

Hydrosphere C18

技術資料 (2)

●もくじ

- 1.はじめに・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1
- 2.各カラムの疎水性と水素結合性の比較・・・・・・・・ 1
- 3.親水性化合物の分離・・・・・・・・・・・・・・・・ 2
- 4.おわりに・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 4
- 5.アプリケーション・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 5

1.はじめに

逆相HPLCカラム特にODSカラムは、その優れた分離性能や広範囲の物質に適用できる性質から現在では最も汎用的な分析ツールとして浸透しています。

逆相カラムにおける主たる保持機構は疎水的相互作用ですが、分析対象とする化合物の中には疎水的相互作用のみでは保持しにくい親水性化合物もあります。これらの化合物は水100%溶離液条件等で分析される場合がありますが、汎用型のODSカラムでは十分保持しない、保持時間が変動するといった問題があります。このような従来の欠点を克服するために開発した製品が、Hydrosphere C18です。

本レポートでは、Hydrosphere C18を用いた様々な親水性化合物の分離を各種ODSとの比較とともに紹介します。なお、ここで使用したカラムを以下に示します。

- Hydrosphere C18
- YMC-Pack Pro C18
- AQUA 5 μ C18 125A
- Discovery RP-Amide C16
- Mightysil RP-18GP AQUA
- XTerra MS C18 5 μ m
- YMC-Pack ODS-A
- CAPCELL PAK C18 MG
- Inertsil ODS-3V
- Symmetry Shield C18
- XTerra RP 18 5 μ m
- YMC-Pack ODS-AQ
- Develosil ODS-MG-5
- L-column ODS
- TSKgel ODS-80Ts QA

2.各カラムの疎水性と水素結合性の比較

図1に各カラムの疎水性と水素結合性の評価結果を示しています。疎水性はアミルベンゼンの保持係数で、水素結合性は、カフェインとベンゼンの分離係数で評価しています。評価したカラムは、シリカゲル基材にオクタデシル基を化学結合した一般的なODSカラムのほか、官能基にカルバメート、アミドなどの極性基を有するシールド型のカラムやハイブリッドパーティクルを基材としたカラムです。Brand H1、I1、I2およびI3は、シールド型カラムやハイブリッド型のカラムで、ODSカラムと比較して疎水性が小さくなっています。また、ODSカラムのなかで親水性化合物の分離に適するとされているカラムは、汎用型のODSと比較して水素結合性が大きい傾向にあり、親水性化合物の分離には充填剤の疎水性とともに水素結合性が重要であると考えられます。親水性化合物の分離に適するよう開発されたHydrosphere C18は、ODSカラムとしては最も疎水性が小さく、水素結合性は親水性化合物分離用のODSのなかでも特に大きくなっています。

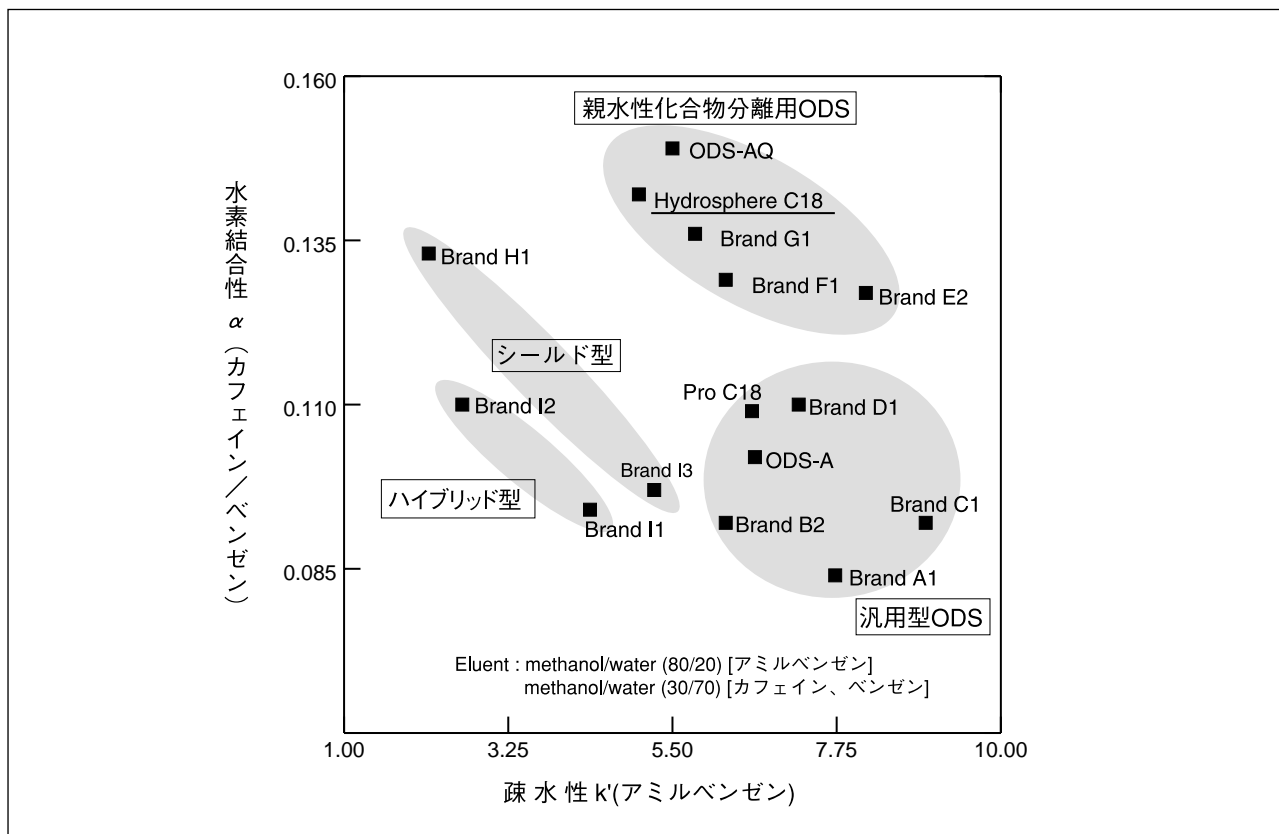


図1 疎水性・水素結合性

3.親水性化合物の分離

3-1.マルトオリゴ糖の分離

図2はマルトオリゴ糖の分離例と、各カラムにおけるマルトヘプタオースの保持係数を比較したグラフを示しています。マルトオリゴ糖の保持は、カラムの疎水性の大小によらず、Brand A1のように疎水性が大きいカラムでも水素結合性が小さいと保持は小さくなっています。また、Brand I2のように水素結合性が比較的大きいカラムでも疎水性が小さいとやはり保持は小さくなっています。これらの結果から親水性化合物の保持には充填剤の疎水性と水素結合性のバランスが重要であると考えられます。疎水性と水素結合性が最適なバランスに設計されたHydrosphere C18では他のカラムと比較してマルトオリゴ糖の保持が大きく、良好な分離が得られています。

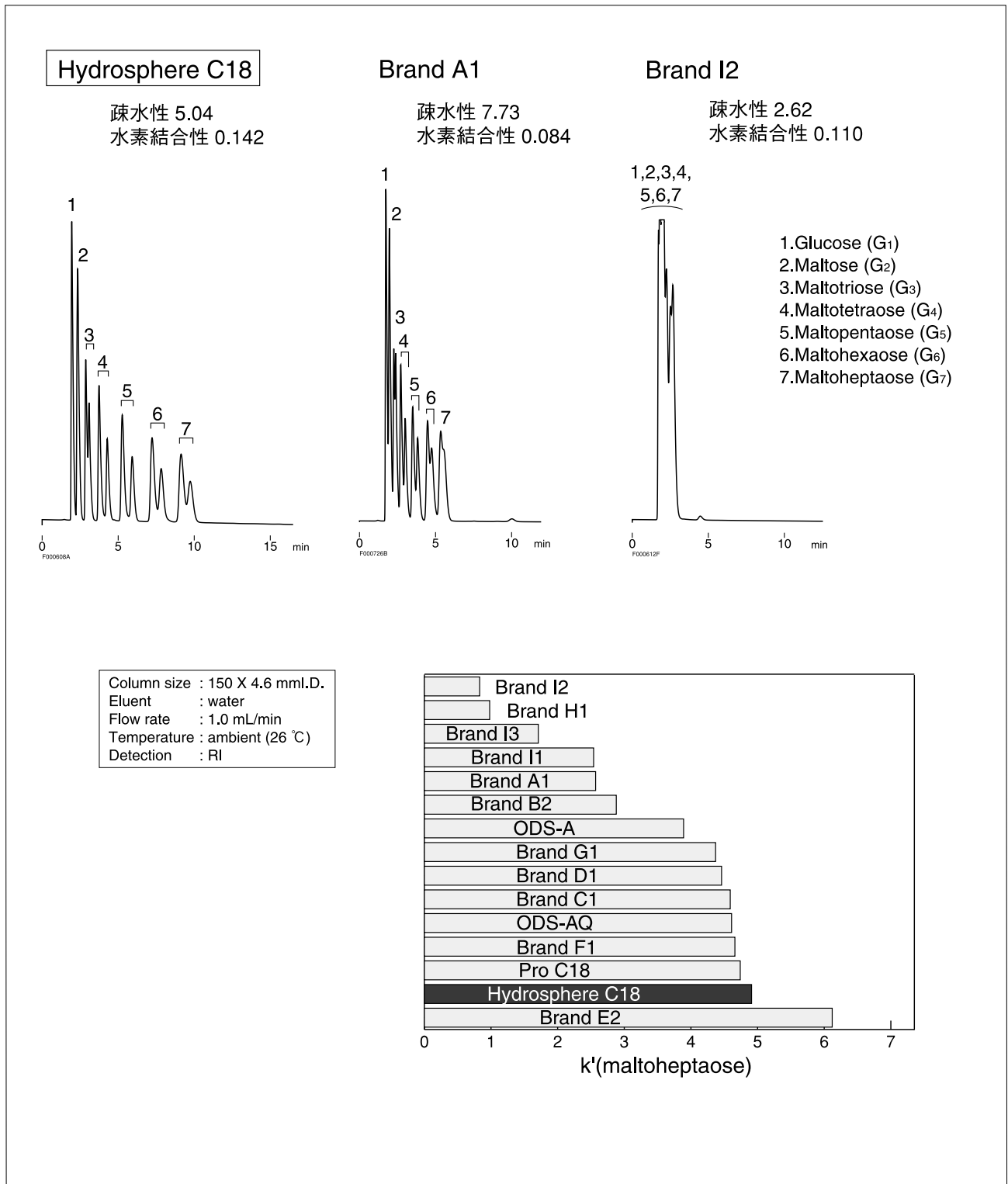


図2 マルトオリゴ糖の分離

3-2. ニコチン酸誘導体の分離

図3は酸化還元補酵素のNADH等のニコチン酸誘導体の分離例と、各カラムにおける保持係数を比較したグラフを示しています。マルトオリゴ糖と同様にHydrosphere C18では保持が大きくなっています。また、Brand B2やBrand H1では分離が難しいニコチン酸(2)とNADPH(3)もHydrosphere C18では完全分離しています。

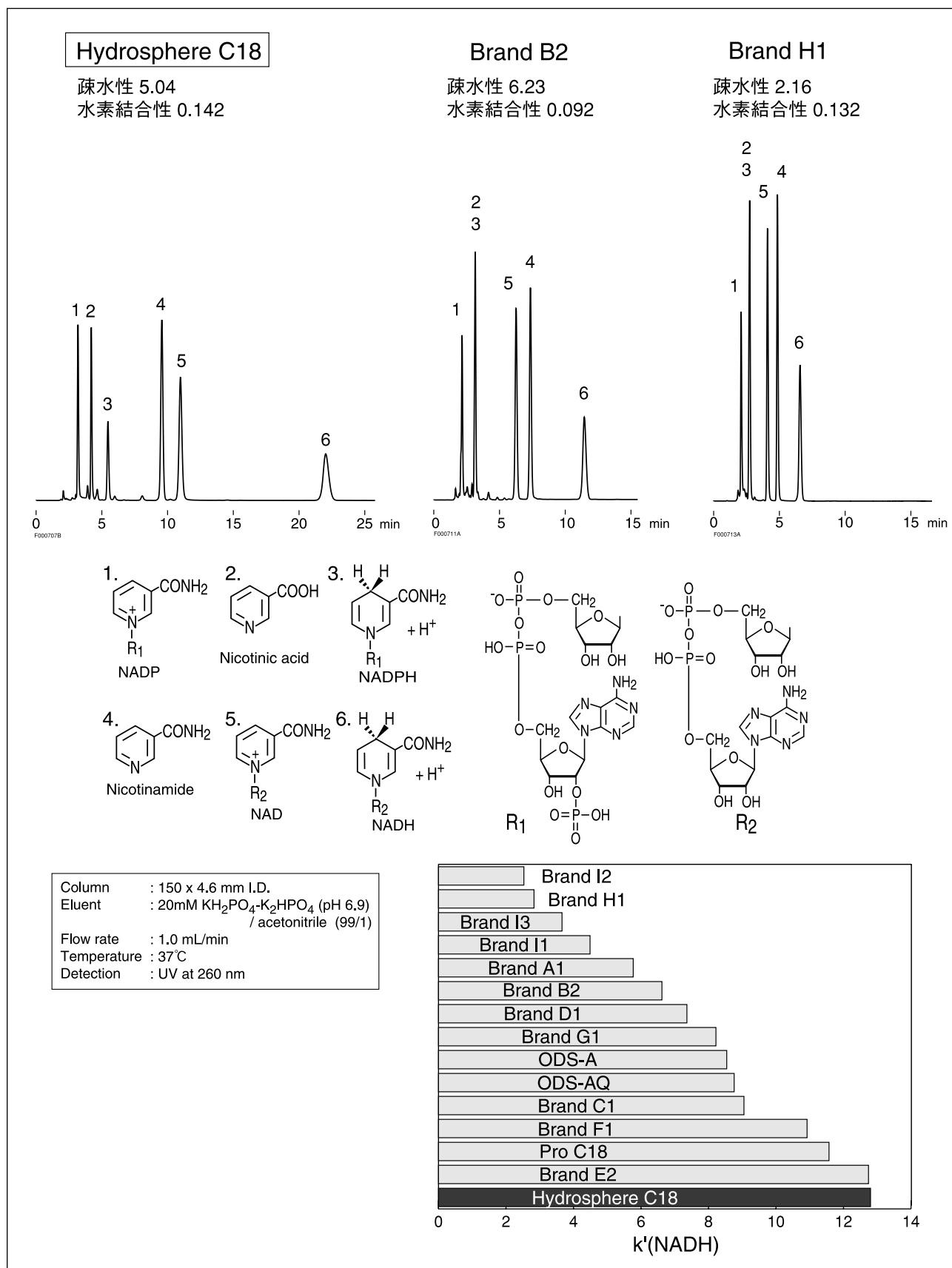


図3 ニコチン酸誘導体の分離

3-3. オロチン酸の分離

図4はピリミジンヌクレオチド合成中間体のオロチン酸と関連化合物の分離例と、各カラムにおけるオロチン酸の保持係数を比較したグラフを示しています。Hydrosphere C18におけるオロチン酸の保持は、比較に用いたカラムのなかでもっとも大きくなっています。これらのカラムのなかにはBrand I3のようにオロチン酸がテイリングするものもありますが、Hydrosphere C18では、ピーク形状も良好です。

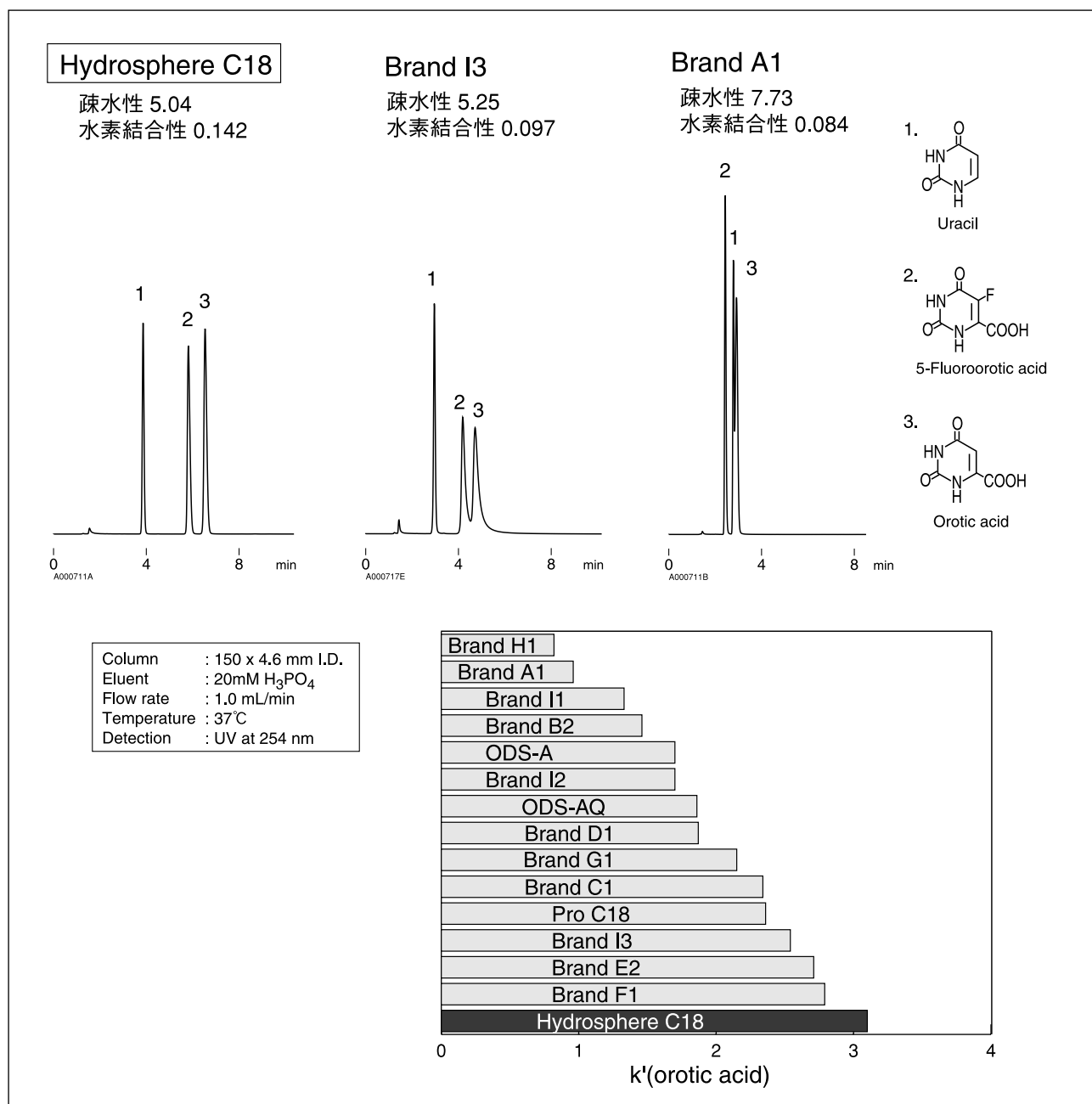


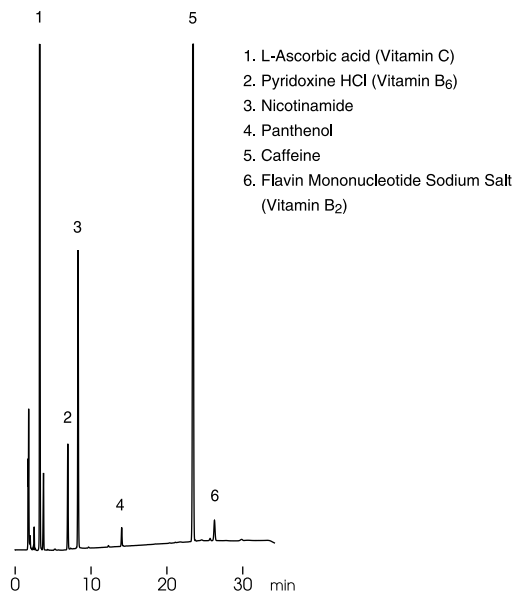
図4 オロチン酸の分離

4. おわりに

Hydrosphere C18は疎水的相互作用のみでは保持しにくいほとんどの親水性化合物に対して最も保持力のあるカラムです。この保持力は、充填剤の疎水性と水素結合性を最適に調節したことで得られていると考えられます。通常、逆相の分離では溶離液の有機溶媒の組成比を減少させることで、溶出時間を遅らせることができます。しかし、親水性化合物の分離は有機溶媒をほとんど含まない溶離液で行う必要があり、保持が小さいと分離の最適化は困難になります。親水性化合物の保持が大きいHydrosphere C18は、このような親水性化合物の分離の最適化に有効です。また、Hydrosphere C18は汎用型のODSとは疎水性と水素結合性のバランスが異なるため分離特性も異なります。したがって、親水性化合物のみならず汎用型ODSで分離の最適化が困難な場合にも有効です。

5.アプリケーション

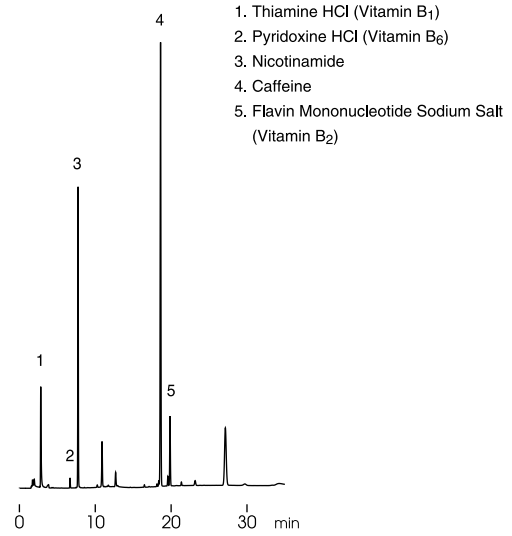
市販ドリンク剤中の水溶性ビタミン A drink including vitamins



F001004A

Column : Hydrosphere C18 (5 μm, 12nm)
150 x 4.6 mm I.D.
Eluent : A) 50mM KH₂PO₄-H₃PO₄ (pH3.5)
B) 50mM KH₂PO₄-H₃PO₄ (pH3.5)/acetonitrile (80/20)
0-60%B(0-20min), 60%B(20-30min)
Flow rate : 1.0 mL/min
Temperature : 30 °C
Pressure : 9.1 MPa
Detection : UV at 210 nm, 0.32AUFS
Injection : 5 μL
Sample : 5 times dilution with 5% metaphosphoric acid

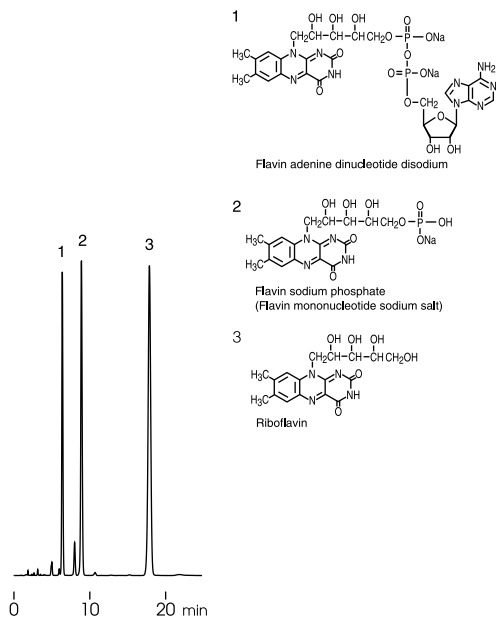
市販ドリンク剤中の水溶性ビタミン A drink including vitamins



F001011B

Column : Hydrosphere C18 (5 μm, 12nm)
150 x 4.6 mm I.D.
Eluent : A) 50mM KH₂PO₄-H₃PO₄ (pH3.5)
B) 50mM KH₂PO₄-H₃PO₄ (pH3.5)/acetonitrile (80/20)
0-90%B(0-20min), 90%B(20-30min)
Flow rate : 1.0 mL/min
Temperature : 30 °C
Pressure : 9.2 MPa
Detection : UV at 254 nm, 0.32AUFS
Injection : 15 μL
Sample : 5 times dilution with water

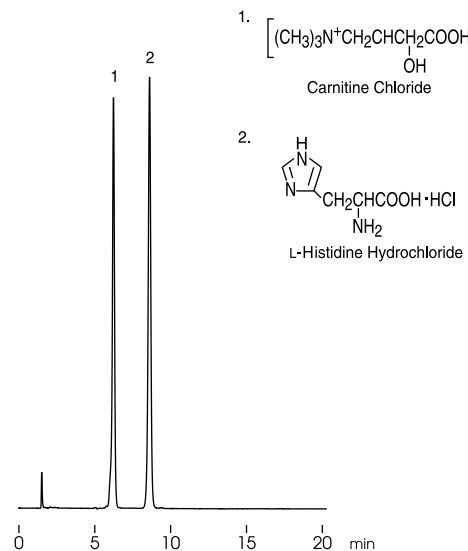
リボフラビンおよび関連化合物 Riboflavin and related compounds



S000803B

Column : Hydrosphere C18 (5 μm, 12nm)
150 x 4.6 mm I.D.
Eluent : 50mM KH₂PO₄ - K₂HPO₄ (pH 5.9) / acetonitrile (90/10)
Flow rate : 1.0 mL/min
Temperature : 37 °C
Pressure : 8.1 MPa
Detection : UV at 260 nm, 0.32 AUFS
Injection : 10 μL (0.1 mg/mL)

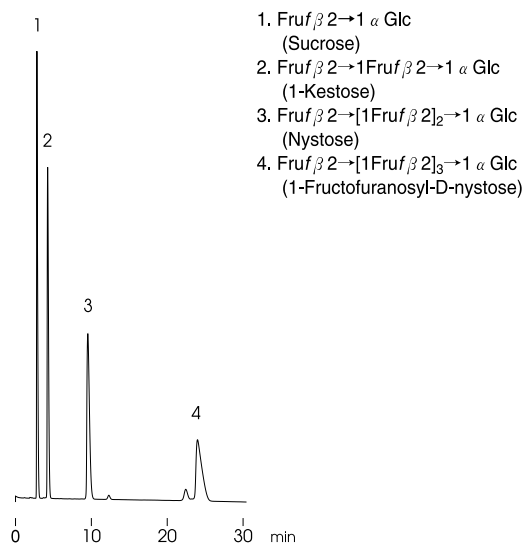
塩化カルニチン Carnitine Chloride



F000629A

Column : Hydrosphere C18 (5 μm, 12nm)
150 x 4.6 mm I.D.
Eluent : 50mM NaH₂PO₄-H₃PO₄ (pH2.6)
containing 15mM 1-Pentanesulfonic acid sodium salt
Flow rate : 1.0 mL/min
Temperature : 30 °C
Pressure : 8.1 MPa
Detection : UV at 210 nm, 0.064 AUFS
Injection : 4 μL (0.2~20 mg/mL)

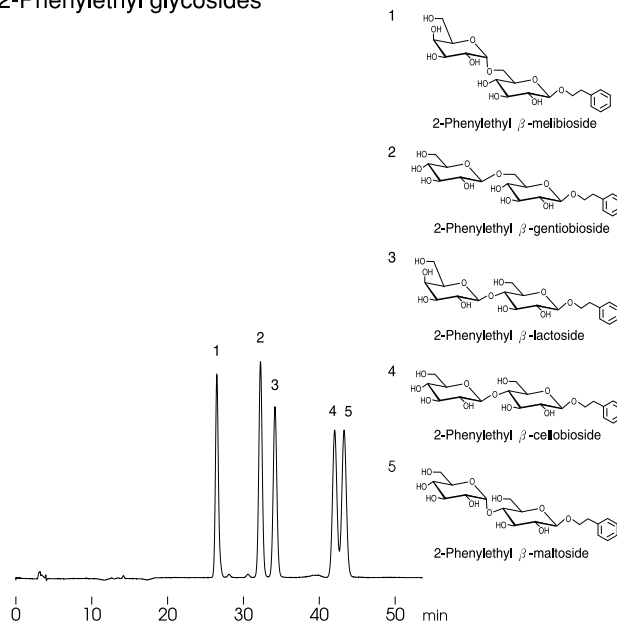
フルクトオリゴ糖
Fructooligosaccharides



F000725B

Column : Hydrosphere C18 (5 μ m, 12nm)
 150 x 4.6 mm I.D.
 Eluent : water
 Flow rate : 1.0 mL/min
 Temperature : 30 $^{\circ}$ C
 Pressure : 7.7 MPa
 Detection : RI, 64 x 10⁻⁶ RIU/FS
 Injection : 5 μ L (10 mg/mL)

2-フェニルエチルグリコシド
2-Phenylethyl glycosides

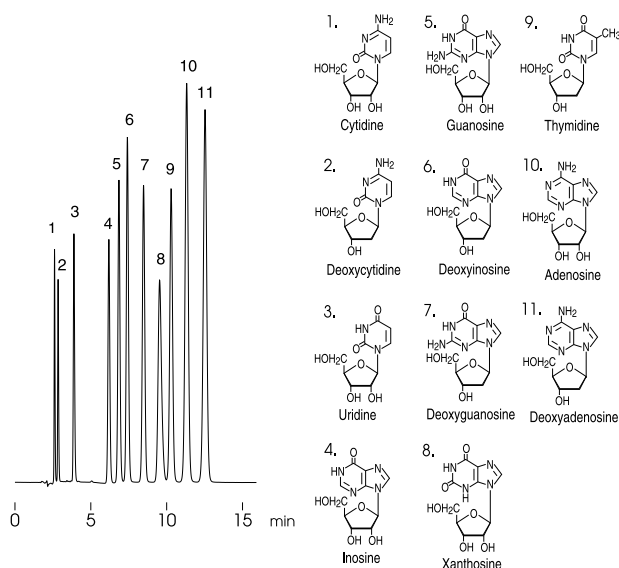


Courtesy of Dr.K.Sakata, Institute for Chemical Research Kyoto University, Japan

F000911A

Column : Hydrosphere C18 (5 μ m, 12nm)
 250 x 4.6 mm I.D.
 Eluent : acetonitrile/methanol/water (8/4/88)
 Flow rate : 1.0 mL/min
 Temperature : 37 $^{\circ}$ C
 Pressure : 11.5 MPa
 Detection : UV at 210 nm, 0.064 AUFS
 Injection : 5 μ L (0.2 mg/mL)

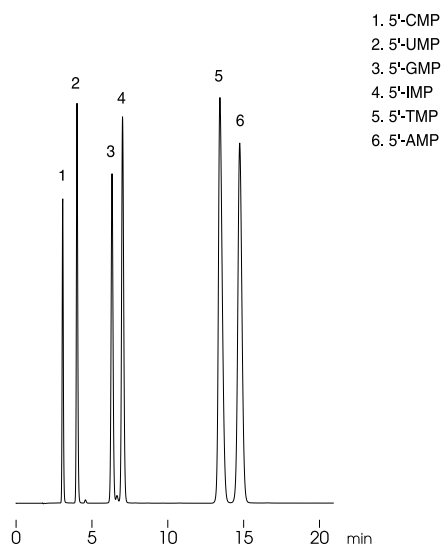
ヌクレオシド
Nucleosides



A000802B

Column : Hydrosphere C18 (5 μ m, 12nm)
 150 x 4.6 mm I.D.
 Eluent : 20mM NH₄H₂PO₄ - H₃PO₄ (pH 3.5) / methanol (92/8)
 Flow rate : 1.0 mL/min
 Temperature : 30 $^{\circ}$ C
 Pressure : 9.7 MPa
 Detection : UV at 260 nm, 0.08 AUFS
 Injection : 15 μ L (5 - 15 μ g/mL)

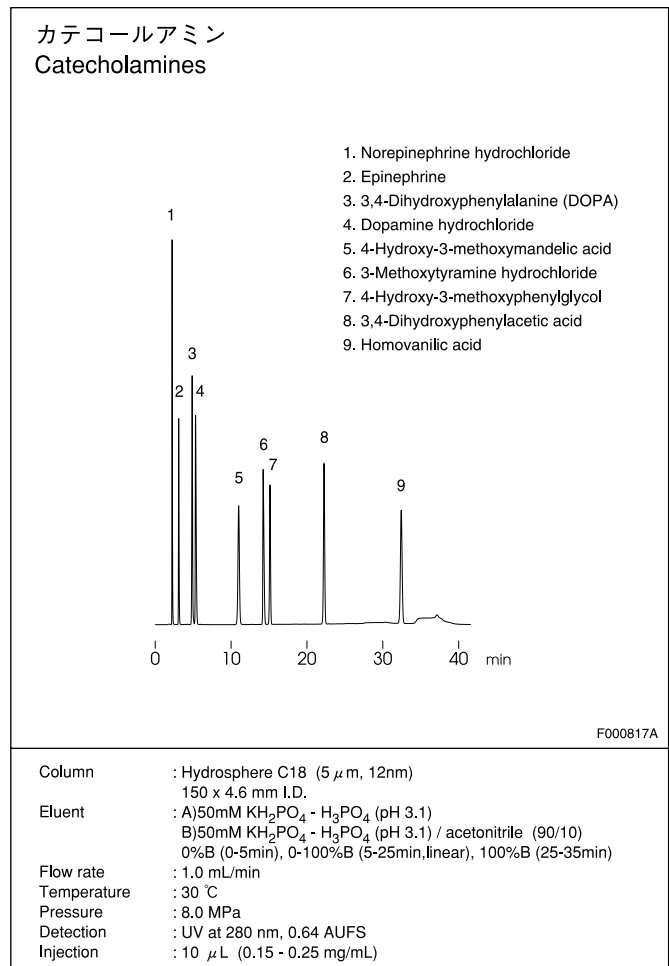
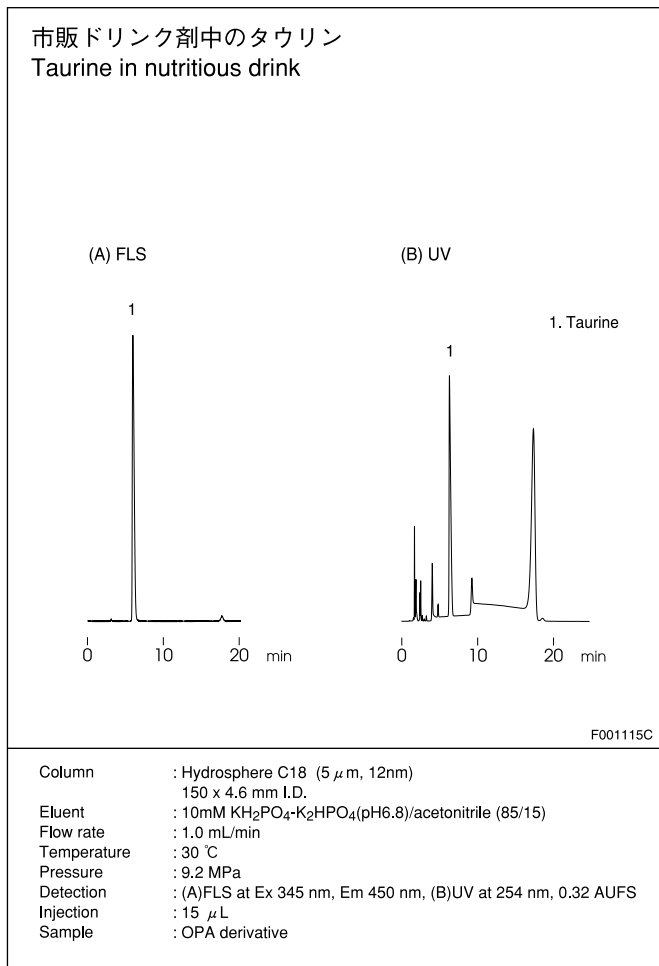
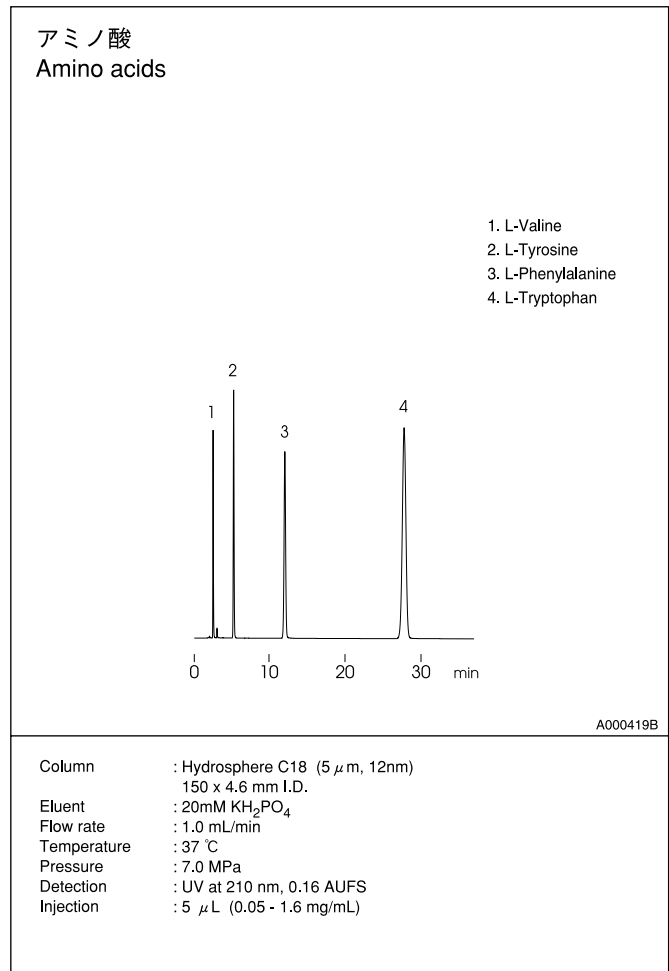
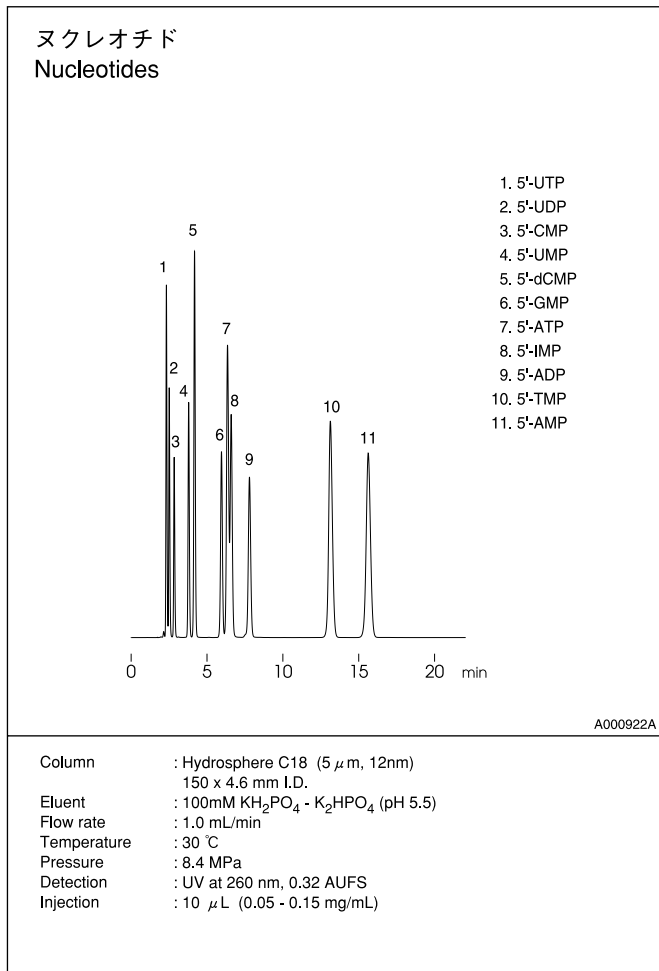
ヌクレオチド
Nucleotides



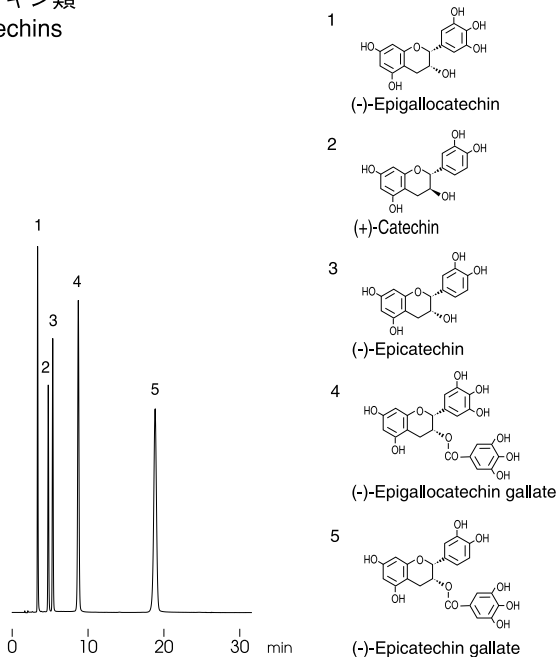
A000912B

Column : Hydrosphere C18 (5 μ m, 12nm)
 150 x 4.6 mm I.D.
 Eluent : 100mM KH₂PO₄
 Flow rate : 1.0 mL/min
 Temperature : 30 $^{\circ}$ C
 Pressure : 8.8 MPa
 Detection : UV at 260 nm, 0.32 AUFS
 Injection : 10 μ L (0.1 - 0.3 mg/mL)

5.アプリケーション



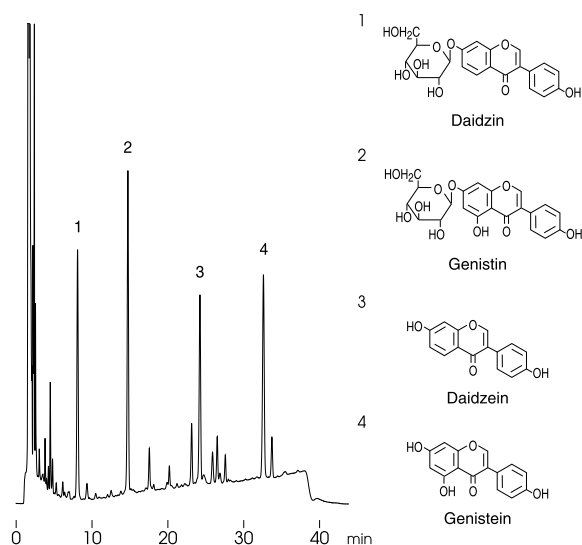
カテキン類
Catechins



F000826B

Column : Hydrosphere C18 (5 μm, 12nm)
150 x 4.6 mm I.D.
Eluent : acetonitrile/ethyl acetate/water/TFA (9/3/88/0.1)
Flow rate : 1.0 mL/min
Temperature : 37 °C
Pressure : 7.5 MPa
Detection : UV at 280 nm, 0.32 AUFS
Injection : 7 μL (0.2 - 0.8 mg/mL)

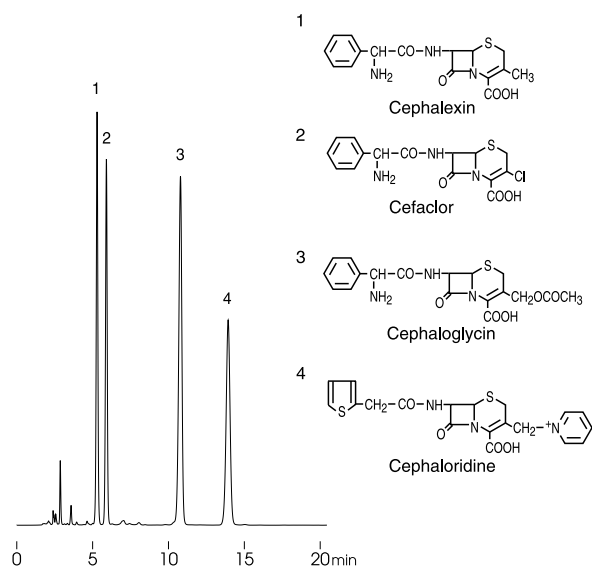
市販みそ中のイソフラボン
Isoflavones from miso, fermented soybean paste



F001025B

Column : Hydrosphere C18 (5 μm, 12nm)
150 x 4.6 mm I.D.
Eluent : A)water/acetic acid (100/1)
B)acetonitrile/water/acetic acid (50/50/1)
30%B(0-5min), 30-70%B(5-35min)
Flow rate : 1.0 mL/min
Temperature : 37 °C
Pressure : 8.4 MPa
Detection : UV at 254 nm, 0.08AUFS
Injection : 7 μL
Sample : methanol extract of miso

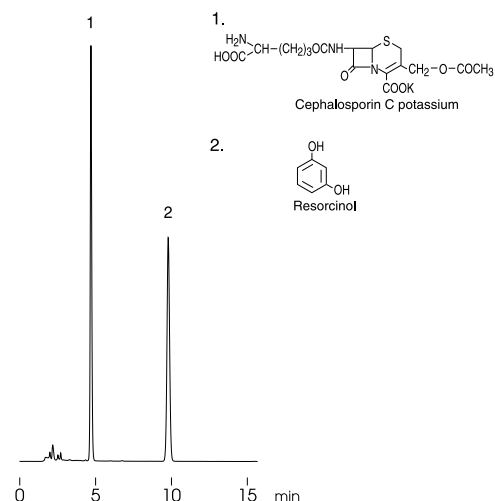
セフェム系抗生物質
Cephalosporin antibiotics



S000717B

Column : Hydrosphere C18 (5 μm, 12nm)
150 x 4.6 mm I.D.
Eluent : acetonitrile/20mM KH₂PO₄ (10/90)
Flow rate : 1.0 mL/min
Temperature : 37 °C
Pressure : 8.1 MPa
Detection : UV at 260 nm, 0.32 AUFS
Injection : 15 μL (0.1~0.2 mg/mL)

セファロsporin C
Cephalosporin C



S000714B

Column : Hydrosphere C18 (5 μm, 12nm)
150 x 4.6 mm I.D.
Eluent : acetonitrile/20mM KH₂PO₄ (5/95)
Flow rate : 1.0 mL/min
Temperature : 37 °C
Pressure : 7.9 MPa
Detection : UV at 260 nm, 0.16 AUFS
Injection : 10 μL (0.2 mg/mL)

●オーダリングインフォメーション

コンベンショナルカラム

粒子径 (μm)	カラムサイズ 内径X長さ(mm)	製品番号	(接続)	価格(円)
S-5	4.6 X 50	HS-300	(W)	35,000
	4.6 X 75	HS-307	(W)	38,000
	4.6 X 100	HS-301	(W)	40,000
	4.6 X 150	HS-302	(W)	48,000
	4.6 X 250	HS-303	(W)	56,000
	6.0 X 150	HS-312	(W)	56,000
	10 X 250	HS-323	(W)	125,000

エコサイズカラム

粒子径 (μm)	カラムサイズ 内径X長さ(mm)	製品番号	(接続)	価格(円)
S-5	3.0 X 50	HS-3E0	(W)	40,000
	3.0 X 150	HS-3E2	(W)	48,000
	3.0 X 250	HS-3E3	(W)	56,000

セミマイクロカラム

粒子径 (μm)	カラムサイズ 内径X長さ(mm)	製品番号	(接続)	価格(円)
S-5	2.0 X 50	HS-3C0	(W)	43,000
	2.0 X 75	HS-3C7	(W)	43,000
	2.0 X 150	HS-3C2	(W)	50,000

セミ分取カラム

粒子径 (μm)	カラムサイズ 内径X長さ(mm)	製品番号	(接続)	価格(円)
S-5	20 X 250	HS-343	(W)	230,000

CombiChrom

カラムサイズ 内径X長さ(mm)	製品番号	(接続)	価格(円)
CombiScreen 4.6 X 50	HS-300-CC	(W)	40,000
CombiPrep 20 X 50	HS-340-CC	(W)	100,000

ガードカートリッジカラム(3個入)

粒子径 (μm)	カラムサイズ 内径X長さ(mm)	製品番号	(接続)	価格(円)
S-5	4.0 X 23	C-KGC-324HSC-3		39,000

初めてご使用になる際はカートリッジホルダーをお買い求めください。

ガードカラム

粒子径 (μm)	カラムサイズ 内径X長さ(mm)	製品番号	(接続)	価格(円)
S-5	10 X 30	BBC-10-HS-5	(W)	40,000

セミマイクロ用ガードカートリッジカラム(2個入)

粒子径 (μm)	カラムサイズ 内径X長さ(mm)	製品番号	価格(円)
S-5	2.0 X 10	HS12S05-0102CC	18,000

初めてご使用になる際はセミマイクロガードカートリッジホルダーをお買い求めください。

セミ分取用ガードカラム

粒子径 (μm)	カラムサイズ 内径X長さ(mm)	製品番号	(接続)	価格(円)
S-5	20 X 50	GHS-340	(W)	90,000

YMC 株式会社ワイエムシイ

国内営業部 〒600-8106
京都市下京区五条通烏丸西入醍醐町284
YMC烏丸五条ビル
TEL 075-342-4550 FAX 075-342-4555

URL <http://www.ymc.co.jp>

販売店