

コアシェルカラムでも2 μm Sub2 μm を超えるその性能



クロマニックテクノロジーズ
塚本友康, 小島 瞬, 長江徳和

Email: info@chromanik.co.jp
<http://chromanik.co.jp>

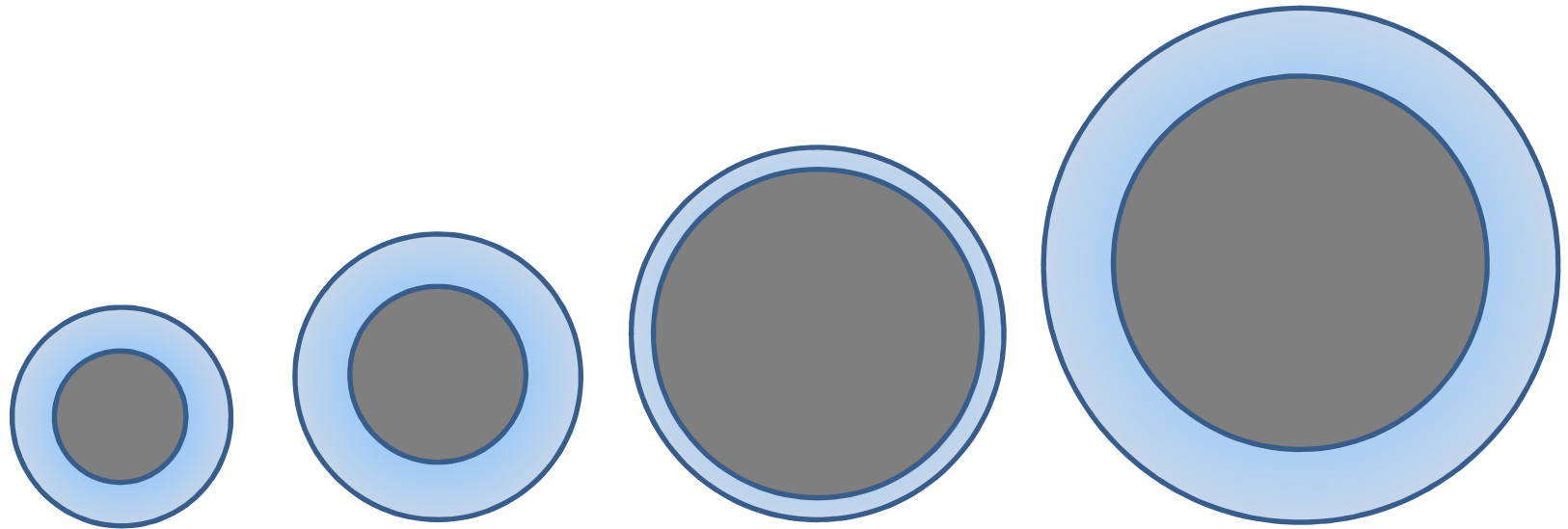


市販されているコアシェルカラム

SunShell(クロマニックテクノロジーズ)	: C18, PFP, C8, RP-Aqua, C4-30 , C8-30
Halo (AMT)	: C18, PFP, CN, PentaHILIC, BioClass
Capcell Core(資生堂)	: C18, PFP, AQ, PC
Kinetex (フェノメネックス)	: C18, PFP, C8, XB-C18, HILIC, EVOC18
Kinetex Aeris (フェノメネックス)	: C18, C8, C4 (タンパクペプチド分析用)
Ascentis Express(シグマアルドリッチ)	: C18, F5(PFP), C8, OH5, RP-Amide
BioShell (シグマアルドリッチ)	: C4, C8, C18
Poroshell(アジレントテクノロジー)	: C18, C8, CN, SB-AQ, HPH-C18
Accucore(サーモフィッシャー)	: C18, PFP, Phenyl-Hexyl, aQ, RP-MS
Nucleoshell(ナーゲル)	: C18, PFP, Phenyl-Hexyl, HILIC
Brownlee SPP(パーキンエルマー)	: C18, PFP, C8, Amide, HILIC
Blue Shell(KNAUER)	: C18, PFP, Phenyl-Hexyl, C18A, HILIC
Cortecs (Waters)	: C18, C18+, HILIC
Raptor (Restek)	: Biphenyl, ARC18
Ultracore (Ace)	: C18, Phenyl-Hexyl
SpeedCore (Fortis)	: C18, PFP, Diphenyl, HILIC
Coresep (Sielc)	: Mixmode
COSMOCORE (Nacalai)	: C18, Cholester
Meteoric Core (YMC)	: C18, C8, C18Bio
InertCore (GLサイエンス)	: C18
ReproShell (Dr.Maisch)	: C18
ClassicShell (Kromasil)	: C18, C8

(固定相は抜粋)

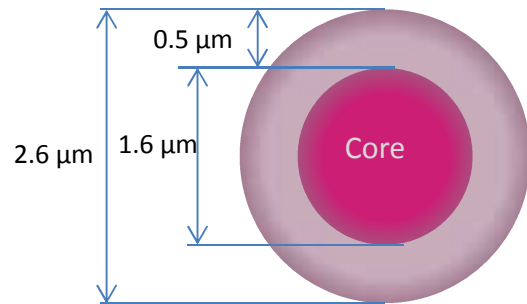
市販されているコアシェル粒子



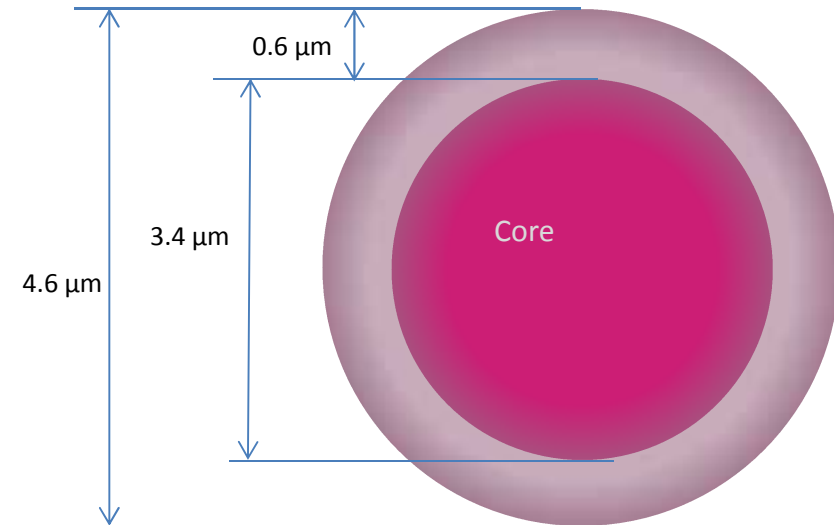
粒子径	1.3-2 μm	2.4-2.7 μm	3.4 - 3.6 μm	4 - 5 μm
細孔径	9 - 10 nm	8 - 16 nm, 30 nm	20 - 40 nm	8 - 12 nm
多孔質層	0.22 - 0.4 μm	0.3 - 0.5 μm	0.2 - 0.5 μm	0.?- 0.6 μm (非公開あり)
比表面積	100 - 120 m^2/g	90 - 150 m^2/g , 40 m^2/g	15 m^2/g (非公開あり)	90 m^2/g (非公開あり)
多孔質%	58 - 78%	58 - 77%	27%	60%

コアシェル粒子

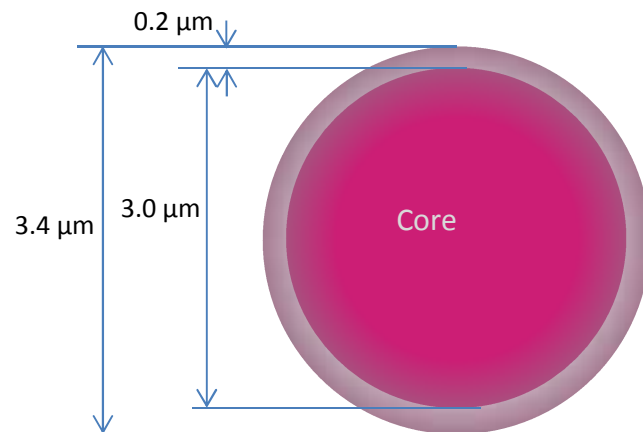
2.6 μm



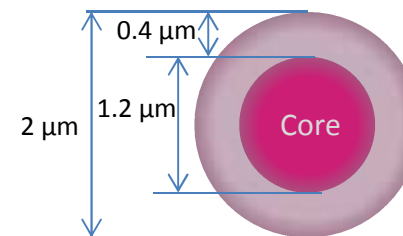
5 μm for routine



3.4 μm for protein



2 μm



微粒子化のメリット, デメリット



- HPLC, UHPLC両方で使用可能
- 時短, 理論段数の両立が難しい場合がある
- UHPLCでのみ使用可能
 - 圧力が高圧に
- 高速化, 高理論段数化が可能
 - 短いカラムで分離可能に

2.6 μ mコアシェルカラムとの比較

	コアシェル型シリカ SunShell C18, 2 μ m		コアシェル型シリカ SunShell C18, 2.6 μ m		コアシェル型シリカ SunShell C18, 5 μ m	
比表面積	120 m ² /g		130 m ² /g		90 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	0.91	0	0.89	0	1.30	0
2) カフェイン	1.00	0.10	0.98	0.10	1.41	0.08
3) フェノール	1.12	0.23	1.10	0.24	1.57	0.21
4) ブチルベンゼン	7.04	6.74	7.04	6.91	8.93	5.87
5) o-ターフェニル	10.02	10.01	10.04	10.28	12.76	8.82
6) アミルベンゼン	10.64	10.69	10.66	10.98	13.43	9.33
7) トリフェニレン	13.68	14.03	13.60	14.28	16.76	11.89
相対値アミルベンゼン	100%	100%	100%	103%	-	87%
多孔質層の割合	78%		77%		60%	

移動相: Methanol/water(75:25)

温度: 40°C

カラム: 100 x 2.1 mm(2 μ m, 2.6 μ m), 150 x 4.6mm(5 μ m)

流速: 0.2 mL/min or 1 mL/min

用いたカラム

コアシェル粒子

SunShell C18 2 μm , 2.1 x 100 mm

Ascentis Express C18 2 μm , 2.1 x 100 mm

Kinetex C18 1.7 μm , 2.1 x 100 mm

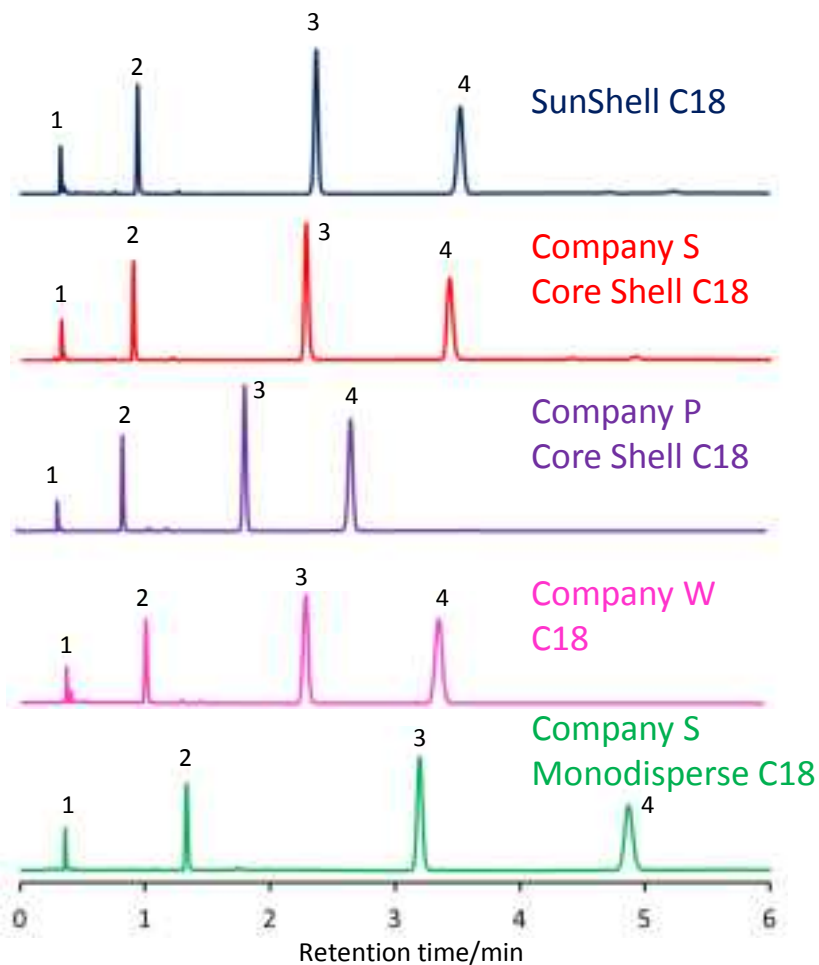
全多孔性粒子

Acquity BEH C18 1.7 μm , 2.1 x 100 mm

Titan C18 1.9 μm , 2.1 x 100 mm

UHPLC: X-LC (日本分光)

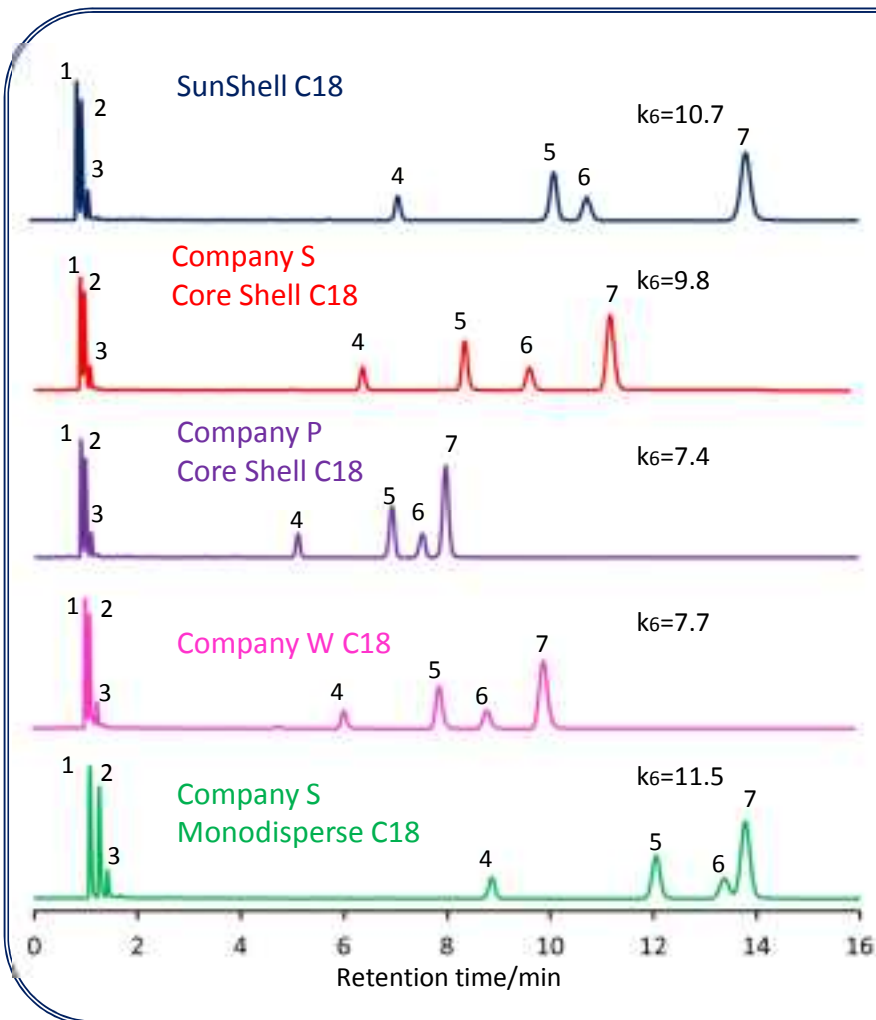
アセトニトリル・水移動相を用いた 段数とカラム圧



Column: SunShell C18, 2 μ m 100 x 2.1 mm
 Company S Core Shell C18, 2 μ m 100 x 2.1 mm
 Company P Core Shell C18, 1.7 μ m 100 x 2.1 mm
 Company W C18, 1.7 μ m 100 x 2.1 mm
 Company S Monodisperse C18, 1.9 μ m 100 x 2.1 mm
 Mobile phase: CH₃CN/H₂O=60/40
 Flow rate: 0.5 mL/min
 Temperature: 40 °C
 Sample: 1 = Uracil, 2 = Ethylbenzoate, 3 = Acenaphthene,
 4 = Butylbenzene

	Acenaphthene		Pressure (MPa)	Theoretical plate /pressure (MPa ⁻¹)
	Theoretical plate	Tailing factor		
SunShell C18	29,721	1.04	48.5	613
Company S Core Shell C18	25,533	1.19	53.5	477
Company P Core Shell C18	24,700	0.97	53.8	458
Company W C18	14,511	1.01	54.1	269
Company S Monodisperse C18	26,592	1.05	43.9	605

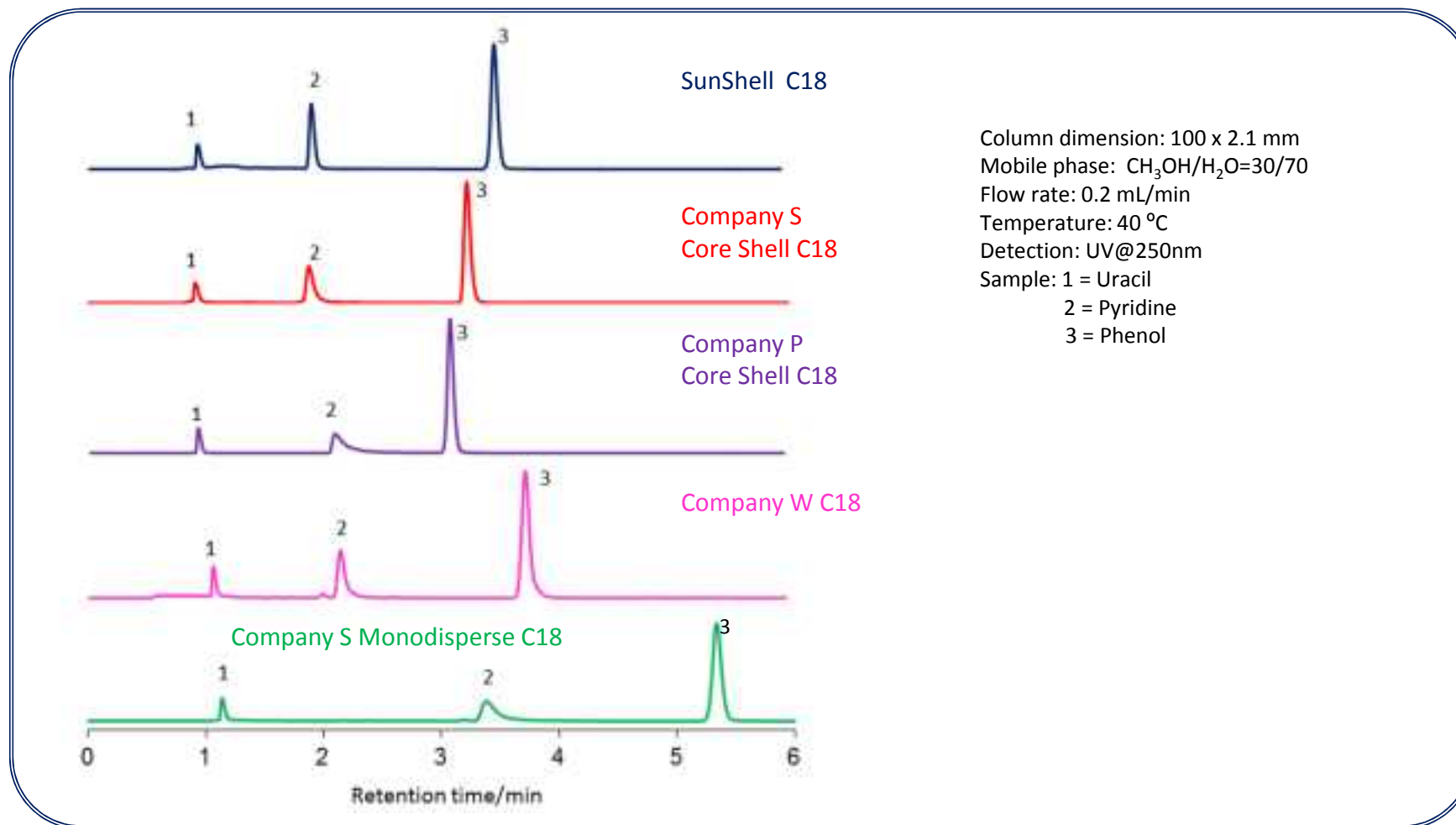
標準試料の分離



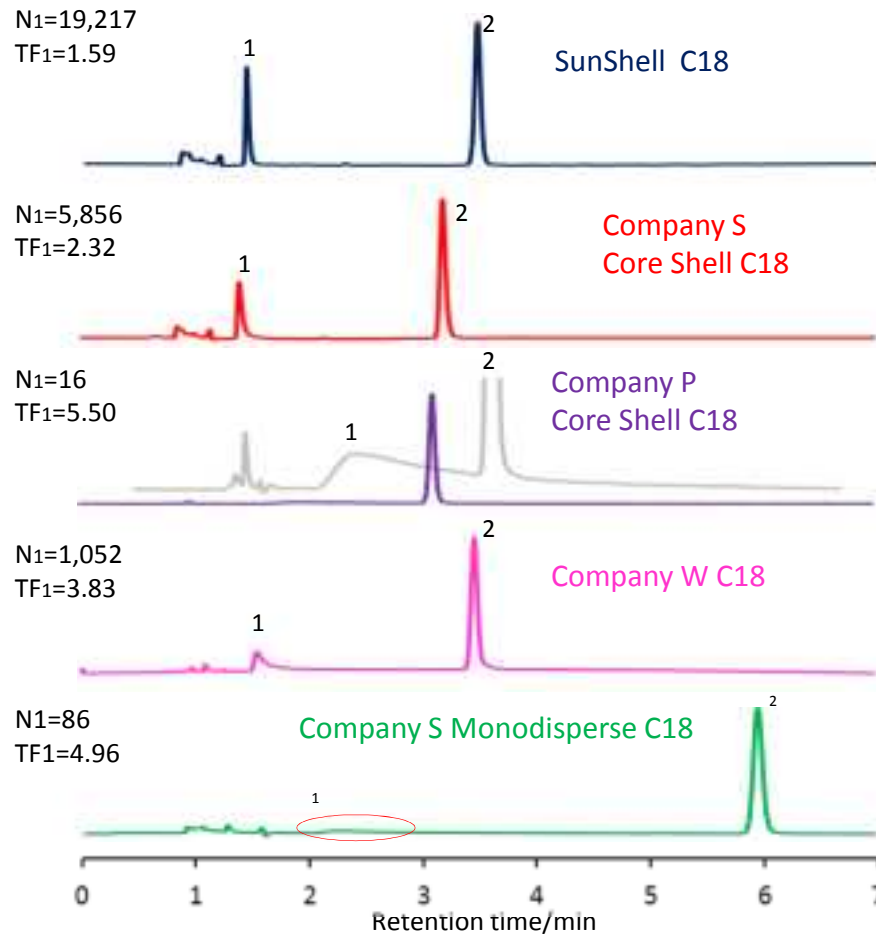
Column: SunShell C18, 2 μm 100 x 2.1 mm
 Company S Core Shell C18, 2 μm 100 x 2.1 mm
 Company P Core Shell C18, 1.7 μm 100 x 2.1 mm
 Company W C18, 1.7 μm 100 x 2.1 mm
 Company S Monodisperse C18, 1.9 μm 100 x 2.1 mm
 Mobile phase: $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}=75/25$
 Flow rate: 0.2 mL/min
 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)
SunShell C18	0.43	1.59	1.41
Company S Core Shell C18	0.37	1.59	1.38
Company P Core Shell C18	0.45	1.57	1.17
Company W C18	0.35	1.55	1.30
Company S Monodisperse C18	0.53	1.58	1.16

ピリジンピーク

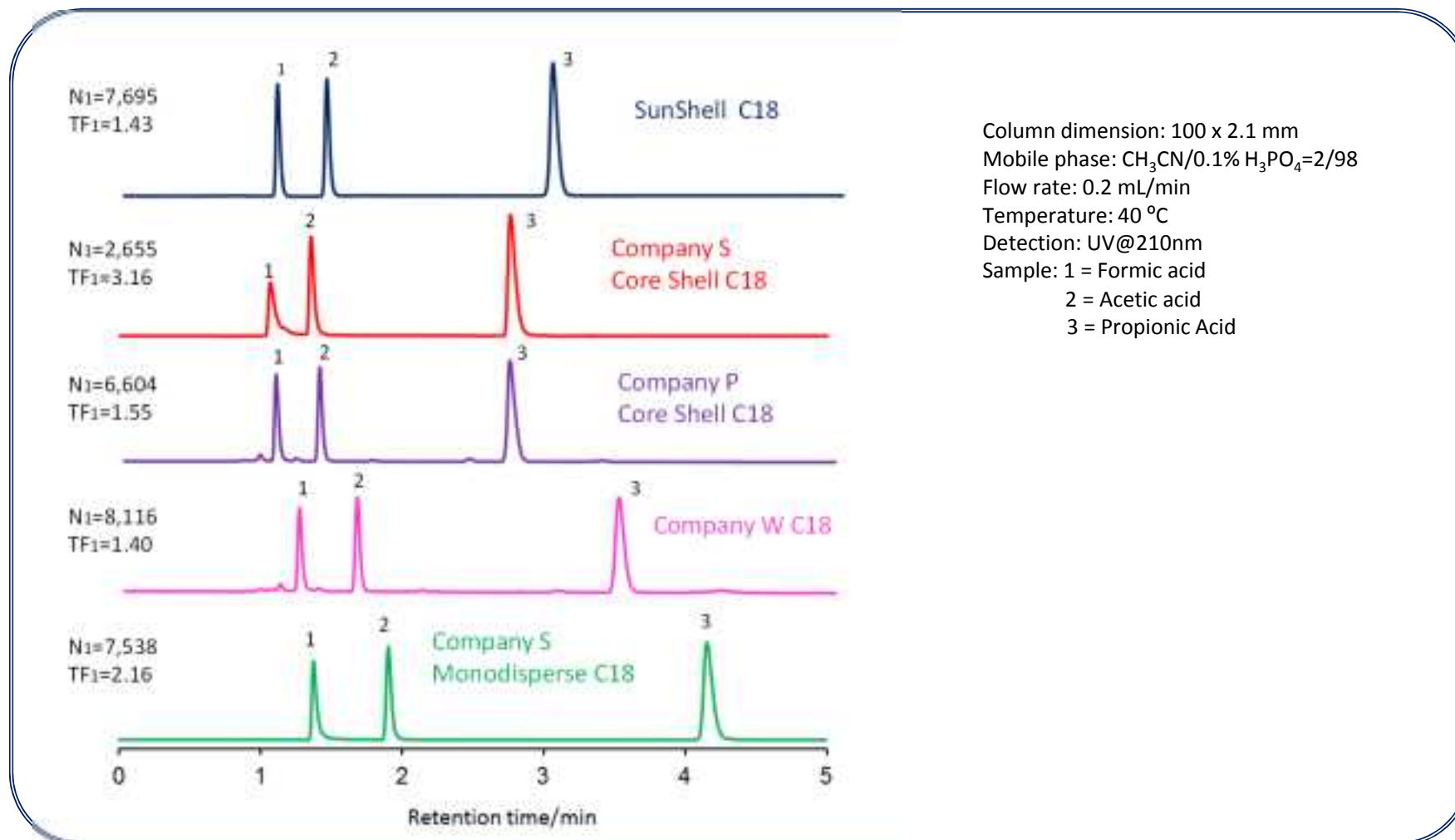


オキシソルピーク



Column dimension: 100 x 2.1 mm
 Mobile phase: CH₃CN/20mM H₃PO₄=10/90
 Flow rate: 0.2 mL/min
 Temperature: 40 °C
 Detection: UV@250nm
 Sample: 1 = 8-Quinololinol (Oxine)
 2 = Caffeine

ギ酸ピーク



アミトリプチリンのピーク



SunShell C18



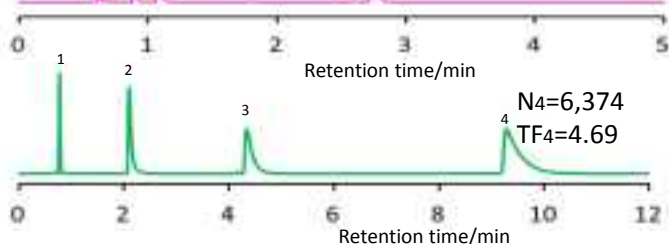
Company S
Core Shell C18



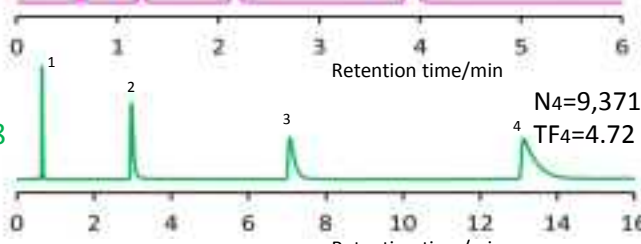
Company P
Core Shell C18



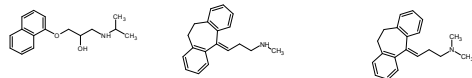
Company W C18



Company S
Monodisperse C18

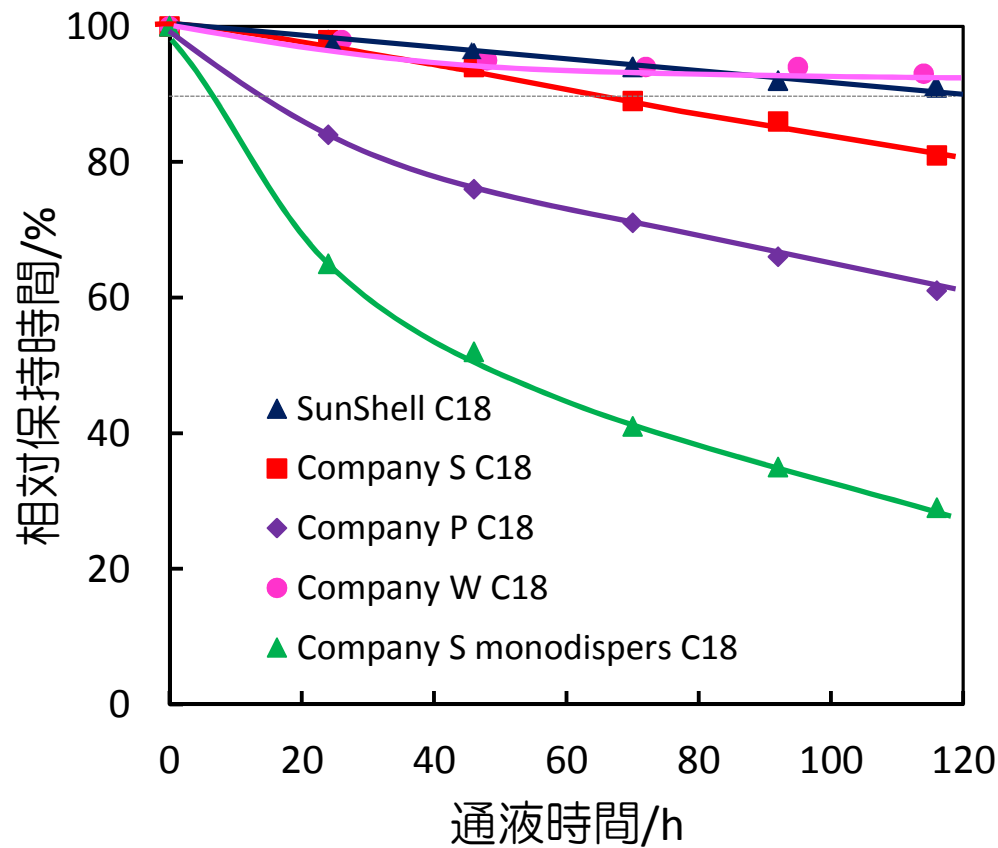


Column dimension: 100 x 2.1 mm
Mobile phase: CH₃CN/20mM Phosphate buffer pH 7.0=60/40
Flow rate: 0.3 mL/min
Temperature: 40 °C
Detection: UV@250nm
Sample: 1 = Uracil, 2 = Propranolol, 3 = Nortriptyline, 4 = Amitriptyline



Column dimension: 100 x 2.1 mm
Mobile phase: CH₃CN/10mM ammonium acetate pH 6.8=40/60
Flow rate: 0.3 mL/min
Temperature: 40 °C
Detection: UV@250nm
Sample: 1 = Uracil
2 = Propranolol
3 = Nortriptyline
4 = Amitriptyline

酸性条件での耐久性



Durable test condition

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

Measurement condition

Column size: 50 x 2.1 mm

Mobile phase: CH₃CN/H₂O=60/40

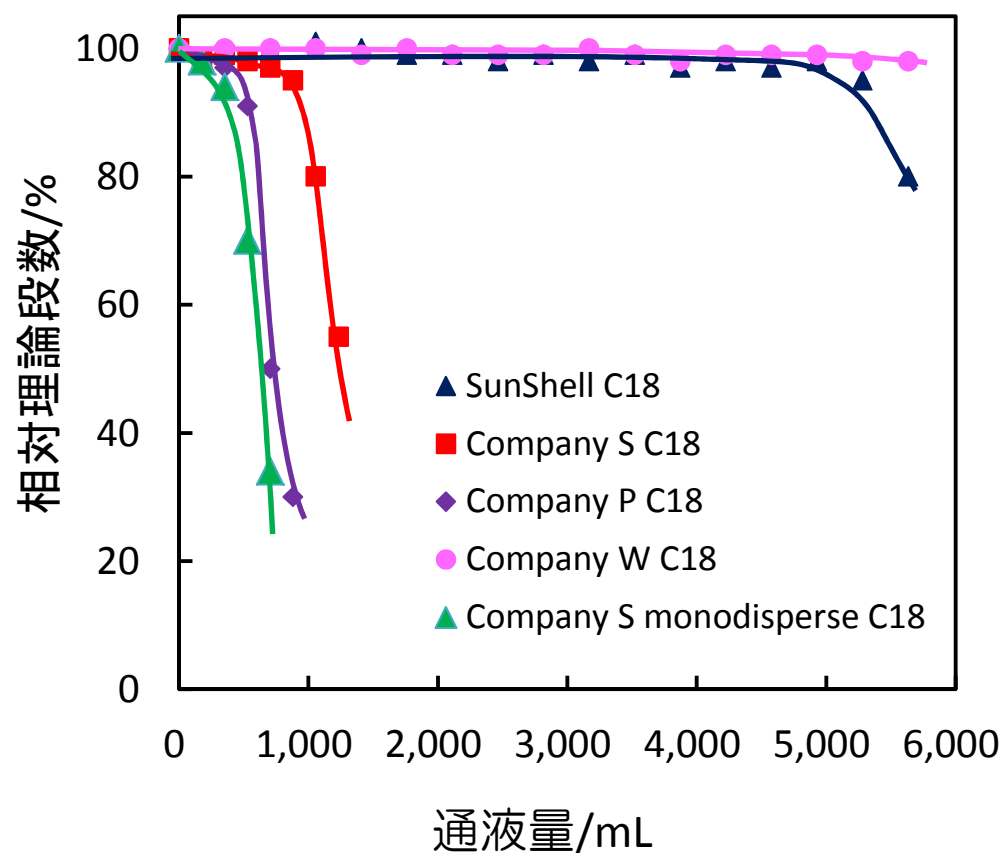
Flow rate: 0.4 mL/min

Temperature: 40 °C

Sample: 1 = Uracil

2 = Butylbenzene

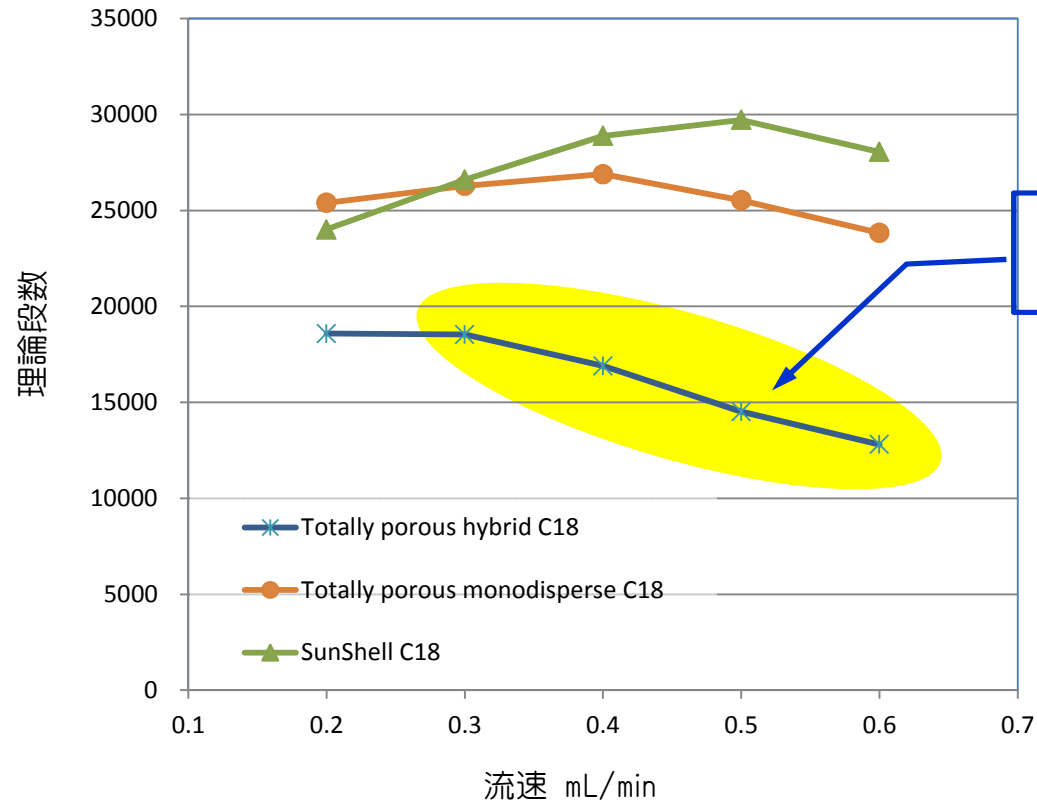
アルカリ性条件での耐久性



Durable test condition
 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

Measurement condition
 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

流速による理論段数変化



流速が上がるにしたがって
理論段数も上がるはず...

Column: 100 x 2.1 mm
 Mobile phase: CH₃CN/H₂O=60/40
 Temperature: 40 °C
 Sample: Acenaphthene,

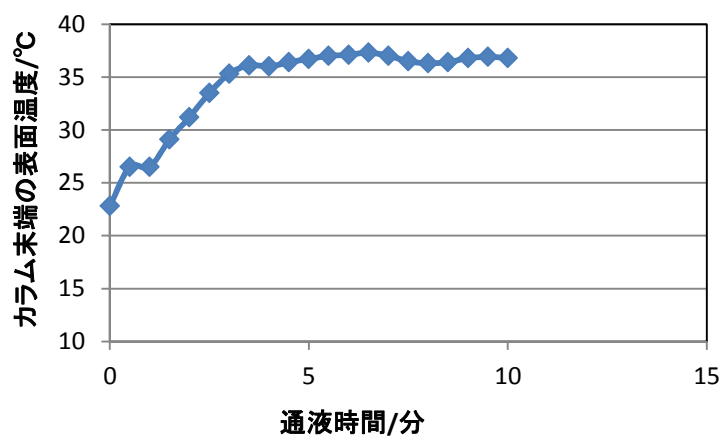
摩擦熱の発生



通液開始

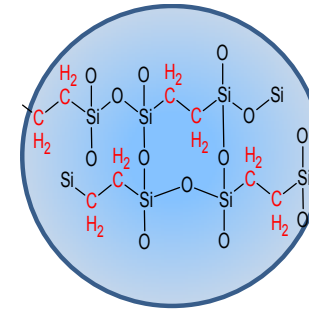
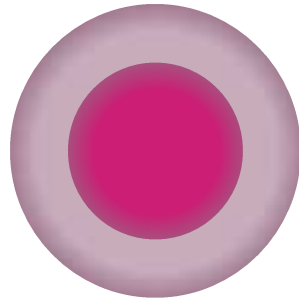


9分後



カラム: コアシェル, 2.6 μm 150 x 4.6 mm
 移動相: メタノール
 流速: 5 mL/min
 カラム圧: 70 MPa
 室温: 23°C

粒子の熱伝導性



コアシェルシリカはコアが存在し、全多孔性シリカより熱伝導性が良く、摩擦熱の影響を受けにくい
ため、より高い流速領域まで段数は上昇すると推測される。

全多孔性ハイブリッドシリカは、シリカ骨格に炭素鎖が入っているため、熱伝導性が悪く、カラム内の温度分布が均一でないため、通常の全多孔性シリカより、低流速で摩擦熱が原因となる段数低下が起こったと推測される。

*Fabrice Gritti, Georges Guiochon, J. Chromatogr. A 1217 (2010) 5069.

A part of abstract

This unexpected result is accounted for by the three times smaller heat conductivity of the BEH bed (BEH 0.25 W/m/K) than that of the Kinetex bed (Kinetex 0.75 W/m/K).

コアシェルシリカの熱伝導性はハイブリッドシリカの3倍



カラムを上手に使うには・・・

粒子径の小さいカラムを使うにあたって・・・

カラムは小サイズ化

ピークの溶出は早く、高理論段数化



カラム内拡散が小さい

物質移動速度が速い

得られるクロマトグラムの
ピークボリュームが小さい

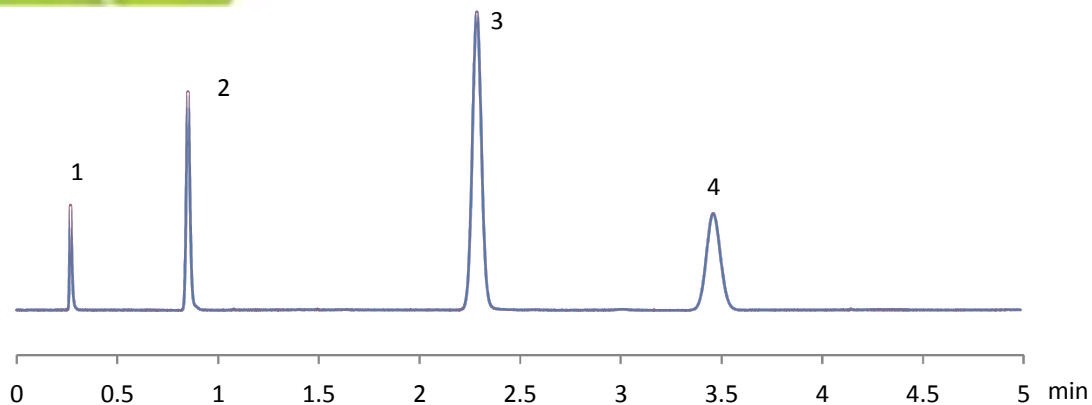


装置のチョットした容量が結果に
影響することに

配管の影響



耐圧: 130MPa
メタルフリー対応



Connecting tube

Injector→Column: Marvel X, 0.075 mm i.d., 350 mm length

Column→Flow cell of UV: Marvel X, 0.075 mm i.d., 150 mm length

Column: SunShell C18, 2.6 μ m 50 x 2.1 mm

Mobile phase: Acetonitrile/water=60/40, Flow rate:0.30 mL/min

Temperature: RT, Detection: UV@250 nm, Injection volume: 0.4 μ L

Sample: 1=Uracil, 2=Ethylbenzene, 3=Acenaphthene, 4=Butylbenzene

SunShell C18 2.6 μ m, 50 x 2.1 mm

	Peak No.	SUS	Marvel X
Efficiency	1	1107	2614
	2	6852	10146
	3	10976	11907
	4	10768	11129
Tailing factor	1	0.939	0.913
	2	1.320	1.210
	3	1.057	1.037
	4	1.041	1.051
Peak width, $h_{0.5}$ (min)	1	0.0201	0.0124
	2	0.0246	0.0199
	3	0.0513	0.0493
	4	0.0783	0.0772

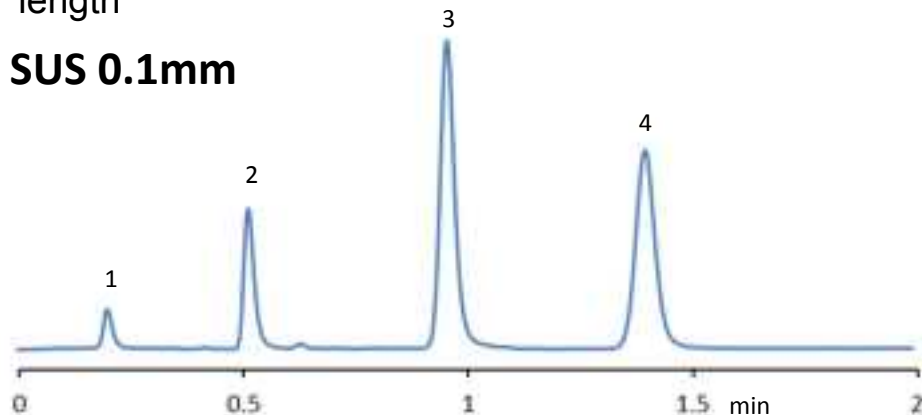
配管の影響2

Connecting tube

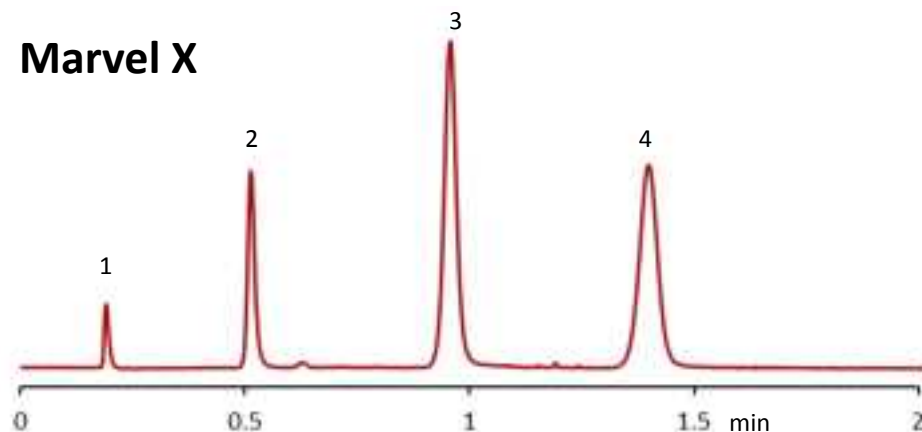
Injector→Column: SUS, 0.1 mm i.d., 300 mm length

Column→Flow cell of UV: PeekSil, 0.1 mm i.d., 200 mm length

SUS 0.1mm



Marvel X



Connecting tube

Injector→Column: Marvel X, 0.075 mm i.d., 350 mm length

Column→Flow cell of UV: Marvel X, 0.075 mm i.d., 150 mm length

Measurement condition

Column: SunShell C8, 2.6 μ m
30 x 2.1 mm
Mobile phase: Acetonitrile/water=60/40
Flow rate: 0.30 mL/min
Temperature: RT
Detection: UV@250 nm
Injection volume: 0.4 μ L
Sample:
1=Uracil
2=Ethylbenzene
3=Acenaphthene
4=Butylbenzene

SunShell C8 2.6 μ m, 30 x 2.1 mm

	Peak No.	SUS	Marvel X
Efficiency	1	473	1405
	2	2395	5245
	3	4377	6030
	4	4991	5536
Tailing factor	1	1.225	1.037
	2	1.395	1.235
	3	1.266	1.062
	4	1.118	1.028
Peak width, $h_{0.5}$ (min)	1	0.0205	0.0119
	2	0.0246	0.0166
	3	0.0338	0.0288
	4	0.0463	0.0440

まとめ

- ◆ 各カラムの理論段数は大きく異なり、最大2倍の差があり、Company Wは他に比べ低い理論段数であった。また摩擦熱によると考えられる段数低下はハイブリッドシリカが顕著であった。
- ◆ 金属配位性のオキシピーク形状はカラム間に大きな差があり、Company P およびCompany S Monodisperseは100段以下の段数となり、金属不純物の影響が非常に高いことが確認された。
- ◆ 酸性化合物のギ酸ピークはCompany S Core Shellのみひどくテーリングした。
- ◆ 塩基性化合物のアミトリプチリンピークはSunShell とCompany Wがテーリングが少なかったが、他は段数が低くテーリングも大きかった。
- ◆ 耐酸性・耐アルカリ性もカラム間に大きな差が認められた。