

## コアシェル構造の優位性：

# どうしてコアシェル粒子は理論段数が高くなるのか？

株式会社クロマニクテクノロジーズ 長江徳和

### 1 はじめに

1969年にJ.J.Kirkland<sup>1)</sup>らが開発した高速液体クロマトグラフィー(HPLC)は分離分析の手法としては最も広く世界中に普及した。発表当時に使用されていたカラムには、直径30  $\mu\text{m}$  から40  $\mu\text{m}$  のガラスビーズなどの表面に0.5  $\mu\text{m}$  程度の厚みの多孔質層が存在する粒子が充填されていた。これは当時Pellicular (ペリキュラー) 型充填剤<sup>2)</sup>と呼ばれていた。実はこの充填剤が現在superficially porous particle (表面多孔性粒子, コアシェル粒子) と呼ばれている充填剤の元祖である。その後HPLCカラムに用いる充填剤の開発は精力的に行われ、様々な官能基を結合した固定相の開発に加え、充填剤基材もペリキュラー型充填剤から粒子径10  $\mu\text{m}$  の破砕形全多孔性のシリカへ移行した。さらに高性能化が進められると、球形の全多孔性シリカが開発され、粒子径も10  $\mu\text{m}$  から、1980年代には5  $\mu\text{m}$  が主流になり、1990年代には3  $\mu\text{m}$  も多用されるようになった。理論段数は粒子径に反比例して上がるため、粒子の10  $\mu\text{m}$  から3  $\mu\text{m}$  への微細化により3倍以上の理論段数の向上が達成された。21世紀に入るとHPLC装置の高性能化(高耐圧化)に伴い、2.5  $\mu\text{m}$  からサブ2  $\mu\text{m}$  へと更なる微粒子化が進み、ハイスループット分析が可能となった。充填剤の高性能化は全多孔性粒子の微細化だけでなく、1990年代以降ノンポーラス粒子、全多孔性シリカ骨格内に炭素あるいは炭素鎖を組み込んだハイブリッド型粒子、および $\mu\text{m}$  オーダーのスルーパーとnmオーダーのメソポーラーを持つ共連続体をカラムとして用いるモノリス型カラムも提案されてきた。さらに2000年にはタンパク質などの生体高分子分離用に厚さ0.25  $\mu\text{m}$  の多孔質層、直径4.5  $\mu\text{m}$  の核(ノンポーラスシリカ)を持つ粒子径5  $\mu\text{m}$  の表面多孔性充填剤<sup>3)</sup>が発表された。これは初期のペリキュラー型充填剤の核が30  $\mu\text{m}$  から4.5  $\mu\text{m}$  に小さくなったものである。その後2007年に核の直径が1.7  $\mu\text{m}$  で多孔質層が0.5  $\mu\text{m}$  のコアシェル充填剤が発表<sup>4)</sup>され、コアシェル充填剤・カラムの性能の高さが認知され、広く普及し始めた。数年後には多くのHPLCカラムメーカーがコアシェルカラム市場に参入し、1.3  $\mu\text{m}$  から5  $\mu\text{m}$  の粒子径のコアシェルカラムが入手可能となった。本稿ではコアシェル型充填剤の高性能化について述べる。

### 2 市販コアシェルカラムの現状

コアシェルカラムは前述のように2000年にタンパク質用に粒子径5  $\mu\text{m}$  のものが開発されたが、市場的には大きく広まることがなかった。しかし2007年に粒子径2.7  $\mu\text{m}$  のコアシェル充填剤が開発された後、各社から同様なカラムが市販<sup>5)</sup>され、2021年現在は少なくとも33社のコアシェルカラムが利用できる様になった。表1に現在市販されているコアシェルカラムを示す。粒子径は1.3  $\mu\text{m}$  から5  $\mu\text{m}$ 、細孔径は8 nm から100 nm、さらに固定相は逆相系を中心に、ヒリックや、ミックスモード系など、幅広い選択肢がある。Bellらは新製品として発表されたクロ

# 1 市販されているコアシェルカラム

Manufacturer	Brand	Particle size (μm)	Porous layer thickness (μm)	Pore diameter (nm)	Surface area (m <sup>2</sup> /g)	Bonded phase	
1	Acchrom	StarCore	2.0, 2.7, 4.6	0.4, 0.5, 0.6	9, 16	120, 135, 90	C18, C18 AQ, C8, Phenyl-Hexyl, PFP, HILIC,
2	Advanced Materials Technologies	HALO	2.0, 2.7, 3.4, 4.6	0.2, 0.4, 0.5, 0.6	9, 16, 40, 100	120, 135, 15, 90	C18, C8, Phenyl-Hexyl, PFP, Cyano, RP-Amide, HILIC, Pentahydroxy-HILIC, C4, Glycan
3	Agilent Technologies	Poroshell	1.9, 2.7, 4, 5	0.25, 0.5	12, 30	130	C18, C8, Phenyl-Hexyl, PFP, SB-Aq, Cyano, HILIC
4	Bonna-Agela	Bonshell	2.7		9	150	C18
5	Chromatnik Technologies	SunShell	2.0, 2.6, 3.4, 3.5, 4.6	0.2, 0.4, 0.5, 0.6	9, 12, 16, 30, 100	150, 90, 40, 15, 22	C18, RP-AQUA, C8, PFP, Phenyl-Hexyl, 2-Ethylpyridine, HILIC-Amide, C30, Hexafunctional C18, C4
6	Dr Maisch	ReproShell	2.6, 2.7, 5		8, 9	130, 140	C18, C8, Biphenyl, Phenyl-hexyl, PFP, Si
7	Esporalab	Thunder CS	2.6, 3.5	0.5, 0.6	9	150	C18, Biphenyl, HILIC
8	Fortis Technologies	SpeedCore	2.6, 3.5, 5	0.4	8, 16, 30	140	C18, C18-Amide, C18-PFP, Diphenyl, PFP, HILIC C8, C4
9	FUJIFILM	Wakopak Core C18 ADRA 2.6					C18
10	GL Sciences	InertCore	2.4	0.3	9	100	C18
11	Glantreo	Eiroshell	1.7, 2.6		10, 30	130, 100	C18, C4, Phenyl-Hexyl, PFP, SILICA
12	Guangzhou Techway	GOWON	2.0, 2.7, 4.6	0.4, 0.5, 0.6	9, 16	120, 135, 90	C18, C18 AQ, C8, Phenyl-Hexyl, PFP, HILIC,
13	Horizon Chromatography	AURASHELL	2.7, 3.5	0.25, 0.5	9, 16, 30	130, 90, 20	C18, C18/PFP, C4, HILIC
14	Interchim	Uptisphere CS Evolution	2.6	0.5	8.5	130	C18, C18 AQ, RP/SCX, HILIC, SILICA
15	Knauer	BlueShell	2.6, 4.5	0.5	8	130	C18, C8
16	Merck (supelco)	Ascentis Express BioShell	2.0, 2.7, 3.4, 5	0.2, 0.4, 0.5, 0.6	9, 16, 40	120, 135, 80, 15, 90	C18, C8, C4, RP-Amide Phenyl-Hexyl, Biphenyl, Cyano, PFP, Pentahydroxy-HILIC
17	Macherey-Nagel	NucleoShell	2.7	0.5	9	130	C18, Phenyl-Hexyl, PFP, HILIC
18	Nacalai Tesque	CosmoCore	2.6	0.5	9	150	C18, Cholesterol, Pentabromobenzyl
19	Nanologica	SVEA Core	2.6	0.5	9	130	C18, Phenyl-Hexyl
20	Nouryon	Kromasil ClassicShell EternityShell	2.5	0.5		110	C18, C8
21	Perkin Elmer	Brownlee SPP	2.7	0.5	9, 16		C18, C8, Phenyl-Hexyl, PFP, RP-Amide, HILIC
22	Phenomenex	Kinetex/ Aeris	1.3, 1.7, 2.6, 3.6, 5	0.2, 0.23, 0.35, 0.67	10, 20	200	C18, C8, Phenyl-hexyl, PFP, Biphenyl, HILIC, C4
23	Restek	Raptor	2.7		9	150	C18, Biphenyl, PFP, HILIC
24	Sepax Technologies	Opalshell	2.6	0.5	9	150	C18
25	Osaka Soda	Capcell Core	2.7	0.5	9, 16, 30	150	C18, AQ, Adamantyl, Phosphocholine, PFP
26	SCAS	Sumipax ODS Z-Shel	2.6	0.5	9	150, 40	C18
27	Shimadzu	Shim-pack Velox	1.8, 2.7, 5		9	100, 125, 130	C18, Biphenyl, PFPP, HILIC
28	SIELC Technologies	Coresep	2.7		9		Mixed mode: RP + cation exchange, RP + anion exchange, HILIC + ion exchange
29	Thermo Scientific	Accucore	2.6, 4		8, 15	130	C18, C8, C4, AQ, Phenyl-Hexyl, Phenyl, C30, PFP, HILIC
30	VWR	UltraCore UltraCore BIO	2.5, 3.5, 5		9.5, 30, 50	115, 130, 16, 23	C18, C4, Phenyl-hexyl, Biphenyl, Diphenyl
31	Waters	Cortecs	1.6, 2.7	0.26	9	100	C18, C8, Phenyl-Hexyl, HILIC
32	Welch	Boltimate	2.7	0.5	9	120	C18, Phenyl-Hexyl, PFP, HILIC
33	YMC	Meteorite Core	2.7	0.5	8, 16	150, 90	C18, C8

マトグラフィーカラムなどの報告をしている<sup>7-10)</sup>。それによると逆相カラム・ヒリックカラムを合わせた合計では、ポリマー、全多孔性シリカおよびコアシェルシリカなどすべてのカラムに占めるコアシェルカラムの比率は、2015年では13/31、2016年では12/27、2017年では9/24、2018年では11/27、2020年では7/11であり、この6年では市場に出てくるカラム全体のほぼ40%がコアシェルカラムであった。また生体高分子用の逆相カラムに限定すると、2015年では6/14、2016年では5/6、2017年では4/6、2018年では1/2であり、コアシェルカラムの割合が非常に高い。これは近年需要が大きくなっている抗体医薬品などの分析には、全多孔性充填剤よりもコアシェル充填剤に優位性があることに起因していると推察される。

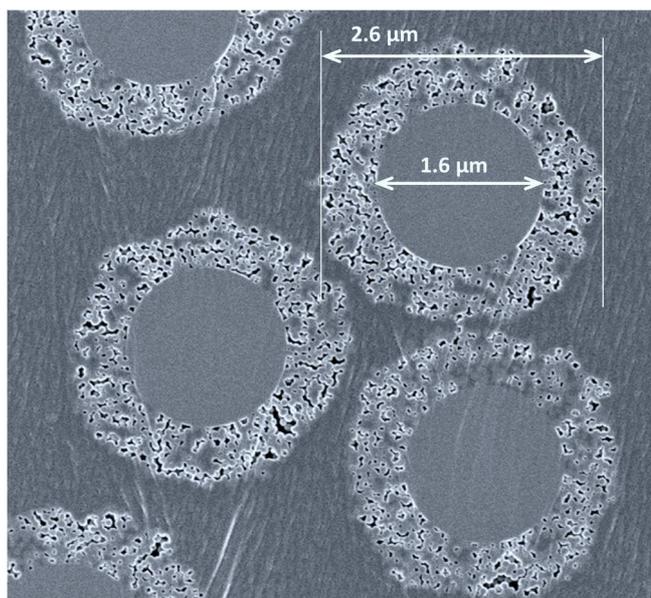


図1 細孔径 100 nm のコアシェルシリカ

### 3 コアシェル粒子の構造

コアシェル粒子は中心部の核 (Core) と外側の多孔質層 (Shell) の2つの異なるシリカから構成される。クロマニックテクノロジー社のコアシェルシリカである粒子径 2.6  $\mu\text{m}$  で細孔径 100 nm の SunShell 粒子の電子顕微鏡写真を図1に示す。これはコアシェルシリカ粒子を樹脂包埋し、Ar イオンミリングにより断面加工し、導通処理のため Os (オスミウム) 蒸着処理を施しており、ほぼ粒子の真ん中で輪切りにした状態になっている。中心部の核と表面の多孔質層が明確に映っている。粒子サイズは図1に示しているように核の直径は 1.6  $\mu\text{m}$  で、多孔質層の厚さは 0.5  $\mu\text{m}$  で粒子径は 2.6  $\mu\text{m}$  となっている。この電子顕微鏡写真で分かるように多孔質層はシリカの微粒子 (一次粒子) が集まってできており、粒子間の隙間が細孔になる。このコアシェルシリカの平均細孔径は 100 nm であり、多孔質層を形成しているシリカの一次粒子の直径も約 100 nm であり、ほぼ同じ大きさである。低分離分離用の充填剤の細孔径は 10 nm 前後であり、このサイズの細孔は金属をシリカ表面に蒸着することで、細孔が埋まってしまい、電子顕微鏡写真で細孔を観察することは難しくなる。図2に粒子径 2.6  $\mu\text{m}$  で細孔径 16 nm の SunShell 粒子の電子顕微鏡写真を示すが、細孔が小さいため、多くの孔が金属蒸着でつぶれてしまっている。表1に示されている様に市販されているコアシェルカラムの充填剤の細孔径は低分子用の 8 nm から 12 nm, 高分子 (タンパク質等) 用の 30 nm, 100 nm まで幅広く利用できる。

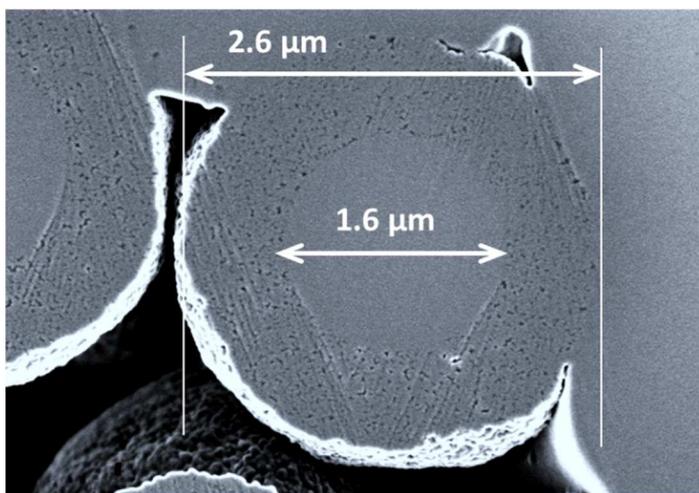


図2 細孔径 16 nm のコアシェルシリカ

### 4 コアシェル型充填剤の性能評価

#### 4・1 Van Deemter Plot

全多孔性 C18 の 5  $\mu\text{m}$ , 3  $\mu\text{m}$ , 1.8  $\mu\text{m}$  およびコアシェル型 C18 (SunShell C18) の理論段高さと移動相線流速の関係 (Van Deemter Plot) を図3に示す。Van Deemter の式は以下の様に表される。

$$H = A dp + B \frac{Dm}{u} + C \frac{dp^2}{Dm} u$$

H, dp, u および Dm はそれぞれ理論段高さ, 粒子径, 移動相の線流速およびアナライトの移動相中の拡散係数である。A 項は多流路拡散・渦巻き拡散 (エディー拡散), B 項はカラム軸方向への拡散, C 項は物質移動の項であり、特に C 項は固定相-移動相での物質移動, 粒子内での拡散による物質移動に依存する。Van Deemter の式に示される様に、A 項は粒子径に比例し、C 項は粒子径の二乗に比例する。また移動相の線流速に対し A 項は無関係でゼロ次関数であり、B 項は反比例し、C 項は比例する。線流速が小さい場合には B 項が理論段高さに大きく寄与

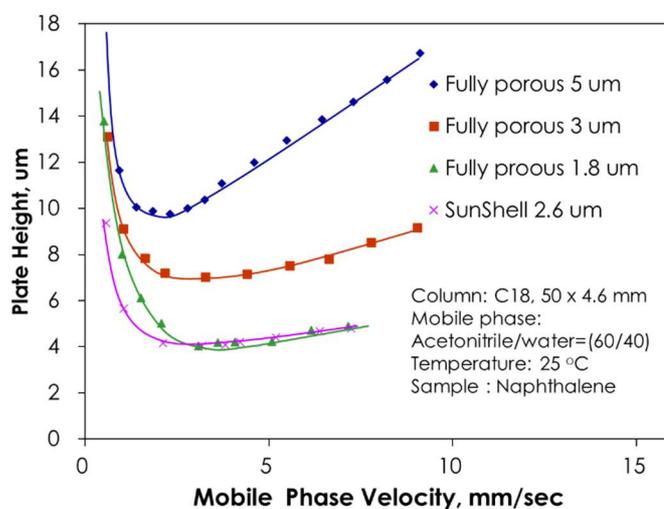


図3 理論段高さと移動相線流速の関係

し、逆に線流速が大きい場合にはC項が大きく寄与する。Van Deemter の式はこのように粒子径が小さくなるほど理論段高さは低くなり、カラム長を理論段高さで除した値の理論段数は高くなることを表している。図3に示されている様に、全多孔性のC18 充填剤では粒子径が小さいほど理論段高さは低くなった。しかしながらコアシェル型C18の理論段高さは、粒子径が2.6 μm でありながら、1.8 μm の全多孔性C18 とほぼ同じであった。粒子径のみが異なり他の物性が同じ全多孔性C18はA項・B項・C項の定数A・B・Cは同値であると考えられるが、コアシェル型C18ではこの定数の値が異なっていると考えられる。図3のVan Deemterプロットを比較すると、2.6 μm のコアシェル型C18はVan Deemterの式の定数A・B・C全てが小さくなると考えられ、以下にA・B・C項について考察する。

#### 4・2 Van Deemter の式のA項

A項は多流路拡散・渦巻き拡散（エディー拡散）の項であり、カラム内の粒子間隙が狭いほど、カラム内の粒子間での多流路拡散・渦巻き拡散が小さくなり、その結果A項の値が小さくなる。A項は粒子径（dp）に比例しており、粒子径が2倍になれば、粒子間隙も2倍になり、A項も2倍になる。図4には全多孔性シリカとコアシェルシリカの粒度分布を示す。粒度分布の評価の方法として、粒子の小さい方から10%の粒子径(D10)と90%の粒子径(D90)の比を用いた。全多孔性シリカは中位の粒子径(D50)が1.8 μm で、D90/D10が1.50の場合の粒子分布であり、一般的なHPLC/UHPLC用シリカ充填剤の平均的な粒度分布である。一方、コアシェルシリカは粒子径(D50)が2.6 μm で、D90/D10が1.10であり、粒度分布

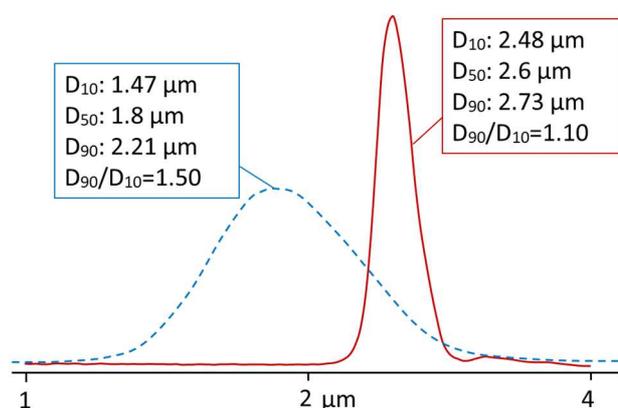


図4 全多孔性シリカとコアシェルシリカの粒度分布

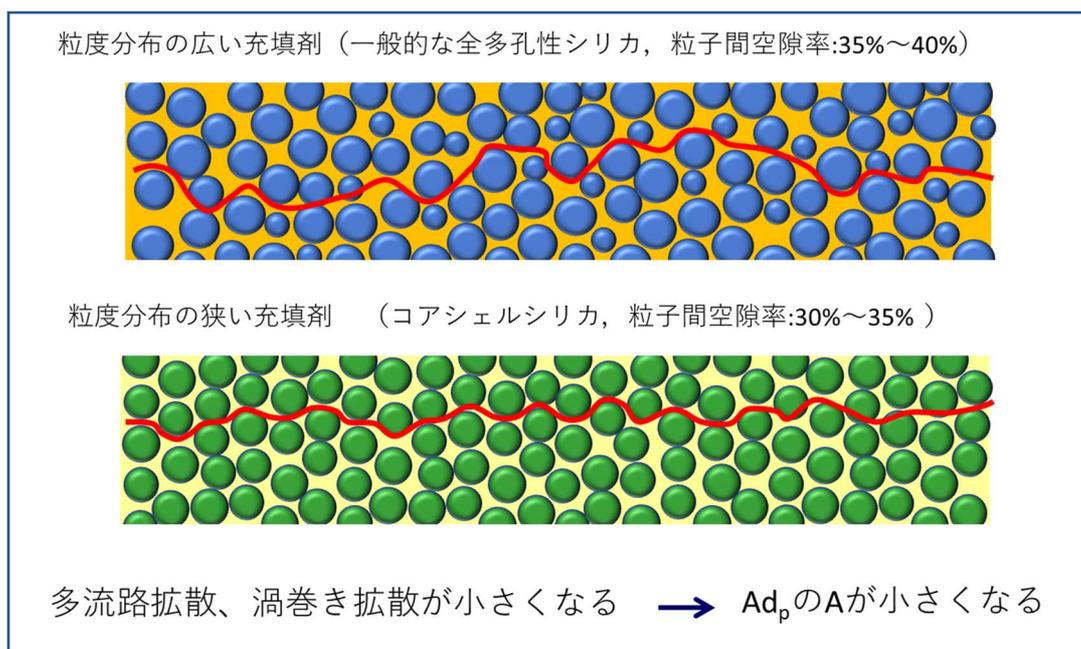


図5 多流路拡散・渦巻き拡散（エディー拡散）の模式

が狭いことが特徴である。図 5 には多流路拡散・渦巻き拡散（エディー拡散）の模式図を示す。カラム内の充填剤の充填状態と移動相が流れる流路を示している。粒度分布の広い一般的な全多孔性シリカは粒子間空隙率が 35% から 40% であるのに対し、粒度分布の狭いコアシェルシリカは粒子間空隙率が 30% から 35% 程度であり、コアシェルシリカの方が粒子間空隙は小さくなり、多流路拡散・渦巻き拡散が小さくなる。その結果 Van Deemter の式の A 項が小さくなる。粒度分布は中心部に核が存在するコアシェル構造とは関係がなく、全多孔性シリカでも、コアシェルシリカと同程度の粒度分布のものができれば、A 項は小さくできる。

#### 4・3 Van Deemter の式の B 項

B 項はカラム軸方向への拡散であり、アナライトの移動相中の拡散係数(Dm)に比例し、移動相の線流速に反比例する。移動相の線流速が低いほど、カラム内にアナライトが留まっている時間が長くなり、拡散は時間の長い分大きくなる。また、B 項は充填剤の粒子径には依存しない。図 6 にカラム軸方向へのアナライトの拡散の模式図を示す。図 1 の電子顕微鏡写真で分かるように多孔性シリカは無孔性のシリカがランダム結合しその隙間が細孔となっているため、全多孔性シリカの細孔は粒子を貫通している。また細孔容積は充填剤の体積の 50% 以上であり、粒子の 50% 以上が貫通孔となっている。全多孔性シリカは細孔が貫通しているため、アナライトは充填剤シリカを通り抜けることができる。一方コアシェルシリカは粒子の中心部に無効性のシリカの核（コア）があり、アナライトはこのシリカコアを通り抜けることができない。またこのシリカコアはカラムの断面に対し、約 30% の面積に相当するため、アナライトのカラム軸方向への拡散も 30% 程度抑制されると考えられる。つまり、全多孔性シリカに比べ、コアシェルシリカは B 項の定数の B 値が約 70% になっていると推察される。

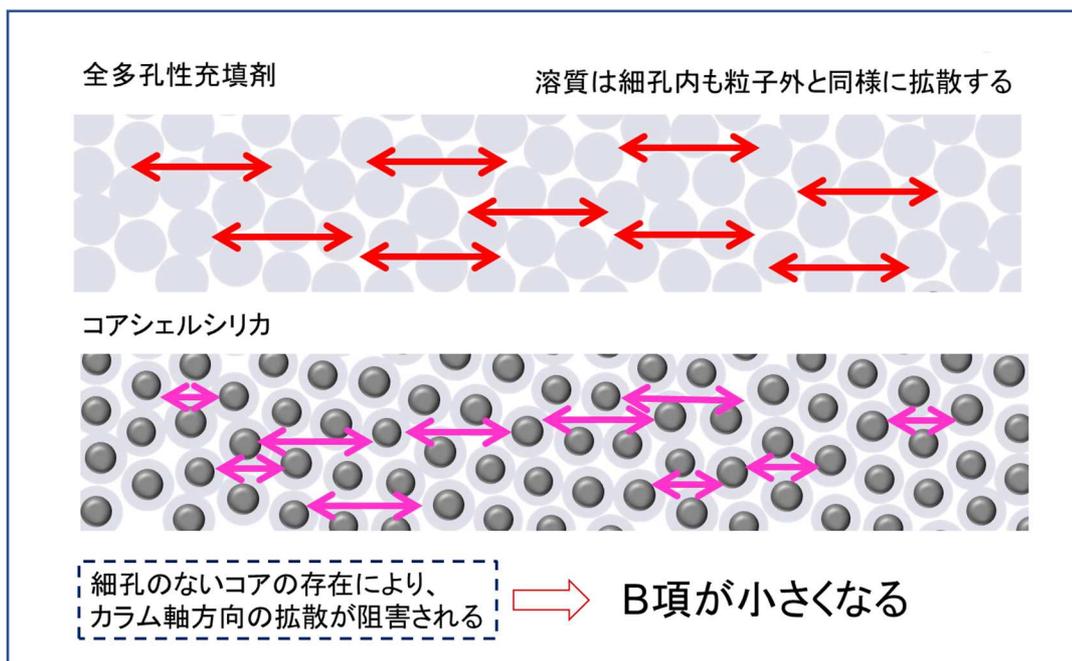


図 6 カラム軸方向へのアナライトの拡散の模式図

#### 4・4 Van Deemter の式の C 項

C 項は物質移動の項であり、粒子径の二乗に比例し、移動相の線流速に比例する。粒子径の二乗に比例とは、2 倍の粒子径の差が C 項では 4 倍の差となり、粒子径が最も大きく関与する項である。C 項の固定相－移動相での

物質移動は粒子細孔内での拡散による物質移動に比べ理論段高さに与える影響が小さいため、粒子細孔内での拡散による物質移動が C 項を決める大きな要因となる。移動相は粒子間の隙間では流れているが、粒子の細孔内ではアナライトも含め、ほぼ拡散（ブラウン運動）によって移動している。アナライトは充填剤の細孔に入り込み、細孔内でランダムに拡散移動し、細孔から出て、粒子間隙で流れている移動相と共に次の充填剤に移動する。この場合充填剤の粒子径が大きい程、アナライトは充填剤細孔に入ってから出てくるまでに時間がかかるため、移動相の流れと共に移動するアナライトとの移動速度の差が生じ、ピークは広がる。図 7 に充填剤細孔内でのアナライトの移動距離とピーク幅の関係についての模式図を示す。全多孔性シリカとコアシェルシリカを比較すると、コアシェルシリカは中心部に無孔性のシリカが存在し、図 1 の電子顕微鏡写真で分かるように、多孔質部が充填剤の外側に層を形成している。従って、コアシェルシリカは同じ粒子径の全多孔性シリカに比べ、充填剤細孔内に入って、出てくるまでの、移動距離が短くなり、時間も短くなる。つまり、コアシェルシリカは多孔質部が層として存在するため、全多孔性シリカに比べ、アナライトの細孔内での移動時間が短くなり、C 項が小さくなる。

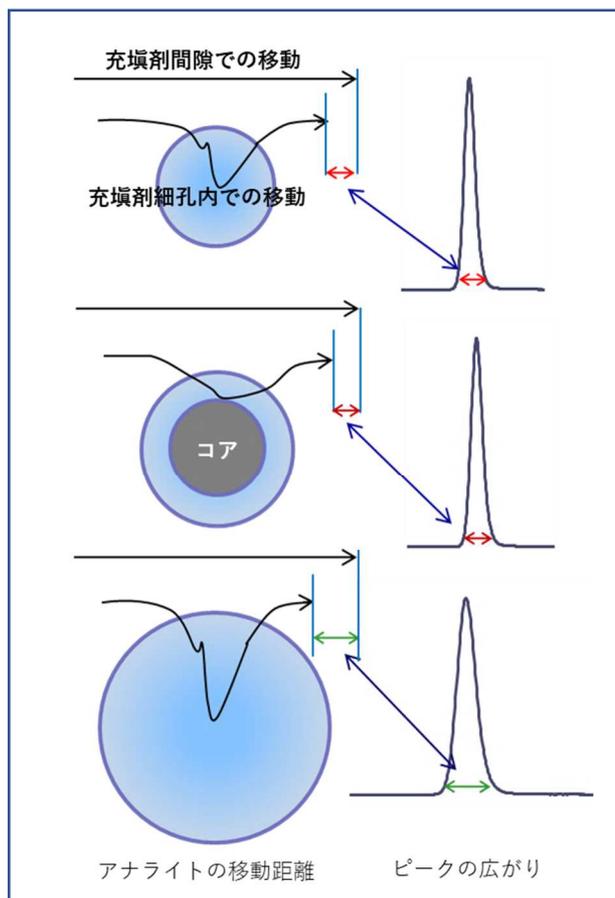


図 7 充填剤細孔内でのアナライトの移動距離とピーク幅の関係

#### 4・5 コアシェルカラムの理論段数向上率

今まで述べてきたようにコアシェルカラムは全多孔性充填剤充填カラムに比べ、Van Deemter の式の A 項、B 項および C 項の全部の項で値が小さくなることにより理論段高さが低くなり、理論段数が大きくなる。長江ら<sup>11)</sup>は粒子径 2.7  $\mu\text{m}$  のコアシェル型 C18 と全多孔性 C18 充填剤の比較を Van Deemter Plot を用いて、A 項、B 項および C 項に分解し、それぞれ独立した関係式として比較した。図 8 にはこの Van Deemter Plot を示す。移動相の線流速が 5 mm/sec の時の全多孔性 C18 充填剤に対するコアシェル型 C18 充填剤の A 項、B 項および C 項それぞれ独立した項の減少率を計算すると、それぞれ 15%、5%および 14% となった。すべての項を合わせた理論段高さの減少率はそれぞれの項の減少率を加えた 33%とな

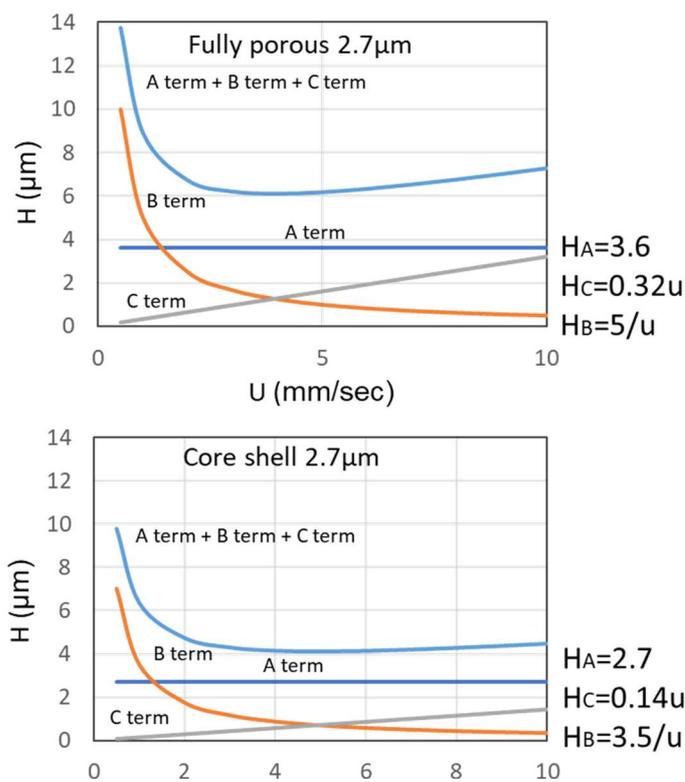


図 8 粒子径 2.7  $\mu\text{m}$  の C18 充填剤の Van Deemter Plot

る。理論段高さとしては 67%となり、理論段数の上昇率に換算すると 149%となる。同じ粒子径での比較ではコアシェル型 C18 は全多孔性 C18 よりも 49%理論段数が上昇することを示している。

## 5 コアシェルカラムの分離例

図 9 にはコアシェルカラムである SunShell C18 2.6  $\mu\text{m}$ , 250 X 4.6mm i.d. を用いた標準試料のクロマトグラムとそれぞれのピークの理論段数を示す。この分離条件では 45 MPa のカラム背圧がかかっており、装置流路の容積を小さくし、カラム以外の容積による段数の低下を極力抑えた UHPLC を用いた。二番目のトルエンピークは 69,000 段以上の理論段数が得られている。粒子径 3  $\mu\text{m}$  の全多孔性の C18 カラムでは 40,000 段前後の理論段数が得られるが、粒子径の差を考慮してもコアシェル型 C18 カラムは約 50%高い理論段数が得られている。各ピークの理論段数を比較すると溶出の早いピークほど高い値になっている。これは Van Deemter の式の B 項のカラム軸方向の拡散により説明でき、遅く溶出するピークほどカラム内に留まっている時間が長く、カラム軸方向の拡散が大きくなってピーク幅が広がったためである。

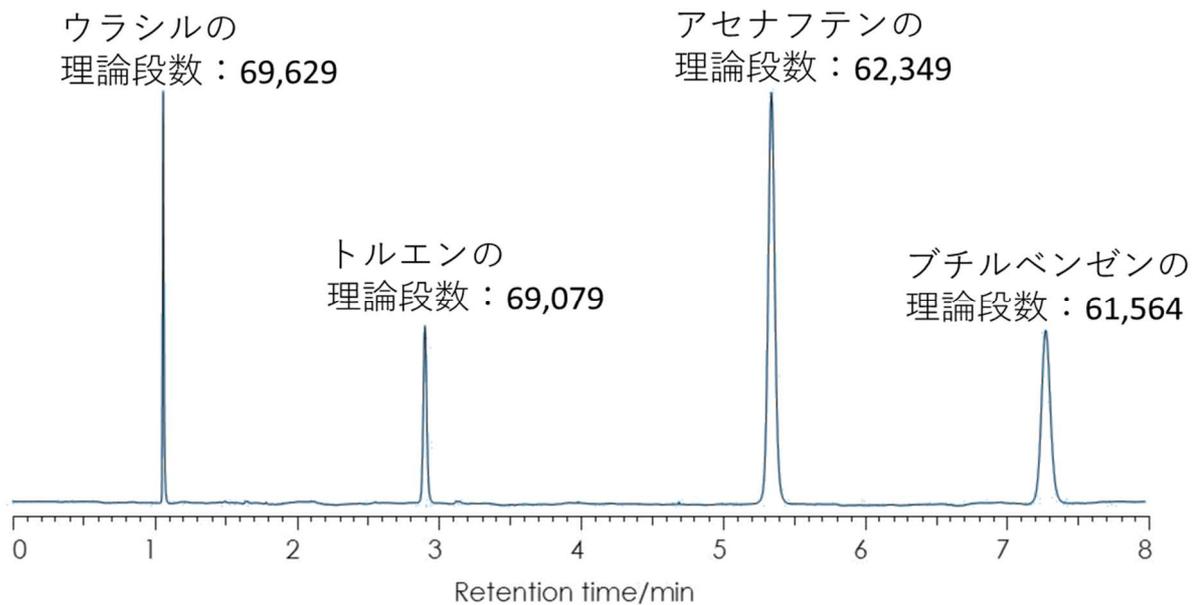


図 9 コアシェル型 C18 カラムによる標準試料の分離

測定条件：カラム, SunShell C18 2.6  $\mu\text{m}$ , 250 X 4.6mm i.d.; 移動相, アセトニトリル/水=60/40; 流量, 1.8 mL/min; カラム温度, 25°C; 検出; UV250 nm; ピーク, 1=ウラシル, 2=トルエン, 3=アセナフテン, 4=ブチルベンゼン, UHPLC 装置, Jasco X-LC.

## 6 まとめ

本稿ではコアシェルカラムの理論段数向上を Van Deemter の式を用いて解説した。全多孔性充填剤ではカラムの理論段数向上は粒子の微細化により達成されてきた。理論段数は粒子径に反比例し増加するが、カラム背圧は粒子径の二乗に反比例し上昇する。また微粒子化に伴い、理論段数の極大値はより移動相線流速の高い方にずれる。これらを考慮すると、微粒子化に共ない、圧力は粒子径の三乗に反比例し上昇することになる。コアシェルカラムの登場は、微粒子化だけに頼らない高性能化をもたらした画期的な技術であると言える。

文 献

- 1) J. J. Kirkland: *J. Chromatogr. Sci.*, **7**, 7 (1969).
- 2) C. Horvath, B. A. Preiss, S. R. Lipsky: *Anal. Chem.*, **39**, 1422 (1967).
- 3) J. J. Kirkland, F. A. Truszkowski, C. H. Dilks Jr., G. S. Engel: *J. Chromatogr. A*, **890**, 3 (2000).
- 4) J. J. Kirkland, T. J. Langlois, J. J. DeStefano: *Am. Lab.*, **39**, 18 (2007).
- 5) J. J. DeStefano, T. J. Langlois, J. J. Kirkland: *J. Chromatogr. Sci.*, **46**, 254 (2008).
- 6) E. M. Borges, M. A. Rostagno, M. A. A. Meireles: *RSC Adv.*, **4**, 22875 (2014).
- 7) D. S. Bell: *LCGC NORTH AMERICA*, **34**, 9, 242 (2016).
- 8) D. S. Bell: *LCGC Europe*, **30**, 4, 196 (2017).
- 9) D. S. Bell: *LCGC NORTH AMERICA*, **36**, 4, 234 (2018).
- 10) D. S. Bell: *LCGC NORTH AMERICA*, **38**, 4, 211 (2020).
- 11) N. Nagae, T. Tsukamoto: *HPLC2014*, P-470 (2014).  
([http://chromanik.co.jp/technical/pdf/hplc2014\\_poster2.pdf](http://chromanik.co.jp/technical/pdf/hplc2014_poster2.pdf)) (2021年4月28日, 最終確認).

株式会社 クロマニック テクノロジーズ  
552-0001 大阪府大阪市港区波除 6-3-1  
TEL: 06-6581-0885 FAX: 06-6581-0890  
E-mail: [info@chromanik.co.jp](mailto:info@chromanik.co.jp)  
Website: <http://chromanik.co.jp>

202106