

YS-10
日本薬学会第132年会
新技術・新製品セミナー

日本発(初)! コアシェル型C18: 全多孔性充填剤の限界を超えた性能

クロマニック テクノロジーズ

塚本 友康, 長江 徳和

Email: info@chromanik.co.jp

<http://chromanik.co.jp>



コアシェル充填剤とは

Superficially porous particle



コア（核）の周りに多孔質層が存在



粒子径によりカラム圧は決まり，粒子径の2乗に反比例してカラム圧は高くなる

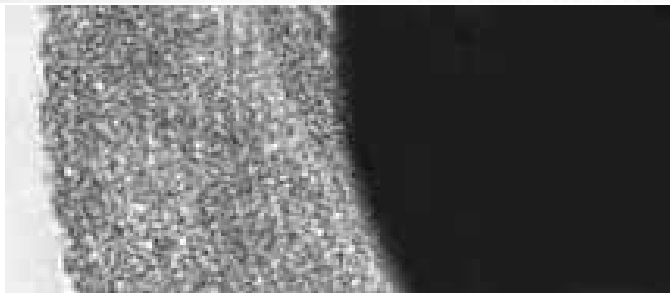
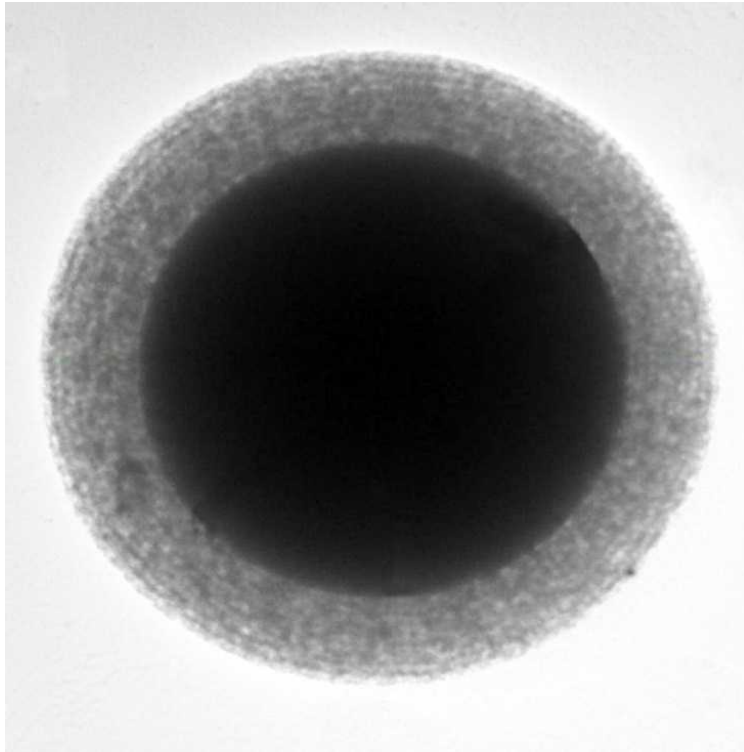


同じ粒子径の全多孔性の粒子に比べ，コアシェル粒子は多孔質層が薄い
ため，溶質の拡散距離が短くなり，速く平衡化するため，段数が高くなる

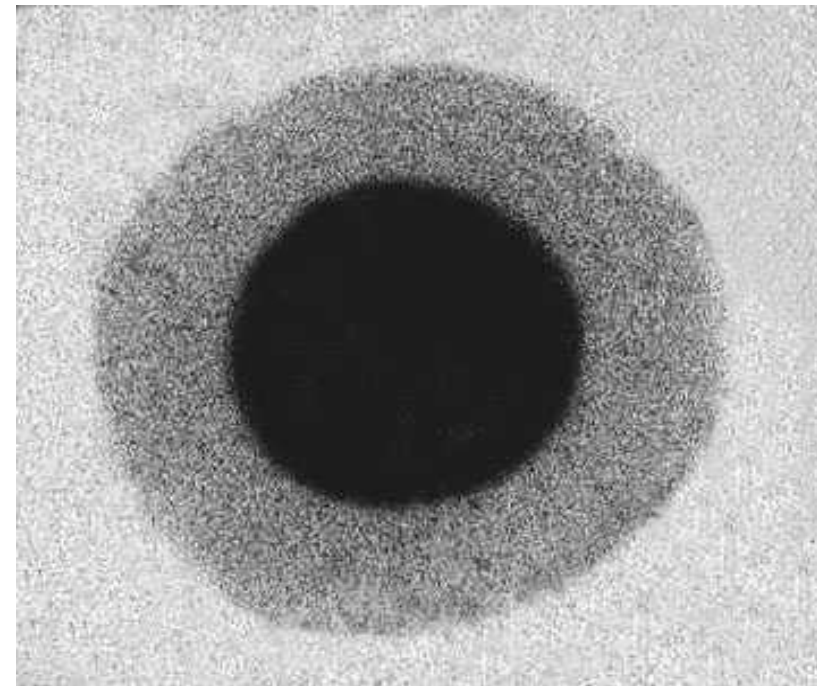


つまり，コアシェルは3 μm 粒子の圧力と同等であるにもかかわらず，サブ2 μm の性能を発揮する

二種類のコアシェル構造のシリカ粒子

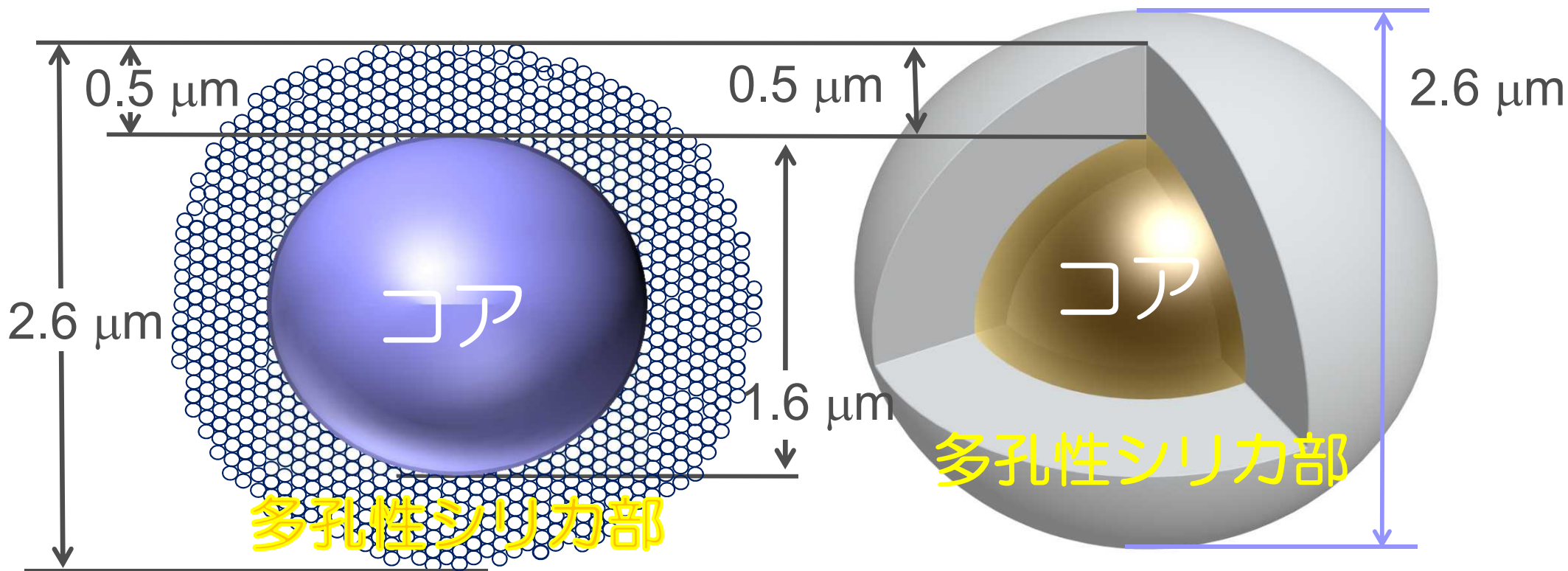


マルチレイヤー（多層）多孔質層構造



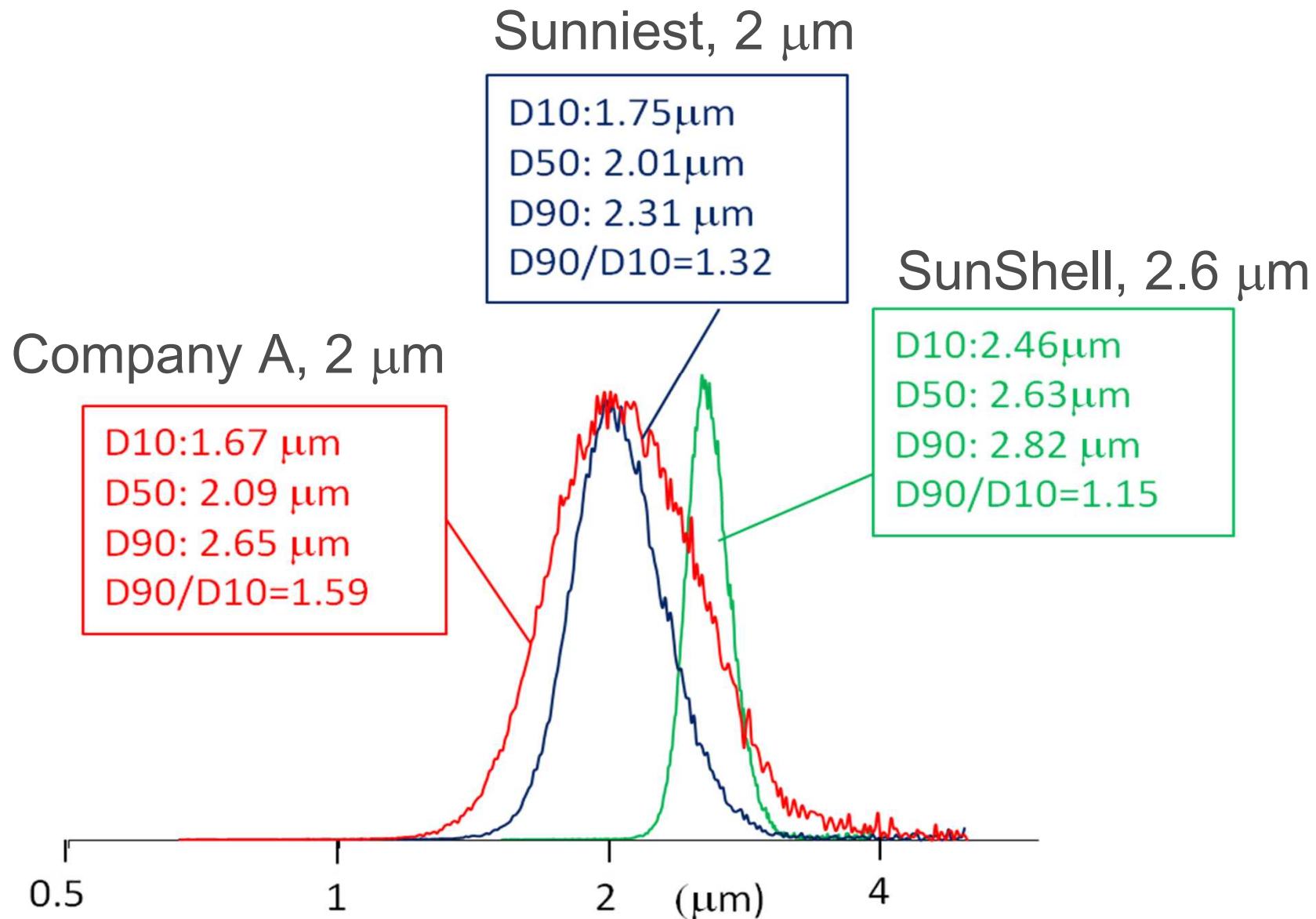
モノレイヤー（単層）多孔質構造

SunShellシリカのコアシェル構造の概略図

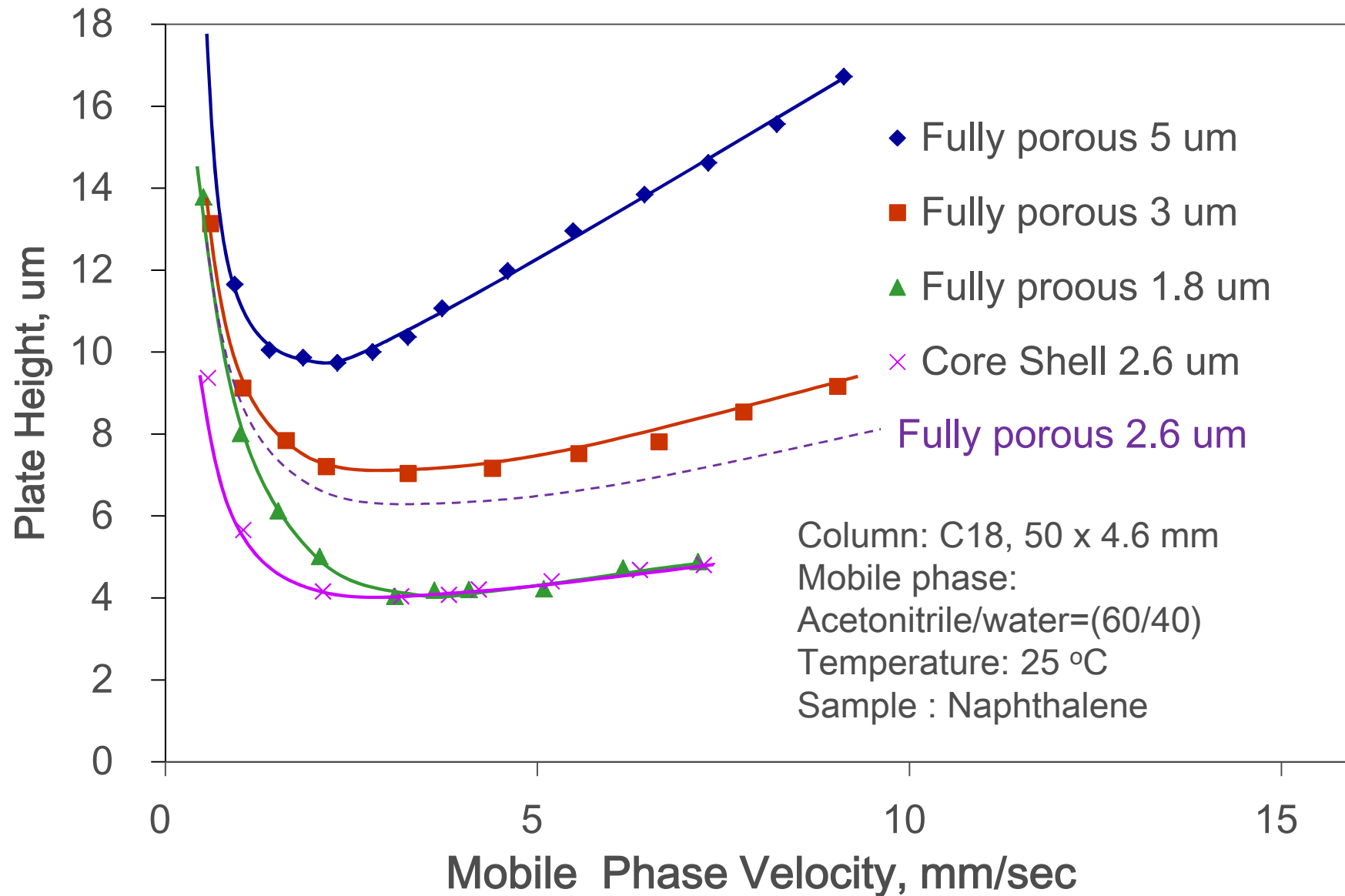


粒子径：2.6 μm ，コア径：1.6 μm ，多孔質層の厚さ：0.5 μm
 細孔容積：0.30 mL/g，比表面積：150 m^2/g ，細孔径：9 nm
 多孔性シリカの体積の割合：77%

粒度分布の比較



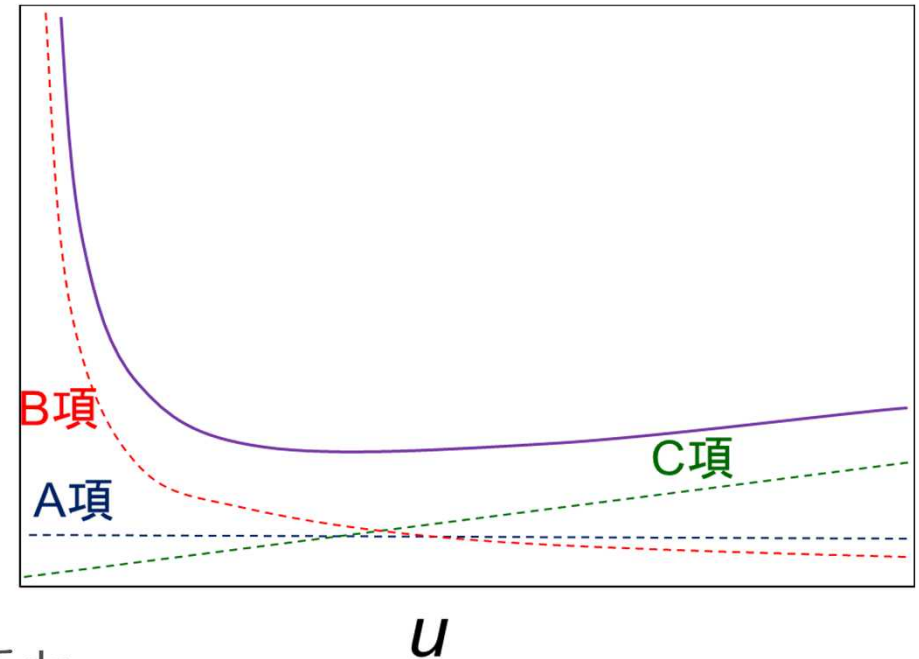
全多孔性とコアシェル型の理論段高さの比較



Van Deemterの式

$$H = Ad_p + B \frac{D_m}{u} + C \frac{d_p^2}{D_m} u$$

H

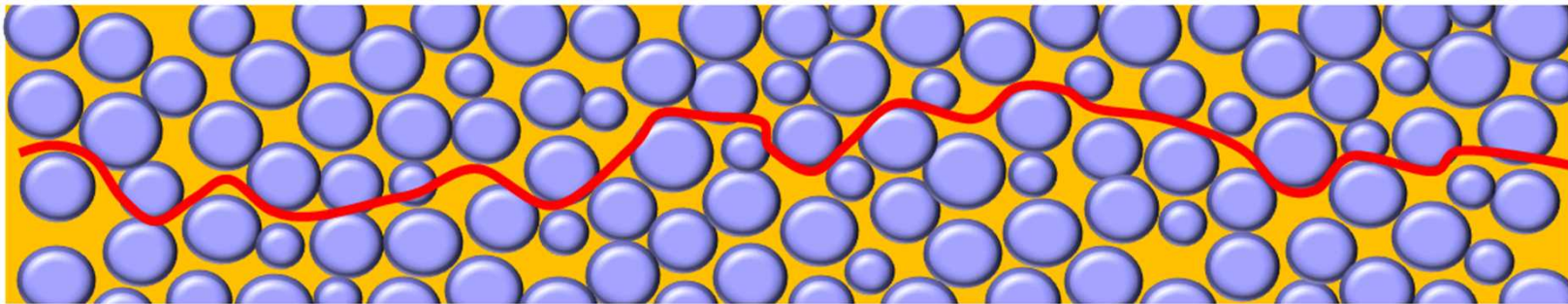


- A項 : 多流路拡散、渦巻き拡散 : 粒径を d_p
- B項 : カラム軸方向への拡散、アナライトの移動相中の拡散係数を D_m
- C項 : 物質移動の項 : 固定相-移動相での物質移動、粒子内での
拡散による物質移動に依存

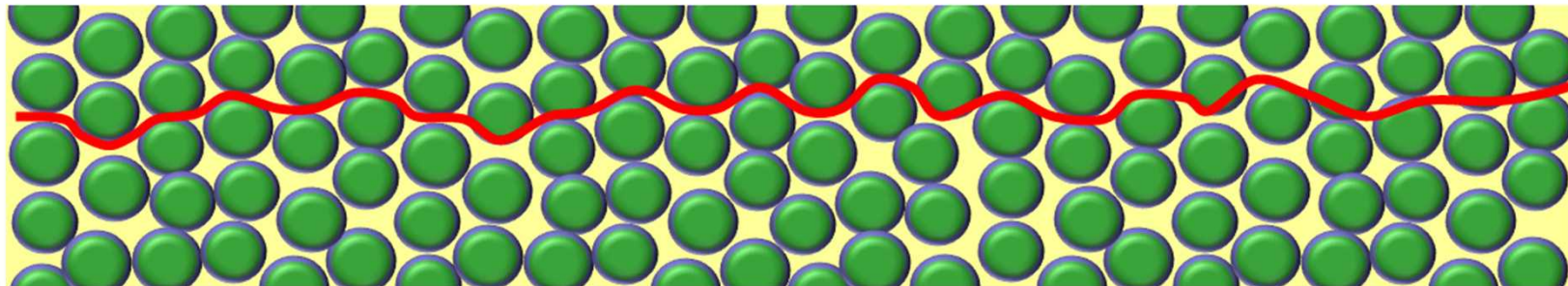
1. F. D. Antia and C. Horvath, *J. Chromatogr.*, 435 (1988) 1-15.

A項が小さくなる

粒度分布の広い充填剤（一般的な全多孔性シリカ）

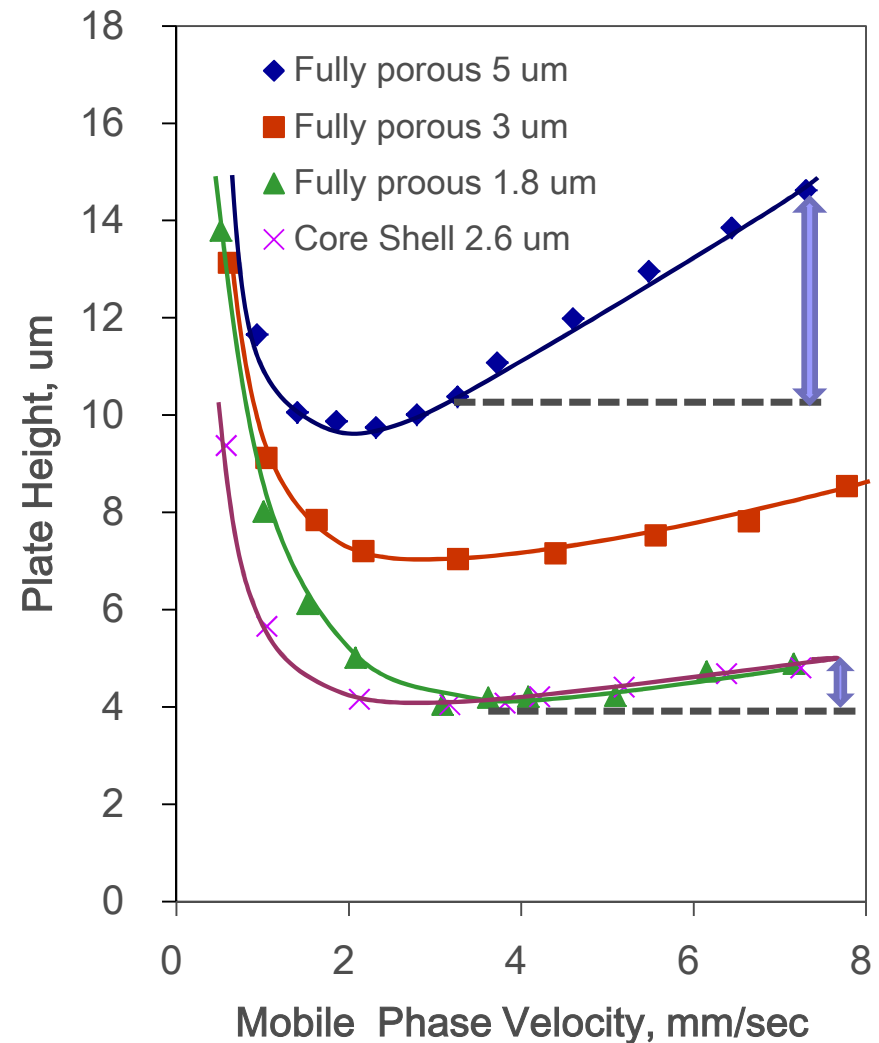
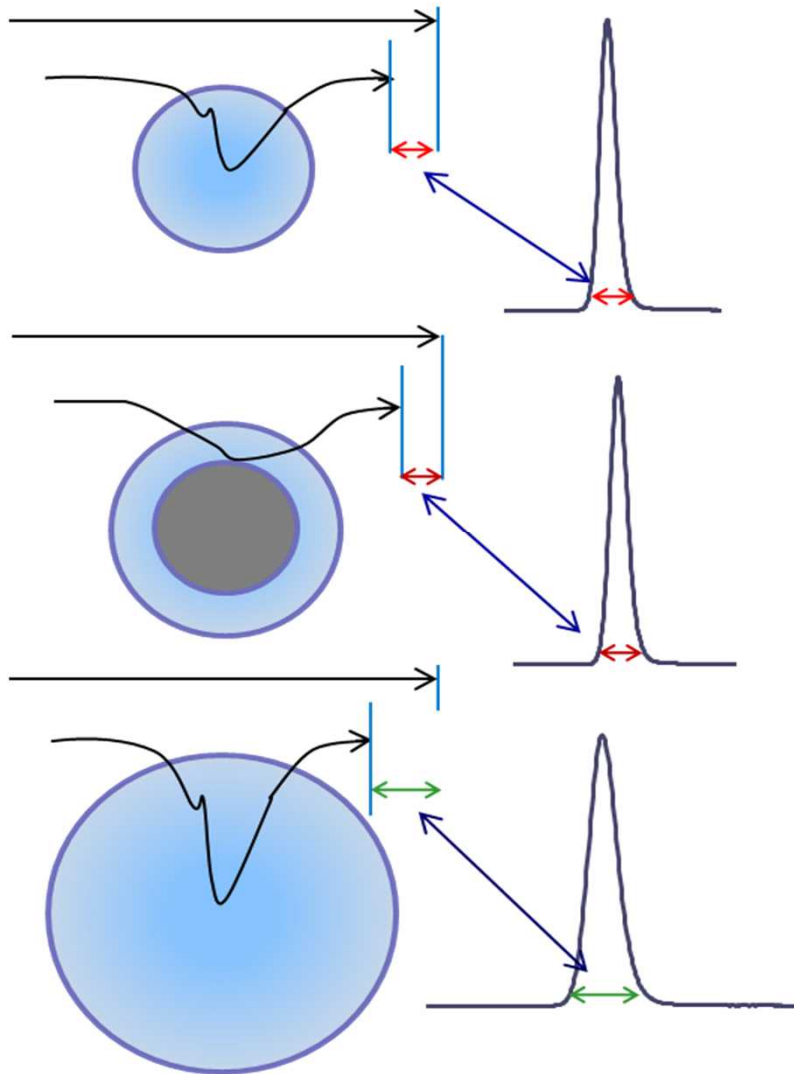


粒度分布の狭充填剤（コアシェルシリカ）



多流路拡散、渦巻き拡散が小さくなる → Ad_p のAが小さくなる

『拡散による物質移動（の遅れ）』はC項に関係している



インピーダンスタイム t_0/N^2

カラム圧が一定の場合の t_0 （保持がないときの溶出時間）は N^2 （理論段数の2乗）に比例する

$$t_0 \propto N^2$$

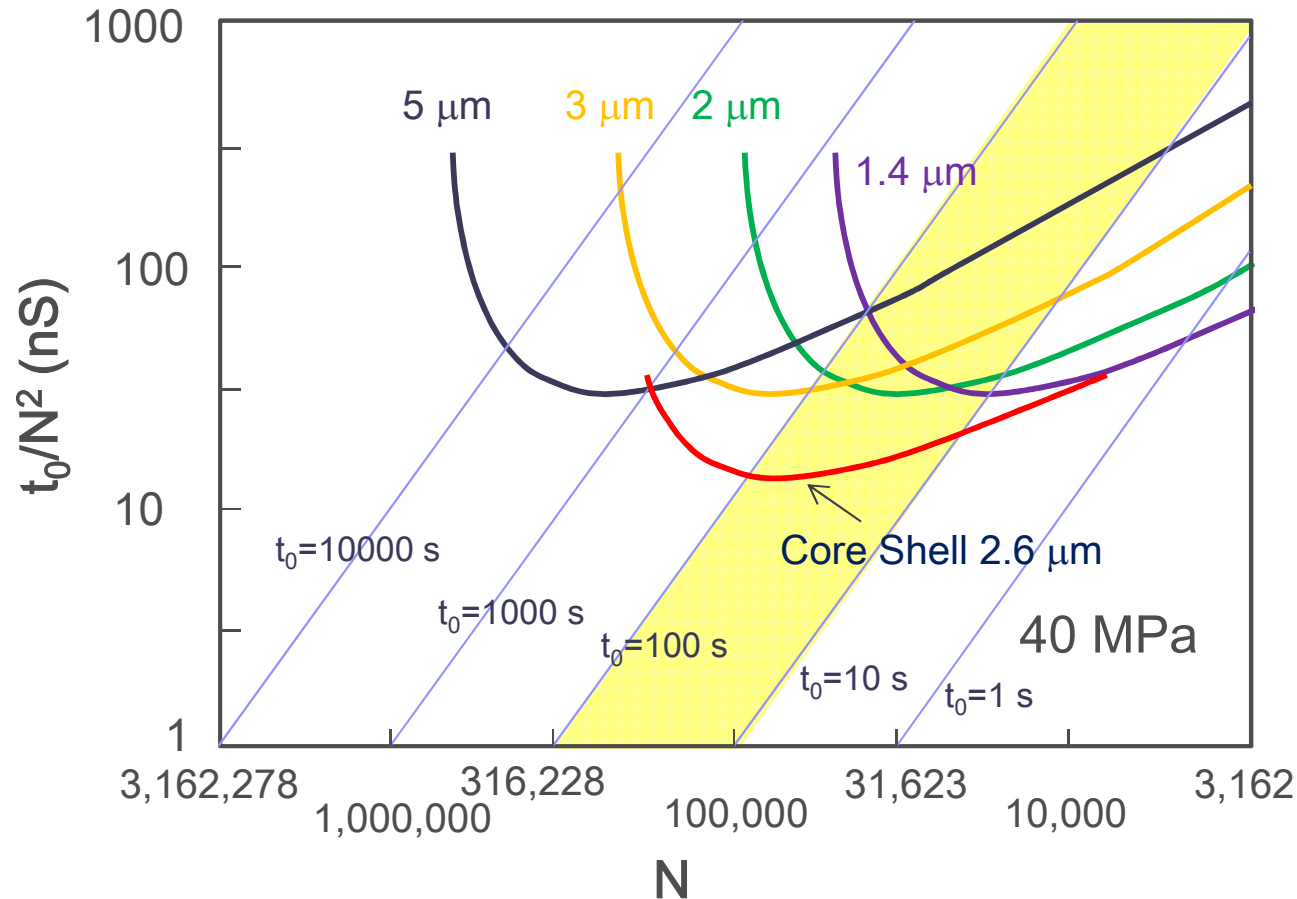
$$t_0 = A \cdot N^2 \quad A = t_0/N^2$$

理論段数	カラム長さ	カラム圧	流速	t_0
10,000	15 cm	10 MPa	1.0 mL/min	100 S
20,000	30 cm	20 MPa	1.0 mL/min	200 S
20,000	30 cm	10 MPa	0.5 mL/min	400 S

10 MPaの一定圧力条件で、理論段数(N)を2倍にするためにはカラム長さを2倍にし、流速を1/2にしなければならない。

→ t_0 は4倍になる

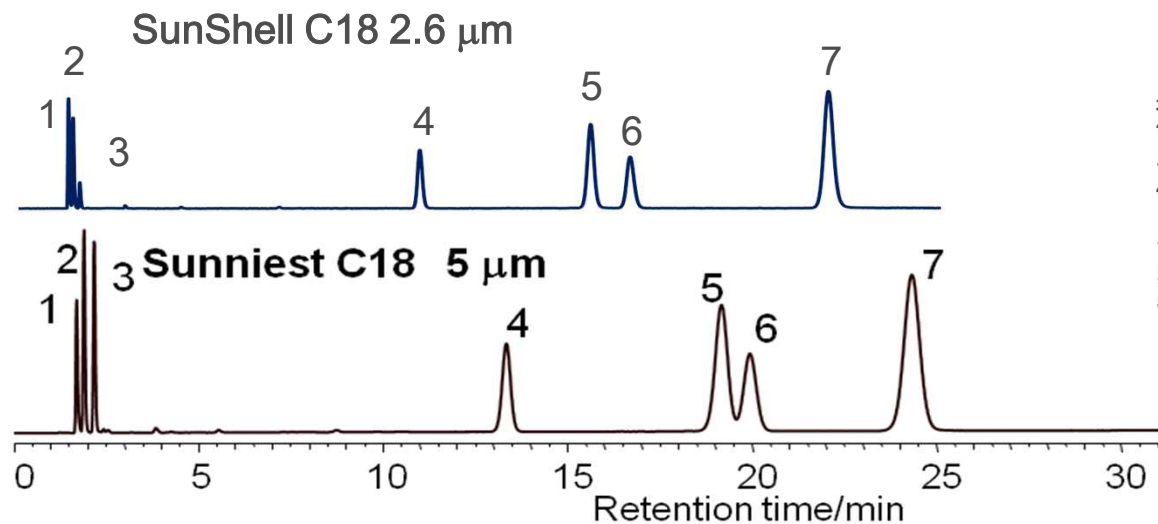
コアシェル型充填剤と全多孔性充填剤の t_0/N^2 （インピーダンスタイム）と N （理論段数）との関係



評価条件：圧力40 MPa, flow resistance parameter $\Phi=700$, 移動相粘度 $\eta = 0.00046$ Pa s, 溶質の拡散係数 $D_m = 2.22 \times 10^{-9}$ m²/s, 粒子充填型カラムにおける Knox 式 $h = 0.65 \nu^{1/3} + 2/\nu + 0.08 \nu$, 粒子径 (dp) 1.4, 2, 3および5 μm

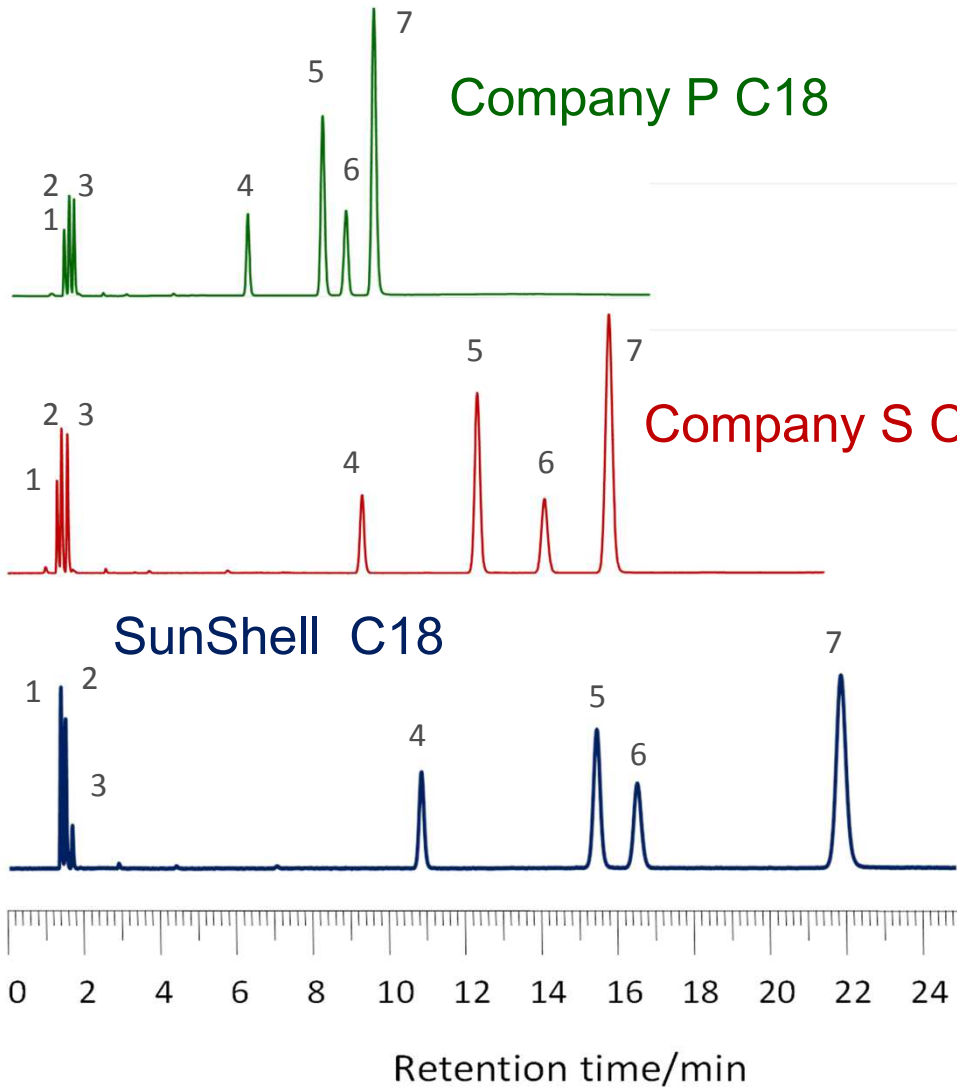
全多孔性シリカとコアシェル型シリカの 標準試料の保持比較

	全多孔性シリカ Sunniest C18, 5 μm		コアシェル型シリカ SunShell C18, 2.6 μm		コアシェル型シリカ P社 C18, 2.6 μm	
比表面積	340 m^2/g		150 m^2/g		Effective 200 m^2/g	
	保持時間(t_R)	保持指数(k)	保持時間(t_R)	保持指数(k)	保持時間(t_R)	保持指数(k)
1) ウラシル	1.70	0	1.34	0	1.36	0
2) カフェイン	1.90	0.12	1.46	0.09	1.49	0.10
3) フェノール	2.17	0.28	1.65	0.23	1.61	0.18
4) ブチルベンゼン	13.35	6.85	10.87	7.11	6.19	3.55
5) o-ターフェニル	19.19	10.29	15.49	10.56	8.15	4.99
6) アミルベンゼン	19.96	10.74	16.56	11.36	8.75	5.43
7) トリフェニレン	24.35	13.32	21.95	15.38	9.44	5.94



移動相: Methanol/water(75:25)
 温度: 40°C
 カラム: 150 x 4.6 mm
 流速: 1.0 mL/min

標準試料の保持比較



Column:

Company P C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm

Company S C18, 2.7 μm 150 x 4.6 mm

SunShell C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm

Mobile phase: $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}=75/25$

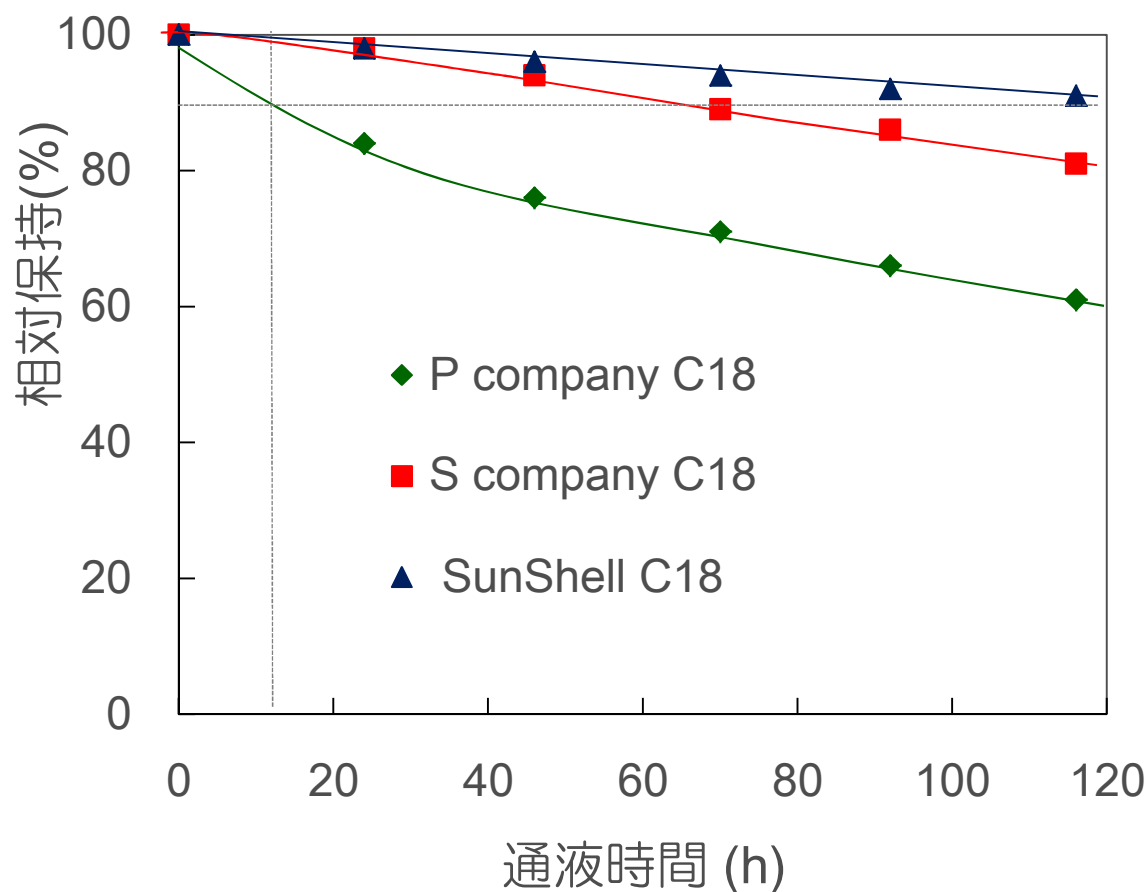
Flow rate: 1.0 mL/min

Temperature: 40 $^\circ\text{C}$

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

	水素結合性 (Caffeine/Phenol)	疎水性 (Amylbenzene/Butylbenzene)	立体選択性 (Triphenylene/o-Terphenyl)
Company P C18	0.48	1.54	1.20
Company S C18	0.44	1.60	1.31
SunShell C18	0.39	1.60	1.46

コアシェルC18の酸性条件での耐久性



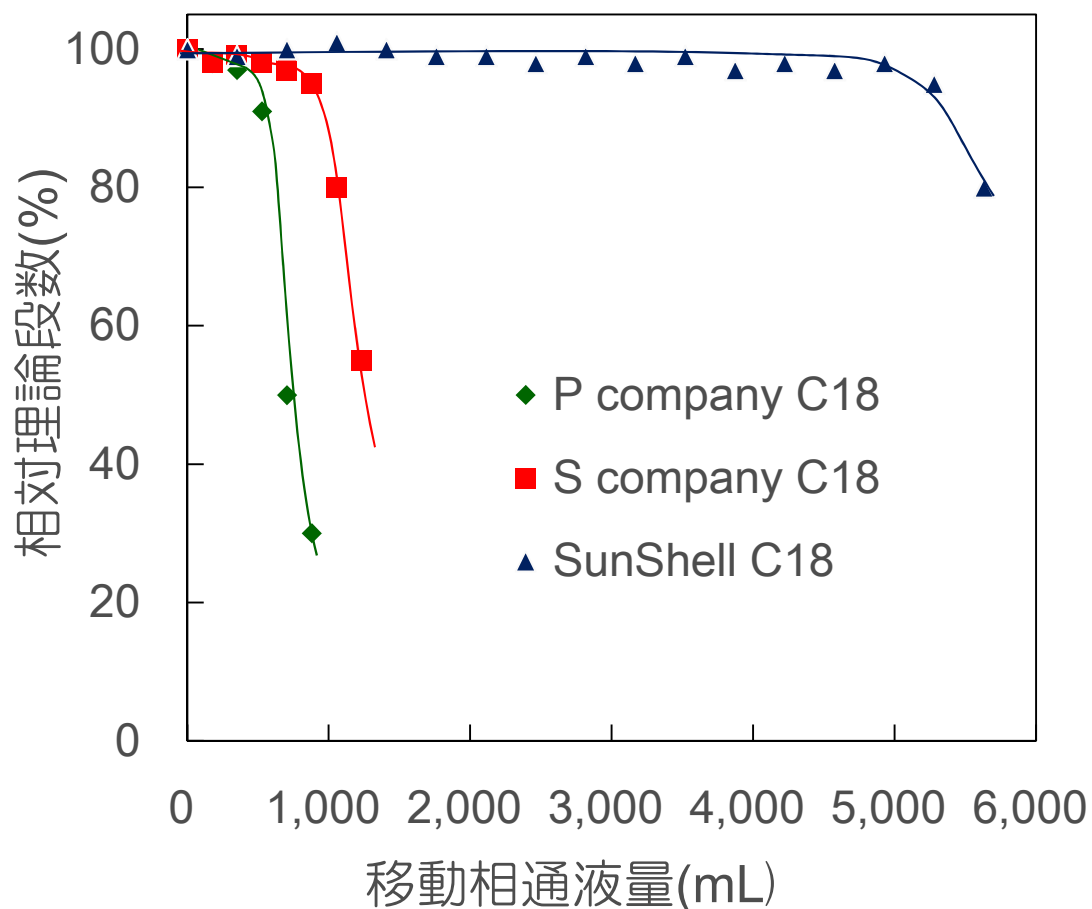
耐久性試験条件

Column size: 50 x 2.1 mm
 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

Column size: 50 x 2.1 mm
 Mobile phase: CH₃CN/H₂O=60/40
 Flow rate: 0.4 mL/min
 Temperature: 40 °C
 Sample: 1 = Uracil
 2 = Butylbenzene

コアシェルC18のアルカリ性条件での耐久性



耐久性試験条件

Column Size: 50 x 2.1 mm

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

Column Size: 50 x 2.1 mm

Mobile phase:

CH₃OH/H₂O=70/30

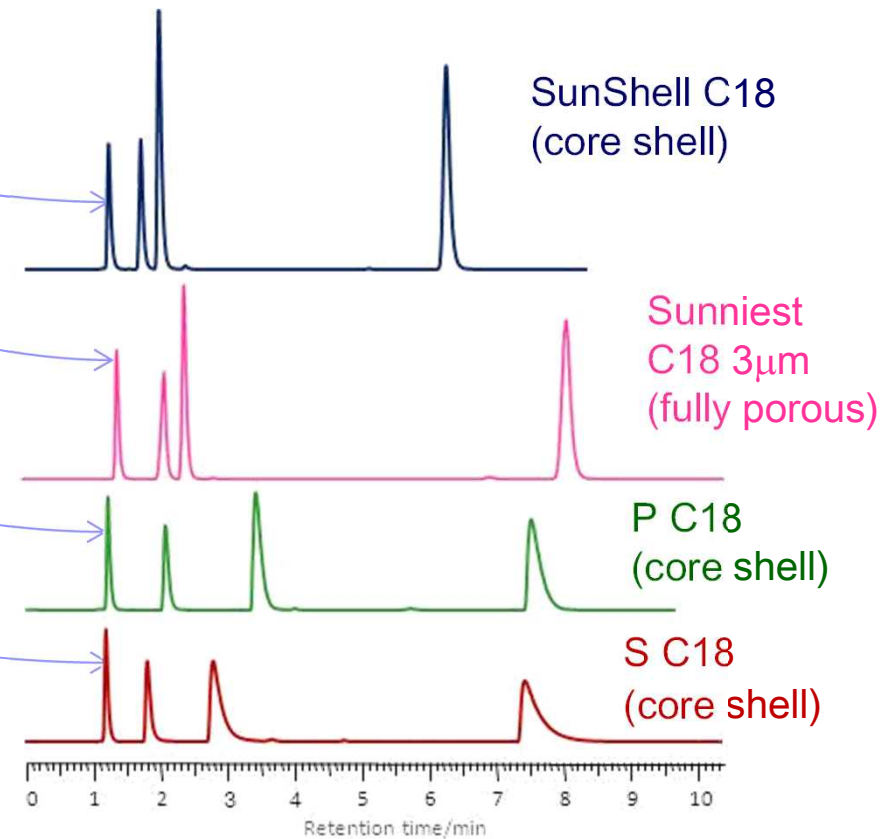
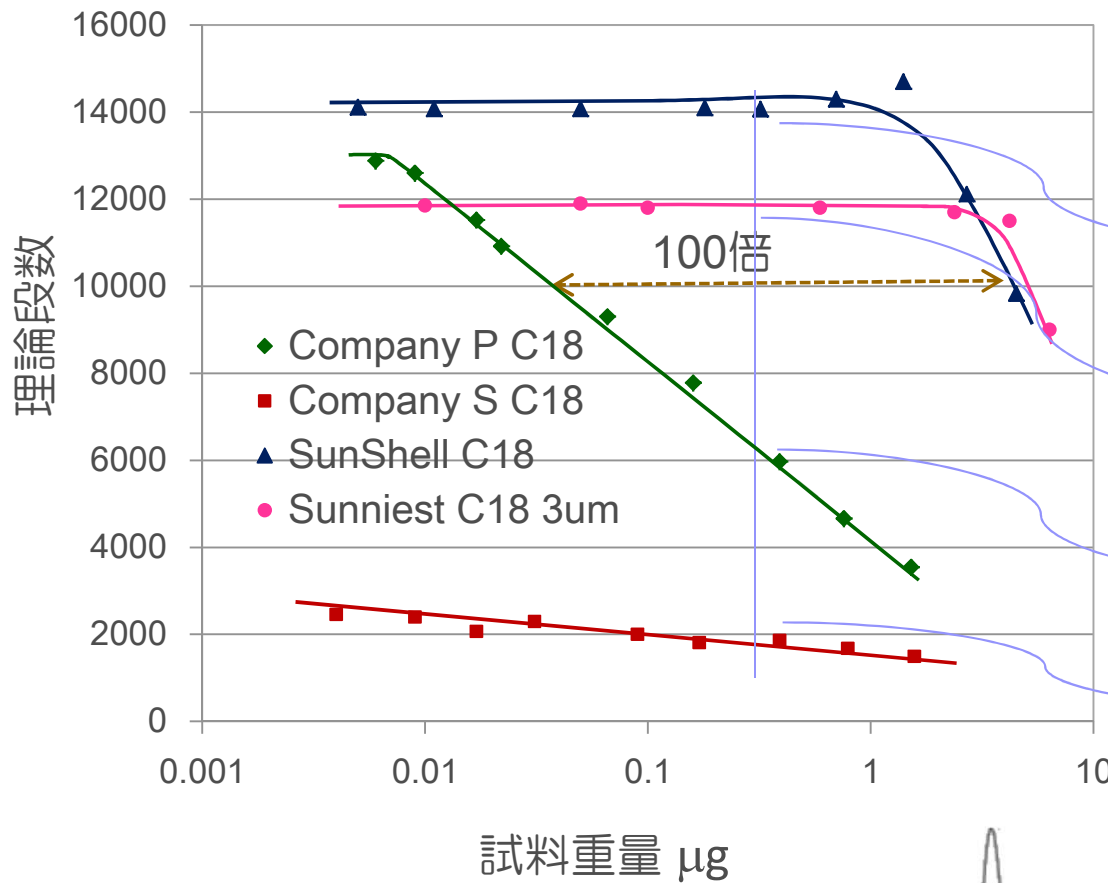
Flow rate: 0.4 mL/min

Temperature: 40 °C

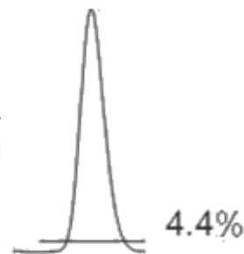
Sample: 1 = Butylbenzene

コアシェルC18のアミトリプチリンの負荷量の比較

移動相: アセトニトリル/20mMリン酸緩衝液pH7.0=(60:40)
 カラムサイズ: 150 x 4.6 mm, 流速: 1.0 mL/min, 温度: 40°C



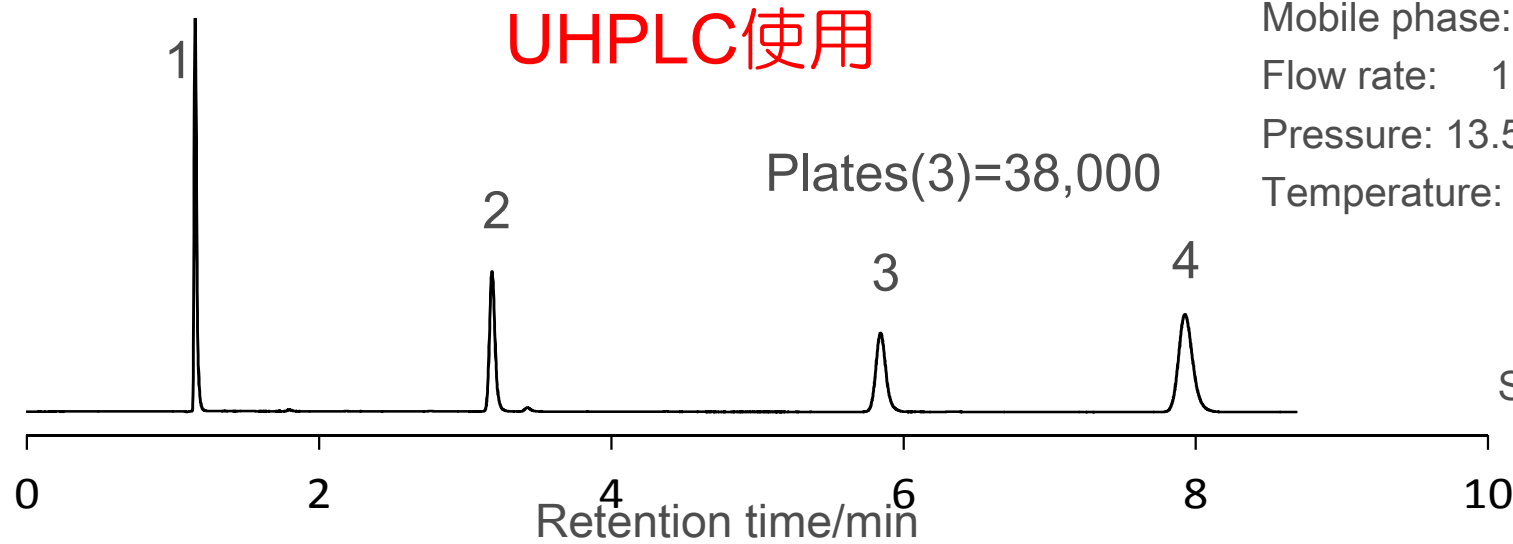
ピークの4.4%の高さの位置でのピーク幅で理論段数を計算 (5σ法)



試料: 1 = ウラシル, 2 = プロプラノロール,
 3 = ノルトリプチリン, 4 = アミトリプチリン

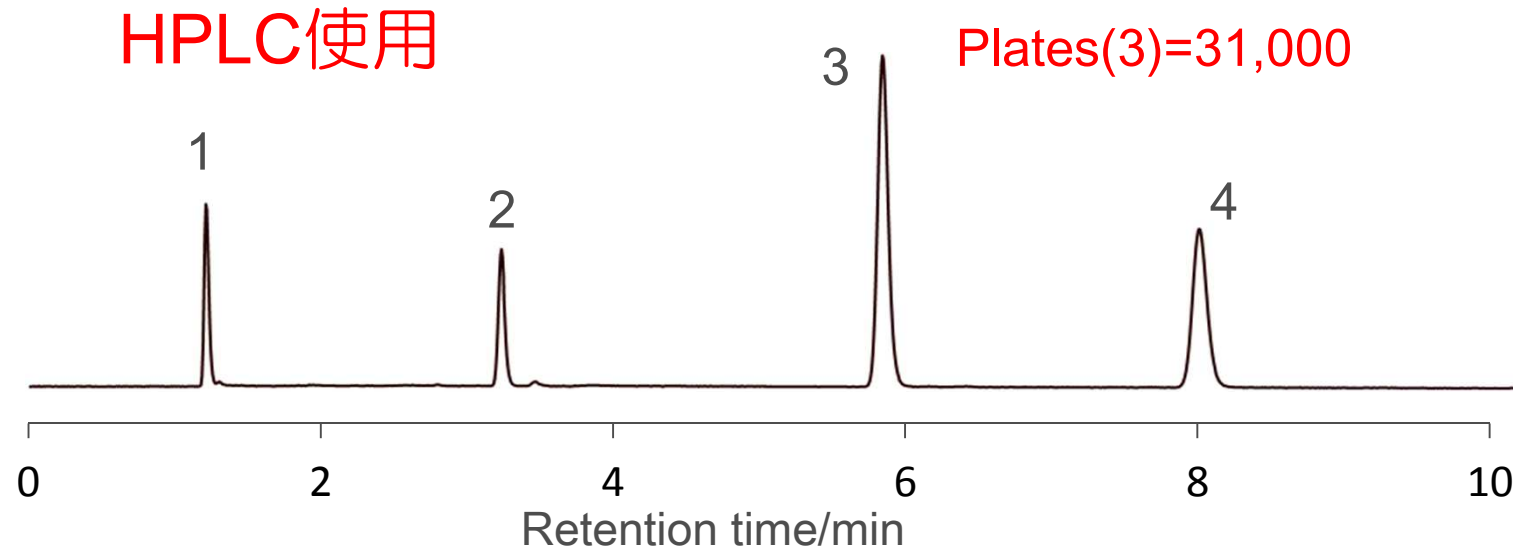
コアシェルC18の標準試料の分離例

UHPLCとHPLCの比較



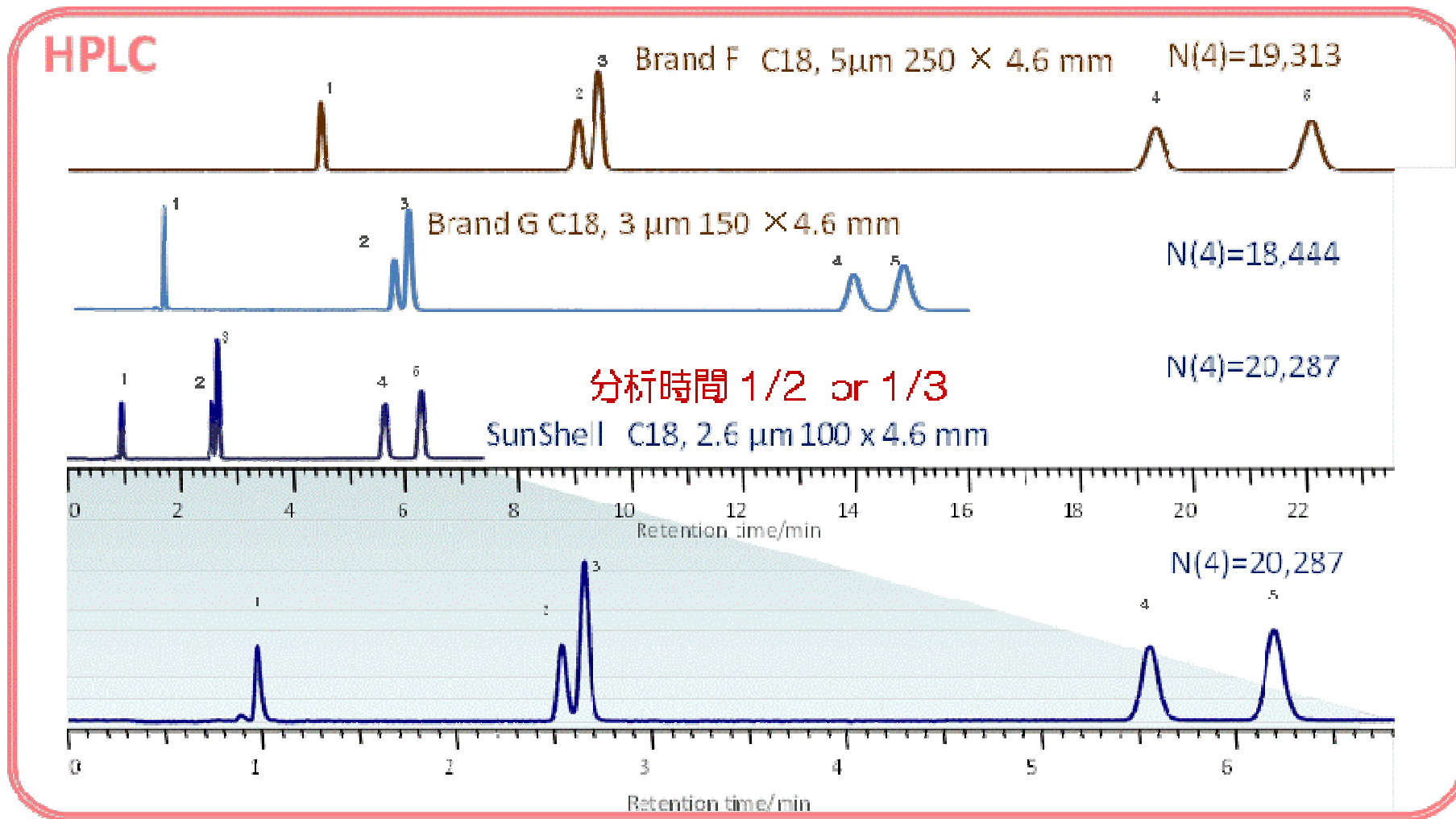
Column: SunShell C18, 2.6 mm 150 x 4.6 mm
 Mobile phase: CH₃CN/H₂O=70/30
 Flow rate: 1.0 mL/min
 Pressure: 13.5 MPa
 Temperature: 25 °C

Sample: 1 = Uracil
 2 = Toluene
 3 = Acenaphthene
 4 = BUtylbenzene



イソクラティック溶離例

5 μ m, 3 μ m C18からの移行



Mobile phase: CH₃CN/20mM Phosphoric acid = 45/55

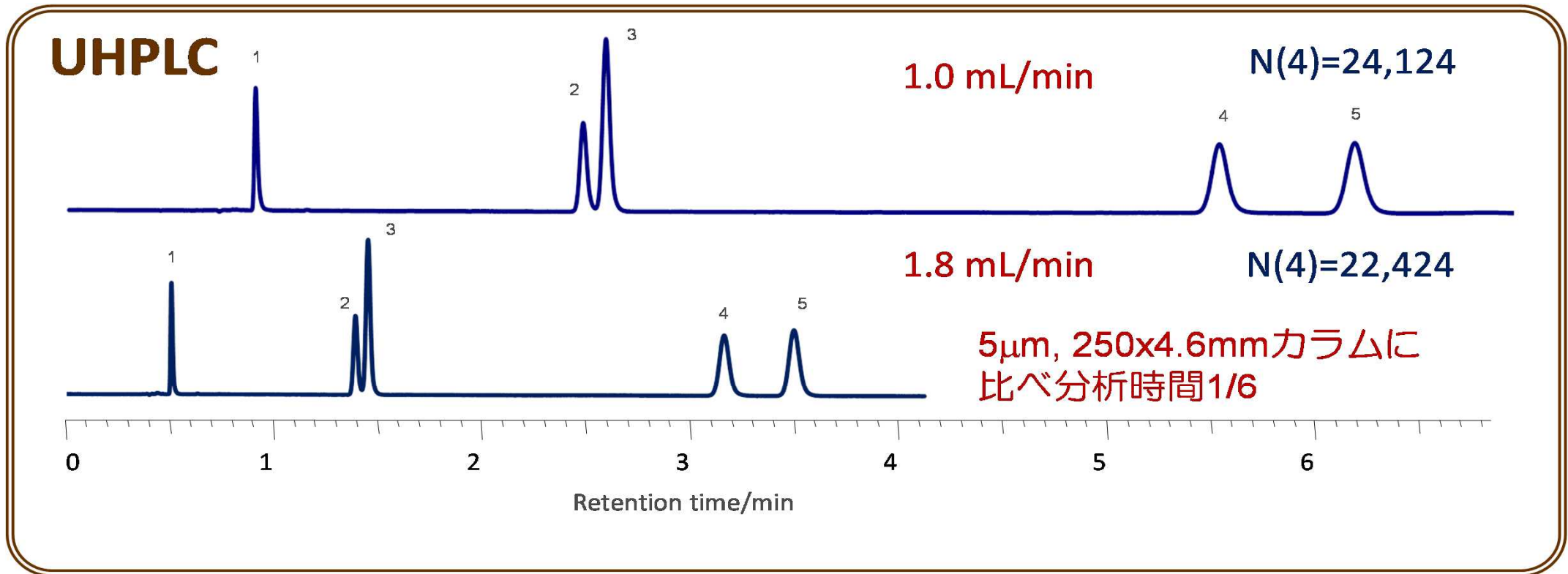
Flow rate: 1.0 mL/min, Temperature: 25 °C, Detection: UV230 nm

Pressure: 9.5 MPa for Brand F C18 5 mm, 13.4 MPa for SunShell C18 2.6 mm

Sample: 1 = Benzydamine, 2 = Ketoprofen, 3 = Naproxen, 4 = Indomethacin, 5 = Ibuprofen

HPLC: Hitachi LaChrom ELITE (内径0.25mmの配管仕様)

イソクラティック溶離例 UHPLC



Column: SunShell C18, 2.6 mm 100 x 4.6 mm

Mobile phase: CH₃CN/20mM Phosphoric acid = 45/55

Flow rate: 1.0 mL/min, 1.8 mL/min

Temperature: 25 °C

Pressure 13.4 MPa Detection: UV230 nm

Sample: 1 = Benzydamine, 2 = Ketoprofen, 3 = Naproxen, 4 = Indomethacin, 5 = Ibuprofen

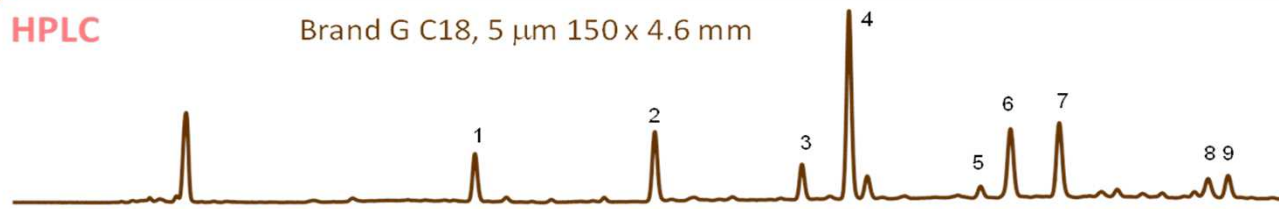
UHPLC: Jasco X-LC

グラジエント溶離例

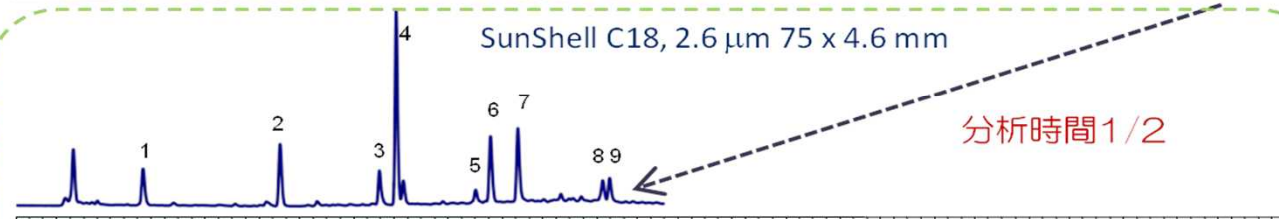
5 μ m C18からの移行

HPLC

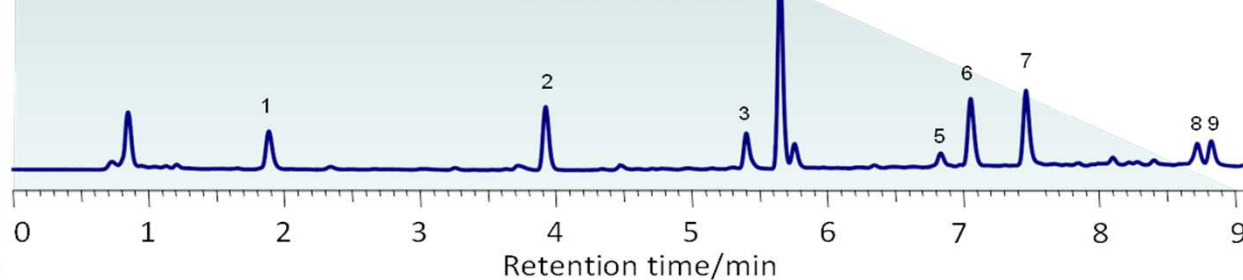
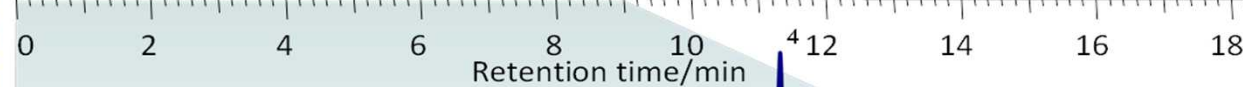
Brand G C18, 5 μ m 150 x 4.6 mm



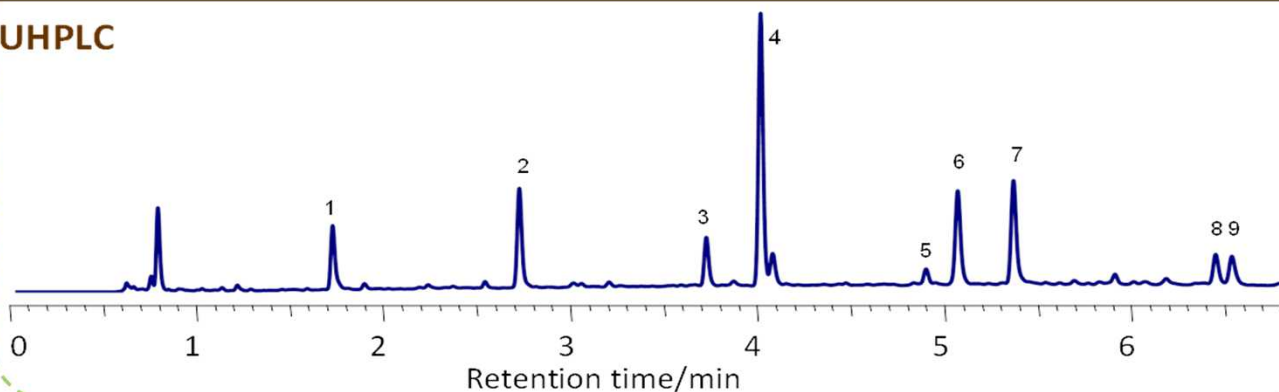
SunShell C18, 2.6 μ m 75 x 4.6 mm



分析時間1/2



UHPLC



Column:

Brand G C18, 5 μ m 150 x 4.6 mm

SunShell C18, 2.6 μ m 75 x 4.6 mm

Mobile phase:

A) 0.1% Phosphoric acid

B) CH₃CN

Gradient program for Brand G C18

Time	0 min	15 min	20 min
%B	2%	25%	25%

for SunShell C18

Time	0 min	7.5 min	10 min
%B	2%	25%	25%

Flow rate: 1.0 mL/min,

Temperature: 25 °C

Detection: UV@250 nm

Sample: Oolong tea

1 = Gallic acid, 2 = Epigallocatechin,

3 = Catechin, 4 = Caffeine, 5 = Epicatechin,

6 = Epigallocatechin gallate,

7 = Gallic acid gallate,

8 = Epicatechin gallate,

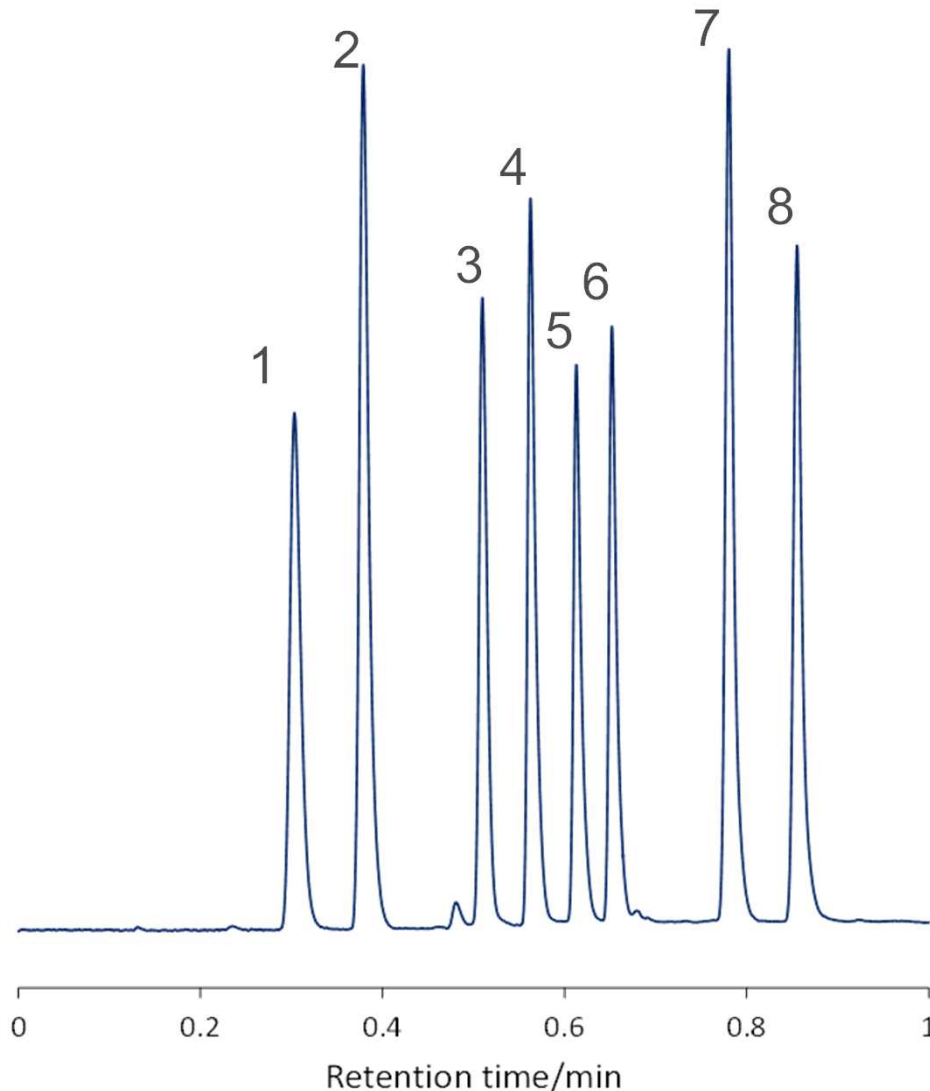
9 = Catechin gallate

HPLC: Hitachi LaChrom ELITE

(内径0.25mmの配管仕様)

UHPLC: Jasco X-LC

高速分離例



Column: SunShell C18 2.6 μm , 30 x 3.0 mm.
 Mobile phase: A) Water, B) Acetonitrile; Gradient
 (Acetonitrile %), 0.00 min - 35%, 0.40 min - 100%,
 0.80 min - 100%, 0.85 min - 35%, 1 cycle; 1.8 min,
 (High-pressure gradient).

Flow rate: 1.0 mL/min.

Temperature: 40 $^{\circ}\text{C}$.

Injection Volume: 1 μL .

Wavelength: 200 - 500nm, CH-9, 215 - 500nm (Max
 Abs.).

Sample: Mixture of ultraviolet absorbers,

1 = 2,2',4,4'-Tetrahydroxybenzophenone,

2 = Ethyl *p*-aminobenzoate,

3 = 2,4-Dihydroxybenzophenone,

4 = 2,2'-Dihydroxy-4-methoxybenzophenone,

5 = 2,2'-Dihydroxy-4,4'-dimethoxybenzophenone,

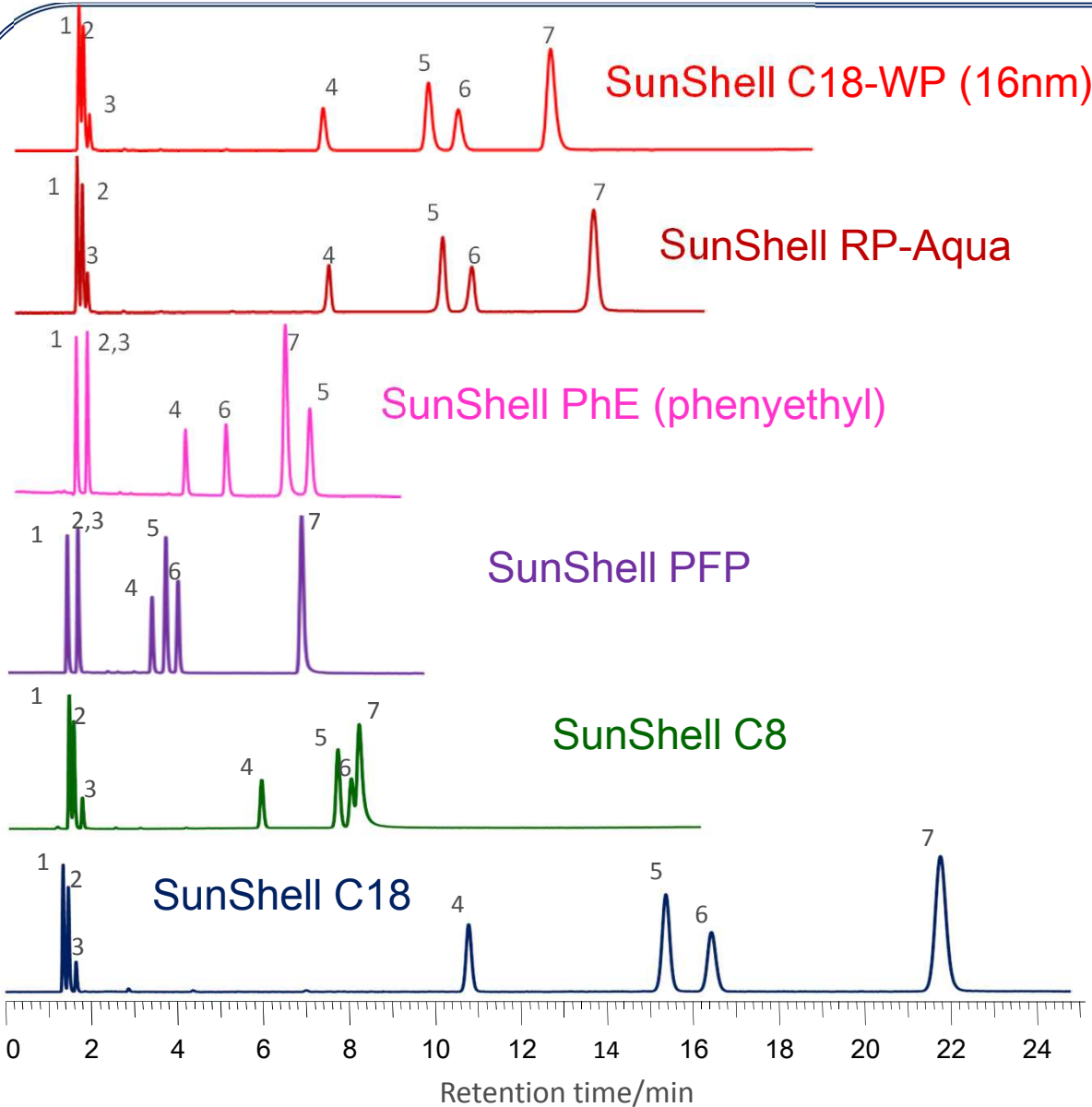
6 = 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone,

7 = 2-(2'-Hydroxy-5'-methylphenyl) benzotriazole,

8 = 4-*tert*-Butylphenyl salicylate.

Courtesy of Jasco.

標準試料の分離比較



Column dimension: 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

	Hydrogen bonding (Caffeine/ Phenol)	Hydrophobicity (Amylbenzene/ Butylbenzene)	Steric selectivity (Triphenylene/ o-Terphenyl)
C18-WP	0.40	1.55	1.35
RP-Aqua	0.48	1.57	1.41
PhE	1.00	1.38	0.93
PFP	1.00	1.31	2.38
C8	0.32	1.46	1.08
C18	0.39	1.60	1.46

まとめ

- コアシエル型充填剤は全多孔性充填剤の1.5倍の理論段数の性能を有する。(2.6 μm のコアシエルはsub 2 μm の全多孔性と同じ理論段数になる)
- 2.6 μm のコアシエル型充填カラムは、sub 2 μm の全多孔性の1/2以下のカラム圧となるため同一圧力条件下ではsub 2 μm の2倍以上の理論段数を示す。
- コアシエル型充填カラムは、HPLC、UHPLCどちらにおいても使用可能である。
- 今後、コアシエル型充填剤は広い分野において使用されていくことが予想される