

## Technical Review

## モノリス型シリカカラムの調製と性能評価

\*宮崎 将太<sup>(1)</sup>、太田 茂徳<sup>(1)</sup>、森里 恵<sup>(1)(2)</sup>、中西 和樹<sup>(2)</sup>、大平 真義<sup>(1)</sup>、田中 信男<sup>(1)(3)</sup>

## Preparation and Evaluation of Monolithic Silica Columns for HPLC

Shota Miyazaki<sup>(1)\*</sup>, Shigenori Ota<sup>(1)</sup>, Kei Morisato<sup>(1)(2)</sup>, Kazuki Nakanishi<sup>(2)</sup>,  
Masayoshi Ohira<sup>(1)</sup>, Nobuo Tanaka<sup>(1)(3)</sup>

(1) GL Sciences Inc., 237-2 Sayamagahara, Iruma, Saitama, 358-0032, Japan

(2) Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan

(3) Kyoto Institute of Technology, Sakyo-ku, Kyoto 606-8585, Japan

---

**abstract**

Monolithic silica columns have been developed to provide the performance beyond the limit of conventional particulate columns along with the columns packed with sub-2 μm particles or core-shell particles. This review describes (1) the preparation method of monolithic silica gel, (2) the surface modification method, (3) the method of column fabrication, and (4) the evaluation method of column performance.

**Keywords:** monolithic silica column, silica preparation, surface modification, column fabrication, column evaluation

---

**緒言**

モノリス型シリカゲルは、相分離を伴うソルーゲル法によって調製される一体型のシリカ素材で、微視的には三次元網目構造をとり、二重細孔構造に基づく大きな表面積と大きな透過率を可能とする。モノリス型シリカカラムは、sub-2 μm 粒子やコアシェル粒子充填カラムと同様に汎用全多孔性粒子充填カラムの限界を超える性能を示す。これらの高性能カラムの性能評価には、従来までの基本的な評価法だけではなく、送液圧力、理論段数、分離時間などを含めた総合的な性能評価法や固定相のキャラクタリゼーションが必要となっている。本稿では、(1)モノリス型シリカゲルの調製法 (2)表面修飾方法 (3)カラム化技術 (4)カラム性能の評価法について紹介する。

**1. モノリス型シリカゲルの調製**

モノリス型シリカゲルは、マイクロメートルサイズの三次元網目状細孔（マクロ孔）と、ナノメートルサイズの細孔（メソ孔）を有する、シリカゲルのバルク体である。このバルク体は、ケイ素アルコキシドを出発物質とするゾルーゲル反応とスピノーダル分解の組み合わせによって得ることができ、そのマクロ孔およびメソ孔の量および大きさは、互いに独立に広い範囲で制御可能である。以下に、代表的な系について、細孔構造の制御方法を述べる。

**1.1 重合反応に誘起される相分離**

高温で高い溶解度をもつ溶質が冷却に伴って析出するように、重合可能な分子を含む多成分溶液中で重合が進むと、重

---

ジーエルサイエンス株式会社 技術開発部  
〒358-0032 埼玉県入間市狭山ヶ原237-2  
Tel: 04-2934-2123  
Fax: 04-2934-3412  
E-mail: s-miyazaki@gls.co.jp

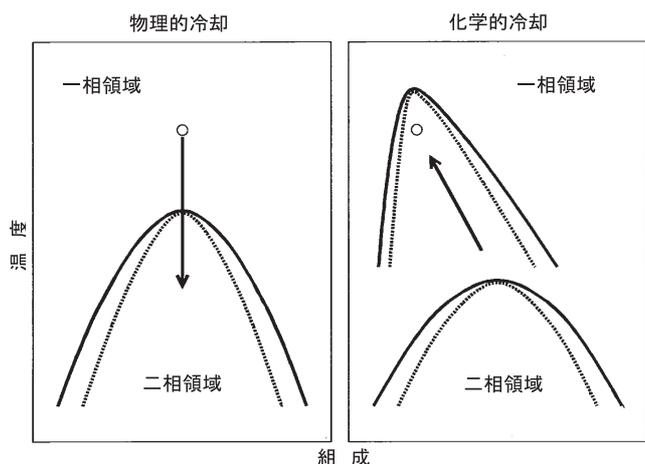
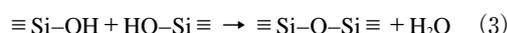
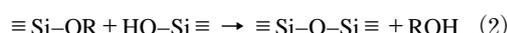
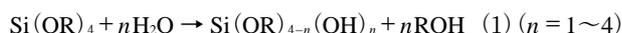


図1 物理的冷却と化学的冷却の比較図。実線が二相境界線、破線がスピノーダル線を表す。○印は出発組成と温度。物理的冷却では試料の温度を変化させて一相から二相領域に移すが、化学的冷却では重合度増加によって二相領域が移動・拡大し、出発組成・温度を包含する。

合体と他成分との間の相互溶解性が低下し、固相の析出・沈殿や二相液体への分離に至る[1]。この相分離は温度変化を必要とせず、重合度の増加とともに均一相として溶解できない組成・温度領域が広がり、出発組成が一相領域側から二相領域へ入ってしまうことによって起こる(図1)。実際の反応系の相分離機構は条件に応じて、「核生成・成長」あるいは「スピノーダル分解」となる(図2)[2]。スピノーダル分解は、外部条件の変化に系が追従できないとき、非平衡条件下で起こる自発的な相分離の機構である。高分子やゲルにおいて広く見られ、後述するように互いに連続した二相を含む特徴的な多相構造を形成する場合がある。

### 1.2 ケイ素アルコキシドによるゲルの調製

シリカゲルの原料として最も広く用いられる水ガラスと比較して、ケイ素アルコキシドからシリカゲルを作製する利点は、蒸留によって純度を高めることや、金属不純物を極めて低濃度に抑えることができるという点にある。ケイ素アルコキシドは他の金属アルコキシドに比べて例外的に加水分解速度が遅く、均一なゲルを、バルク、薄膜、繊維等の形態を与えて作製することが可能である[3-5]。加水分解反応は、通常、共通溶媒としてアルコールを含むアルコキシドの溶液に、水を混合することによって行われ、ケイ素アルコキシドの加水分解および重縮合反応は次の式で表される。



多くの場合、加水分解と重縮合反応は並行して起こり、各々の速度は反応に関与する水の濃度と、触媒の種類および濃度に依存する。また、加水分解反応が開始してから溶液が流動性を失ってゲルになるまでに要する時間(ゲル化時間)は、非晶質シリカの等電点付近において最も長く、これよりpHが高くては低くても短くなる。これは、重縮合反応に関与する触媒および反応機構が、各々のpH領域において異なるためである[5]。ゾル-ゲル転移と細孔構造発達の動的な挙動は、ゲルを形成するシリカ重合体の、溶媒相との親和性や分子量分布、およびゲル網目の発達する速度の影響を強く受ける。それゆえ、出発溶液の組成や触媒濃度は、ゲルの微細形態を決定する重要な因子となる。

### 1.3 相分離によって発達した構造の凍結

スピノーダル分解は、酸化物ガラスや高分子混合系でしば

#### 核生成・成長

離散的で明確な界面を持った相領域が、拡散律速の過程によって成長し、しばしば海-島構造に至る。



#### スピノーダル分解

連続的な濃度勾配を持つ界面に区切られた相領域が、自発的・濃度勾配に逆らった拡散によって成長し、条件が満たされれば両相の連続した共連続構造を生じる。



図2 核生成・成長およびスピノーダル分解による相領域(ドメイン)の形成過程

しば観察される相分離のモードであり、分離する二相が互いに連続した（共連続）構造を過渡的に形成することが知られている。ガラスや高分子では物理冷却によるガラス転移が、この過渡的な構造を凍結する手段となるが、シリカのゾル-ゲル系においては「化学架橋による構造凍結」によって、過渡的な構造を凍結する。分離によって生じる相の体積分率が大きく異なる場合には、図3のAあるいはCのように、最初は共連続であった構造が、少量相が連続性を失って分散相となった「海-島構造」に変わってゆく。両相の体積分率の差が小さい場合のみ、共連続構造は繋がりを保ったまま、その周期長だけが大きくなる「粗大化」を起こし、粗大化のどの段階でゾル-ゲル転移が起こるかによって、ゲルの構造として凍結されるマクロ孔の大きさが異なることになる[6]。原則的には、ゾル-ゲル転移よりも早く相分離が始まるほど、凍結されるのはより粗大化した構造になるので、大きいマクロ孔が得られる。相分離の開始とゾル-ゲル転移との相対的なタイミングを制御するためには、ゾル-ゲル反応を始める際の出発組成や、反応温度、触媒濃度をうまく調節すると良い。これによって所望のマクロ孔径をもったシリカモノリスを作製することができる。

#### 1.4 メソ孔の制御

上記の過程によって得られたシリカゲルは、シリカに富む骨格相と、溶媒に富む流動相からなる、湿潤ゲルである。アルコキシドの加水分解・重縮合反応の制御が容易な酸触媒条件では、湿潤ゲルに含まれるナノメートルサイズの細孔は非常に小さく、そのまま溶媒を蒸発除去して乾燥すると、モノリスゲルが破壊されて形態を失うばかりでなく、分離に必要なメソ孔も形成されない。湿潤ゲルを弱塩基性の水溶液に浸して溶媒置換を行うことにより、微細なシリカゲル表面の溶解・再析出過程によって、メソ孔の再構成が起これと考えられ[7]、溶媒置換処理の後に蒸発乾燥を行うと、モノリスの形態を保ったままメソ孔を有するシリカゲルが得られる。600~700℃において数時間熱処理を行うことにより、残存有機物を燃焼除去すると共に、メソ孔と比表面積を安定させることができ、比表面積300~350 m<sup>2</sup>/g、中心メソ孔径10ナノメートル以上の、HPLC分離媒体に好適なシリカモノリスを得ることができる。

#### 2. モノリス型シリカゲルの表面修飾

高性能カラムを調製するためには、充填剤の高性能化だけではなく、その粒子を最適に充填する必要がある。そのため、修飾官能基やカラムの形状によっては最適な充填条件を検討することが難しく、これが高性能カラムの調製の妨げの原因になる場合がある。

モノリス型シリカカラムの特徴の一つとして、担体が一体型として形成される点が挙げられる。担体そのものの調製における再現性は課題となるものの、粒子をカラムに充填する必要がないので、充填操作に依存したカラム性能の低下が起きにくく、担体のもつ高い性能を種々の修飾基においても発揮することが期待できる。

モノリス型シリカカラムの表面修飾としては、はじめにシリカロッドカラムに対して化学修飾基を導入した後にカラム作成を行う静的修飾か[8]、カラム化した後、あるいはキャピラリーやマイクロチップ中のモノリス型シリカカラムに対して反応液を送液しながら表面を修飾する動的修飾を選択することが可能である[9]。

静的表面処理は、シリカ粒子と同じように表面のシラノール基に対して、シランカップリング剤をバッチ処理によって修飾する方法が一般的であり、一体成型が可能なモノリスの特性を生かしたカラムを調製することが可能である。通常HPLCカラムの作製以外にも、シリカロッドを調製した後、厚さ1mm程度にカットし、各種化学修飾基を導入したディスク型のモノリスをミニスピナカラムに固定化した前処理製品や、シリカロッドを作製する際に、モノリス骨格内に活性炭を導入したモノリスを調製した後、更に表面をオクタデシル基などで表面処理した疎水性の高い前処理製品なども市販されている（図4）。

動的修飾方法は、修飾時に必要な反応溶液も少量で実行す

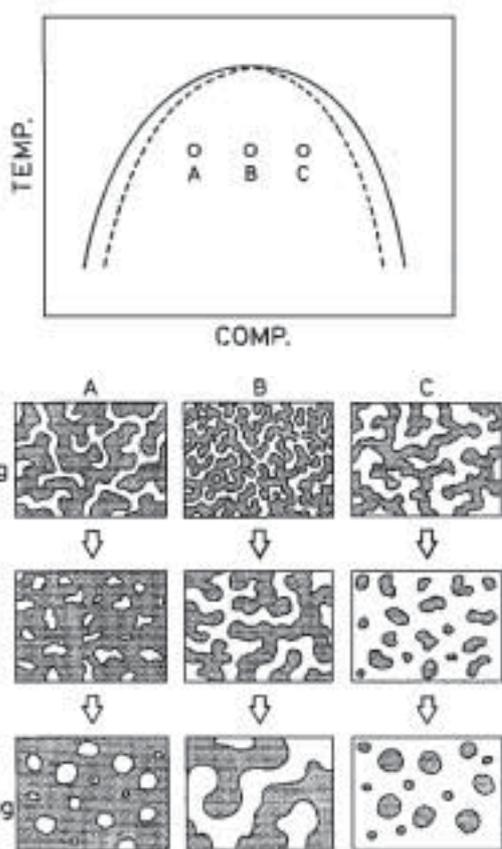


図3 スピノーダル分解後期段階に形成される絡み合い構造などの粗大化

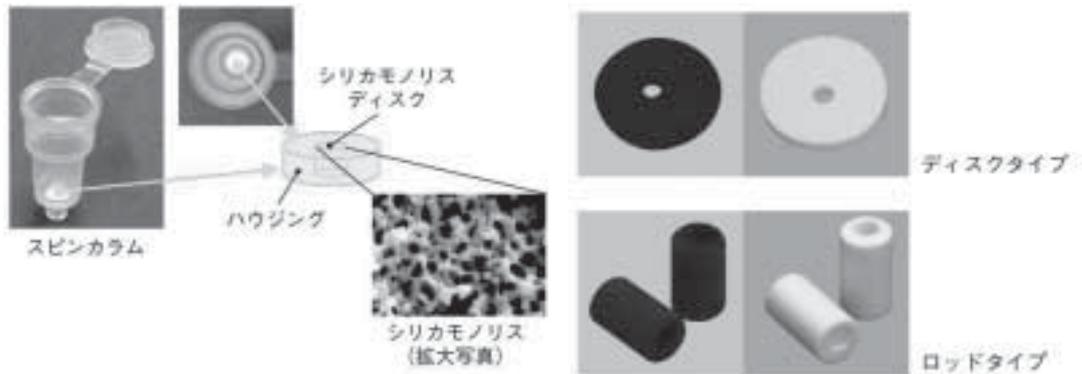


図4 様々なシリカモノリス前処理製品

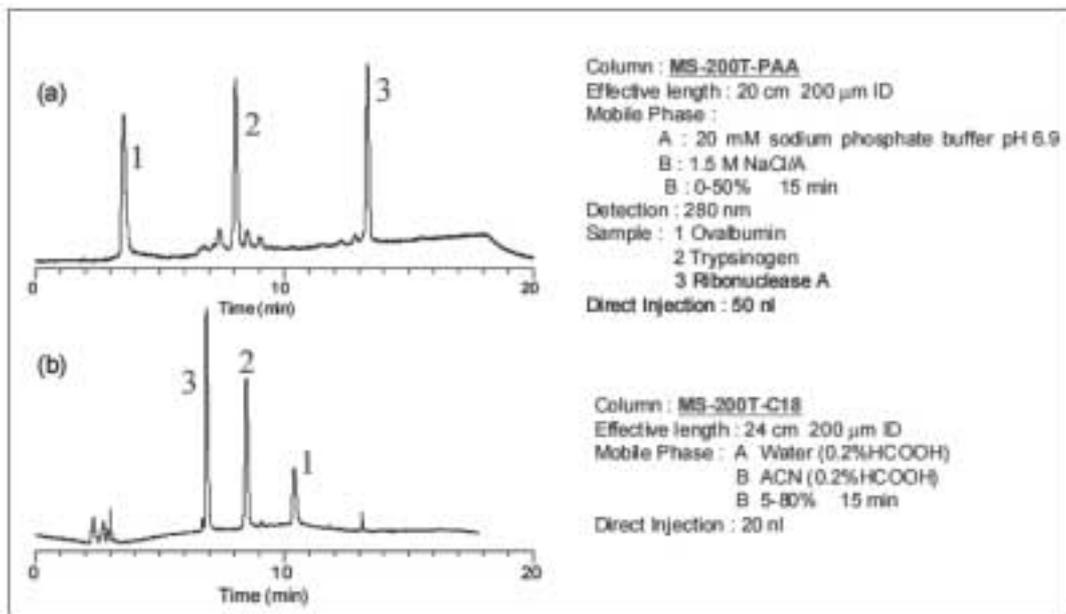


図5 カチオン交換モード(a)と逆相モードにおけるポリペプチドのグラジエント分離  
 (a) カラム: ポリアクリル酸コートモノリス型シリカカラム、(b) モノリス型シリカ C18カラム

ることができるので、ユーザーが調製したリガンドやタンパク質を固定化し、高性能なアフィニティ担体やバイオリクターの担体としても有用である[10,11]。図5は、モノリス型シリカ調製後、アンカーとなる Methacryl ester あるいは amide 結合後、モノマーを共重合してポリマー固定化型としたカラムの分離能力を示している。このポリマー固定化法は、逆相型、(ODM)、HILIC 型 (Amide, PAA)、イオン交換型 (PAA, Sulfonate, Ammonium, Amine) など、広い範囲の固定相の調製に適用でき、しかも、保持を大きくできるという利点をもっている[12,13,14,15]。今後更に種々の固定相による機能化が行われるものと考えられる。

### 3. カラム化技術

ロッド型のモノリスカラムは、三次元ネットワーク状の骨格とその空隙が一体となった階層的多孔構造をもつシリカゲ

ルを円柱状に作製した上で、側面に樹脂、もしくはガラスなどのクラッドを形成し、両端を配管系と連結できるようにエンドフィッティングをつけて製造される。ステンレス管に高圧で充填される粒子とは異なり、機械的強度の比較的低い多孔質カラムの側面にクラッドを形成することは容易ではなく、カラム化技術がモノリスカラムの性能を左右する。そのため理想的な分離性能を求めるためにはカラム化技術の追求が不可欠である。

これまで開発されてきた樹脂タイプとガラスタイプのモノリスカラム作成法について紹介する。シリカモノリスが、溶解シリカキャピラリー管中で、壁面への共有結合を伴って調製されると、直ちにカラムとしての使用が可能となるが、このタイプのキャピラリーカラムについては、この稿から除く。

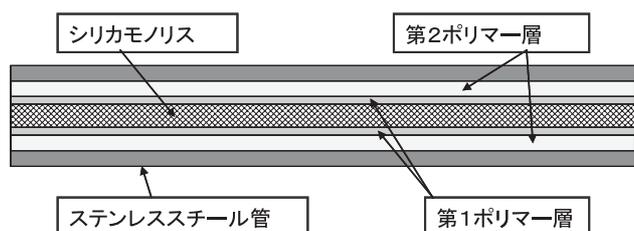


図6 ポリマー樹脂タイプのカラム構造

### 3.1 樹脂タイプ

モノリス型シリカゲルを第一ポリマー樹脂で被覆し、ステンレススチール管と第一ポリマー樹脂の間を第二ポリマー樹脂で充填し、カラムとする(図6) [8]。ポリマー樹脂は、有機ポリマーが主体であり、無機シリカゲルであるモノリス体とは性質が異なることを考慮しておかなければならない。例えばPEEK樹脂などでは疎水性吸着が起こることがある。また樹脂の耐圧、耐温度、耐薬品性が必要なため、ポリマー樹脂の選定には注意しなければならない。この手法の場合、最高使用温度50度、30 MPa程度まで使用可能なカラムを得ることができ、粒子充填型カラムに比べて送液圧力の低いモノリス型シリカカラムでは十分な性能のカラムが製造可能である。またステンレススチール管を用いずに、モノリス型シリカゲルの被覆と外装までをPEEK樹脂で行ったモノリスカラム市販されており、最高使用温度50度、耐圧20 MPaとなっている。

樹脂を用いたカラム化法では、ポリマー樹脂被覆時に高温を必要としないために、カラム化前に行う静的表面修飾とカラム化後の動的表面修飾を行うことができる。

### 3.2 ガラスタイプ

化学用ガラスはシリカゲルと同じケイ酸を主成分とするので、シリカゲルとの馴染みは良いが、両者の機械的強度は大きく異なる。成形されたモノリス体の表面へガラスを一体化させることで、 $\text{SiO}_2$ 以外の物質に対する特異的吸着を抑制した、強固なシリカモノリスを形成させることができる。さらに、ガラスで覆った後に化学処理を行うことで、モノリス体とガラス内面が均一化され、高性能でポリマー被覆タイプに比べて高圧力(60 MPa以上)で使用可能な分離媒体を作製

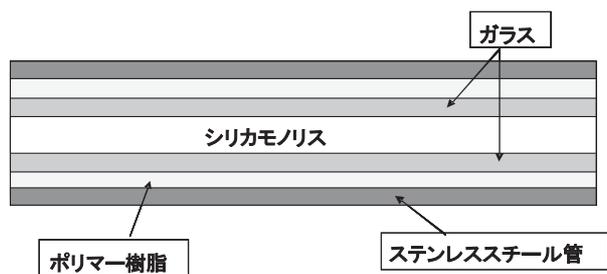


図7 ガラスタイプのカラム構造

することが可能である。

棒状に成型したシリカモノリス体の側面をガラスで被覆するためには、ガラスの軟化点程度の温度において適当な圧力を印加することにより、シリカモノリス体とガラスを融着させることが必要となる。このようにして形成されたガラス被覆シリカモノリス体とステンレスチューブの間をポリマー樹脂で充填し、カラムとすることができる(図7) [16]。ガラスを用いたカラム化法では、ガラス被覆体の状態での静的表面修飾と、カラム化後の動的表面修飾を行うことができる。

## 4. カラム性能の評価

HPLCカラムの評価は、カラム性能、すなわち、溶質バンドの拡がりに関する化学工学的な側面と、溶質に対する保持と選択性に関する化学的な側面を含んでいる。ここで基本的なカラム性能の評価法と、モノリス型シリカカラム(樹脂タイプ)、コアシェル粒子充填カラム、ならびに全多孔性粒子充填カラムの特性の差について簡単に紹介したい。

### 4.1 HPLCにおける溶質バンド(ピーク)の拡がり

単一成分を狭いバンドとしてカラムに注入し溶出する場合においても、その溶質の各分子がどのような経路をたどってカラム出口に到達するかに基づいて、ガウス分布型の溶出曲線(クロマトグラム)が得られる。次の3要素がバンド拡がり(カラム軸方向の拡がり)に寄与すると考えることができる。

- A 多流路拡散 カラム内の各流線の曲がりくねりの差がもたらす、溶質の溶出時間の分散。
- B 分子拡散 溶質分子が移動相液体中あるいは固定相上に存在するとき、時間の経過とともに分子拡散することにより生じる分散。
- C 遅い物質移動(固定相、移動相) 移動相中を流れることによって移動する溶質に対して、充填剤(固定相)中に拡散した溶質が時間的に遅れることによるバンド拡がり、および、移動相中、速度と長さの異なる流線の間を溶質が拡散によって移動する遅さがもたらすバンド拡がり(分散)。

### 4.2 バンド拡がりの評価

ピークの対称性が良い場合、ピーク幅はガウス分布の標準偏差( $\sigma$ )により記述されるが、バンド拡がりの定量的取り扱いには各要素の寄与の合計として分散( $\sigma^2$ )に基づいて行われ、理論段高(H: Height Equivalent to a Theoretical Plate)が、カラム長さ(L)あたりの分散 $\sigma^2/L$ で定義される[17]。

#### 4.2.1 理論段数

理論段数Nは、注入からピークの溶出までの時間(Lに対応:保持時間 $t_R$ )と、あるバンドの溶出に必要な時間(バンド幅(ピーク基部) $t_w = 4\sigma$ 、半値幅 $t_{w1/2} = 2.354\sigma$ )から、

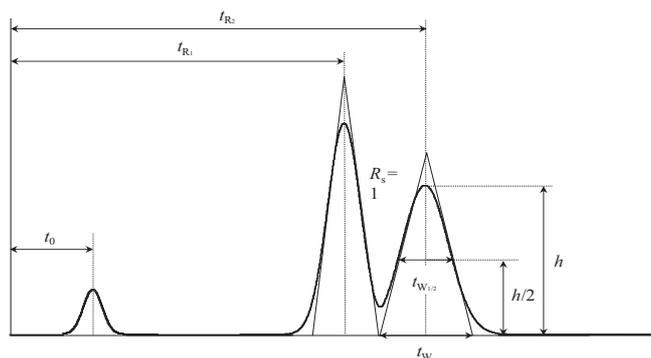


図8 クロマトグラムから得られるカラム性能評価データ

式1を用いて計算される(図8)。モノリス型シリカカラムは、15 cm長で約27000段を与え、3 μm粒子充填カラムより高い性能を示す。

$$N = (L^2 / \sigma^2) = 5.54 (t_R / t_{W1/2})^2 = 16 (t_R / t_W)^2 \quad (1)$$

#### 4.2.2 理論段高

理論段高Hはカラム長さあたりのバンド拡がり  $\sigma^2/L$  で表わされ(式2)、1理論段あたりのカラム長と理解することも可能である。小さなH値が高性能に対応する。よい充填状態のカラムについて、最適線速度において  $H = 2 d_p$  ( $d_p$ : 粒子直径)程度が得られる。通常、クロマトグラム上の保持時間とピーク幅からNを算出し、式2からHが計算される。モノリス型シリカカラムについては、 $H = 5.5 \mu\text{m}$  が得られる。

$$H = \sigma^2 / L = L / N \quad (2)$$

#### 4.2.3 van Deemter plot

van Deemter式(式3)は、Hの移動相溶媒線速度(u)に対する依存性を記述する(図9)[18]。uは式4により、保持されない溶質の溶出時間( $t_0$ )に基づいて計算される。Hのu依存性については、経験的に充填剤粒子径( $d_p$ )、溶質の拡散係数( $D_m$ )との関連が理解され、4.1に記したバンド拡がりの機構と関連付けて理解することが可能である。粒子の充填状態はA項で表される。低速においてB項(分子拡散)支配、高速においてC項(物質移動)支配であり、大きな粒子は遅い物質移動(大きなC項)および大きなA項により大きなバンド拡がりを与える。モノリス型シリカカラムは、比較的大きな線速度( $u = 2 - 4 \text{ mm/s}$ )において、最小理論段高  $H = 5.5 \mu\text{m}$  を示し、2-2.5 μm粒子相当の性能を示す。

$$H = A + B/u + C u \quad (3)$$

$$(H = A d_p + B D_m / u + C d_p^2 u / D_m)$$

$$u = L / t_0 \quad (4)$$

C項の中で移動相中の物質移動にかかわるバンド拡がりに

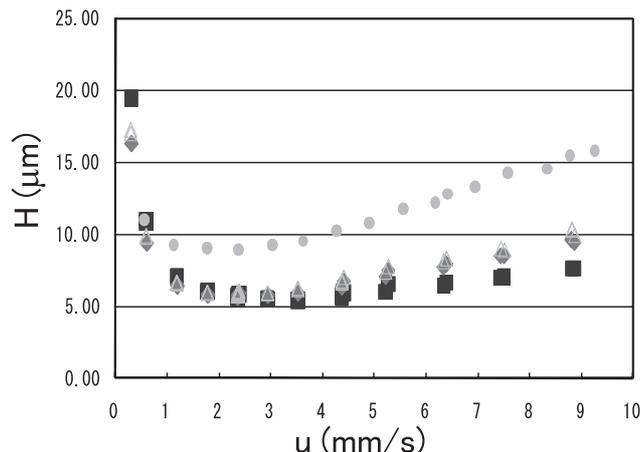


図9 モノリスカラムについて得られる van Deemter Plot.

移動相: 80%  $\text{CH}_3\text{CN}$ ,  
カラム: Monolith Silica C18 (A),  
溶質: 芳香族炭化水素 (■naphthalene, △triphenylene, ◆benzopyrene). Monolith Silica C18(B), ●naphthalene.

ついて、A項の寄与とまとめて考慮することが提案されている[19]。式5において  $C_e, C_m, C_d, C_{sm}$  は、それぞれ多流路拡散、移動相中での物質移動に対する抵抗、カラム軸方向の拡散、充填剤粒子中での溶質の物質移動に対する抵抗の項の寄与を示す係数である。

$$H = 1 / [(1/C_e d_p) + (D_m / C_m d_p^2 u) + C_d D_m / u + C_{sm} d_p^2 u / D_m] \quad (5)$$

換算理論段高 ( $h = H / d_p$ )、換算線速度 ( $v = u \cdot d_p / D_m$ ) を用いて表わされる式6の速度依存性が実験的に得られている。この式を用いて、粒子径の異なる充填剤カラムの特性(例えば充填状態)を比較することができる。 $v = 3 - 20$ が効率的な分離が行われる範囲で、性能のよいカラムは最小値  $h = 2$ 程度を与える[20]。

$$h = A v^{0.33} + B/v + C v \quad (6)$$

#### 4.2.4 Kinetic plot

4.2.1-4.2.3の評価法がカラム圧力に関する要素を含まないのに対して、クロマトグラムから得られる  $t_0 / N^2$ をNに対してプロットして得られるKinetic plotは、圧力、分離時間、理論段数を含む総合的カラム評価を可能とする(図10a)[21]。このプロットは、カラム長によらず一定の線速度において一定の性能(H)が得られると仮定し、ある圧力下、各線速度で送液可能な最長のカラムを用いて発現し得る理論段数を基に計算する。図10aに示すように、粒子径の異なる全多孔性粒子充填カラムは、 $t_0 / N^2$ について一定の最小値を与え、このラインが全多孔性粒子充填カラムの性能限界を示す。

この限界より高い性能(小さな  $t_0 / N^2$ )は、より高い圧力の使用、あるいは、理論段数/圧力の関係において全多孔性

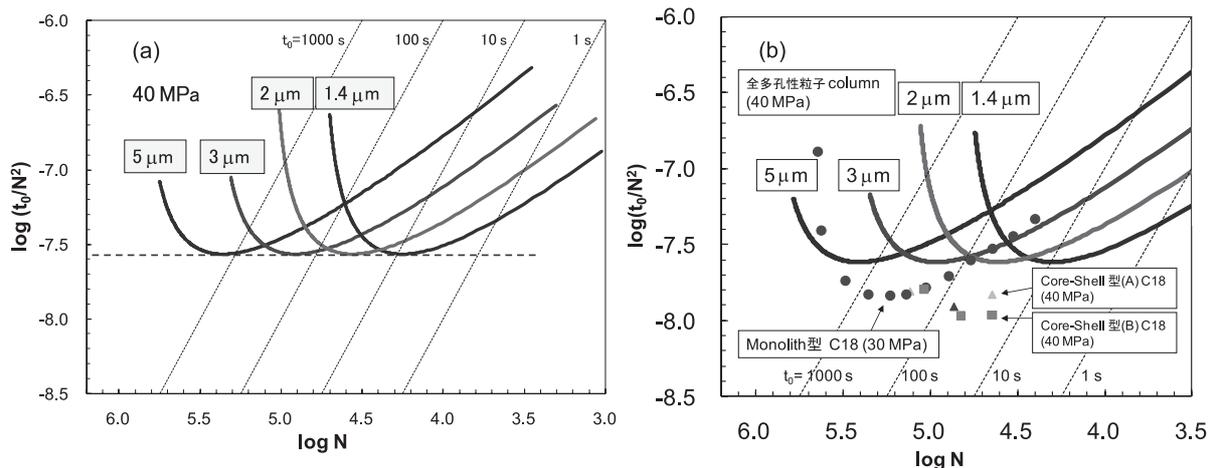


図10 Kinetic plot.

- (a) 全多孔性粒子充填カラム：40 MPa, 80%CH<sub>3</sub>CN, φ=700, η=0.00041 Pa s, D<sub>m</sub>=2.22×10<sup>-9</sup> m<sup>2</sup>/s, Knox 式 h=0.65v<sup>1/3</sup>+2/v+0.08v
- (b) コアシェル粒子 (2.6-2.7 μm) 充填カラム, 40 MPa, モノリス型シリカカラム：30 MPa.

粒子より有利な非多孔性粒子、表面多孔性（コアシェル）粒子充填カラム、あるいはモノリス型シリカカラムにより得られる。図10bが示すように、2.6-2.7 μmのコアシェル粒子は同等の圧力で2 μm全多孔性粒子より高い性能（同等のt<sub>0</sub>で大きなN、あるいは同等のNに対して短いt<sub>0</sub>）を示す。モノリス型シリカカラムは、高い透過率に基づいて高理論段数領域（N>100000）において粒子充填型カラムより高い性能を示す[8]。

4.2.5 ピーク対称性

一般的にピークの対称性は、ピークシンメトリー係数として5%あるいは10%ピーク高におけるピーク後部の幅(B)と前部の幅(A)との比で表される（図11）。厳密には二次中心モーメント（分散）の大きさにより記述される。USP symmetry 係数は、5%ピーク高において式7により計算される。

$$T = (A + B) / 2A \quad (7)$$

Foley-Dorsey 式（式8）は、この要素を含む理論段数の計

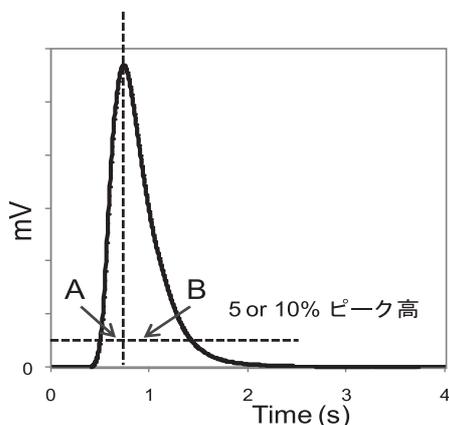


図11 ピークシンメトリー係数

算法を示す[22]。(W<sub>0.1</sub>は10%ピーク高におけるピーク幅、A、Bはそれぞれ、10%ピーク高におけるピーク前部および後部の幅である。) B/A=1.01-2.76に適用可能である。

$$N = 41.7 (t_r / W_{0.1})^2 / [1.25 + (B / A)] \quad (8)$$

4.3 カラム外効果

カラム性能評価においては、インジェクター、配管、検出器など、カラム外の効果によるバンド拡がりやを考慮する必要がある。小さな粒子を充填したカラムは、摩擦熱による温度上昇の効果（カラム内温度分布による分離性能の低下）を抑えるために細いカラムとして使用されることが多いので、短いカラムの評価においてはカラム外効果にとくに注意する必要がある。潜在的に15,000理論段を発現できる2.1 mmID, 5 cm カラムを使用して、k=1程度のピークについて得られる理論段数は、細いチューブ、小さな検出器セルなどを使用してカラム外効果を最少とした装置（システムデッド体積<10 μL）においても8000-9000段にとどまる[23]。市販の装置で得られる理論段数は、一般的にこれよりはるかに小さい。このほかに、検出器の応答速度、データ処理装置の取り込み速度なども、カラム外効果として性能に影響を与える。2.1 mmID, 5 cm 長カラムを高速で使用する場合、k=1付近のピークについて高性能を得るためには、100 Hz (10 ms) 以上の速い検出器応答およびデータ取り込みが望ましい。

4.4 送液圧力

送液圧力と粒子径、溶媒粘度との間に式9の関係がある。移動相の送液に必要な圧力は小さいことが好ましい。K 値（カラム透過率）は、式10 (F: Flow rate) により得られるが、ここで用いられる線速度 uF はカラム内に移動相溶媒のみが存在すると仮定した線速度で、クロマトグラフィー的線

速度  $u$  と、 $u_F = u \varepsilon_T$  ( $\varepsilon_T$ : カラムの全空隙率) の関係がある。送液圧力 ( $\Delta P$ ) は、粒子径分布の広さ、とくに微小粒子の存在により大きく (透過率が小さく) なる。 $\phi$  値 (Flow resistance parameter) は通常500-700程度で、粒子径によらずカラム圧力に関する性能比較を可能とする。小さな  $\phi$  値が高性能を意味する。モノリス型シリカカラムは透過率  $K=2.5 \times 10^{-14} \text{m}^2$  を示し、 $5 \mu\text{m}$  粒子相当の圧力で  $2-2.5 \mu\text{m}$  粒子相当の性能を示している (図2)。

$$\Delta P = \phi \eta u L / d_p^2 \quad (9)$$

$$K = u_F \eta L / \Delta P = (F/\pi r^2) \eta L / \Delta P \quad (10)$$

#### 4.5 逆相クロマトグラフィー用カラムの保持特性の評価

カラムメーカーから添付されるカラム性能評価の結果以外に、多くの要素がカラム特性に含まれる。1970年代からの逆相クロマトグラフィー用カラムの開発を通じて、400種類以上の C18(ODS) カラムが供給されてきている。多種類のカラム、固定相の特性を示すために、固定相のキャラクタリゼーション法がいくつか提案されている。参考文献[24]は、(1)C18固定相の疎水性、立体選択性、水素結合性、およびイオン交換特性などを比較検討するものである。文献[25]では、(2)多数の溶質の保持に基づく多変量解析によりカラムのキャラクタリゼーションを行っている。(1)あるいは(2)を用いたカラムキャラクタリゼーションの結果はデータベースとしてインターネットに掲載され[26,27]、シラノール効果の小さなカラム、保持時間の短いカラムなど、目的に適した分離特性をもつカラム、あるカラムと類似の分離特性をもつカラム、あるいは、大きく異なる選択性を示すと予想されるカラムの選択などのために使用される。シラノール効果や金属不純物の効果など二次的保持効果のない固定相や特徴のある保持特性をもつ固定相の開発、あるいは、新しいカラムの開発後も使用者のために過去に製造したカラムの供給を続けるカラムメーカーの努力が多く、C18カラムが存在する原因となっているが、使用者が各カラムの特徴と性能を理解し、カラムの能力を最大限に利用することが望まれる。

#### 文献

- [1] Flory, P. J. Principles of Polymer Chemistry, Cornell Univ. Press, Ithaca, New York, 1971.
- [2] de Gennes, P. G.; Scaling Concept in Polymer Physics, Cornell Univ. Press, Ithaca, New York, 1979.
- [3] 作花 濟夫、「ゾルーゲル法の科学」、アグネ承風社、1988.
- [4] 神谷 寛一、横尾 俊信、表面、24 巻、131-142、1986.
- [5] Brinker C. J., Scherer G. W. Sol-gel Science, Academic Press, New York, 1990.
- [6] Stauffer D. Introduction to Percolation Theory, Taylor & Francis, London and Philadelphia, 1985.
- [7] Nakanishi K., Shikata H., Ishizuka N., Koheiya N., Soga, N. J. High Resol. Chromatogr. **2000**, 23, 1, 106-110.
- [8] Miyazaki S., Takahashi M., Ohira M., Terashima H., Morisato K., Nakanishi K., Ikegami T., Miyabe K., Tanaka N. J Chromatogr A. **2011**, 1218, 1988-1994.
- [9] Ikegami T., Fujita H., Horie K., Hosoya K., Tanaka N. Anal Bioanal Chem. **2006**, 386, 578-585
- [10] Lubda D., Cabrera K., Nakanishi K., Lindner W. Anal Bioanal Chem. **2003**, 377, 892-901.
- [11] Chen Z., Uchiyama K., Hobo T. J Chromatogr A. **2002**, 942 (1-2):83-91.
- [12] Ikegami T., Horie K., Saad N., Hosoya K., Fiehn O. Tanaka N. Anal. Bioanal. Chem. **2008**, 391, 2533-2542.
- [13] Ikegami T., Horie K., Jaafar J., Hosoya K., Tanaka N., J. Biochem. Biophys. Methods, **2007**, 70, 31-37.
- [14] Ikegami T., Ichimaru J., Kajiwara W., Nagasawa N., Hosoya K., Tanaka N. Anal. Sci., **2007**, 23, 109-113.
- [15] Ikegami T., Horie K., Saad N., Hosoya K., Fiehn O., Tanaka N., Anal. Bioanal. Chem., **2008**, 391, 2533-2542.
- [16] Morisato K., Miyazaki S., Ohira M., Furuno M., Nyudo M., Terashima H., Nakanishi K. J Chromatogr A. **2009**, 1216, 7384-7387
- [17] Neue U. D. HPLC Column; Wiley-VCH: New York, 1997; Chapter 2.
- [18] van Deemter J. J., Zuiderweg F. J., Klinkenberg A. Chem. Eng. Sci. **1956**, 5, 271-289.
- [19] Giddings J. C. Dynamics of Chromatography, Part 1, Principles and Theory; Marcel Dekker: New York, 1965; Chapter 2.
- [20] Bristow P. A., Knox J. H. Chromatographia **1977**, 10, 279-289.
- [21] Desmet G., Clicq D., Gzil P. Anal. Chem. **2005**, 77, 4058-4070.
- [22] Foley J.P., Dorsey J.G. Anal. Chem. **1983**, 55, 730-737.
- [23] Gritti F., Sanchez C. A., Farkas T., Guiochon G. J. Chromatogr. A **2010**, 1217, 3000-3012.
- [24] Kimata K., Iwaguchi K., Onishi S., Jinno K., Eksteen R., Hosoya K., Araki M., Tanaka N. J. Chromatogr. Sci. **1989**, 27, 721-728.
- [25] Snyder L. R., Dolan J. W., Car P. W. Anal. Chem. **2007**, 79, 3255-3261.
- [26] <http://www.acdlabs.com/products/adh/chrom/chromproc/>
- [27] <http://www.usp.org/USPNF/columns.html>