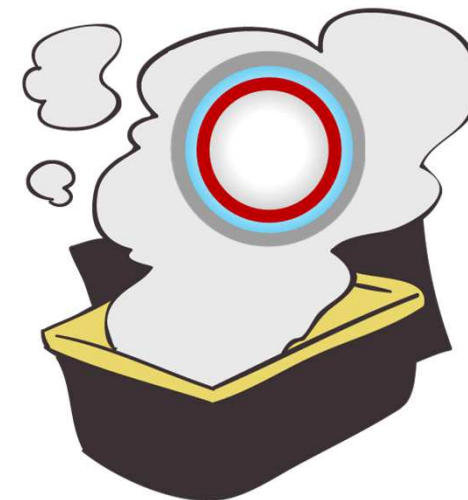
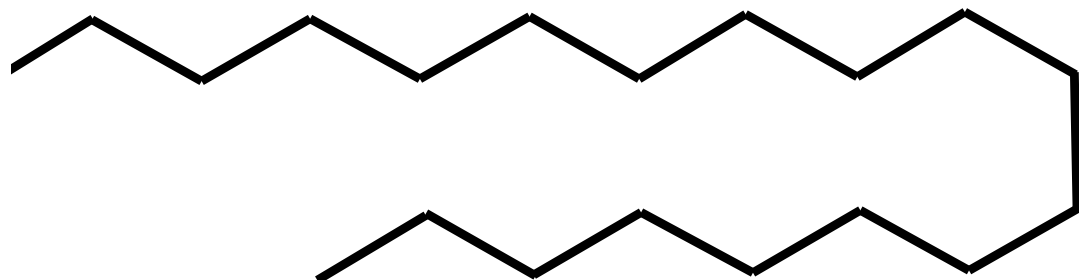


液クロ玉手箱

知って役立つ！
C18(ODS)カラムの選び方



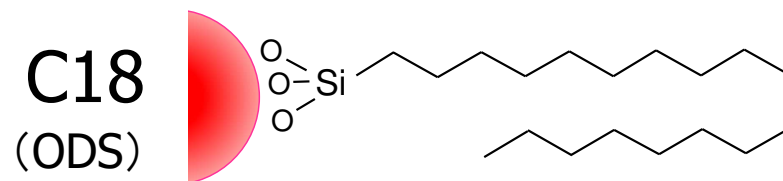
ChromaNik



(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)

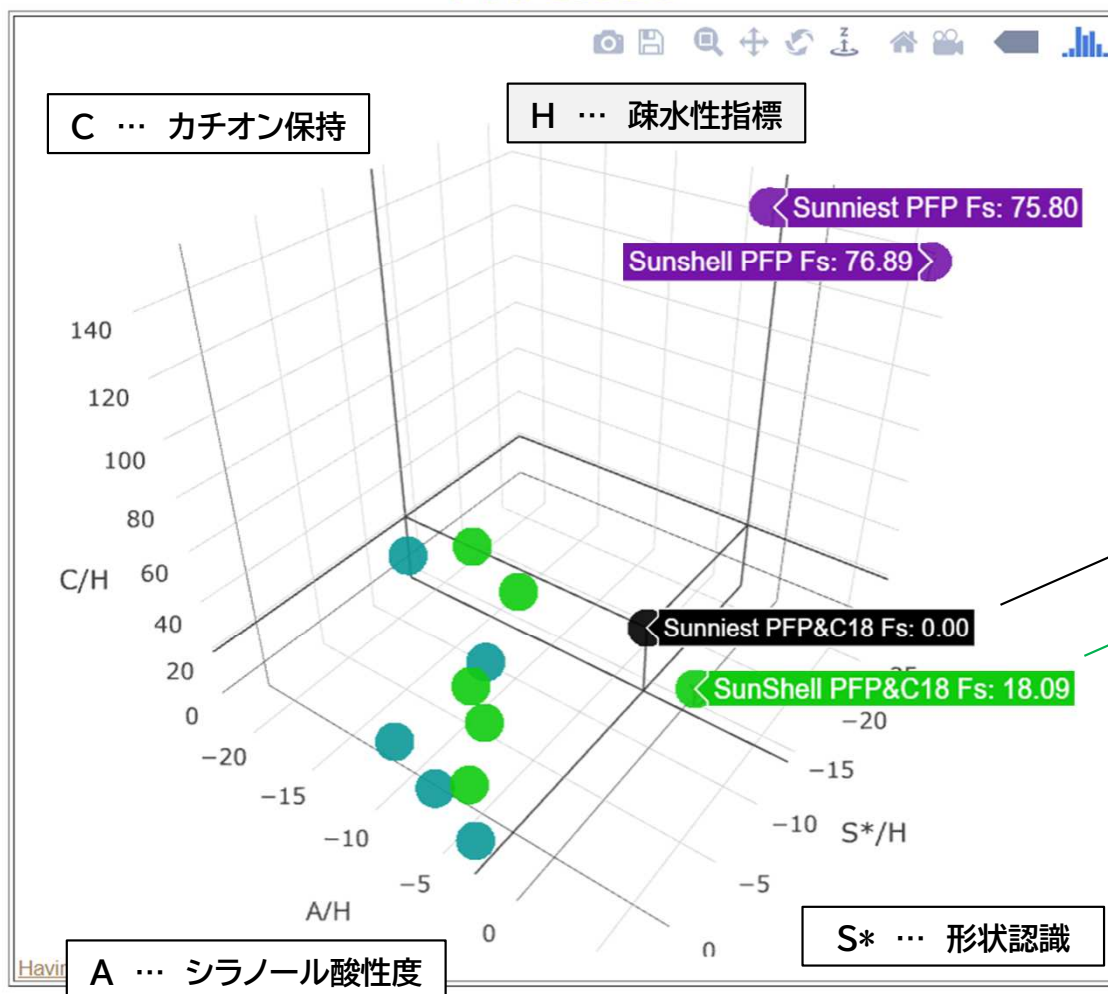
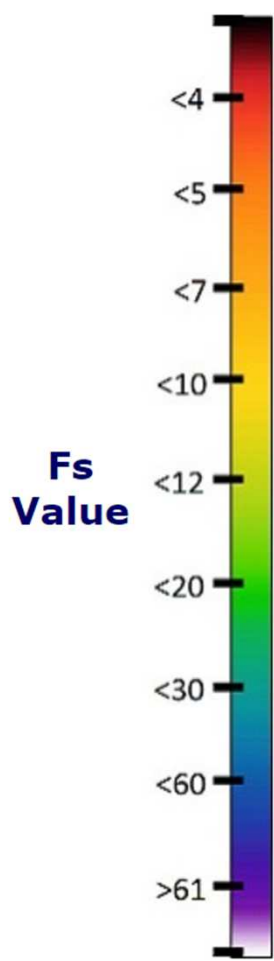
導入試薬の種類	エンドキャッピング	炭素含有率(%C)	粒子径(μm)
試薬類の製造元	全 / 表面多孔性	官能基の修飾密度	細孔径(nm)
金属不純物の量	耐圧	比表面積(m^2/g)	細孔容量(mL/g)
粒子の粒度分布	カラムハードウェア	使用可能pH範囲	品質管理基準

▶ 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

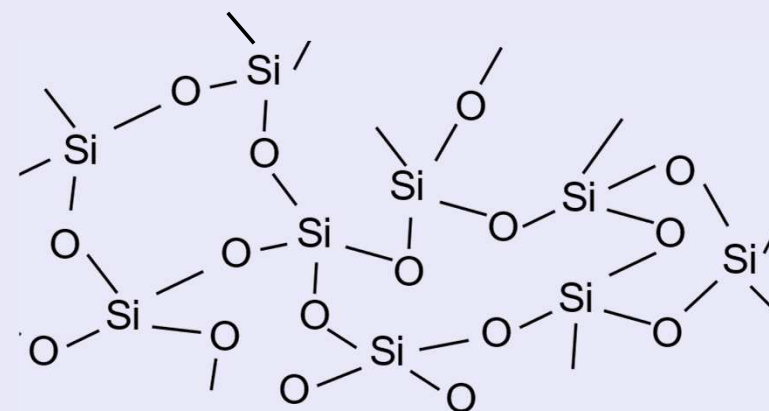
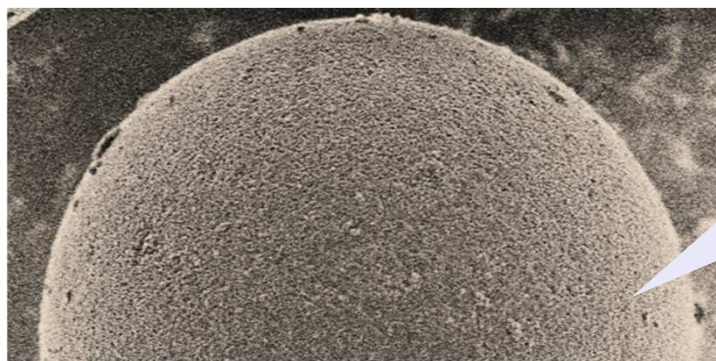
▶ カラム類似性の比較 → 目的に合致するかは不明

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

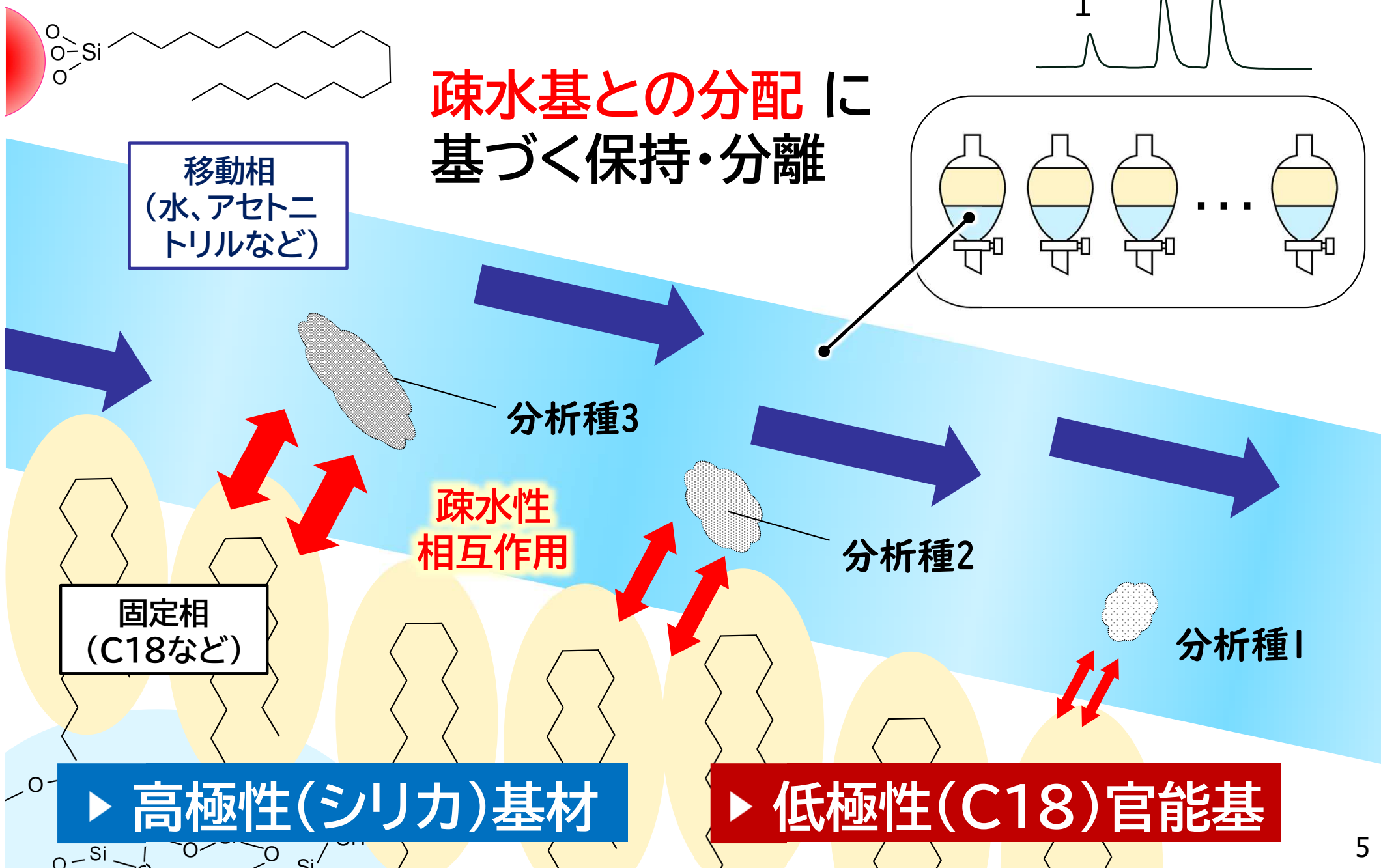
球状シリカゲル



Polysiloxane

▶ C18に代表される逆相充填剤の多くはシリカ基材

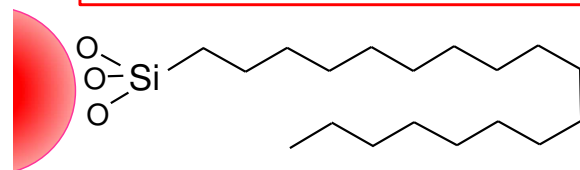
逆相HPLCでの主な相互作用



クロマニックテクノロジーーズ製C18一覧

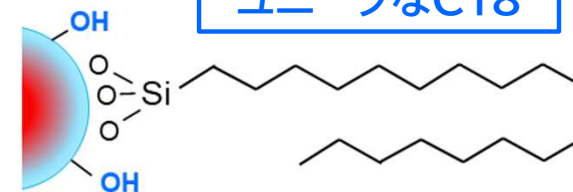
定番・高度不活性化C18

Sunniest
C18



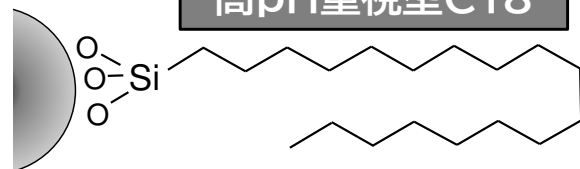
ユニークなC18

Sunrise
C18-SAC



高pH重視型C18

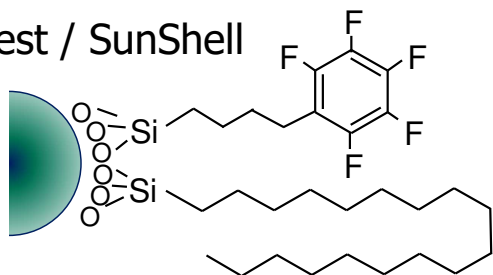
SunArmor
C18



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

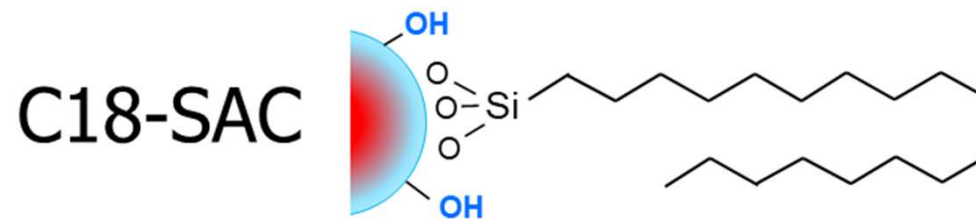
SunShell
Bio C18

▶ いずれも、**シラノール活性** のコントロールが特徴

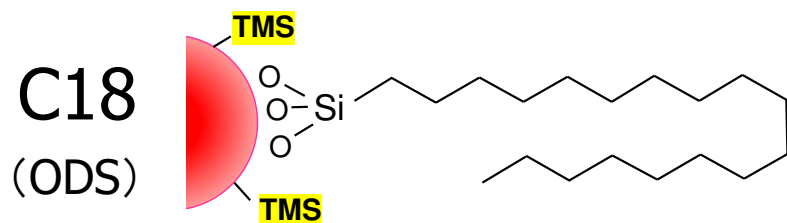
～はじめに～

C18と「シラノール活性」

ChromaNik

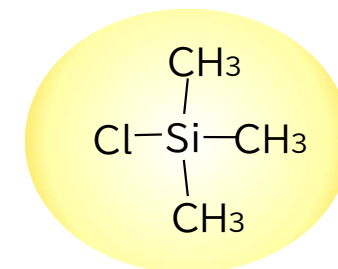


C18固定相と、一般的な不活性化法

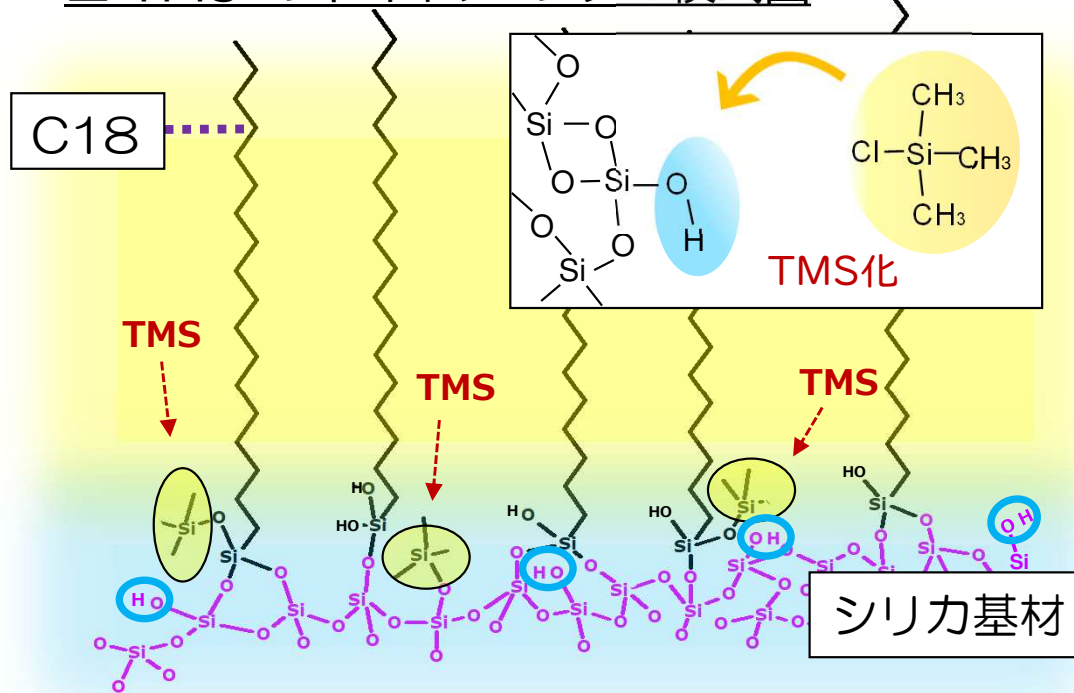


例 エンドキャッピング試薬

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

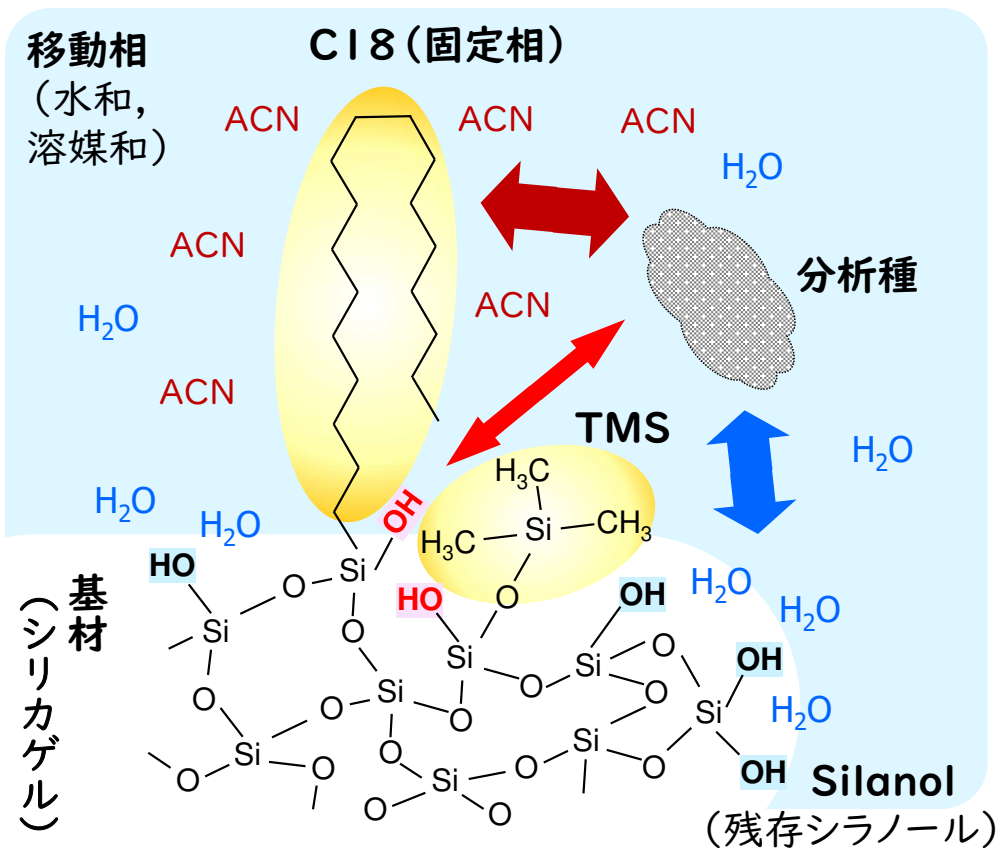


但し、

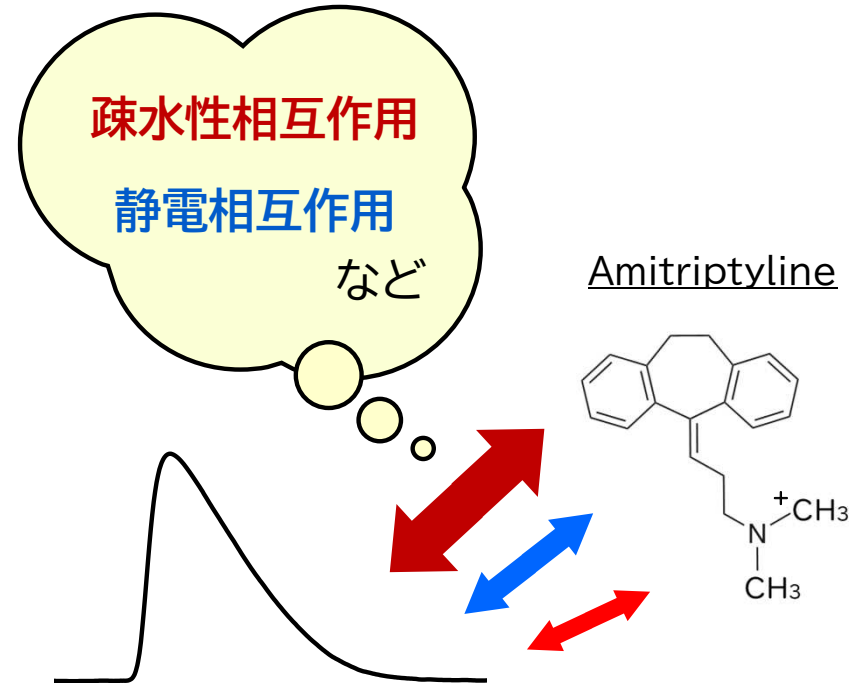
完全な不活性化は不可能

▶ 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



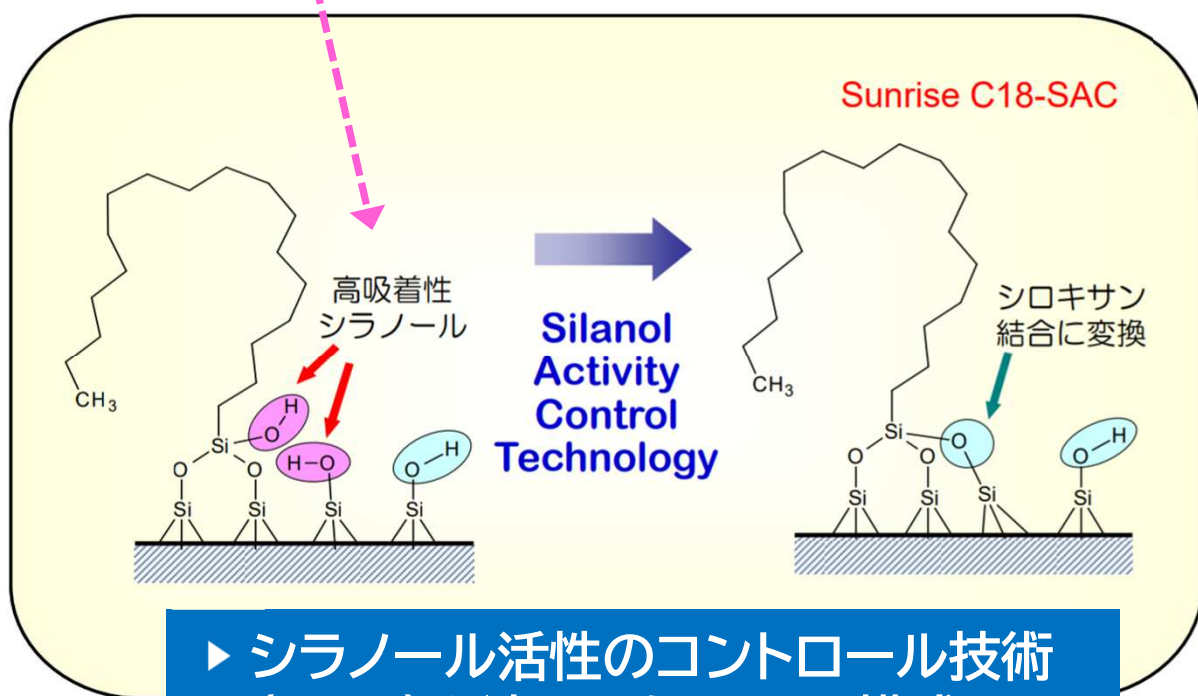
- カラムの早期劣化
- ロット間差
- 塩基性化合物の過大な保持、ピークテーリング



▶ 疎水性以外の、**2次的** 相互作用が形状劣化の原因

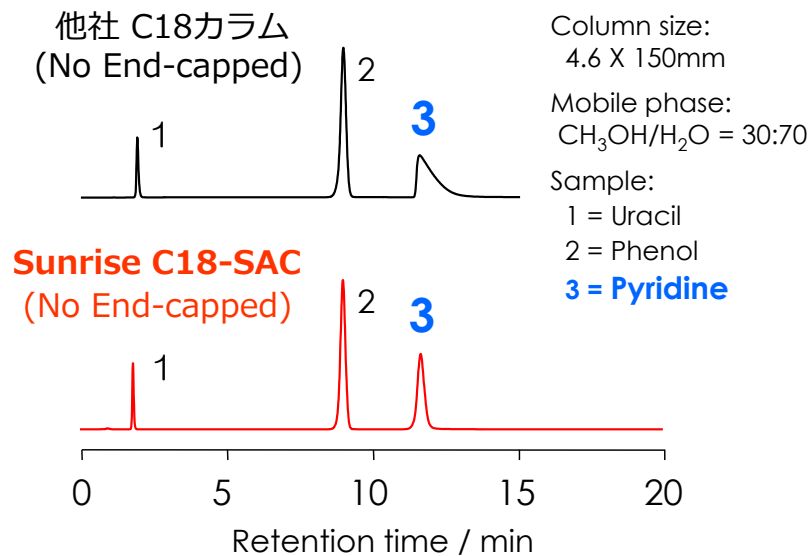
シラノール基を積極活用したC18カラム

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



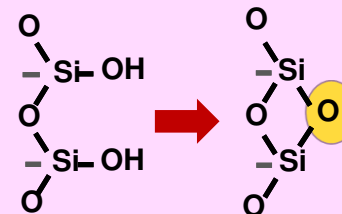
*長江 徳和, 「新規エンドキャッピング技法:シラノール基の脱水縮合によるシロキサン結合化」, LCとLC/MSの知恵, 2023年第2号(通巻7号)

▶ 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

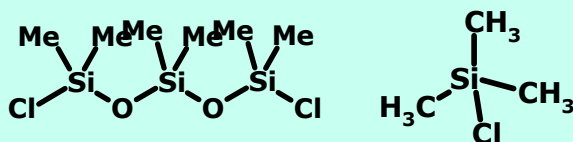
⇒ シラノール高度不活性化法(Sunniest End-capping)

シラノール基からシロキサン結合への変換

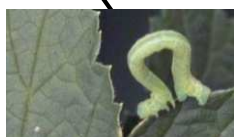


2つの特徴

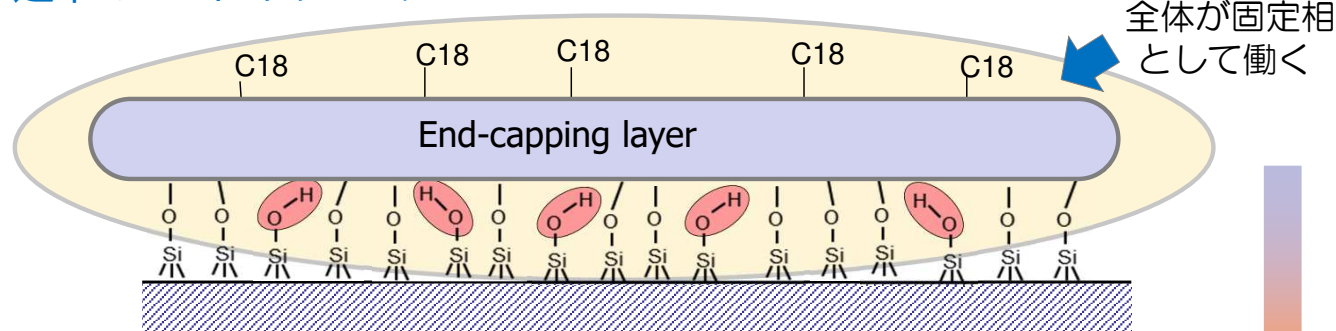
エンドキャッピング試薬



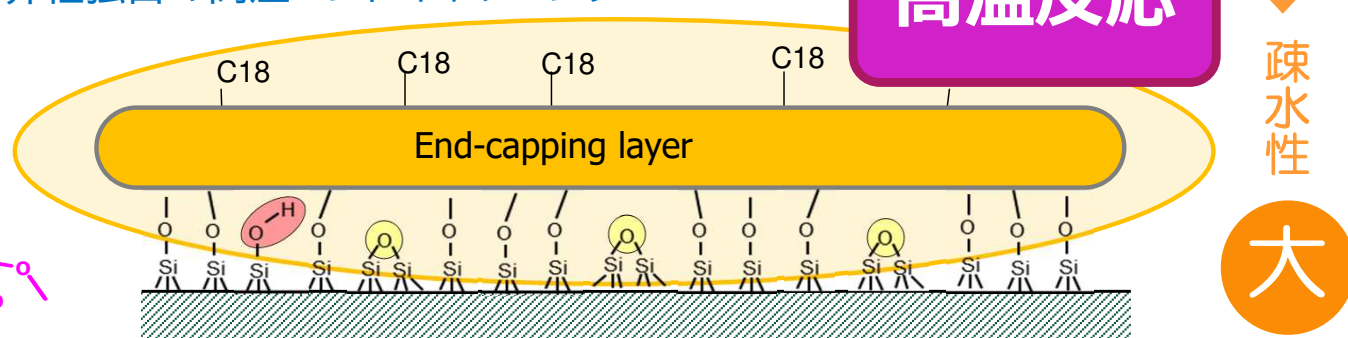
ダブルエンド
キャッピング



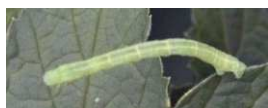
通常のエンドキャッピング



弊社独自の高温エンドキャッピング



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

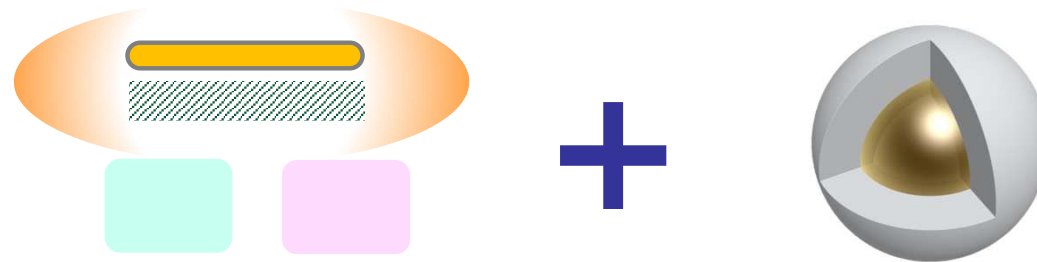


▶ 残存シラノール影響を最小化

～コアシェルと、不活性化の二刀流～

SunShell C18カラム (表面多孔性)

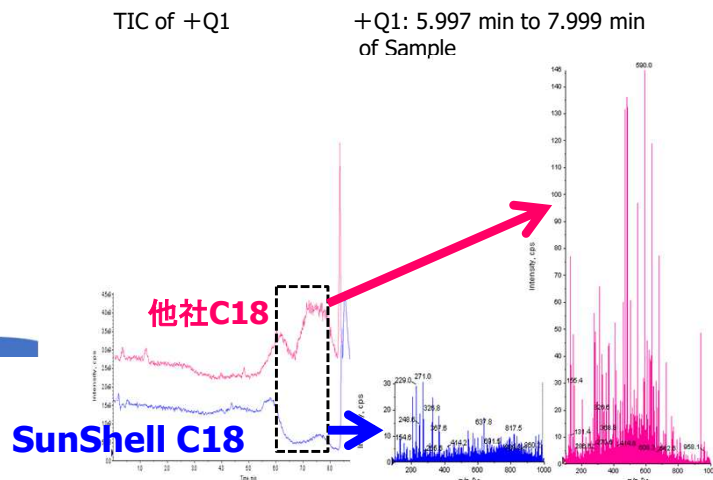
ChromaNik



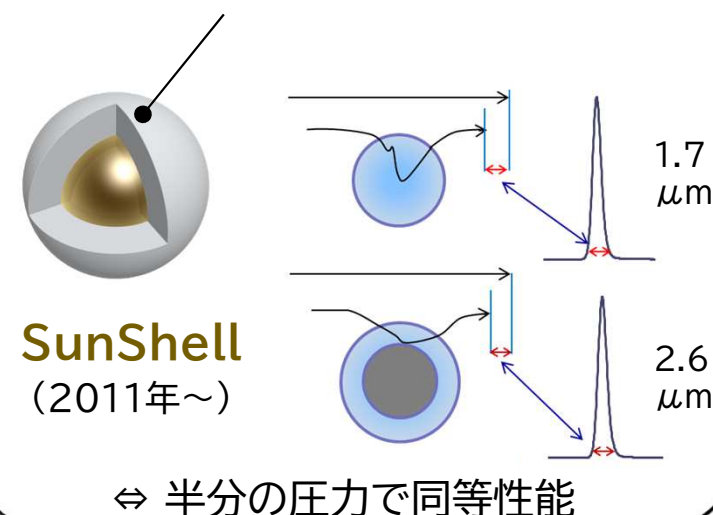
SunShell C18の特徴

Sunniest end-capping

➔ ブリード低減

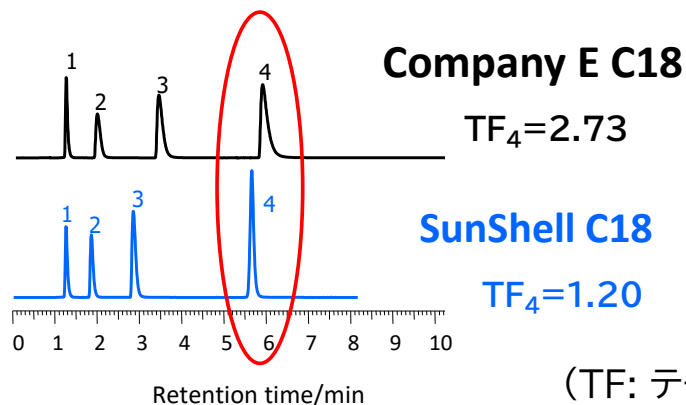


➔ 全多孔性カラムと比較し、
低圧で高効率(1.45倍)
~コアシェルカラムとしての利点~



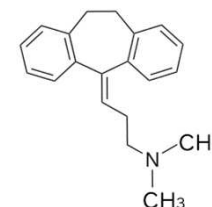
➔ テーリング抑制

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

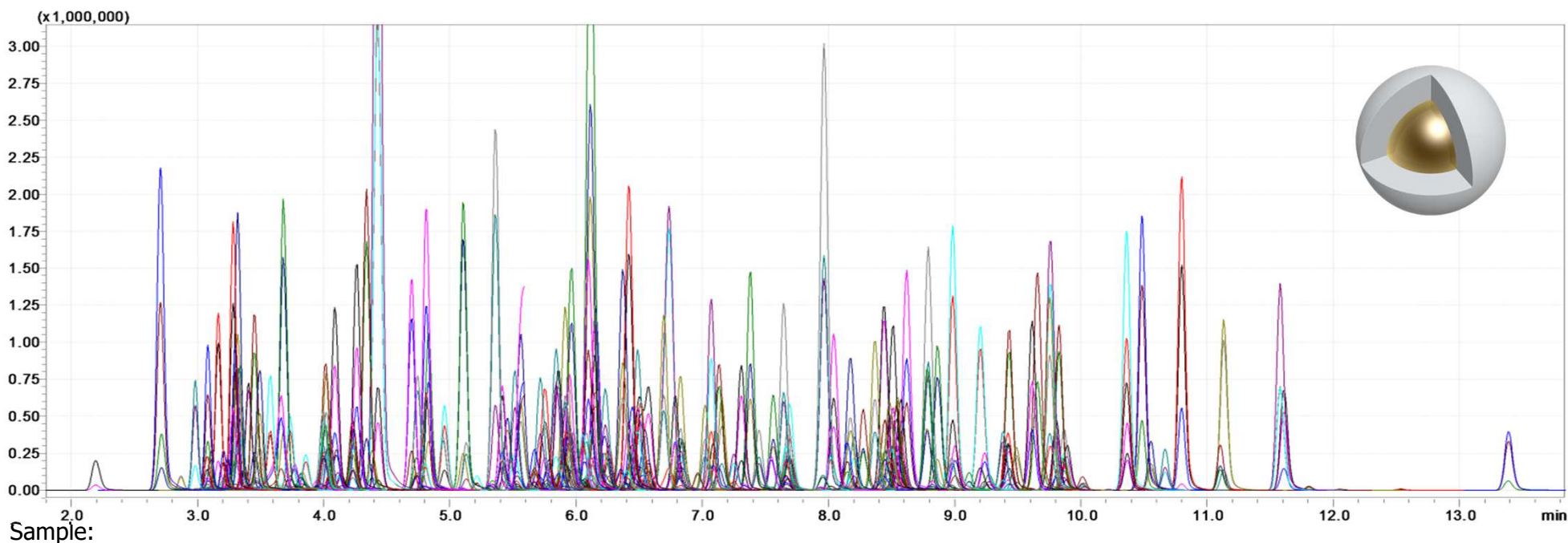
4. Amitriptyline



(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 Ferimzone(E)	112 Lufenuron	148 Penoxsulam	184 Sethoxydim
5 Amisulbrom	41 Demeton-S-methyl	77 Ferimzone(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 Flucetoliamide	116 Mepanipyrim	152 Phoxim	188 Sulfotetramat
9 Bendiocarb	45 Diflufenazuron	81 Flucetosulfuron	117 Mepromil	153 Piperophos	189 Sulfoxalor
10 Bensulfuron-methyl	46 Dimepiperate	82 Fludioxonil	118 Metalaxyl	154 Pirimicarb	190 Tebuconazole
11 Benthiavalicarb-isopropyl	47 Dimethametryn	83 Flufenacet	119 Metamifop	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 Tebufenazuron
14 Bifenthrin	50 Dimethomorph(Z)	86 Fluquinconazole	122 Methabenthiazuron	158 Propamocarb	194 Terbutylazine
15 Boscalid	51 Diniconazole	87 Flusilazole	123 Methiocarb	159 Propazin	195 Trifluorazole
16 Bromacil	52 Dinotefuran	88 Flutolanil	124 Methomyl	160 Propaquizalop	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 Carfaryl	56 Edifenphos	92 Furathiocarb	128 Metfenone	164 Pyrazolate	200 Thiazopyr
21 Carbenazim	57 Esprocarb	93 Gibberellic acid	129 Mevinphos	165 Pyrazophos	201 Thiazuron
22 Carboluran	58 Ethaboxam	94 Halosulfuron-methyl	130 Milbectin A3	166 Pyriproxyfen	202 Thifensulfuron-methyl
23 Carboxin	59 Ethiofencarb	95 Haloxypip	131 Milbectin A4	167 Pyributylcarb	203 Thiobencarb
24 Carfentrazone-ethyl	60 Ethoprophos	96 Hexaconazole	132 Molinate	168 Pyridaben	204 Thiodicarb
25 Carpropamide	61 Ethoxysulfuron	97 Hexaflumuron	133 Monocrotophos	169 Pyridaphenthion	205 Triadimol
26 Chlorpyrifos	62 Etofenprox	98 Hexazinone	134 Myclobutanil	170 Pyrifluquinazon	206 Triadimefon
27 Chlorisulfuron	63 Etoxazole	99 Hexylthiazox	135 Napropamide	171 Pyritalid	207 Triazophos
28 Chromafenozide	64 Etrifos	100 Imazali	136 Nicosulfuron	172 Pyrimethanil	208 Tricyclozole
29 Clethodim	65 Famoxadone	101 Imazosulfuron	137 Novaluron	173 Pyrimidifen	209 Trifloxystrobin
30 Clodentazine	66 Fenamiphos	102 Imicyafos	138 Nuarimol	174 Pyriminobac-methyl(E)	210 Trifluralin
31 Clomazone	67 Fenarimol	103 Imidacloprid	139 Otracur	175 Pyriminobac-methyl(Z)	211 Trifluralin
32 Clothianidin	68 Fenaquin	104 Inabentife	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 Oxadixyl	178 Pyroquilon	
35 Cyflufenamid	71 Fenobucarb	107 Isoprocarb	143 Oxamyl	179 Quinalphos	
36 Cyhalotop-butyl	72 Fenoxaprop-ethyl	108 Isoprotiothiane	144 Oxaziclonelofen	180 Quinmerac	

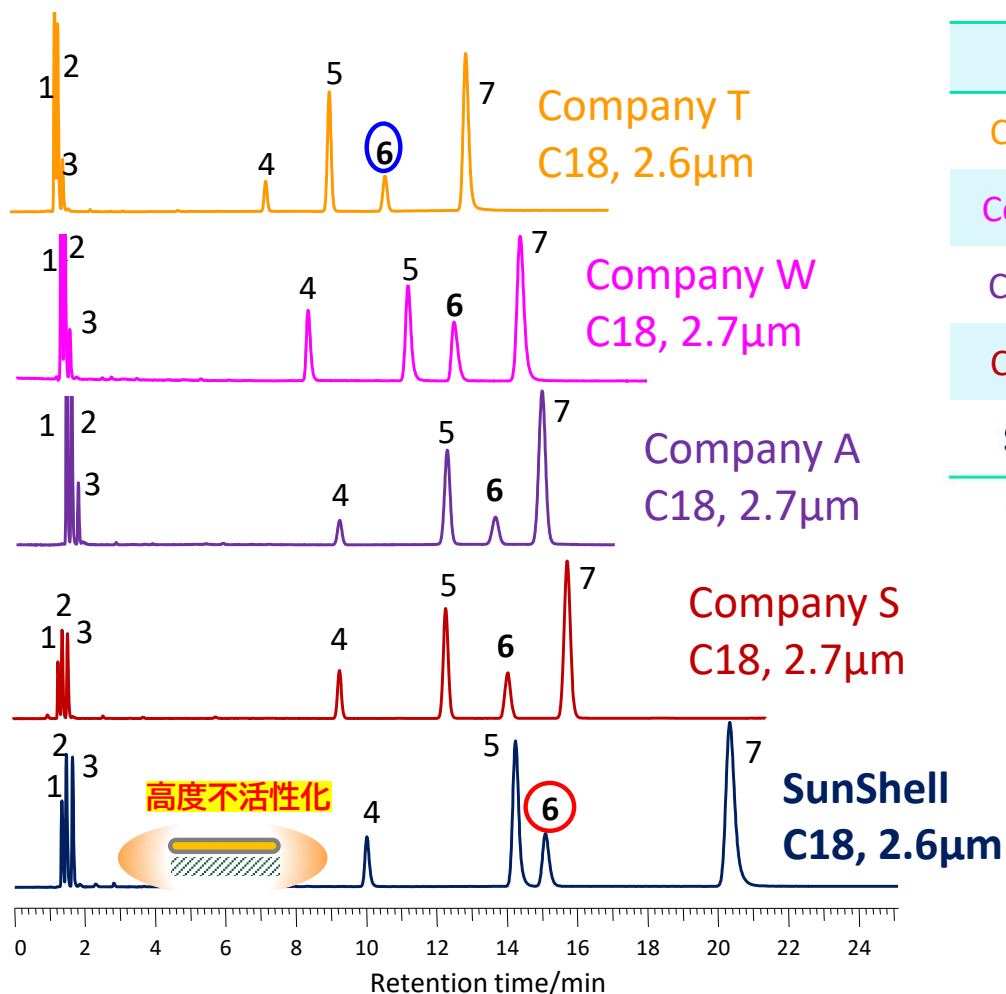
Column: SunShell C18 2.6 μm, 150 x 2.1 mm
 Mobile phase: A) 5 mM Ammonium acetate and 0.1% formic acid in H₂O
 B) 5 mM Ammonium acetate and 0.1 % formic acid in CH₃OH

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

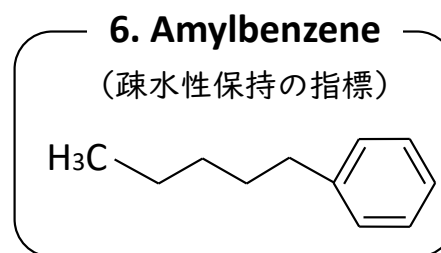
Mobile phase: CH₃OH/H₂O = 75/25

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

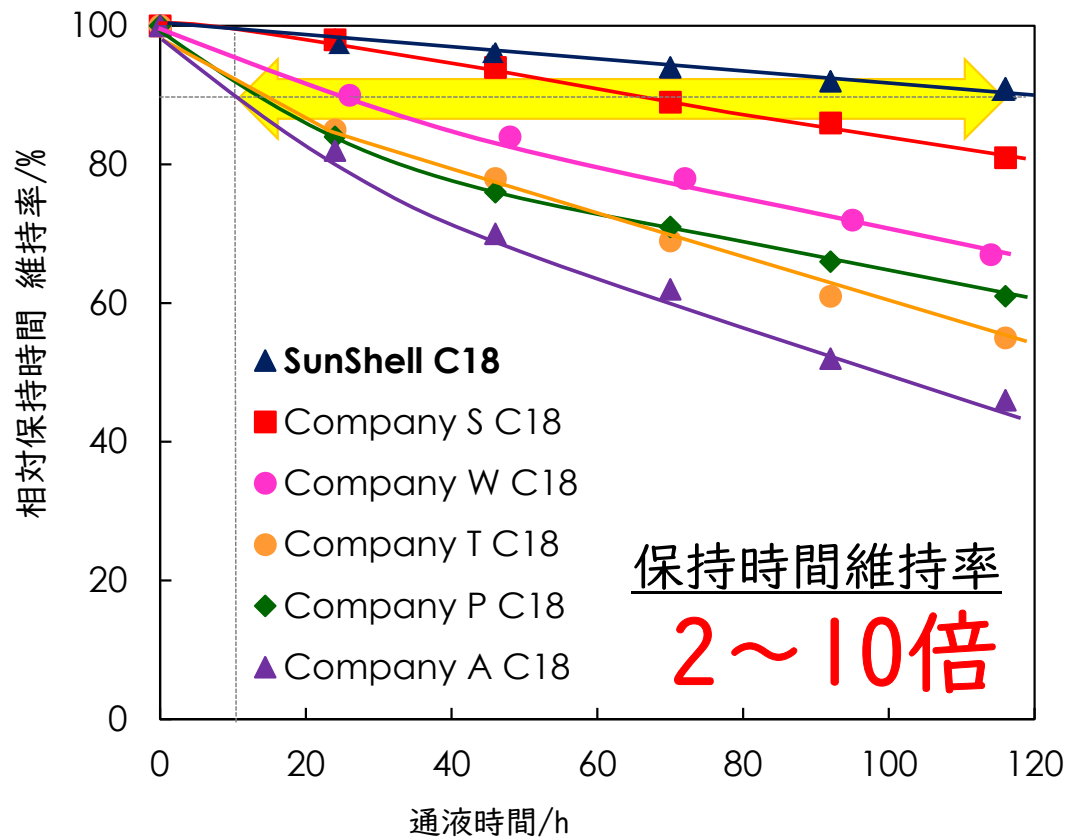


炭素含有率が低いと、疎水性保持も弱い…とは限らない。

▶ 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



保持時間維持率
2~10倍

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



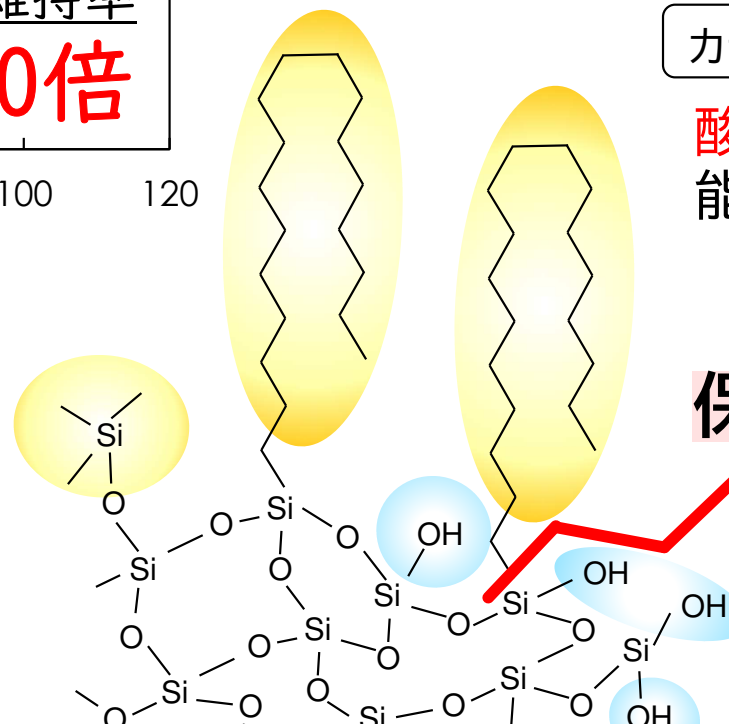
保持時間の減少

直線的に劣化

Column : 2.6 μm or 2.7 μm 50 x 2.1 mm

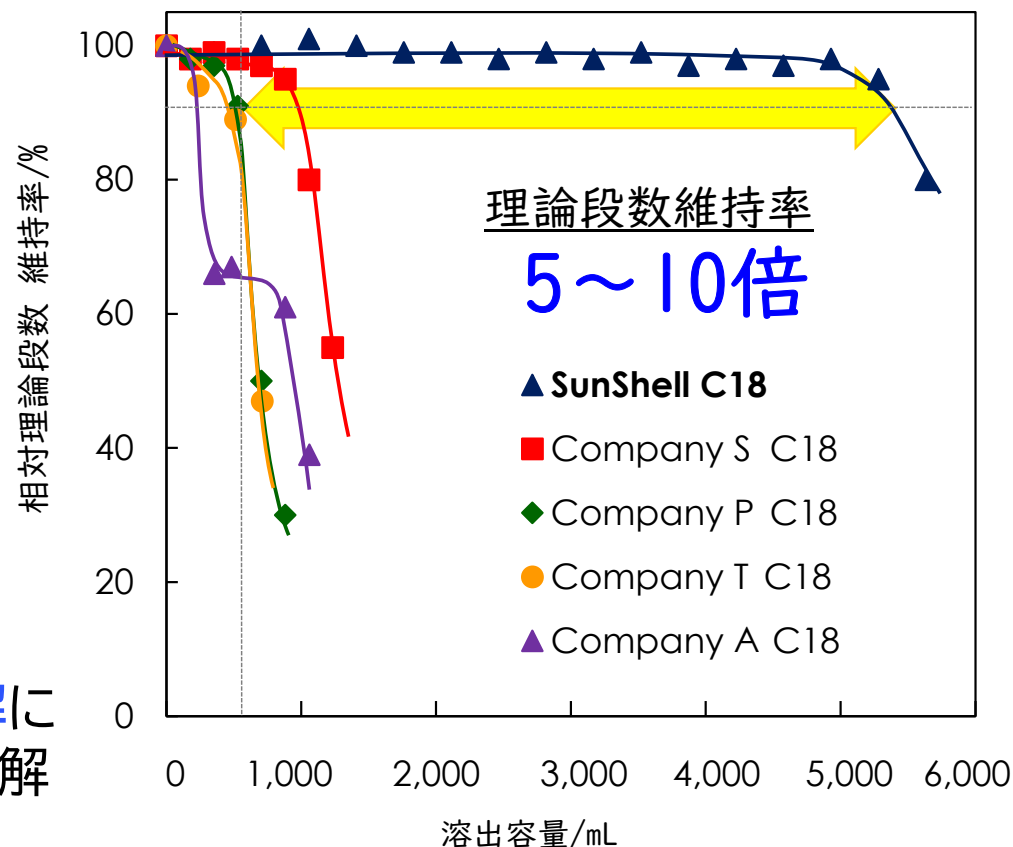
酸耐久性試験条件
Mobile phase: CH₃CN/1.0% TFA (pH1) = 10/90
Flow rate: 0.4 mL/min Temperature: 80 °C

保持時間測定条件
Mobile phase: CH₃CN/H₂O=60/40
Flow rate: 0.4 mL/min Temperature: 40 °C
Sample: 1 = Uracil 2 = Butylbenzene



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: CH₃OH/20mM Sodium borate/
10mM NaOH = 30/21/49 (pH10)

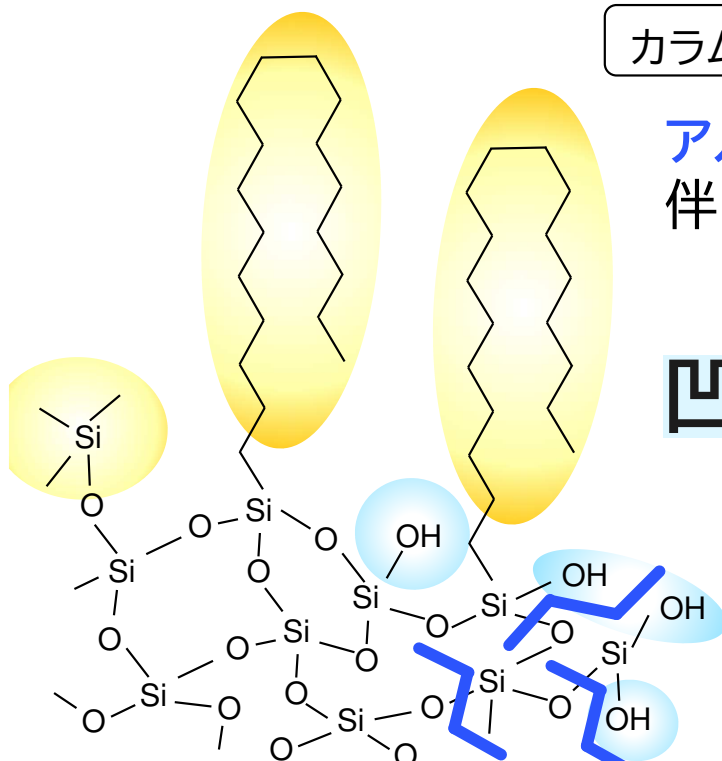
Flow rate: 0.4 mL/min Temperature: 50 °C

理論段数測定条件

Mobile phase: CH₃OH/H₂O=70/30

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

Sample: 1 = Butylbenzene

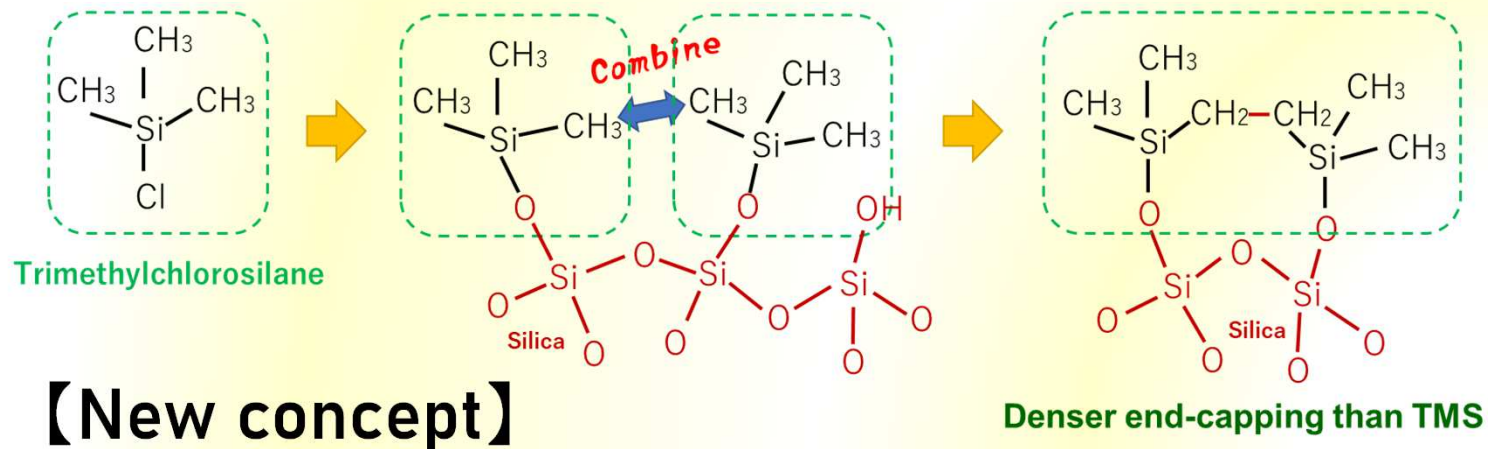


～更なる高耐久化と新概念～

Prominert C18 SunShell Bio C18

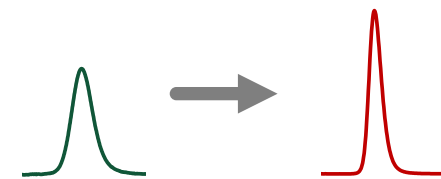
ChromaNik

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

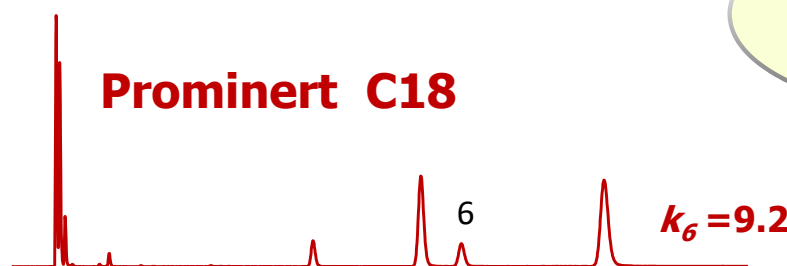
汎用HPLC
 (耐圧20 MPa)



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: CH₃OH/H₂O=75/25

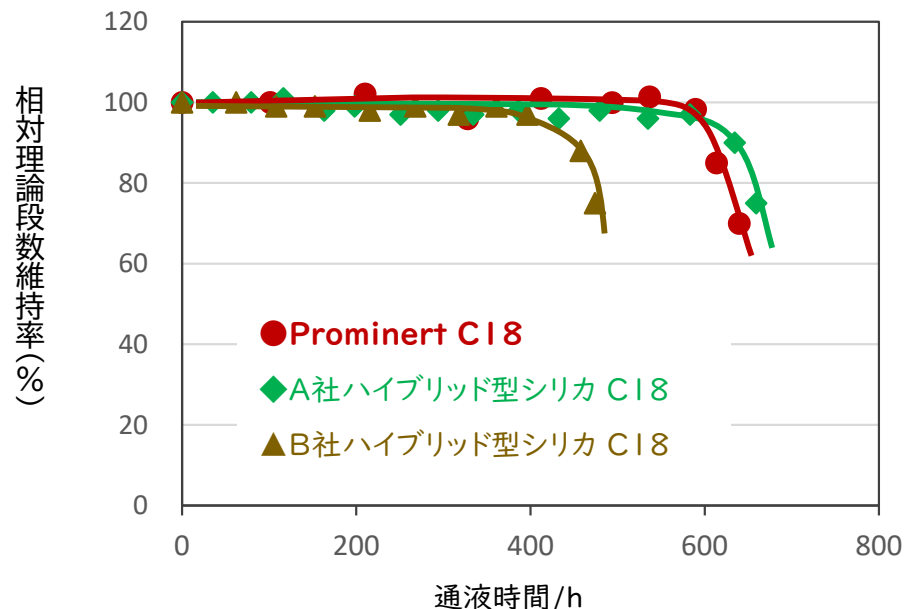
Flow rate: 1.0 mL/min
 Temperature: 40 °C

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

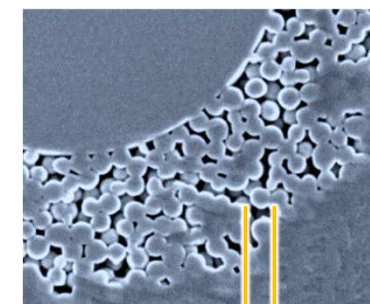
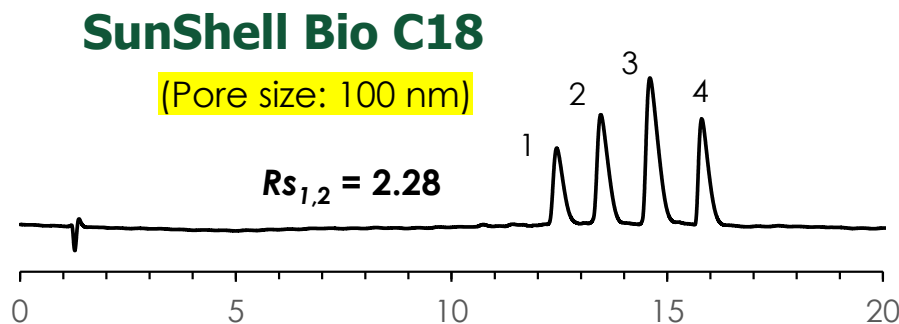
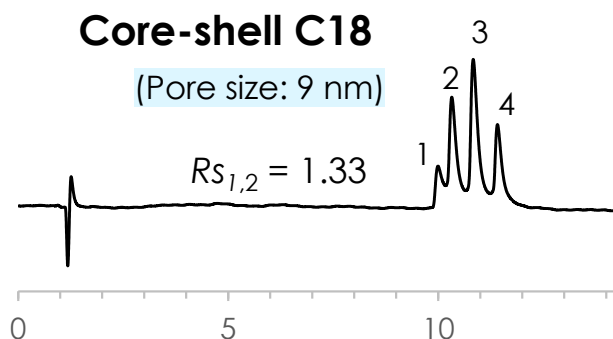
カラムサイズ: 50 x 2.1 mm
 移動相: アセトニトリル/水 = 60/40
 流速: 0.2 mL/min, カラム温度: 40 °C
 試料: ブチルベンゼン

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

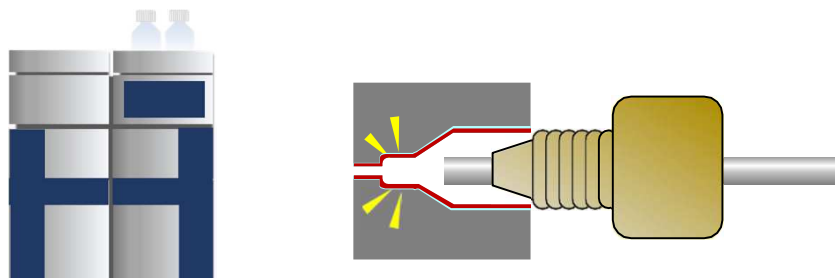
ChromaNik



有機不活性カラムハードウェア PS inert

(PS: Prominert Surface の意)

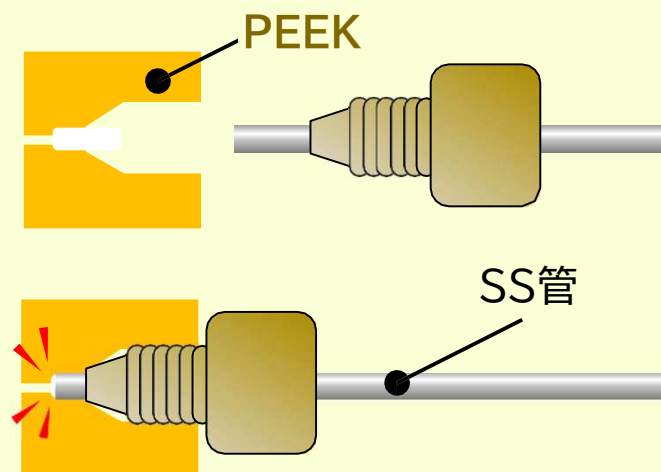
処理イメージ



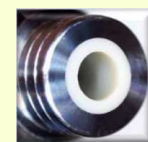
▶ SS管の接続、全く問題なし

他の特殊イナート管の例

メタルフリーカラム(PEEK)

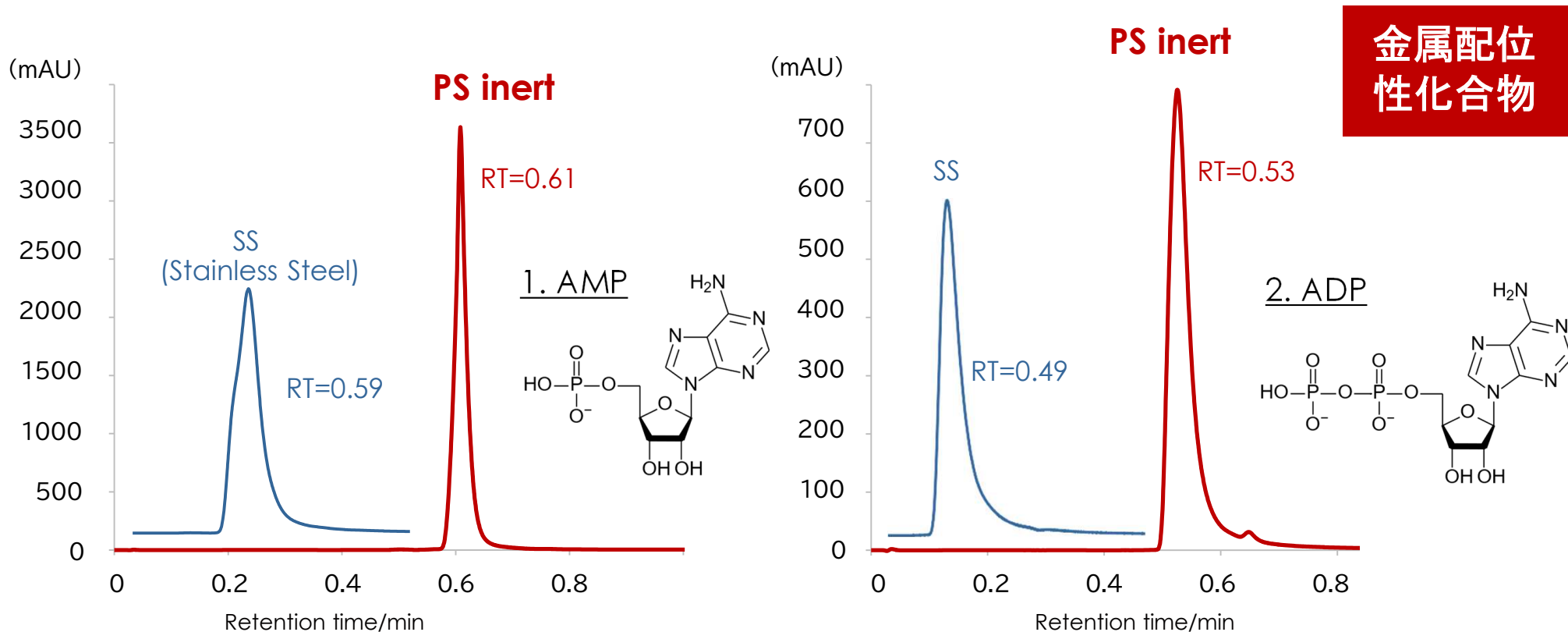


▶ 変形による破損リスク



▶ 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

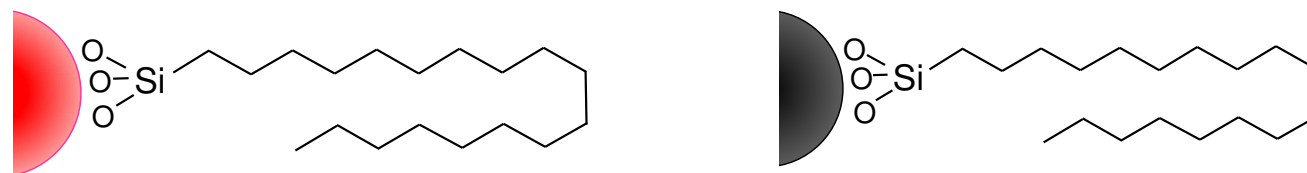
Detection: UV@254 nm
 Flow rate: 0.45 mL/min

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