

29P2-pm014



2.6umコアシェル粒子を用いたアルキル基・フェニル基およびペンタフルオロフェニル基固定相の 選択性の評価

Selectivity of stationary phases with alkyl, phenyl and pentafluorophenyl
groups on a core shell particle

クロマニック テクノロジーズ

長江 徳和、塚本 友康

Norikazu Nagae, Tomoyasu Tsukamoto

Email: info@chromanik.co.jp

<http://chromanik.co.jp>

シェルコア型シリカの歴史

1969年カークランドにより発表されたHPLCで使用されていた充填剤 - 直径30 μ mの核に厚さ0.5 μ mの多孔質層

1967年：
コアシェルの
基本特許

2000年にカークランドらにより発表¹，タンパク質の高速分離用
充填剤 - 直径4 μ mの核に厚さ0.5 μ mの多孔質層（細孔径30nm）

2007年三度カークランドらにより発表²，全多孔性sub2 μ m充填剤に匹敵
する充填剤 - 直径1.7 μ mの核に厚さ0.5 μ mの多孔質層（細孔径9nm）

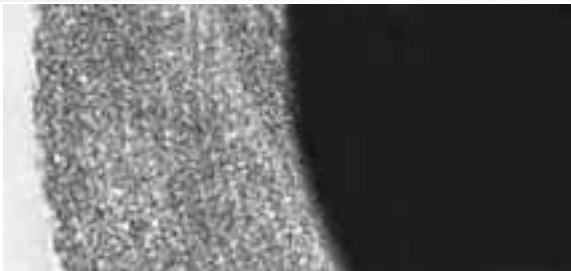
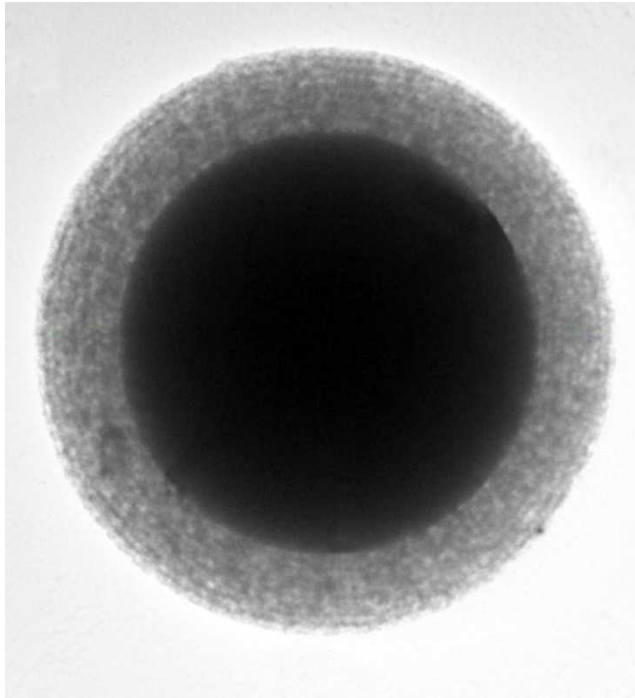


• Fused-Core technology
was developed by
Jack Kirkland.

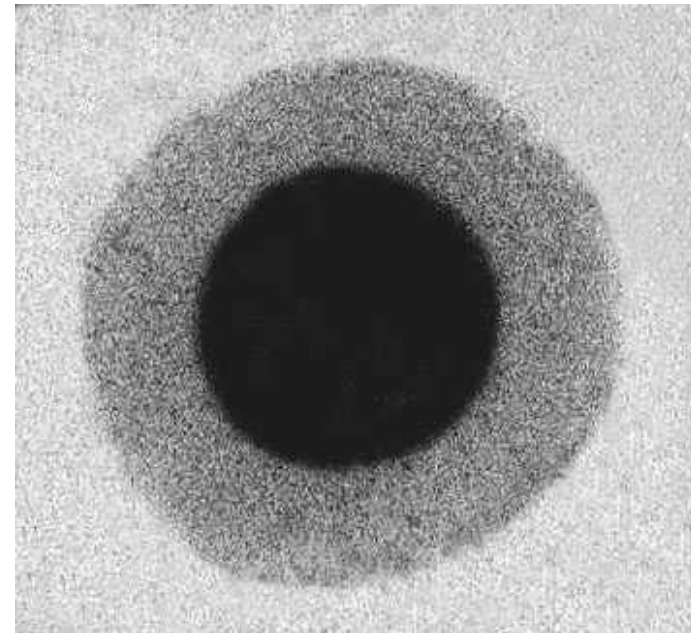
(1) J.J. Kirkland, F.A. Truszkowski, C.H. Dilks, and G.S. Engel, J. Chromatogr., A 890, 3-13 (2000).

(2) J.J. Kirkland, T.J. Langlois, and J.J. DeStefano, Am. Lab. 39, 18-21 (2007).

二種類のコアシェル構造のシリカ粒子

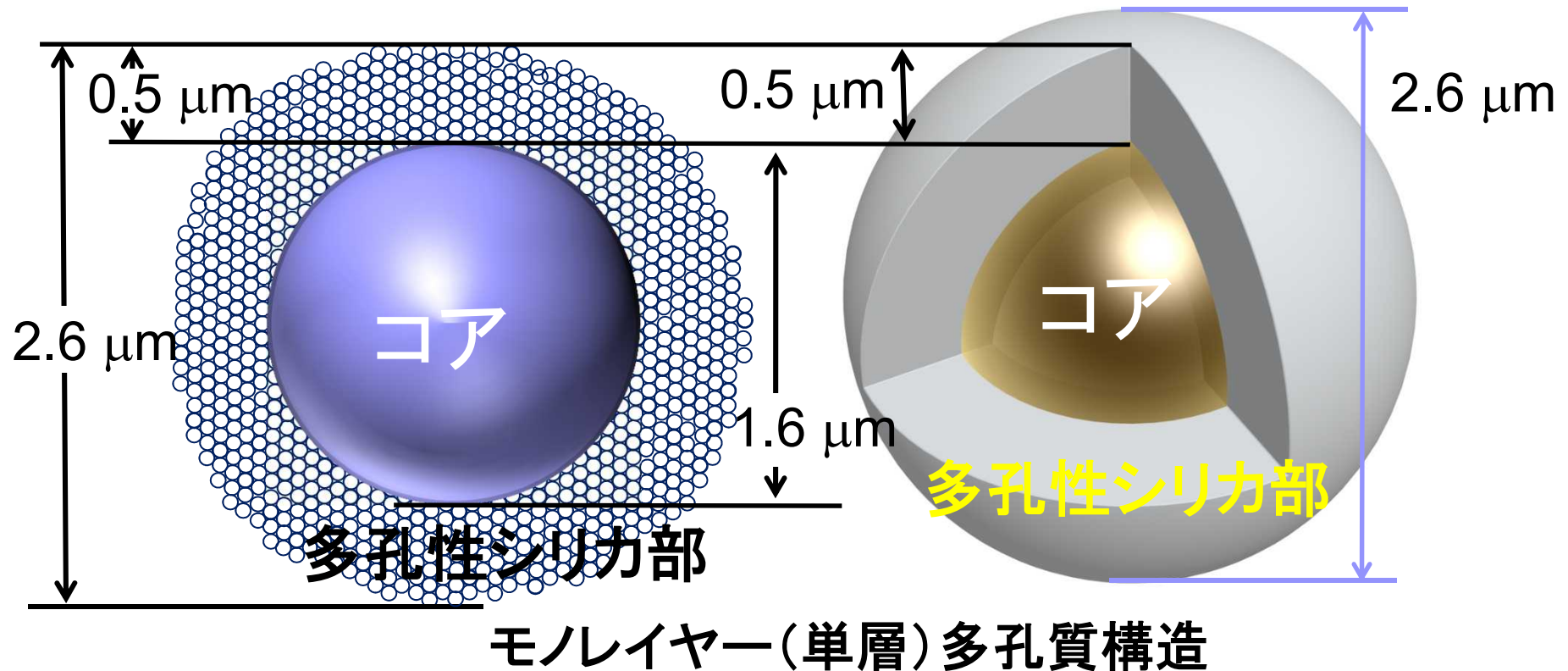


マルチレイヤー(多層)多孔質層構造



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

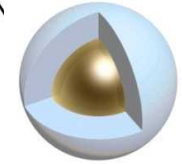


粒子径: 2.6 μm , コア径: 1.6 μm , 多孔質層の厚さ: 0.5 μm
 細孔容積: 0.30 mL/g, 比表面積: 150 m^2/g , 細孔径: 9 nm
 多孔性シリカの体積の割合: 77%

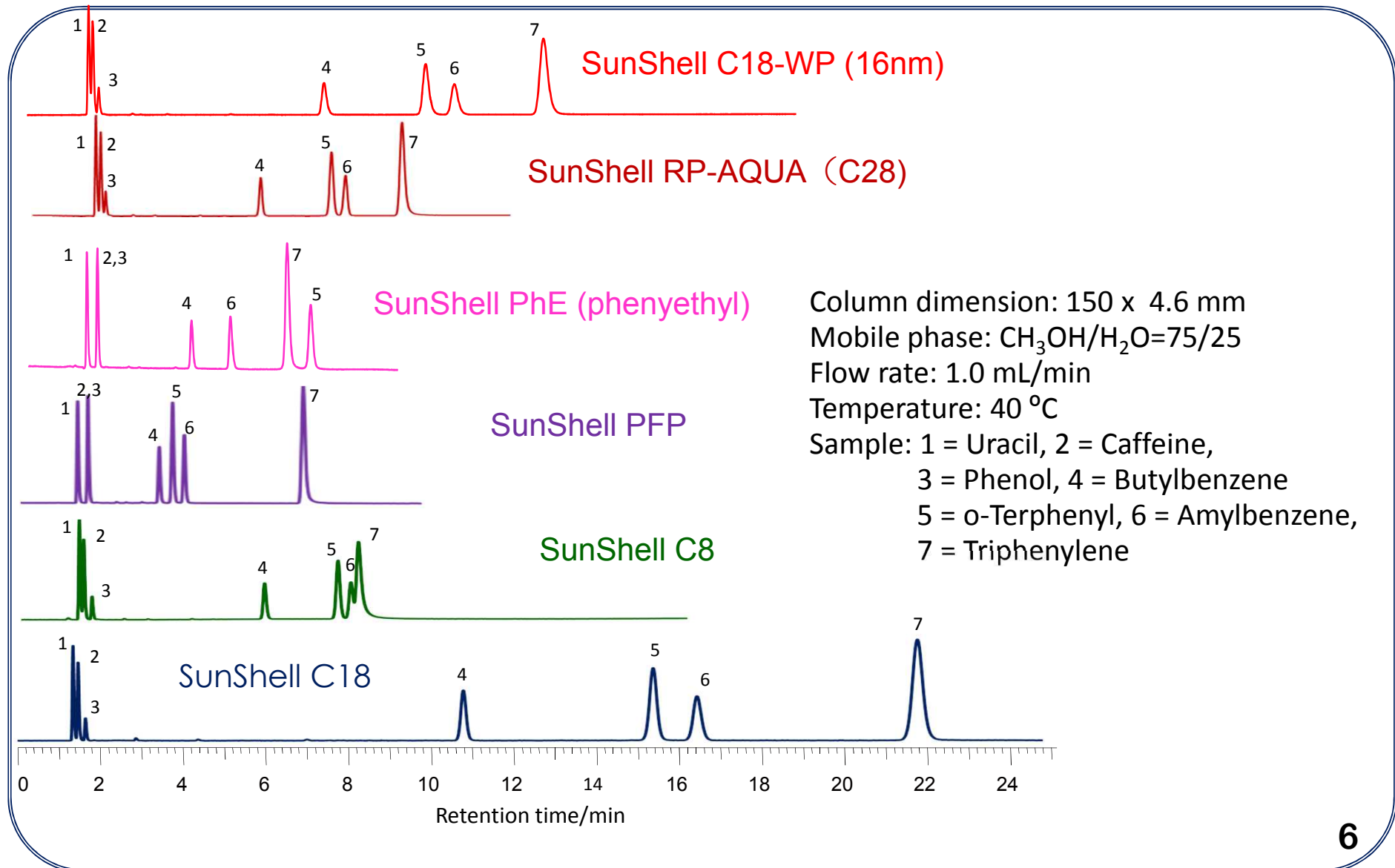
コアシェル型充填剤SunShell

	コアシェルシリカ			結合相			
	粒子径 (μm)	細孔径 (nm)	比表面積 (m^2/g)	炭素含有量 (%)	結合相	使用最高圧	使用pH 範囲
SunShell C18	2.6	9	150	7	C18	60 MPa or 8,570 psi	1.5 - 10
SunShell C8	2.6	9	150	4.5	C8	60 MPa or 8,570 psi	1.5 - 9
SunShell PFP	2.6	9	150	4.5	Pentafluorophenyl	60 MPa or 8,570 psi	2 - 8
SunShell PhE	2.6	9	150	4	Phenylethyl	60 MPa or 8,570 psi	2 - 8
SunShell RP-Aqua	2.6	16	90	4	C28	60 MPa or 8,570 psi	2 - 8 ^{a)}
SunShell C18-WP	2.6	16	90	5	C18	60 MPa or 8,570 psi	1.5 - 10

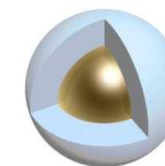
a) SunShell RP-Aquaカラムは水移動相で使用できるため、有機溶媒を含まない緩衝液での使用pH範囲を示す。



選択性の評価クロマトグラム



選択性の比較



	水素結合性 Hydrogen bonding (Caffeine/Phenol)	疎水性 Hydrophobicity (Amylbenzene/ Butylbenzene)	立体選択性 Steric selectivity (Triphenylene/ o-Terphenyl)
C18-WP	0.40	1.55	1.35
RP-AQUA(C28)	0.52	1.52	1.30
Phenyl	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

Column dimension: 150 x 4.6 mm,

Flow rate: 1.0 mL/min,

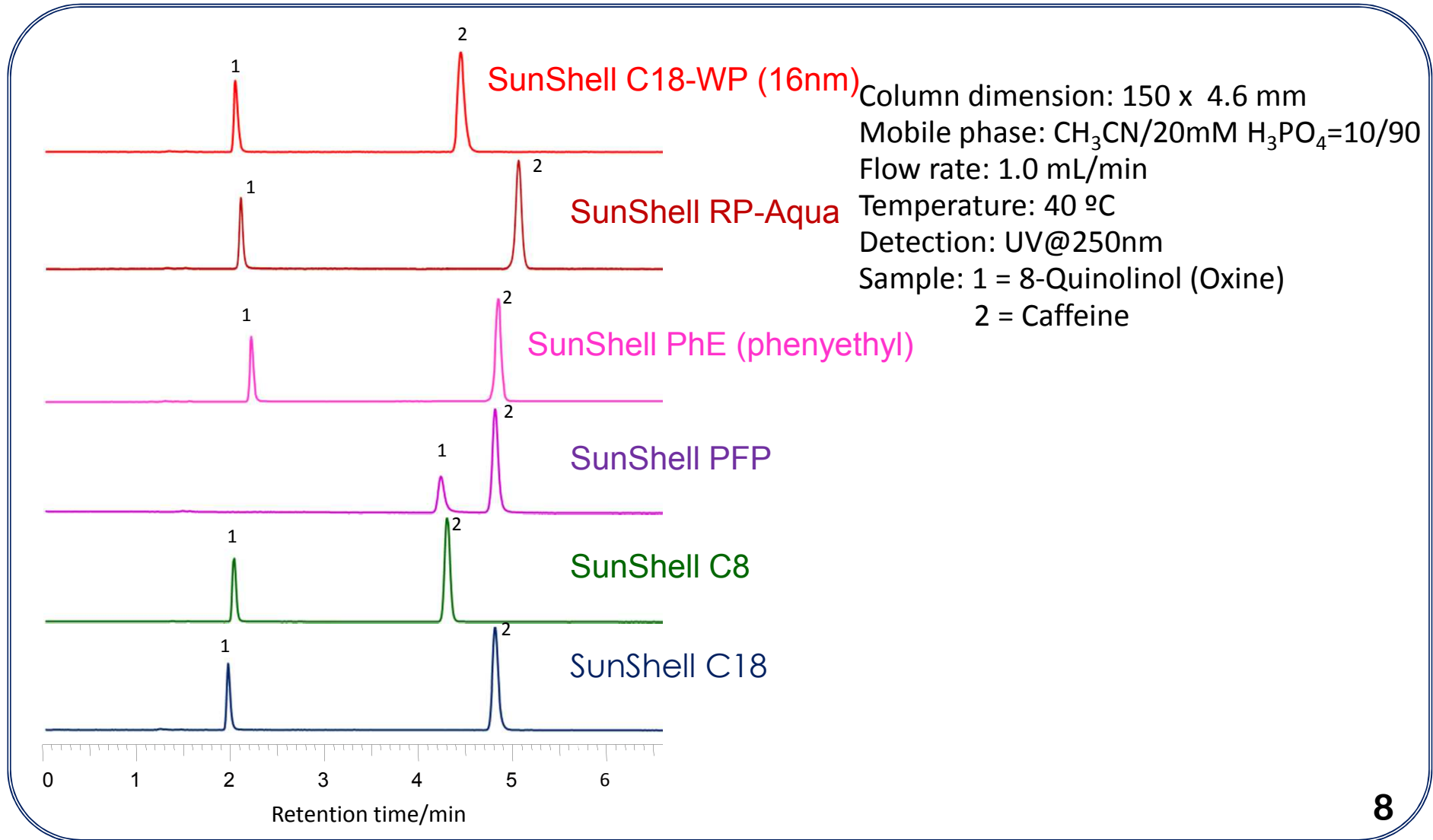
Sample: 1 = Uracil, 2 = Caffeine, 3 = Phenol, 4 = Butylbenzene, 5 = o-Terphenyl,

6 = Amylbenzene, 7 = Triphenylene

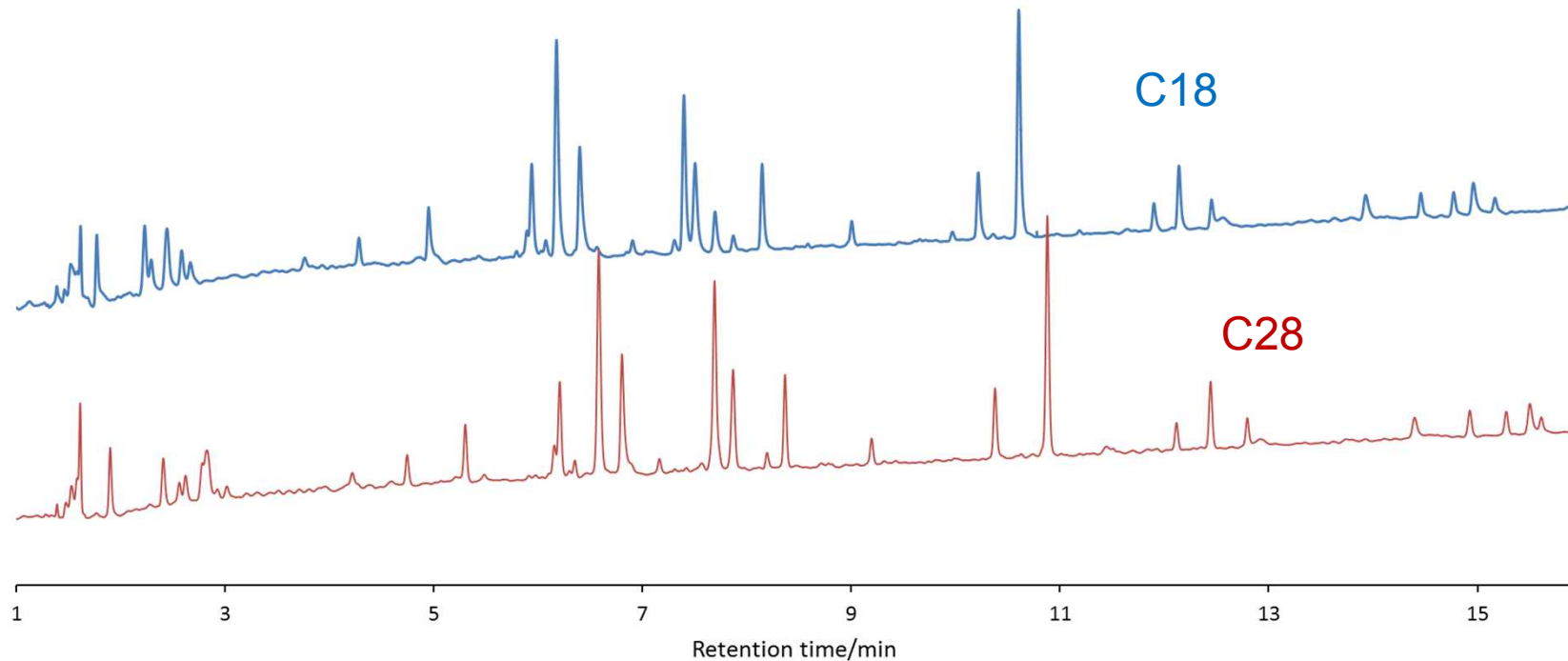
Mobile phase: CH₃OH/H₂O=75/25

Temperature: 40 °C

オキシシンとカフェインの保持比較



C18とC28によるペプチドの分離



Column: C18; SunShell C18-WP, 2.6 μm (16 nm) 150 x 4.6 mm,
C28; SunShell RP-Aqua, 2.6 μm (16 nm) 150 x 4.6 mm

Mobile phase: A) 0.1% TFA in Acetonitrile/water(10:90)

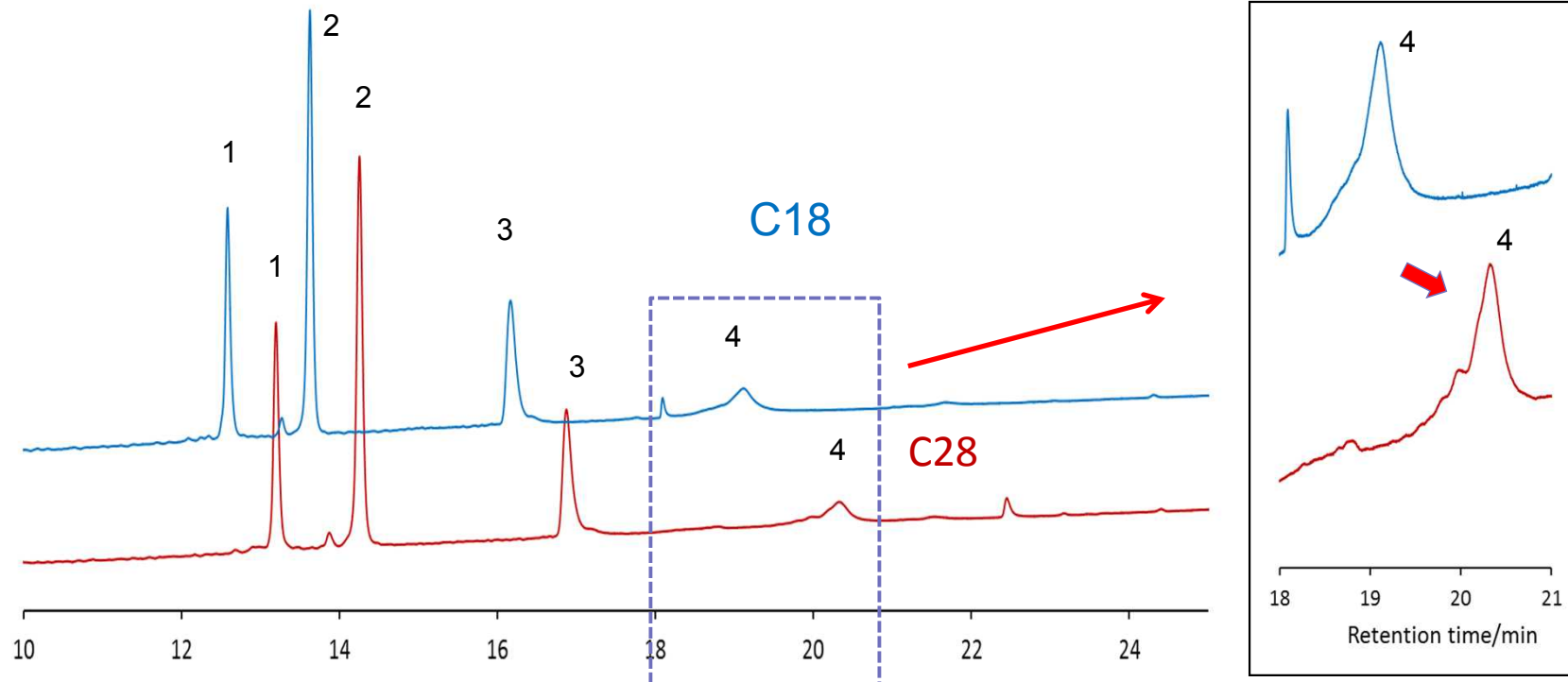
B) 0.1 % TFA in Acetonitrile

Gradient program: %B 0% – 100% in 35 min

Flow rate: 1.0 mL/min , Temperature: 25 $^{\circ}\text{C}$, Detection: UV@210 nm,

Sample: Tryptic digest of myoglobin

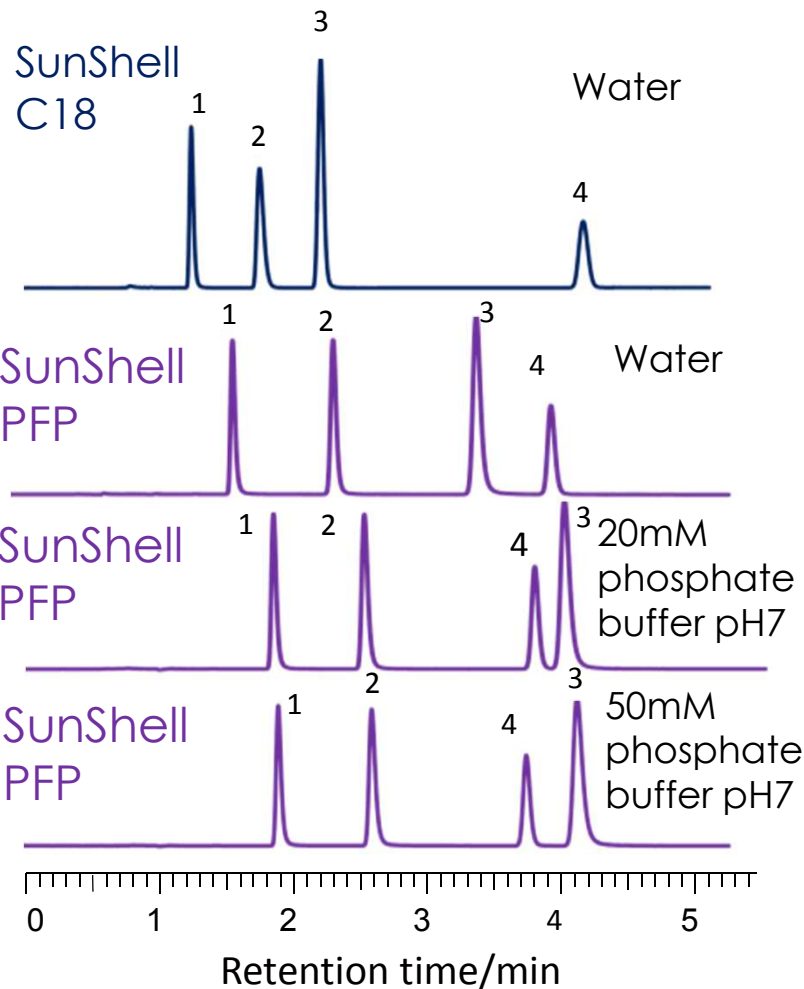
C18とC28によるタンパク質の分離



Retention time/min

Column: C18; SunShell C18-WP, 2.6 μ m 150 x 4.6 mm
 C28; SunShell RP-Aqua, 2.6 μ m 150 x 4.6 mm
 Mobile phase: A) 0.1% TFA in Acetonitrile/water(10:90)
 B) 0.1 % TFA in Acetonitrile
 Gradient program: %B 0% – 100% in 35 min
 Flow rate: 1.0 mL/min
 Temperature: 25 °C
 Detection: UV@210 nm
 Sample: 1 = Cytochrome C, 2 = Lysozyme, 3 = Myoglobin, 4 - Ovalbumin

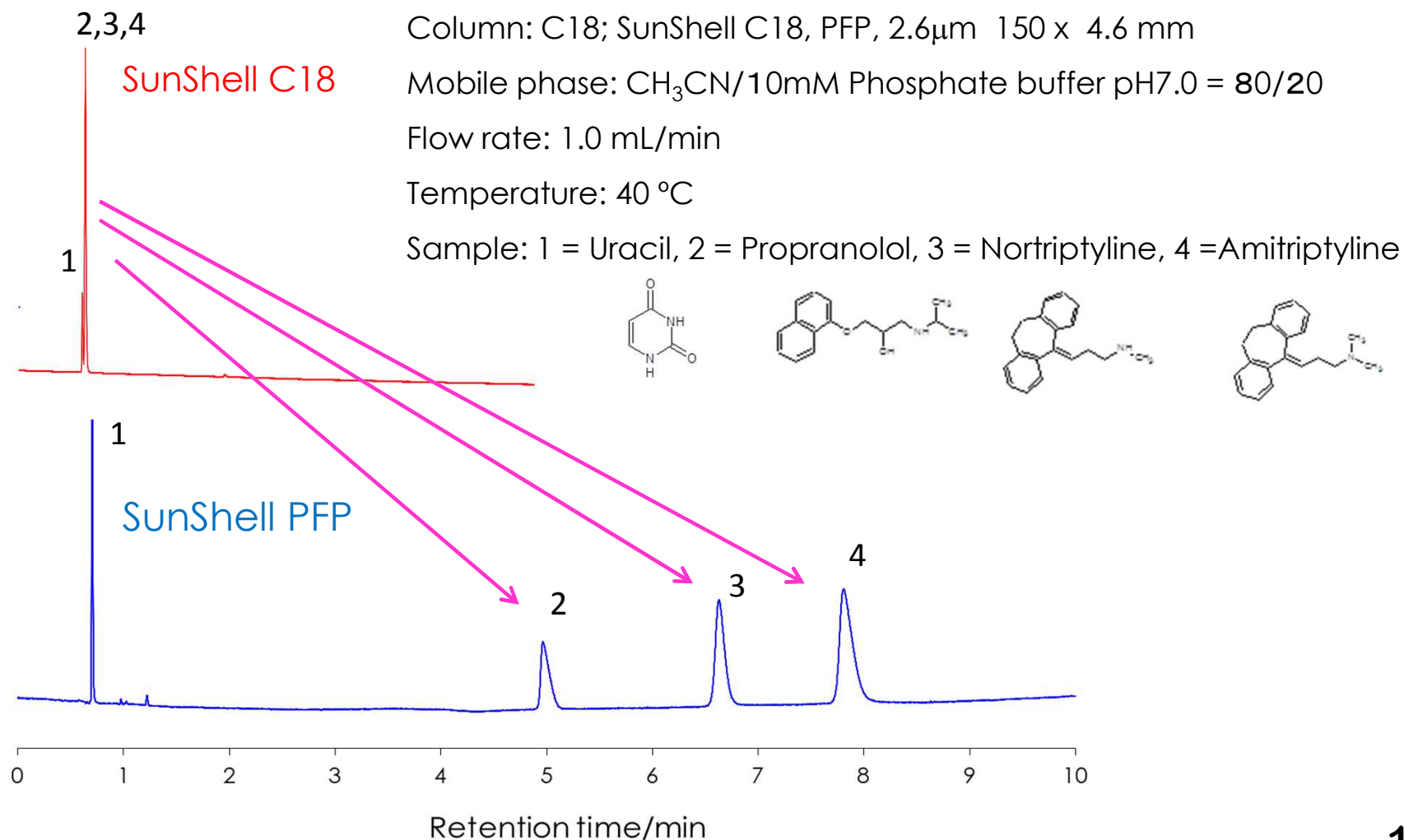
C18とPFPによるキサンチン類の分離比較



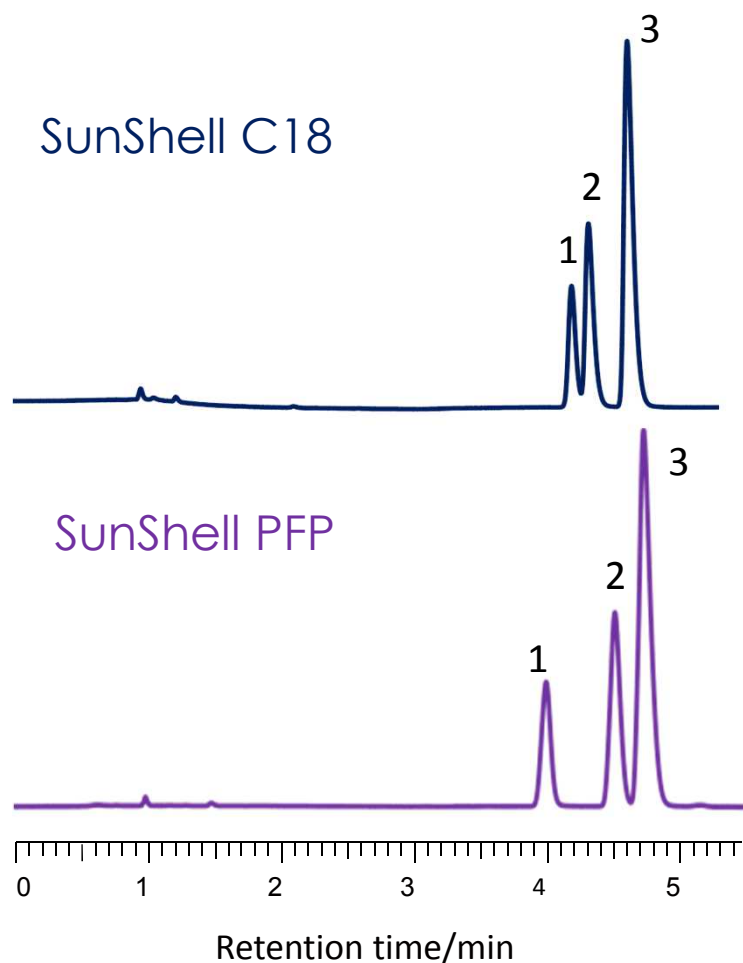
SunShell C18, PFP 2.6 μ m 150 x 2.1 mm
 Mobile phase: CH₃OH/water or buffer=30/70
 Flow rate: 0.3 mL/min
 Temperature: 25 °C
 Detection: UV@250nm
 Sample: 1 = Theobromine
 2 = Theophylline
 3 = Caffeine
 4 = Phenol

PFPはC18に比べ極性の高いカフェインを強く保持します。また塩濃度の調節で分離を変えることができます

C18とPFPによる塩基性化合物の保持比較



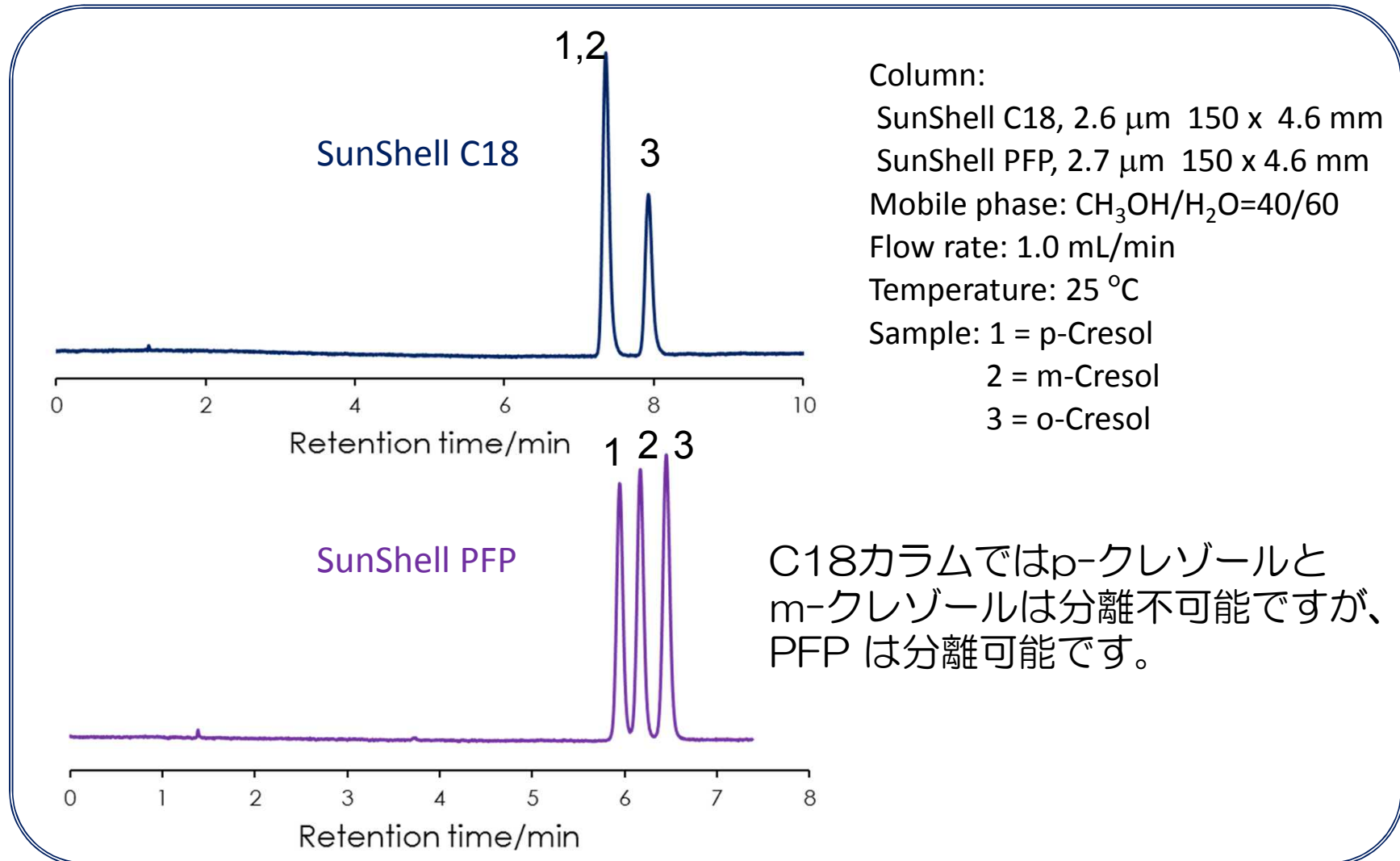
C18とPFPによるキシレンの異性体の分離



SunShell C18, PFP 2.6 μ m 150 x 2.1 mm
 Mobile phase:
 CH₃OH/water=75:25 for SunShell C18
 CH₃OH/water=60:40 for SunShell PFP
 Flow rate: 0.3 mL/min
 Temperature: 25 °C
 Detection: UV@250nm
 Sample: 1 = o-Xylene
 2 = m-Xylene
 3 = p-Xylene

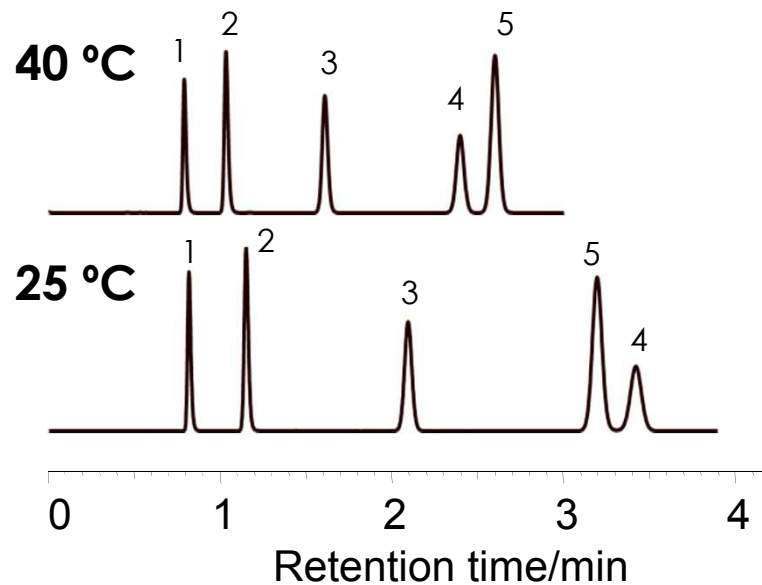
SunShell PFPは異性体の分離についてもC18と異なる分離パターンを示します。

C18とPFPによるクロゾールの異性体の分離



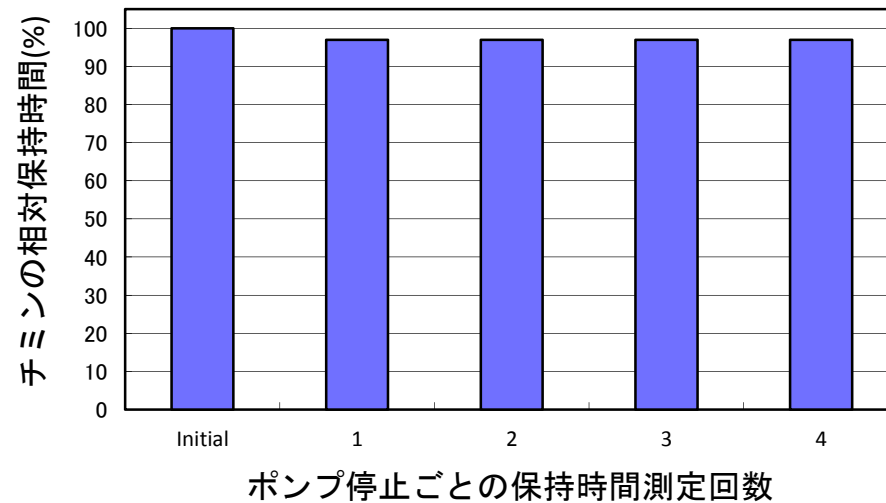
SunShell RP-Aqua の40 °Cでの保持

核酸塩基の分離



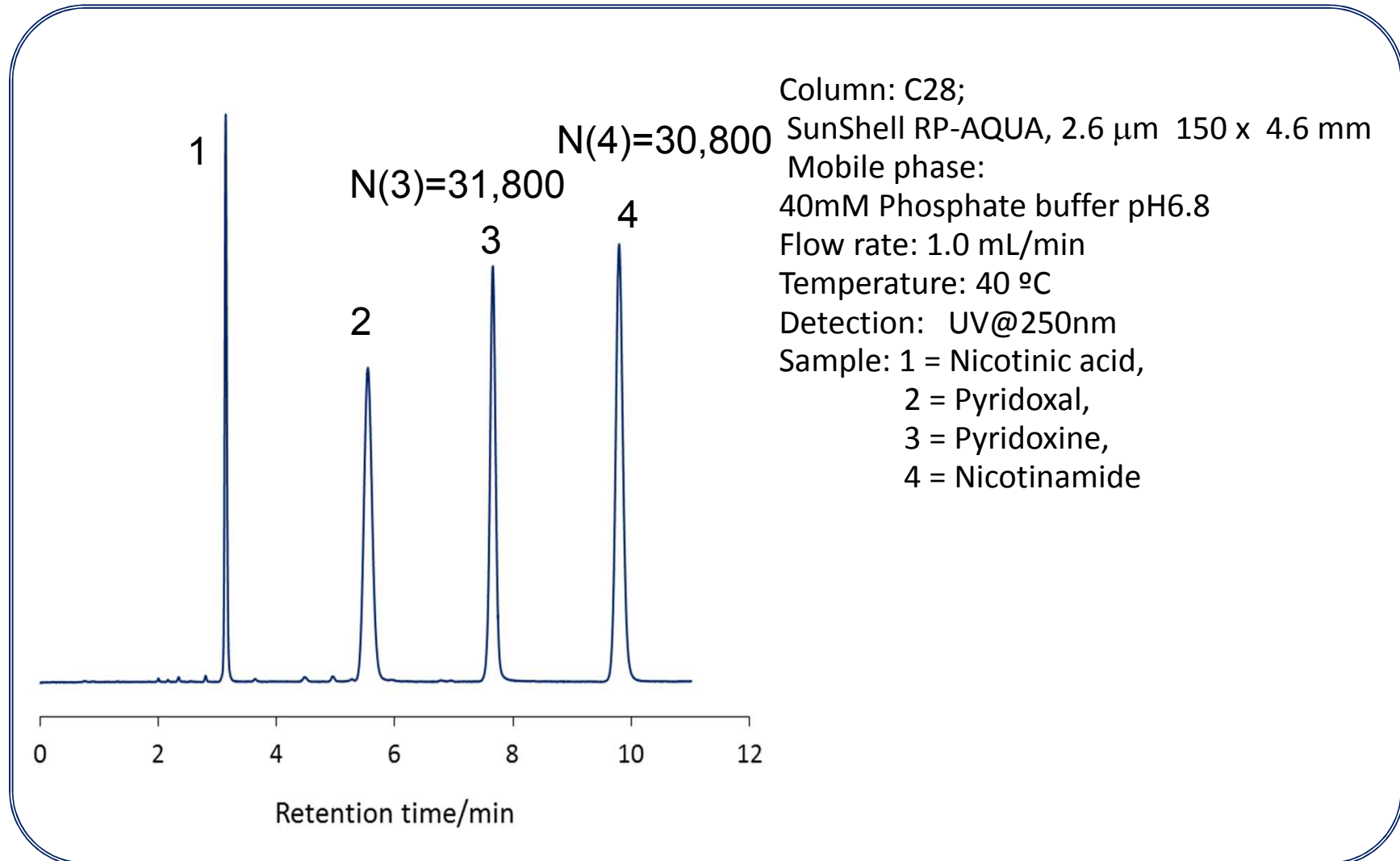
Column: SunShell RP-Aqua, 2.6 mm 75 x 4.6 mm
 Mobile phase: 10mM Phosphate buffer pH7.0
 Flow rate: 1.0 mL/min
 Temperature: 40 °C and 25 °C
 Sample: 1 = Cytosine, 2 = Uracil, 3 = Thymidine,
 4 = Uridine, 5 = Thymine

40°Cでのチミンの保持時間の変化 (ポンプ送液1時間停止毎に測定)



緩衝液のみの移動相を用いた場合の保持の再現性を試験しました。毛管作用により、ポンプを停止し充填剤周りの圧力を大気圧にすると、通常のC18カラムは細孔内からの移動相の抜けだしが起こり、保持時間は大幅に減少しますが、SunShell RP-Aquaほとんど細孔内からの抜け出しは起こっておらず、94%以上の再現性を示しました。

C28による水溶性ビタミンの分離



まとめ

- ✓ C18, C28, C8, フェニル、ペンタフルオロフェニルの水素結合性、疎水性および立体選択性を比較した。
- ✓ 水素結合性はフェニルとペンタフルオロフェニルが高く、疎水性はC18が最も高かった。また立体選択性に関して、フェニルは溶出順序が逆転し、1以下の値となったが、ペンタフルオロフェニルは最も高い立体選択性を示した。
- ✓ アルキル鎖長の違いにより、ペプチドやタンパク質は分離が微妙に異なった。
- ✓ 水素結合性の高いペンタフルオロフェニルは極性化合物に保持が大きく、特に中性条件でイオン化している塩基性化合物はC18に比べ10倍以上の保持が確認された。
- ✓ C18では分離不可能なクレゾールの異性体を立体選択性の高いペンタフルオロフェニルは分離できた。
- ✓ C28は緩衝液のみの移動相でも保持の再現性が高い。