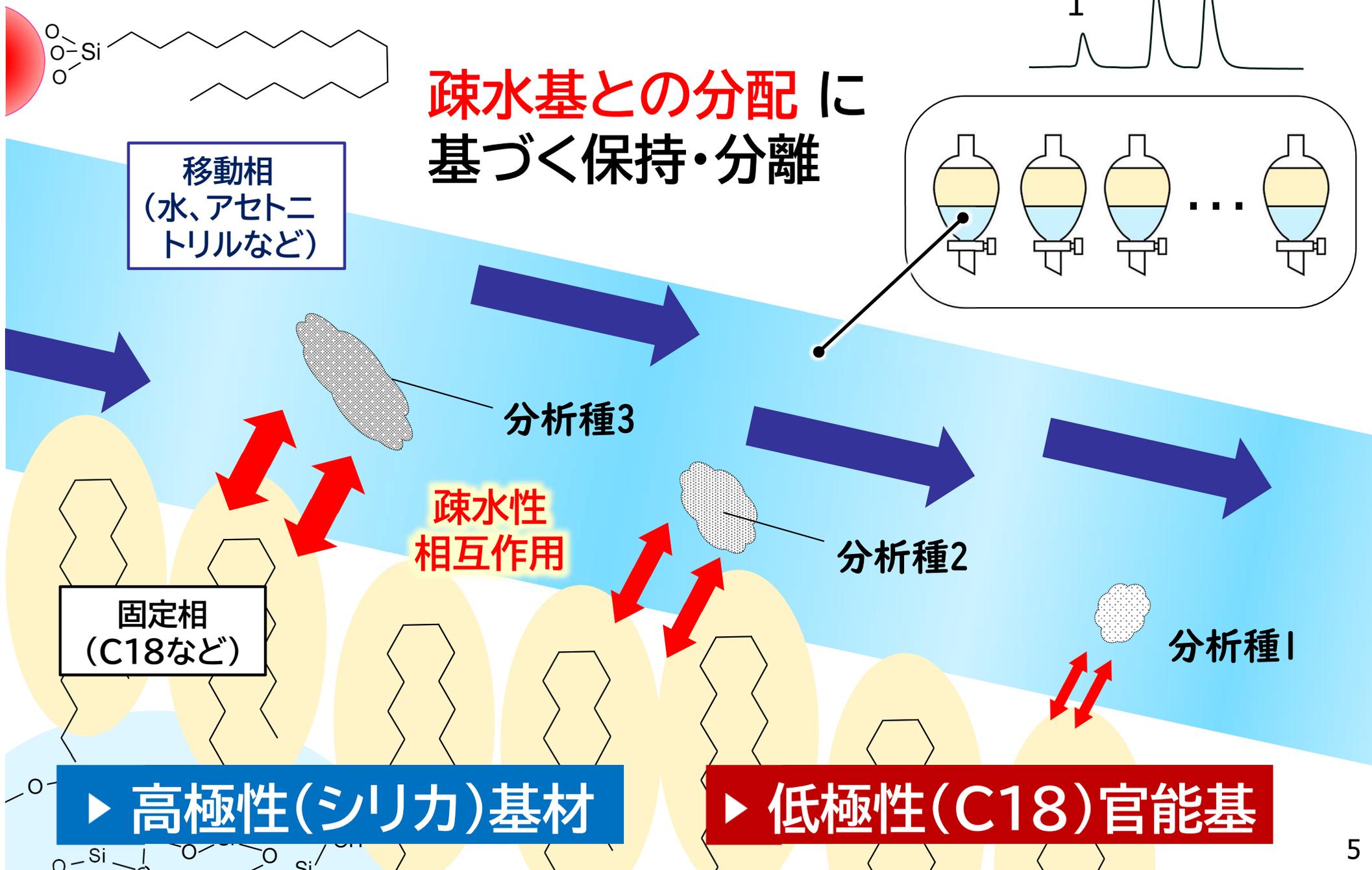
球状シリカゲル



Polysiloxane

▶ C18に代表される逆相充填剤の多くはシリカ基材

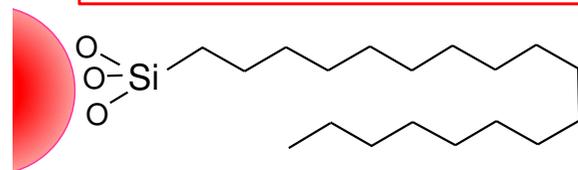
# 逆相HPLCでの主な相互作用



# クロマニックテクノロジーーズ製C18一覧

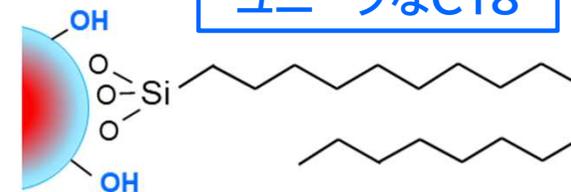
定番・高度不活性化C18

Sunniest  
C18



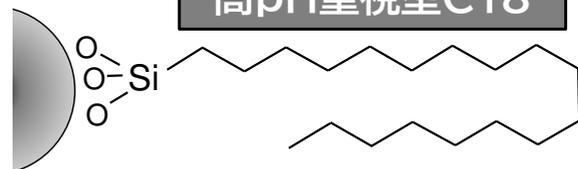
ユニークなC18

Sunrise  
C18-SAC



高pH重視型C18

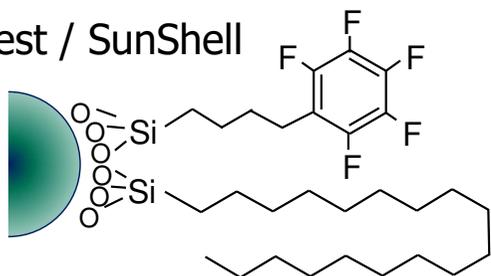
SunArmor  
C18



例外：C18ミックス固定相

Sunniest / SunShell

PFP&  
C18



表面多孔性  
(コアシェル)



SunShell  
**HFC18**

Prominert  
**C18**

SunShell  
**C18**

SunShell  
**C18-WP**

SunShell  
**Bio C18**

▶ いずれも、**シラノール活性** のコントロールが特徴

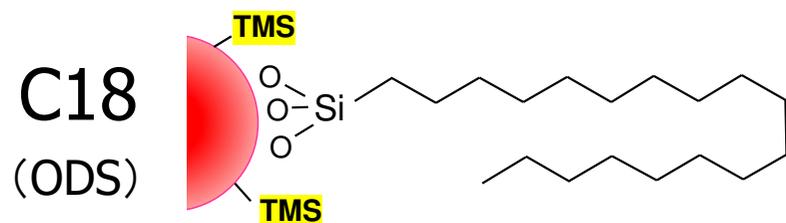
～はじめに～

# C18と「シラノール活性」

ChromaNik

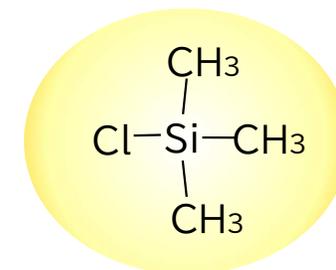


# C18固定相と、一般的な不活性化法

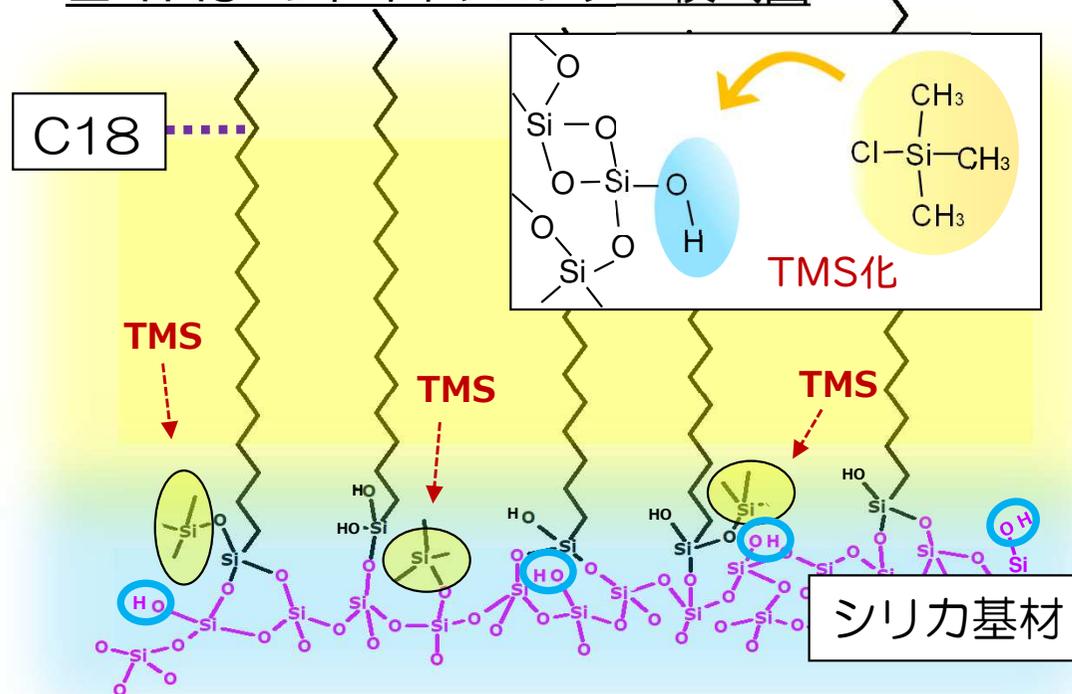


例 エンドキャッピング試薬

Trimethylchlorosilane  
(TMCS)



## ■ TMSエンドキャッピングの模式図



通例、シリカゲルにC18を修飾後、**エンドキャッピング**を行うことで不活性化

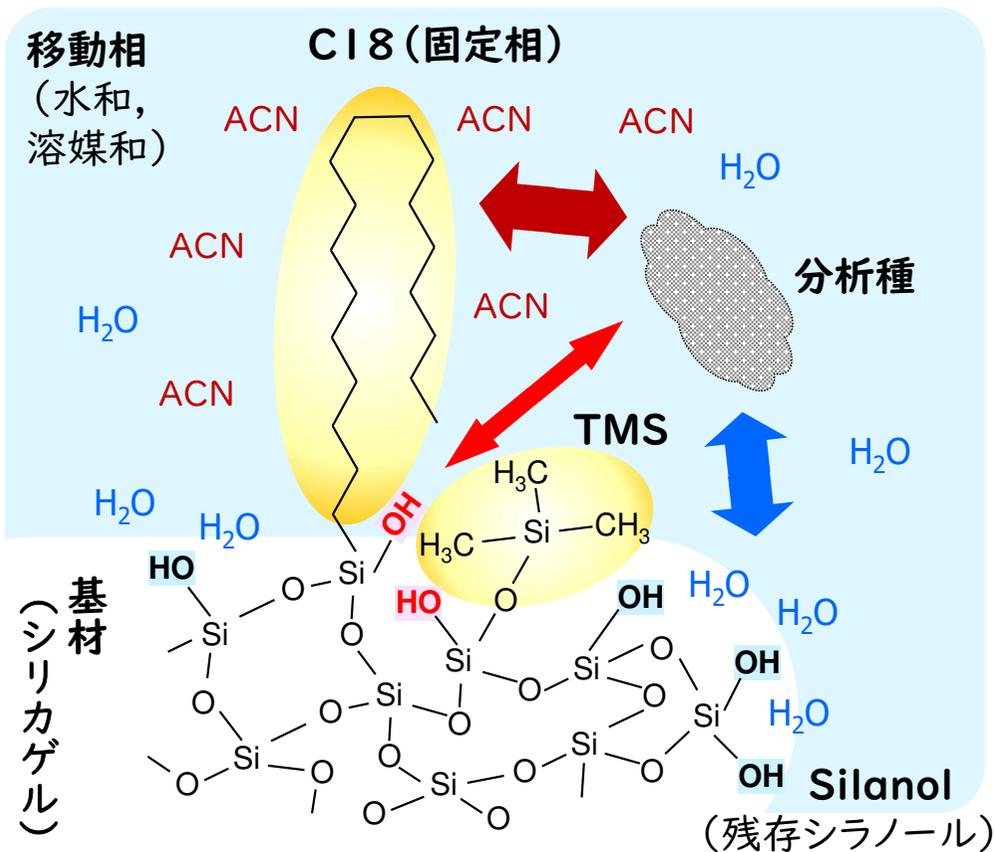


但し、

**完全な不活性化は不可能**

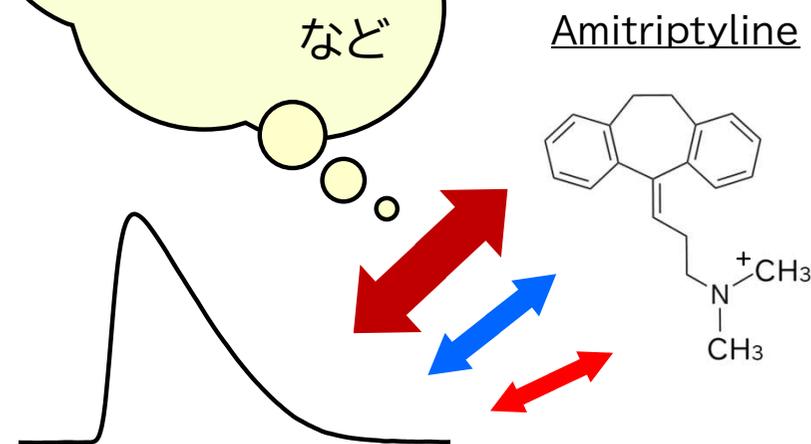
▶ しばしば、**残存シラノール基** による吸着が問題に

# 「残存シラノール基」がもたらす悪影響



- カラムの早期劣化
- ロット間差
- 塩基性化合物の過大な保持、ピークテーリング

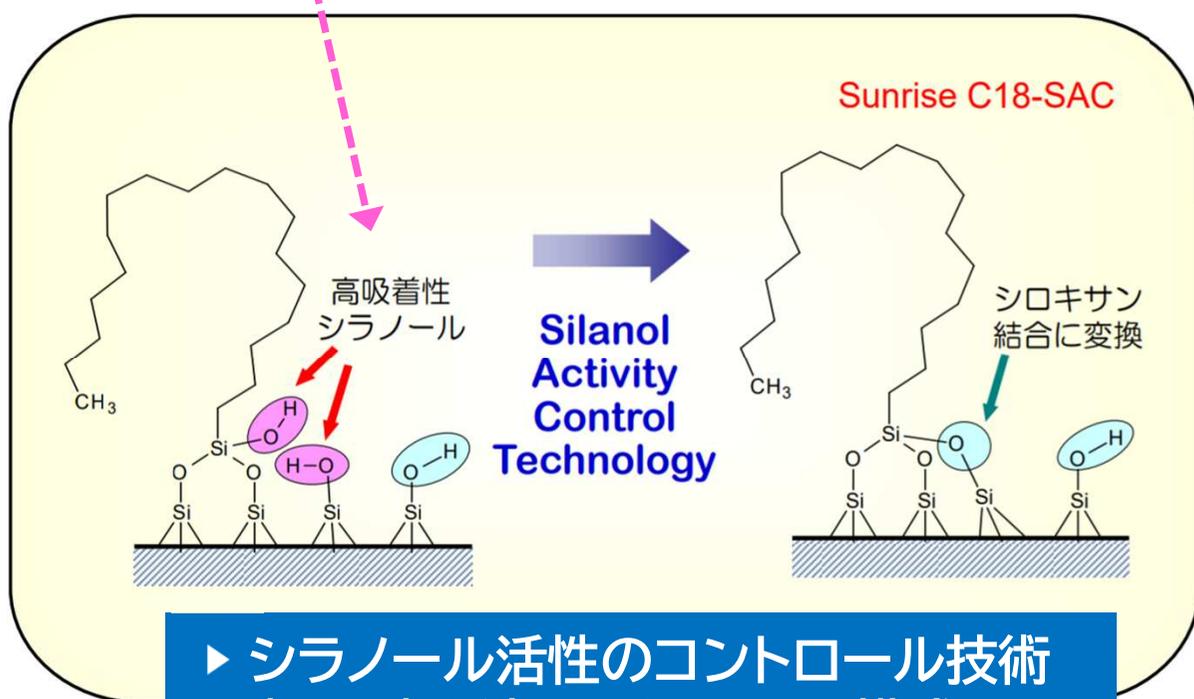
疎水性相互作用  
静電相互作用  
など



▶ 疎水性以外の、**2次的** 相互作用が形状劣化の原因

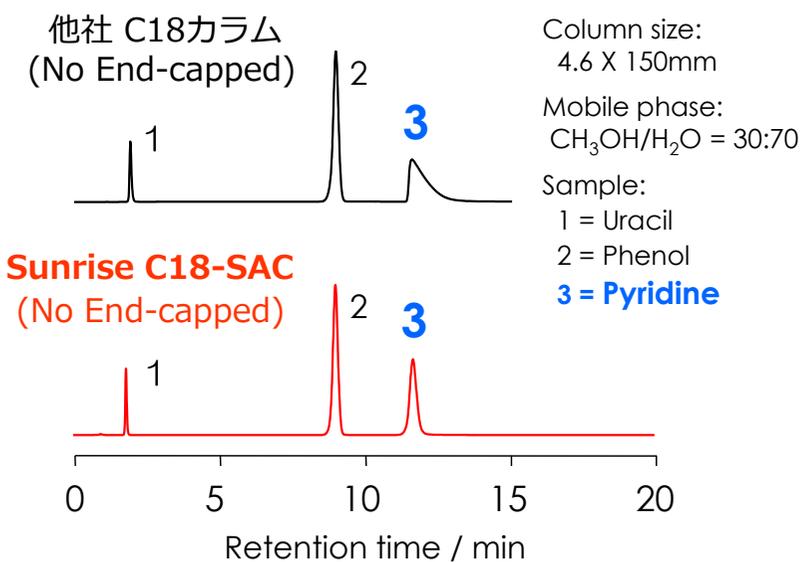
# シラノール基を積極活用したC18カラム

**悪いシラノール**:不均一な吸着をもたらすシラノール  
 (…疎水基近傍に位置し、水和を供さない)の排除



▶ シラノール活性のコントロール技術 (SAC)を適用したC18の模式図\*

塩基性化合物のテーリングを解消



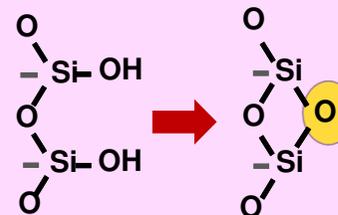
\*長江 徳和, 「新規エンドキャッピング技法:シラノール基の脱水縮合によるシロキサン結合化」, LCとLC/MSの知恵, 2023年第2号(通巻7号)

▶ ユニークな選択性を有した、極性活用型C18カラム

# SunShell(表面多孔性) / Sunniest C18

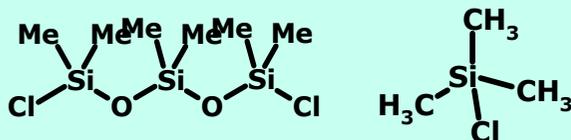
⇒ シラノール高度不活性化法(Sunniest End-capping)

シラノール基からシロキサン結合への変換

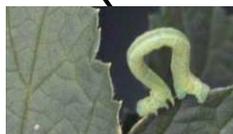


## 2つの特徴

エンドキャッピング試薬



ダブルエンド  
キャッピング

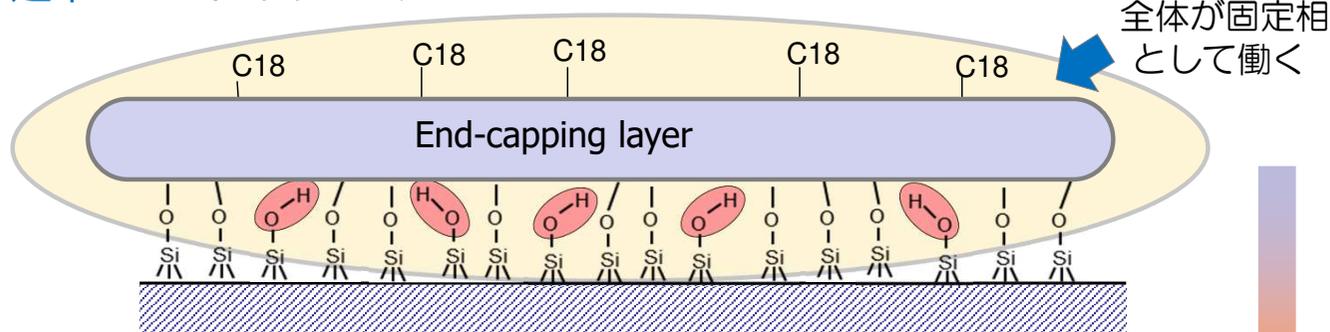


Final  
TMS

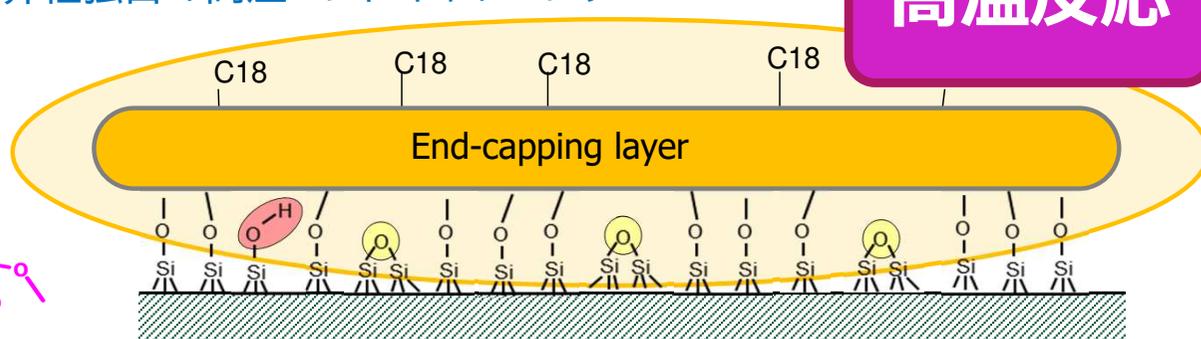
Twin-  
シリル化



通常のエンドキャッピング



弊社独自の高温エンドキャッピング



疎水性

大

尺取虫のように足場を伸ばす事で  
広範なEnd-capping layerを形成

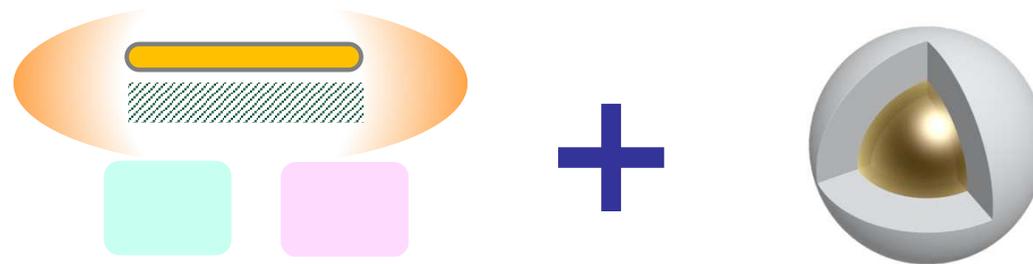


▶ 残存シラノール影響を最小化

～コアシェルと、不活性化の二刀流～

# SunShell C18カラム (表面多孔性)

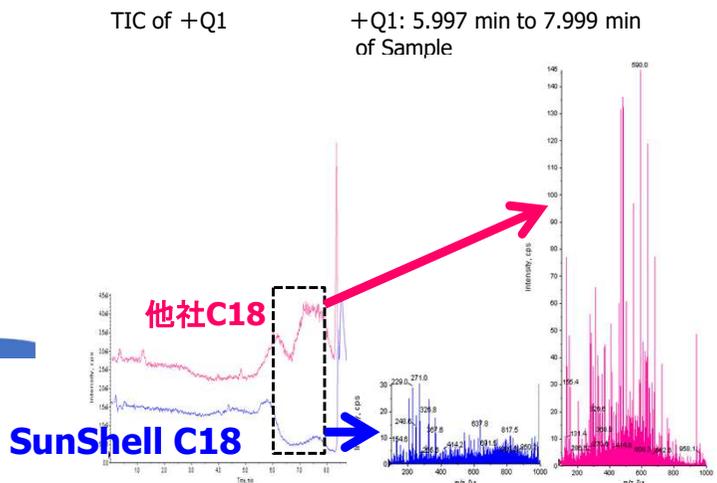
ChromaNik



# SunShell C18の特徴

*Sunniest end-capping*

➔ ブリード低減



➔ 全多孔性カラムと比較し、  
低圧で高効率(1.45倍)  
~コアシェルカラムとしての利点~

SunShell (2011年~)

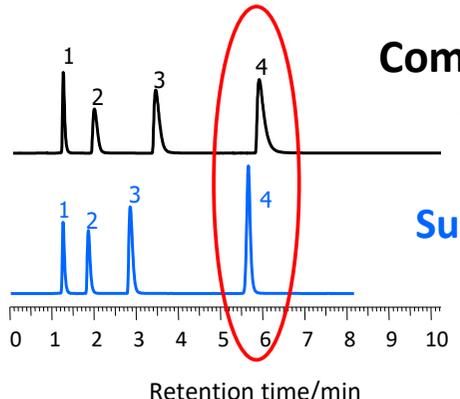
1.7 μm

2.6 μm

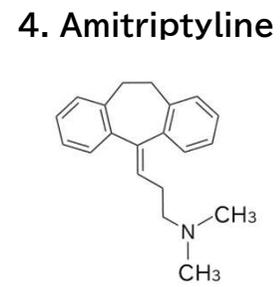
⇔ 半分の圧力で同等性能

➔ テーリング抑制

塩基性  
化合物



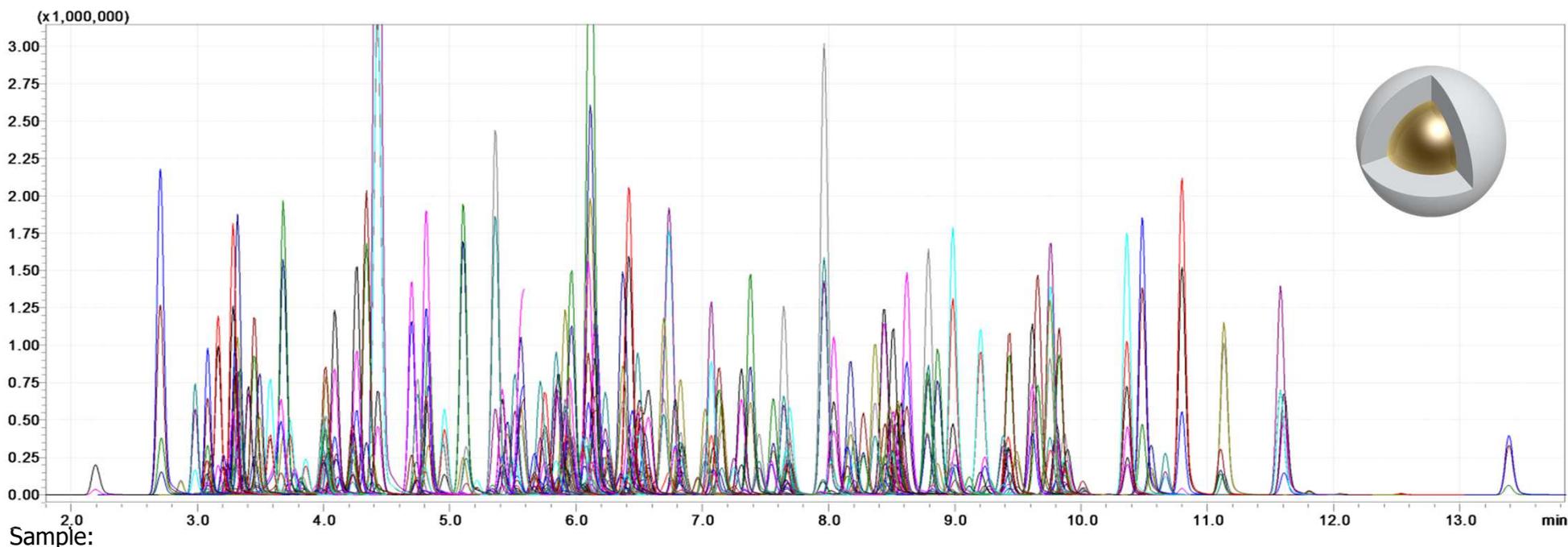
Column size: CoreShell 2.6 μm or 2.7 μm, 150 x 4.6 mm  
Mobile phase: Acetonitrile/10mM ammonium acetate pH6.8=(40:60)  
Flow rate: 1.0 mL/min  
Temperature: 40°C  
Sample: 1=Uracil, 2=Propranolol, 3= Nortriptyline, 4=Amitriptyline



(TF: テーリングファクター)

▶ S/Nの向上と、対称性の良好なピーク形状を実現

# SunShell C18: 農薬213成分の分析



|                              |                      |                        |                        |                           |                           |
|------------------------------|----------------------|------------------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 1 Abamectin B1               | 37 Cymoxanil         | 73 Fenoxycarb          | 109 Isoprazam          | 145 Paclobutrazole        | 181 Quinoclamine          |
| 2 Acephate                   | 38 Cyproconazole(I)  | 74 Fenpyroximate       | 110 Kresoxim-methyl    | 146 Penconazole           | 182 Quisulop-ethyl        |
| 3 Acetamidip                 | 39 Cyproconazole(II) | 75 Fenitrothion        | 111 Linuron            | 147 Penoxycuron           | 183 Salflufenacil         |
| 4 Adicarb                    | 40 Daimuron          | 76 Fenitrothion(E)     | 112 Lufenuron          | 148 Penoxycuron           | 184 Sethoxydim            |
| 5 Amisulbrom                 | 41 Demeton-S-methyl  | 77 Fenitrothion(Z)     | 113 Malathion          | 149 Pentoxazone           | 185 Spinetoram(J)         |
| 6 Azimsulfuron               | 42 Diazinon          | 78 Flonicamid          | 114 Mandipropamid      | 150 Phenothoate           | 186 Spinetoram(L)         |
| 7 Azinphos-methyl            | 43 Dichlorvos(DDVP)  | 79 Fluacrypyrim        | 115 Mefenacet          | 151 Phosphamidone         | 187 Spirotetramat         |
| 8 Azoxystrobin               | 44 Diethofencarb     | 80 Flucetolium         | 116 Mepanipyrim        | 152 Phoxim                | 188 Sulfoxaflor           |
| 9 Bendiocarb                 | 45 Diflufenuron      | 81 Flucetolium         | 117 Mepanipyrim        | 153 Piperophos            | 189 Sulfoxaflor           |
| 10 Bensulfuron-methyl        | 46 Dimepiperate      | 82 Fludioxonil         | 118 Metalaxyl          | 154 Pirimicarb            | 190 Tebuconazole          |
| 11 Benthiavalicarb-Isopropyl | 47 Dimethametryn     | 83 Flufenacet          | 119 Metamifol          | 155 Pirimiphos-methyl     | 191 Tebufenozide          |
| 12 Benzobicyclon             | 48 Dimethenamid      | 84 Flufenoxuron        | 120 Metazasulfuron     | 156 Probenazole           | 192 Tebufenpyrad          |
| 13 Benzoximate               | 49 Dimethomorph(E)   | 85 Fluopicolide        | 121 Metconazole        | 157 Profenofos            | 193 Tebufenuron           |
| 14 Bifenthrin                | 50 Dimethomorph(Z)   | 86 Fluquinconazole     | 122 Methabenzthiazuron | 158 Propamocarb           | 194 Terbutylazine         |
| 15 Boscalid                  | 51 Diniconazole      | 87 Flusilazole         | 123 Methiocarb         | 159 Propazin              | 195 Trifluoromethyl       |
| 16 Bromacil                  | 52 Dinotefuran       | 88 Flutolanil          | 124 Methomyl           | 160 Propaquizafop         | 196 Thienchlor            |
| 17 Buprofezin                | 53 Diphenamid        | 89 Fluxapyroxad        | 125 Methoxyfenozide    | 161 Propoxur              | 197 Thiabendazole         |
| 18 Cadusafos                 | 54 Dithiopyr         | 90 Forchlorfenuron     | 126 Metbromuron        | 162 Pyraclofos            | 198 Thiacloprid           |
| 19 Cafenstrole               | 55 Diuron            | 91 Fosfiazate          | 127 Metolcarb          | 163 Pyraclostrobin        | 199 Thiamethoxam          |
| 20 Carfenthiotrifluro        | 56 Edifenphos        | 92 Furathiocarb        | 128 Metfenone          | 164 Pyrazolate            | 200 Thiazopyr             |
| 21 Carbenazim                | 57 Esprocarb         | 93 Gibberellic acid    | 129 Mevinphos          | 165 Pyrazophos            | 201 Thiazuron             |
| 22 Carbosulfuron             | 58 Ethiohoxam        | 94 Halosulfuron-methyl | 130 Milbectin A3       | 166 Pyripropanil          | 202 Thifensulfuron-methyl |
| 23 Carboxin                  | 59 Ethionchlor       | 95 Haloxypip           | 131 Milbectin A4       | 167 Pyripropanil          | 203 Thiobencarb           |
| 24 Carfenthiotrifluro-ethyl  | 60 Ethoprophos       | 96 Hexaconazole        | 132 Molinate           | 168 Pyridaben             | 204 Thiodicarb            |
| 25 Carpropamide              | 61 Ethoxysulfuron    | 97 Hexaflumuron        | 133 Monocrotophos      | 169 Pyridaphenthion       | 205 Triadimenol           |
| 26 Chlorpyrifos              | 62 Etofenprox        | 98 Hexazinone          | 134 Myclobutanil       | 170 Pyripropanil          | 206 Triadimenol           |
| 27 Chlorisulfuron            | 63 Etoxazole         | 99 Hexylthiazox        | 135 Napropamide        | 171 Pyripropanil          | 207 Triazophos            |
| 28 Chromafenozide            | 64 Etrifloz          | 100 Imazalil           | 136 Nicosulfuron       | 172 Pyrimethanil          | 208 Tricyclozole          |
| 29 Clethodim                 | 65 Famoxadone        | 101 Imazosulfuron      | 137 Novaluron          | 173 Pyrimidifen           | 209 Trifloxystrobin       |
| 30 Clodifenazine             | 66 Fenamiphos        | 102 Imicyafos          | 138 Nuarimol           | 174 Pyriminobac-methyl(E) | 210 Trifluralin           |
| 31 Clomazone                 | 67 Fenarimol         | 103 Imidacloprid       | 139 Otracel            | 175 Pyriminobac-methyl(Z) | 211 Trifluralin           |
| 32 Clothianidin              | 68 Fenaquin          | 104 Inabentide         | 140 Omethoate          | 176 Pyrimisulfan          | 212 Uniconazole           |
| 33 Cyazoflamid               | 69 Fenbuconazole     | 105 Iprobenfos         | 141 Oxadiazon          | 177 Pyriproxyfen          | 213 Vamidothion           |
| 34 Cyclosulfamuron           | 70 Fenhexamid        | 106 Iprovalicarb       | 142 Oxadixil           | 178 Pyroquilon            |                           |
| 35 Cyflufenamid              | 71 Fenobucarb        | 107 Isoprocarb         | 143 Oxamyl             | 179 Quinalphos            |                           |
| 36 Cyhalotop-butyl           | 72 Fenoxaprop-ethyl  | 108 Isoprothiolane     | 144 Oxaziclonelone     | 180 Quinmerac             |                           |

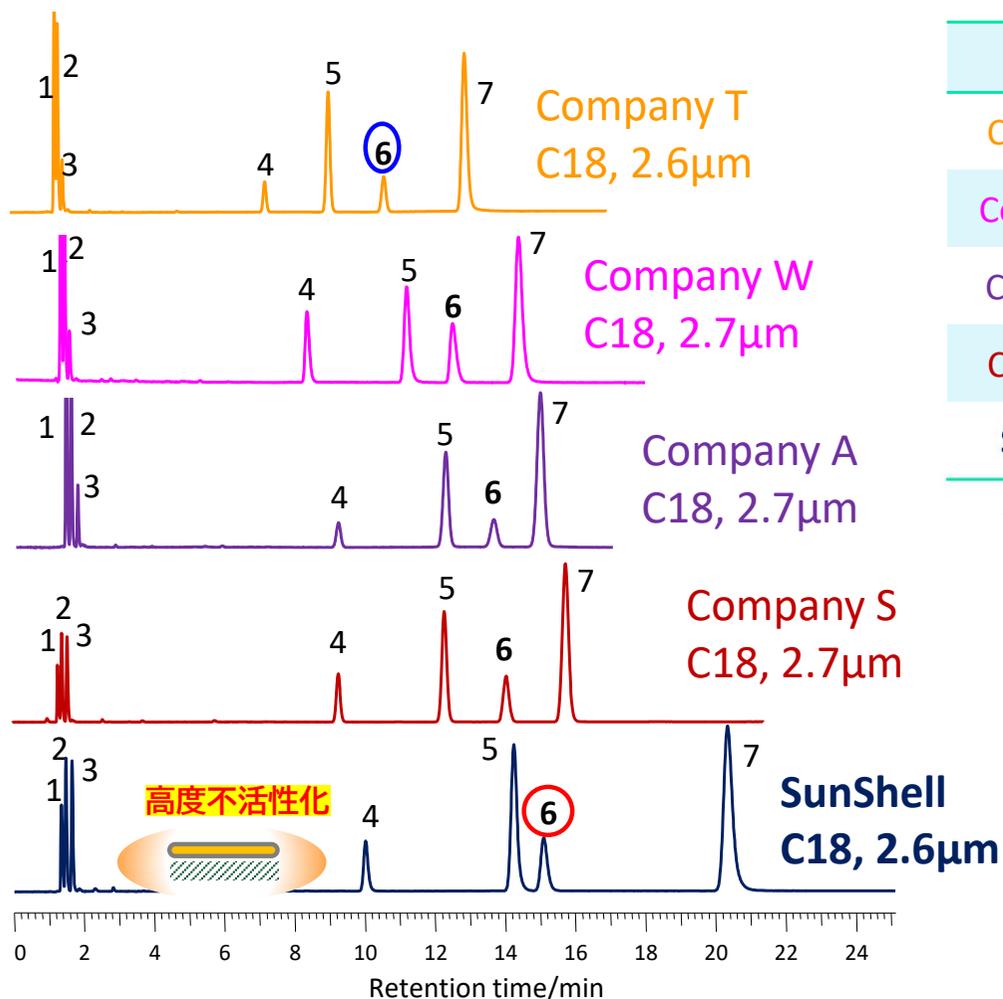
Column: SunShell C18 2.6 μm, 150 x 2.1 mm  
 Mobile phase: A) 5 mM Ammonium acetate and 0.1% formic acid in H<sub>2</sub>O  
 B) 5 mM Ammonium acetate and 0.1 % formic acid in CH<sub>3</sub>OH

|            |    |    |     |    |    |      |    |      |    |
|------------|----|----|-----|----|----|------|----|------|----|
| Time (min) | 0  | 1  | 1.5 | 10 | 12 | 12.1 | 16 | 16.1 | 19 |
| % B        | 15 | 15 | 60  | 60 | 90 | 98   | 98 | 15   | 15 |

Flow rate: 0.3 mL/min  
 Temperature: 40 °C  
 Detection: LC/MS/MS (ESI, MRM), Shimadzu LCMS-8050  
 Injection volume: 3 μL (10ppb pesticide STD)

▶ 多成分一斉分析系に有用

# 不活性化の効果(炭素含有率と疎水性)



| 比較したカラム       | 保持係数 (Peak #6) | 炭素含有率 (%) | 理論段数 (Peak #6) | 圧力 /MPa | 圧力あたりの理論段数の比 |
|---------------|----------------|-----------|----------------|---------|--------------|
| Company T C18 | 7.4            | 9         | 31,600         | 22.7    | 1.4          |
| Company W C18 | 7.7            | 6.6       | 23,300         | 18.5    | 1.3          |
| Company A C18 | 9.0            | 8         | 30,200         | 30.6    | 1.0          |
| Company S C18 | 9.7            | 7.7       | 31,800         | 22.2    | 1.5          |
| SunShell C18  | 10.4           | 7         | 31,900         | 21.8    | 1.5          |



いずれも  
表面多孔性  
カラム

Column : 2.6 µm or 2.7 µm  
(Core-Shell) 150 x 4.6 mm

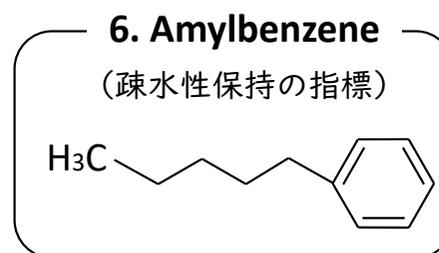
Mobile phase: CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O = 75/25

Flow rate: 1.0 mL/min

Temperature: 40 °C

Sample :

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

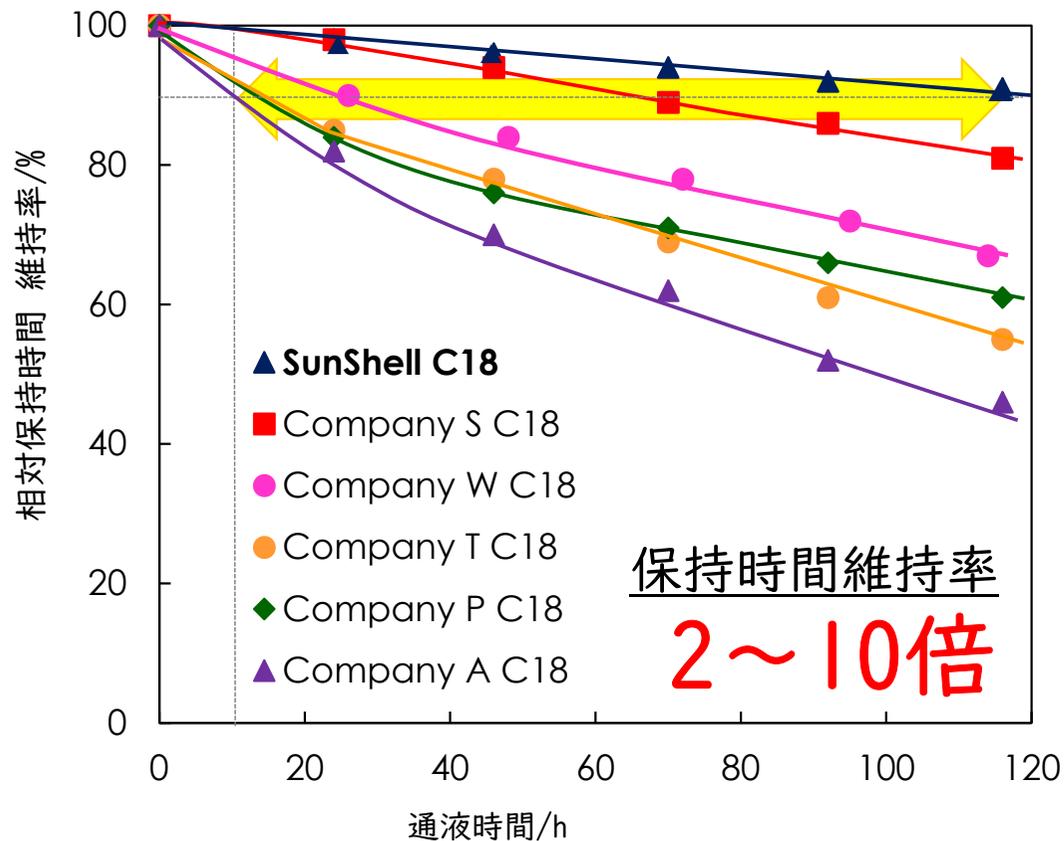


炭素含有率が低いと、疎水性保持も弱い…とは限らない。

▶ 炭素量以外に、シラノールの活性抑制が保持に直結

# 高度不活性化の効果(低 pH 耐久性)

pH1



Column : 2.6 μm or 2.7 μm 50 x 2.1 mm

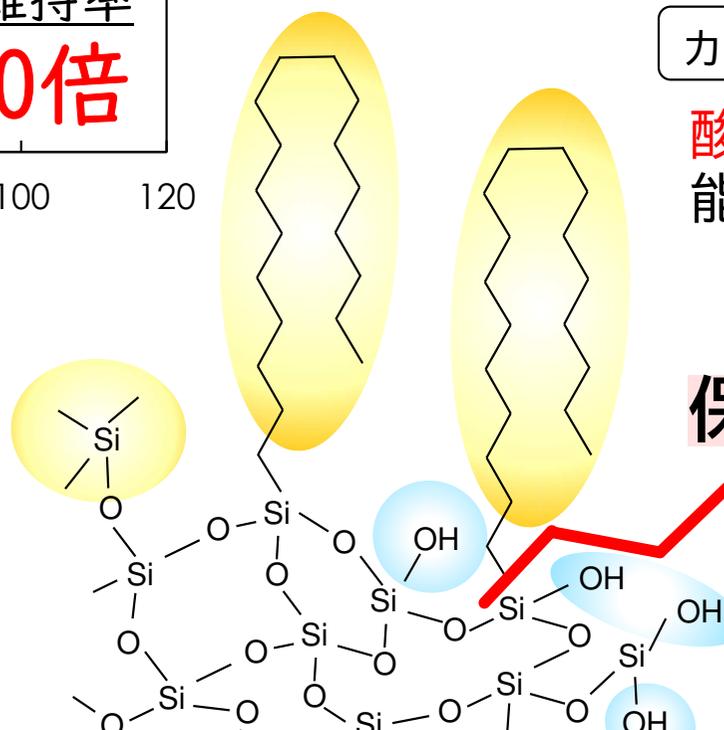
**酸耐久性試験条件**

Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/1.0% TFA (pH1) = 10/90  
 Flow rate: 0.4 mL/min    Temperature: 80 °C

**保持時間測定条件**

Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=60/40  
 Flow rate: 0.4 mL/min    Temperature: 40 °C  
 Sample: 1 = Uracil    2 = Butylbenzene

| 比較カラム           | pH 範囲 (カタログ記載) |
|-----------------|----------------|
| ▲ SunShell C18  | 1.5 - 10       |
| ■ Company S C18 | 2 - 9          |
| ● Company W C18 | 2 - 8          |
| ◆ Company P C18 | 1.5 - 10       |
| ● Company T C18 | 1 - 11         |
| ▲ Company A C18 | 2 - 9          |



カラム劣化の特徴

酸加水分解に伴う官能基脱離の進行

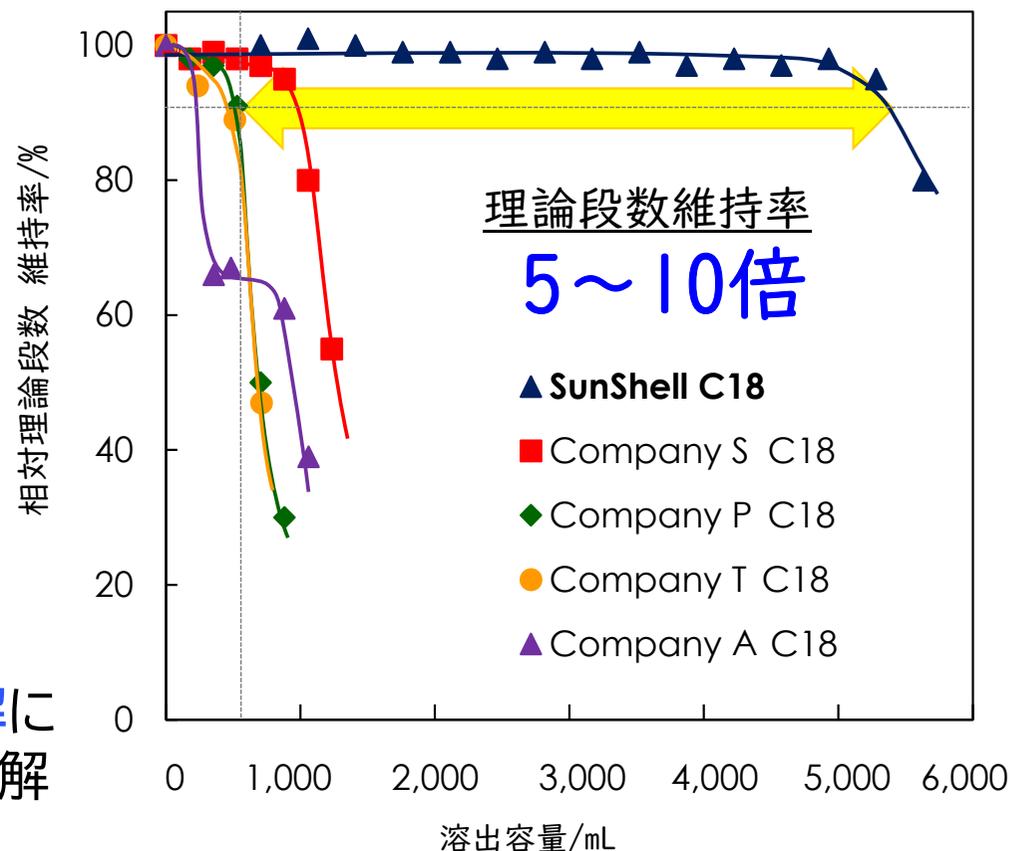


保持時間の減少

直線的に劣化

# 高度不活性化の効果(高 pH 耐久性) pH10

| 比較カラム           | pH 範囲 (カタログ記載) |
|-----------------|----------------|
| ▲ SunShell C18  | 1.5 - 10       |
| ■ Company S C18 | 2 - 9          |
| ◆ Company P C18 | 1.5 - 10       |
| ● Company T C18 | 1 - 11         |
| ▲ Company A C18 | 2 - 9          |



カラム劣化の特徴

アルカリ加水分解に伴うシリカゲル溶解



凹み、空隙

急激に劣化



劣化カラムのIN側を開けると...

Column : 2.6 μm or 2.7 μm 50 x 2.1 mm

塩基耐久性試験条件

Mobile phase: CH<sub>3</sub>OH/20mM Sodium borate/  
10mM NaOH = 30/21/49 (pH10)

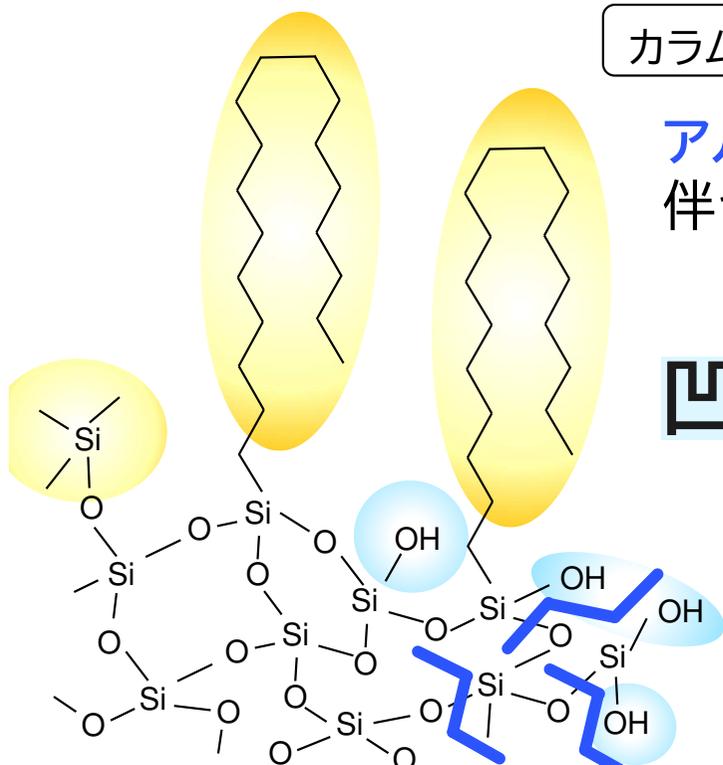
Flow rate: 0.4 mL/min Temperature: 50 °C

理論段数測定条件

Mobile phase: CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O=70/30

Flow rate: 0.4 mL/min Temperature: 40 °C

Sample: 1 = Butylbenzene

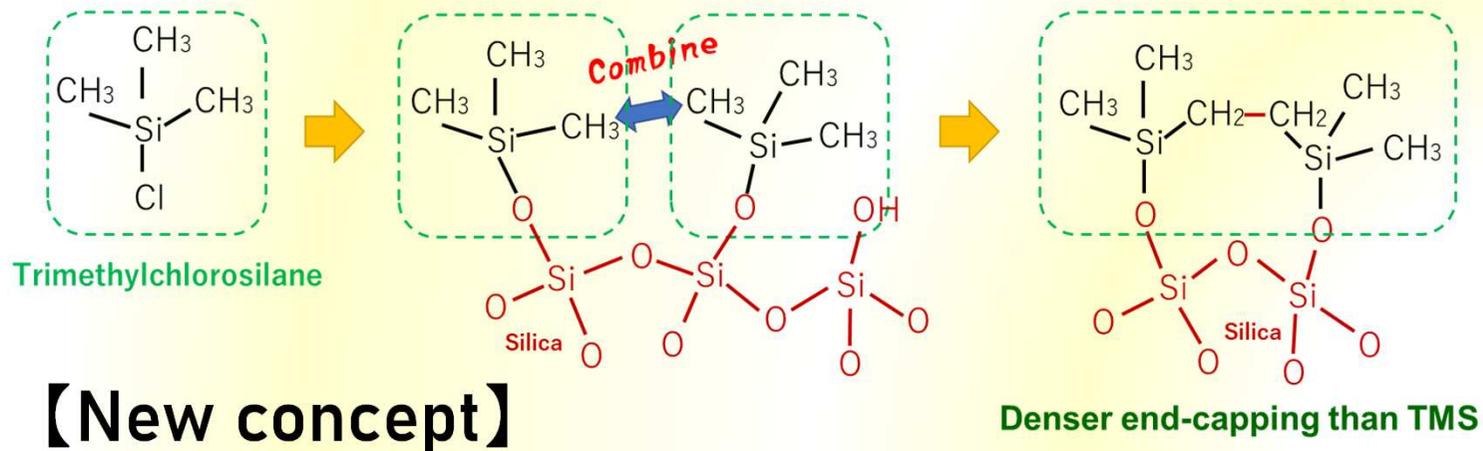


～更なる高耐久化と新概念～

# Prominert C18 SunShell Bio C18

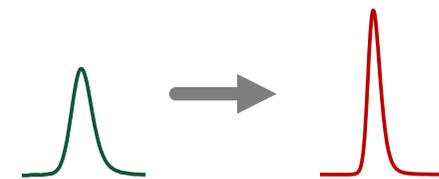
ChromaNik

## Tandem TMS end-capping



# 汎用LCで最高分離を！新発想C18カラム

プロミナート  
**ProMinert**



New Core-shell particle with  
 “Tandem TMS” end-capping

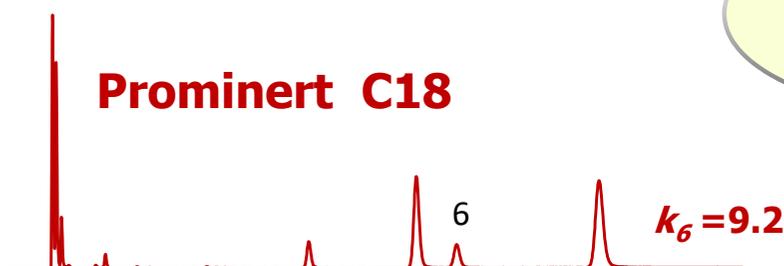
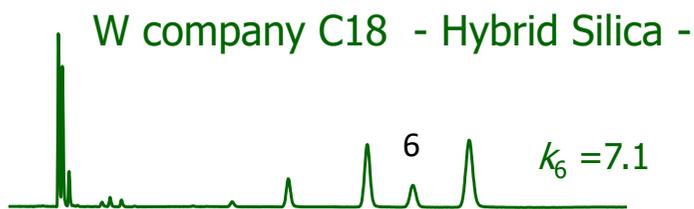
汎用HPLC  
 (耐圧20 MPa)



表面多孔性粒子  
 (3.5 μm)



&



$N_6=20,000$   
 (18.0 MPa)

圧力あたりのカラム効率  
**2倍**

$N_6=28,000$   
 (13.0 MPa)

Column size: 150 x 4.6 mm , 3.5 μm  
 Mobile phase: CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O=75/25

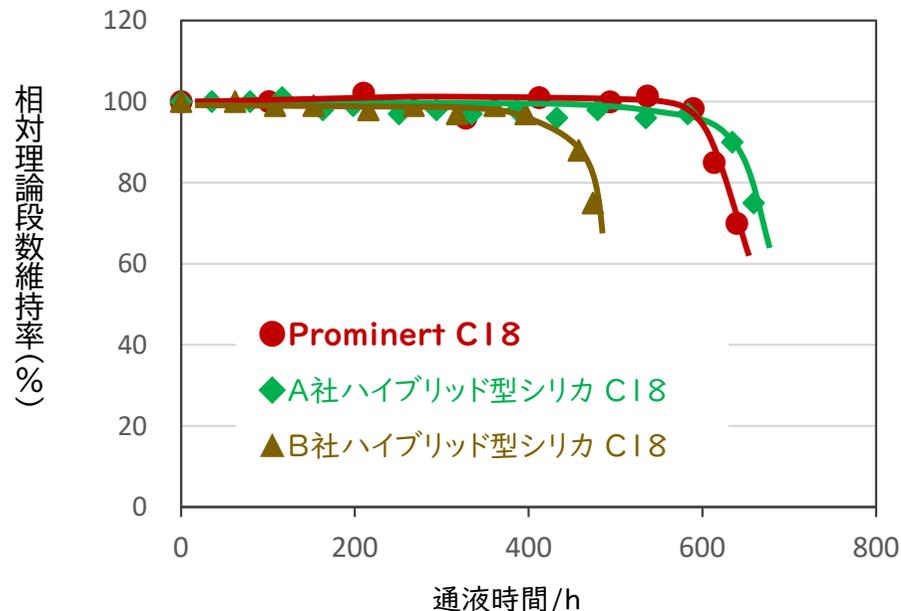
Flow rate: 1.0 mL/min  
 Temperature: 40 °C

Sample:  
 6 = Amylbenzene

N : 理論段数

▶ 低圧 & 高効率、新・不活性化法による安定性の強化

# コアシェル型カラムの中で、最高の耐久性



### アルカリ性移動相通液条件

カラムサイズ: 50 x 2.1 mm  
 移動相: メタノール/10 mM 重碳酸アンモニウム (pH 10.5, アンモニア水で調整) = 30/70  
 流速: 0.8 mL/min, カラム温度: 60 °C

### 理論段数測定条件

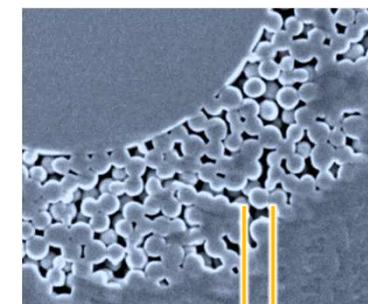
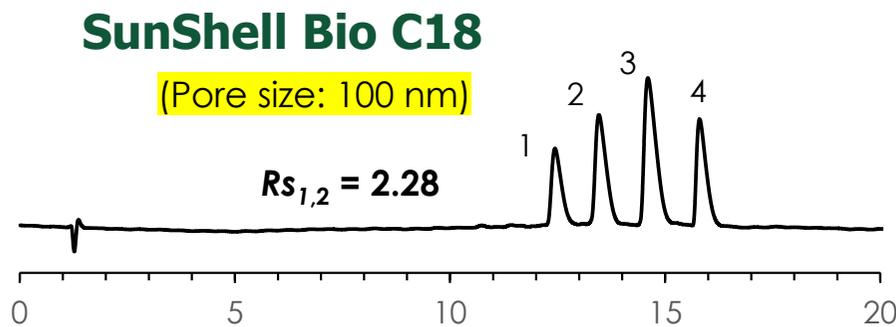
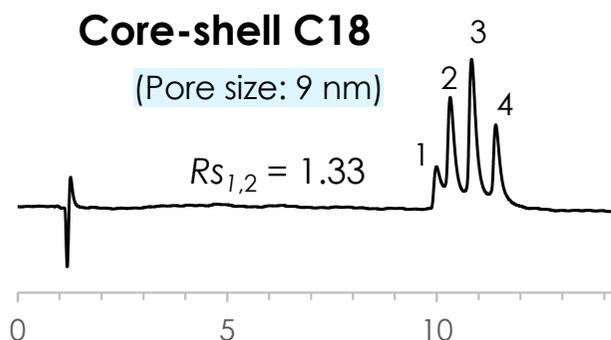
カラムサイズ: 50 x 2.1 mm  
 移動相: アセトニトリル/水 = 60/40  
 流速: 0.2 mL/min, カラム温度: 40 °C  
 試料: ブチルベンゼン

## Tandem TMS end-capping



高耐久性能をそのままに、同技術の中分子向けファーストカラム **SunShell Bio C18** に応用展開

## Protamine(塩基性ポリペプチド\*)の分離比較 \* Mw. 4600~5000



細孔径  
 100 nm (1000 Å)

# 有機不活性管 **PS inert** Newカラムハードウェア

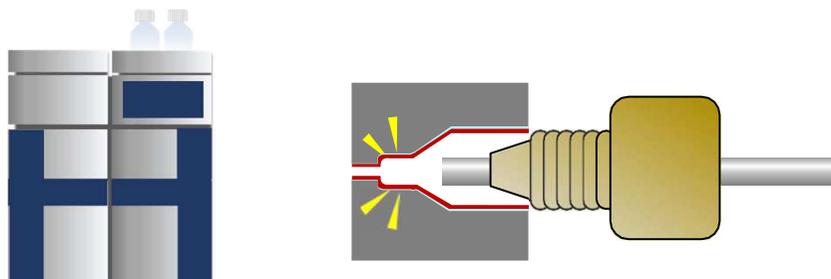
*ChromaNik*



# 有機不活性カラムハードウェア PS inert

(PS: Prominert Surface の意)

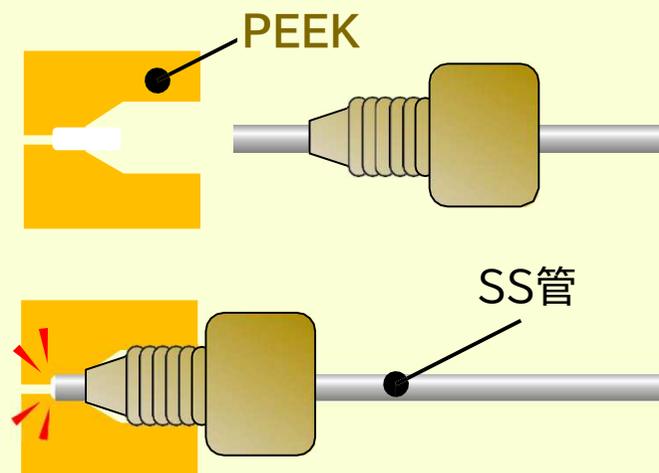
処理イメージ



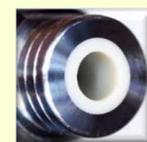
▶ SS管の接続、全く問題なし

## 他の特殊イナート管の例

メタルフリーカラム(PEEK)

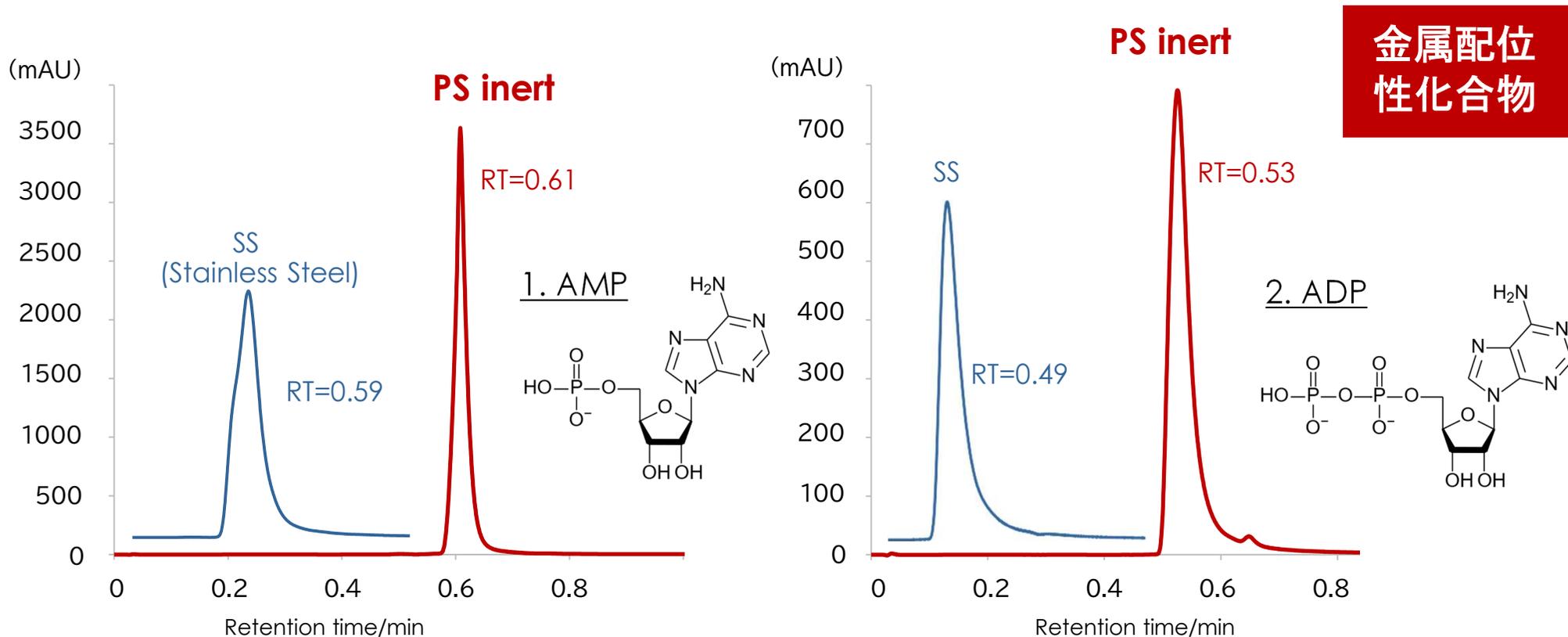


▶ 変形による破損リスク



▶ SS配管系の汎用HPLCに使える、特殊イナート管

# SunShell C18 PS inert の低吸着性



Column:  
 SunShell C18 2.6 μm, 100 x 2.1 mm i.d. SS  
 SunShell C18 2.6 μm, 100 x 2.1 mm i.d. PS inert

Mobile phase:  
 Acetonitrile : 0.1% formic acid in Water = 1 : 99

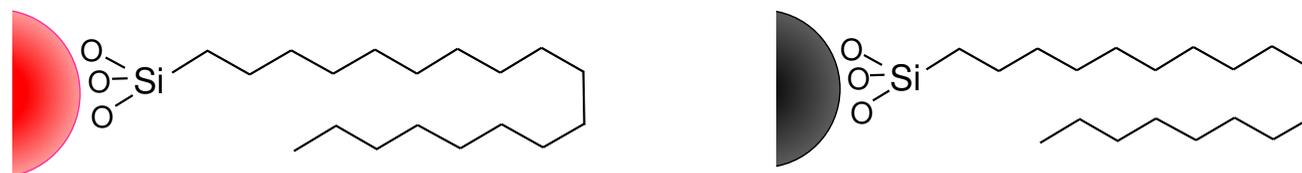
Detection: UV@254 nm  
 Flow rate: 0.45 mL/min

Column Temperature: 40 °C  
 Injection Volume: 2 μL

装置環境：汎用HPLC (SS配管)

▶ SS装置環境で、ピーク形状を改善 & 検出性を向上

# まとめ



- シラノールに起因するトラブル解消と、堅牢性ある試験法の確立にあたって、「高度不活性化C18」の選択が望ましい。
- **SunShell C18** … 不活性かつ高効率なコアシェルカラム
- **Prominert C18** … 更に高度な不活性化法を採用し、汎用圧力 (<20MPa)での高分離能を重視したコンセプトカラム  
(※ステンレス素管の低吸着化: **PS inert** 有機不活性管)
- **SunShell Bio C18** … 中分子分離向けのファーストカラム
- **PS inert** (有機不活性管オプション) … SSカラム接液部の有機不活性化処理により、汎用SS装置でのピーク検出性を向上