

# 分析展-2011 新技術説明会

日本発(初)! コアシェル型C18カラム:  
同一圧力条件下でsub2 $\mu$ mの2~3倍の  
理論段数達成

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](mailto:info@chromanik.co.jp)  
<http://chromanik.co.jp>



# 発表の概要

1. コアシェル型シリカの歴史
2. コアシェル充填剤とは
3. コアシェル型カラムの性能
4. SunShell C18と他社コアシェルC18との比較
5. 汎用の5 $\mu$ mカラムからSunShellカラムへの移行例
6. SunShell C8・PFP固定相の紹介

# シェルコア型シリカの歴史

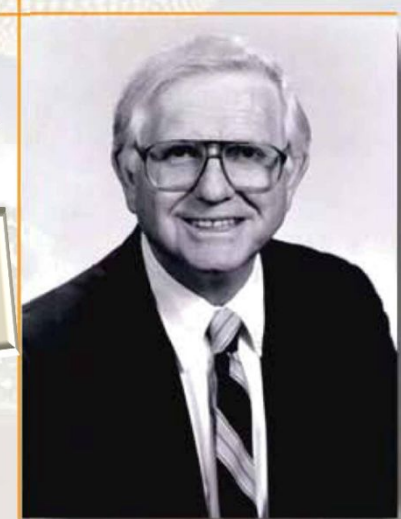
1969年カークランドにより発表されたHPLCで使用されていた充填剤 - 直径30 $\mu\text{m}$ の核に厚さ0.5 $\mu\text{m}$ の多孔質層

2000年にカークランドらにより発表<sup>1</sup>, タンパク質の高速分離用充填剤 - 直径4 $\mu\text{m}$ の核に厚さ0.5 $\mu\text{m}$ 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<sup>2</sup>, 全多孔性sub2 $\mu\text{m}$ 充填剤に匹敵する充填剤 - 直径1.7 $\mu\text{m}$ の核に厚さ0.5 $\mu\text{m}$ の多孔質層 (細孔径9nm)

(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).



• Fused-Core technology  
was developed by  
Jack Kirkland.

# 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

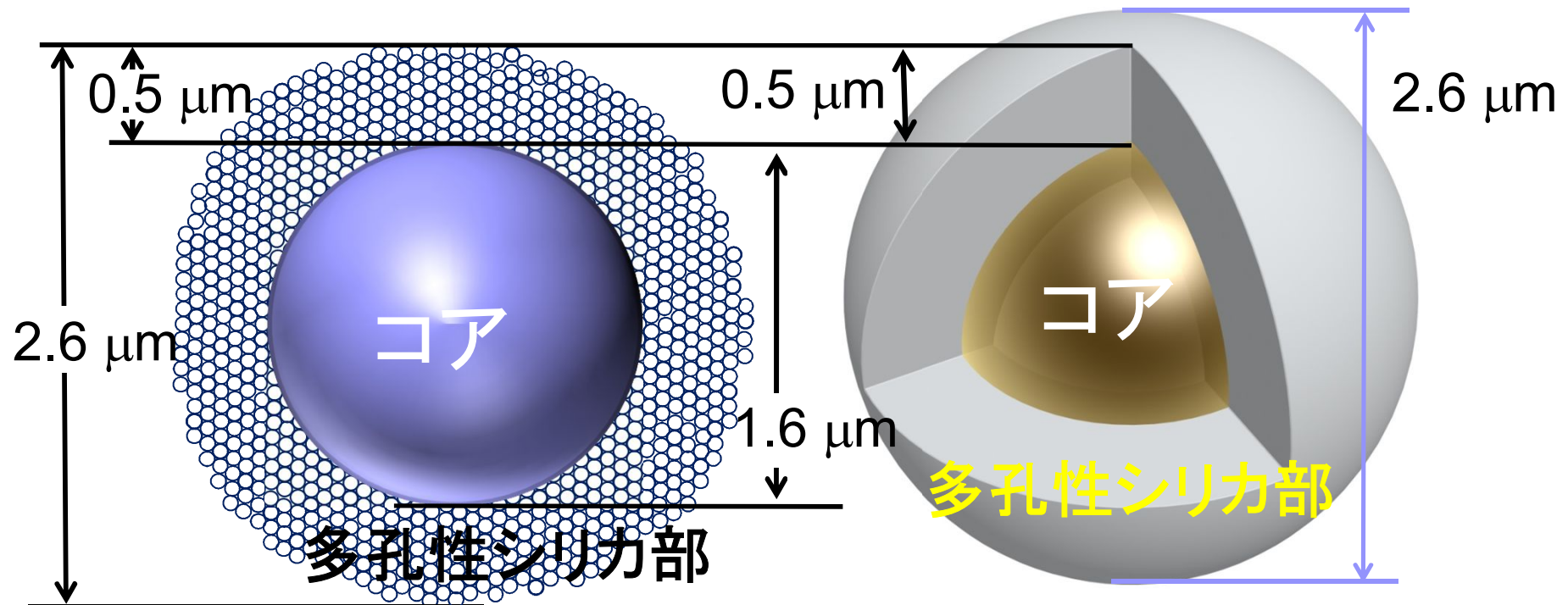


同じ粒子径の全多孔性の粒子に比べ，コアシェル粒子は多孔質層が薄いため，溶質の拡散距離が短くなり，速く平衡化するため，段数が高くなる



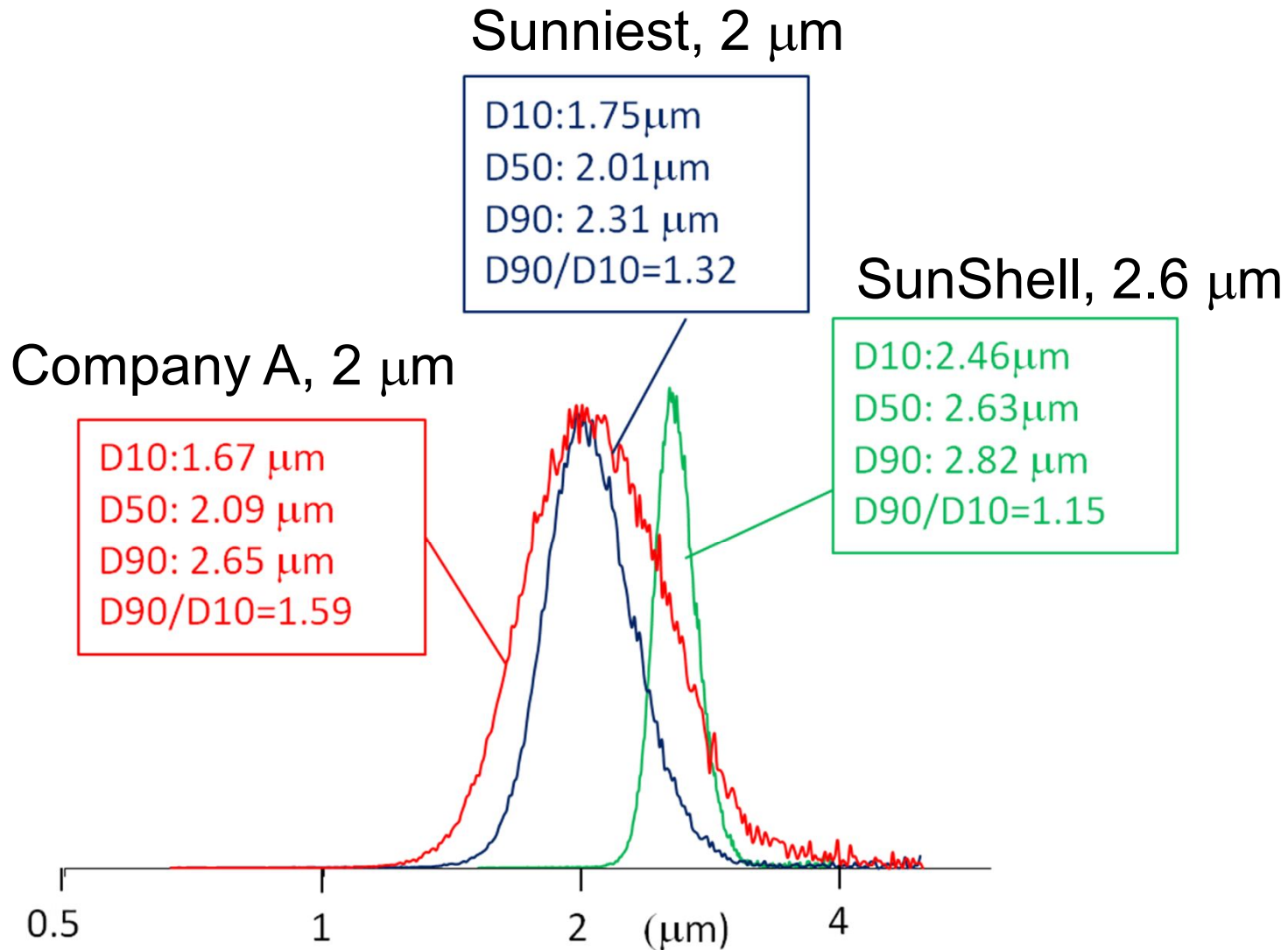
つまり，コアシェルは3 $\mu\text{m}$ 粒子の圧力と同等であるにも関わらず，サブ2 $\mu\text{m}$ の性能を発揮する

# SunShellシリカのコアシェル構造の概略図

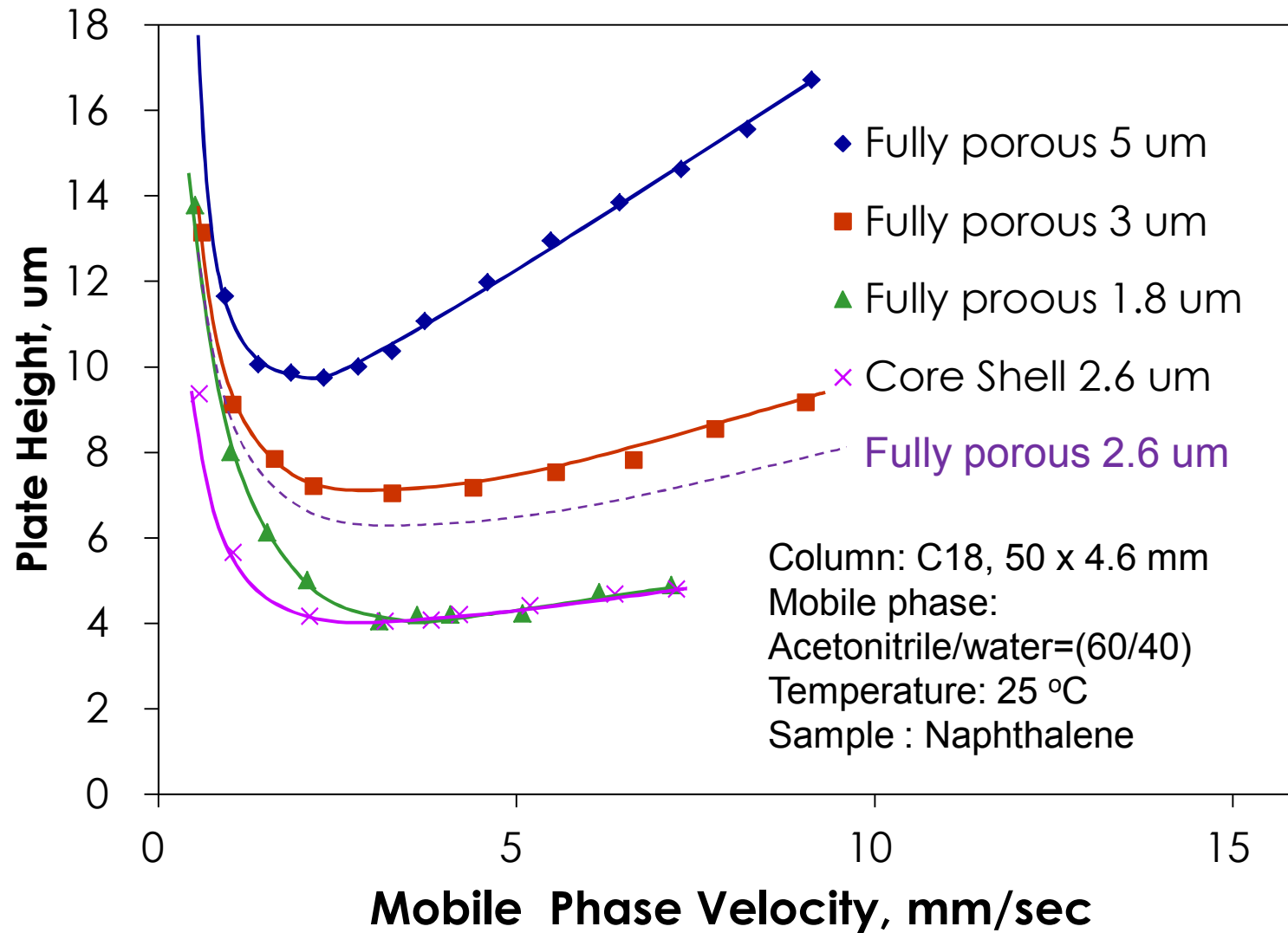


粒子径: 2.6  $\mu\text{m}$ , コア径: 1.6  $\mu\text{m}$ , 多孔質層の厚さ: 0.5  $\mu\text{m}$   
 細孔容積: 0.30 mL/g, 比表面積: 150  $\text{m}^2/\text{g}$ , 細孔径: 9 nm  
 多孔性シリカの体積の割合: 77%

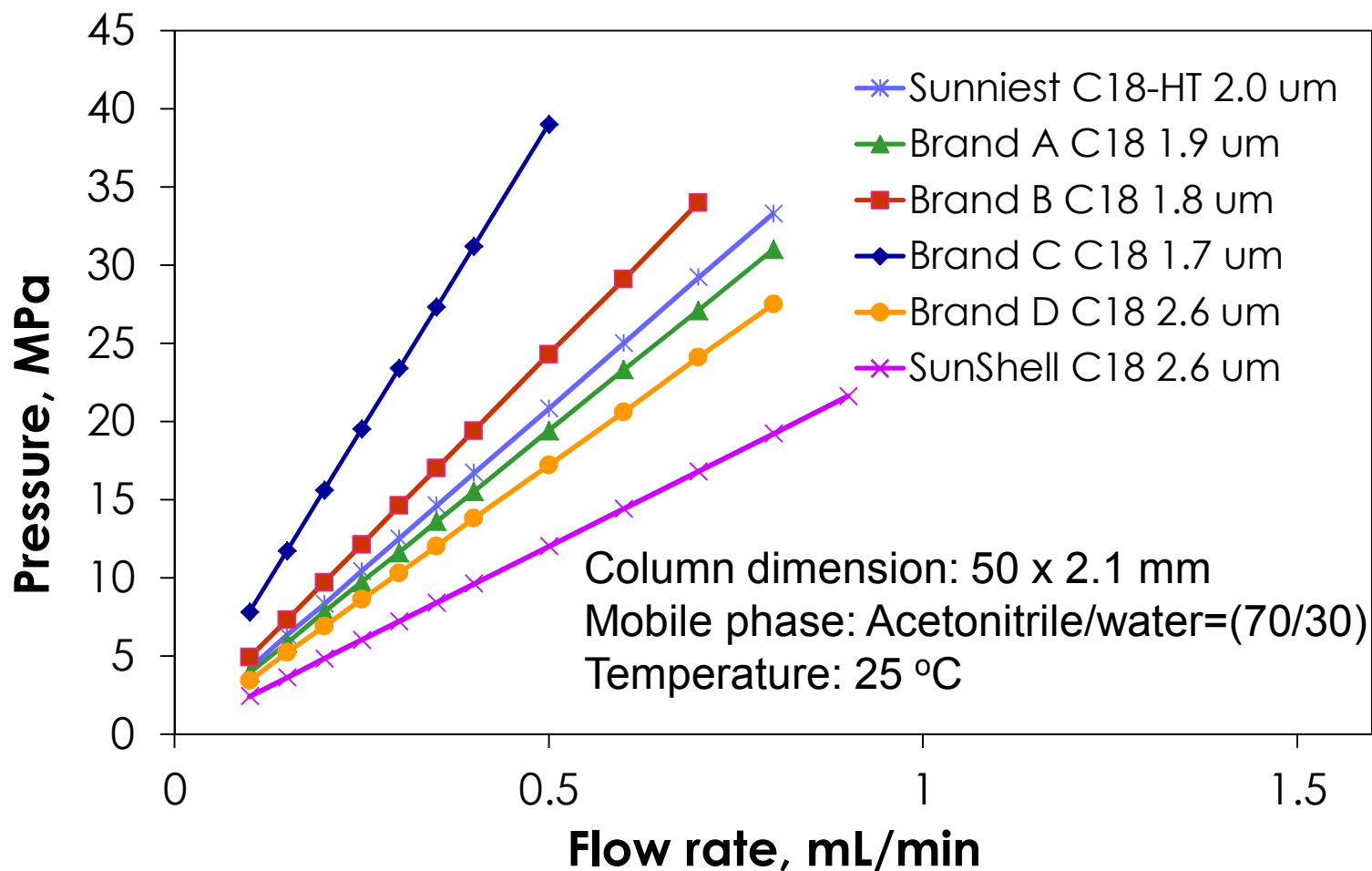
# 粒度分布の比較



# 全多孔性とコアシェル型の理論段高さの比較



# Sub2 $\mu$ mカラムとコアシェル型カラムとの圧力比較





# 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

$$t_0 \propto N^2$$

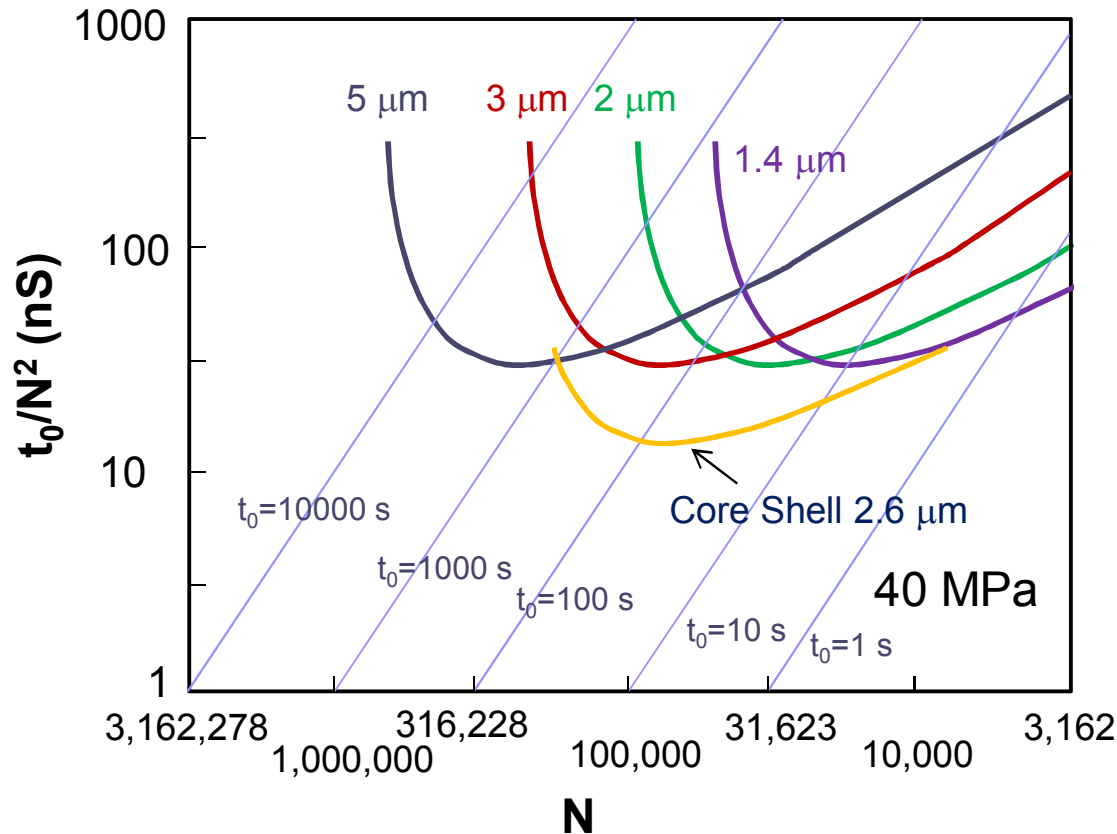
$$t_0 = A \cdot N^2 \quad A = t_0/N^2$$

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

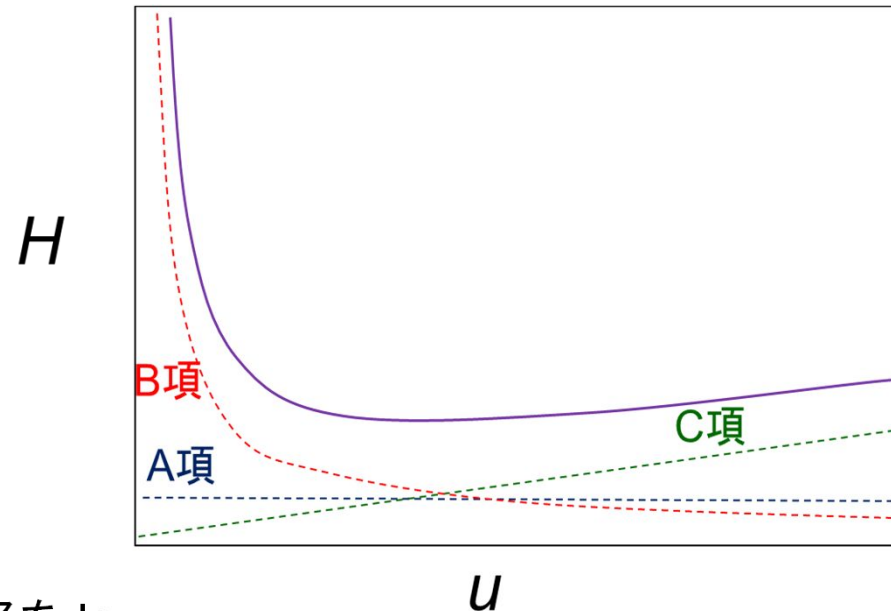
# コアシェル型充填剤と全多孔性充填剤の $t_0/N^2$ （インピーダンスタイム）と $N$ （理論段数）との関係



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  $D_m = 2.22 \times 10^{-9}$  m<sup>2</sup>/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 $\mu$ m

# Van Deemterの式

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



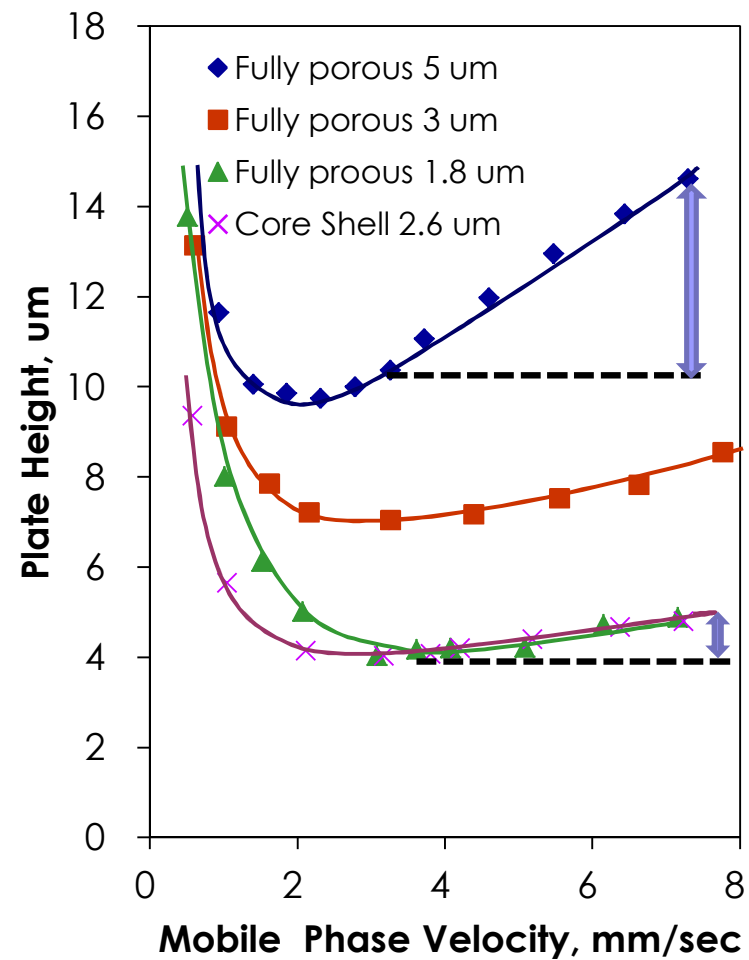
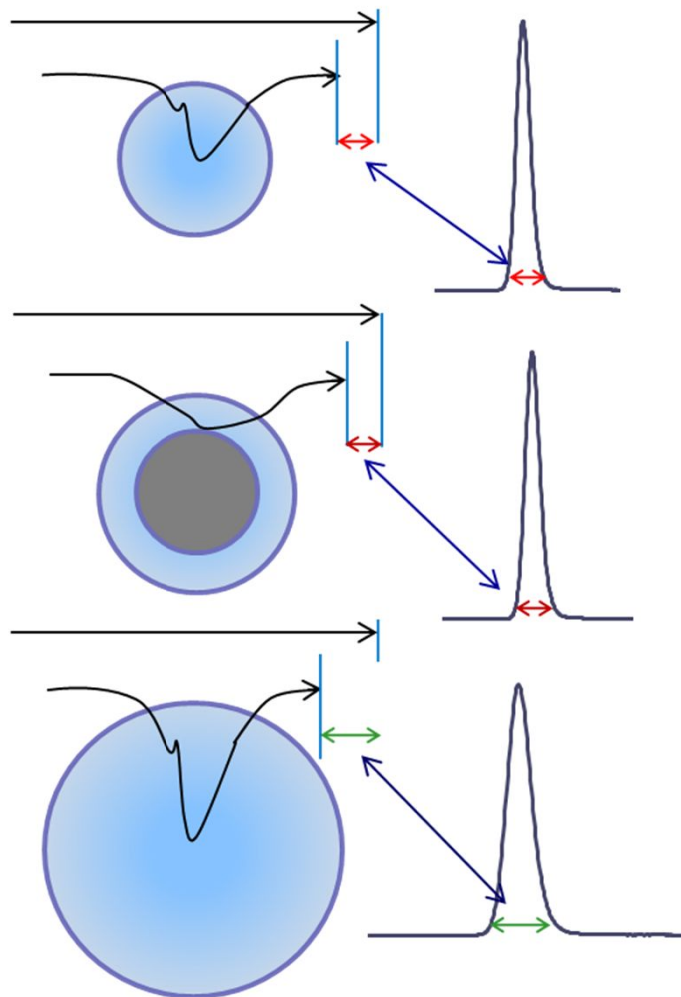
A項 : 多流路拡散、渦巻き拡散 : 粒径を $d_p$

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

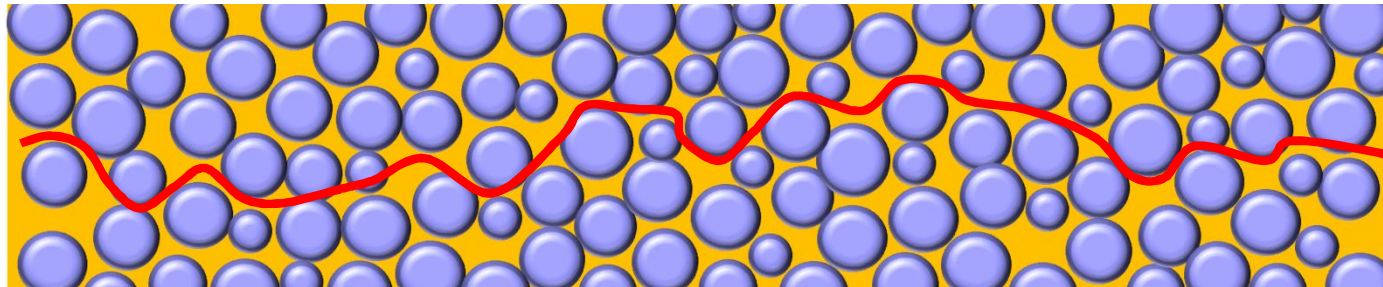
1. F. D. Antia and C. Horvath, *J. Chromatogr.*, 435 (1988) 1-15.

# 『拡散による物質移動（の遅れ）』はC項 に関係している

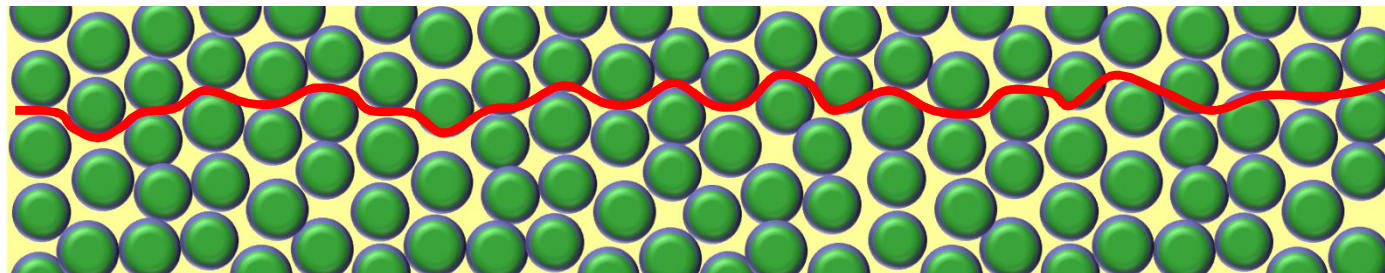


# A項が小さくなる

粒度分布の広い充填剤(一般的な全多孔性シリカ)

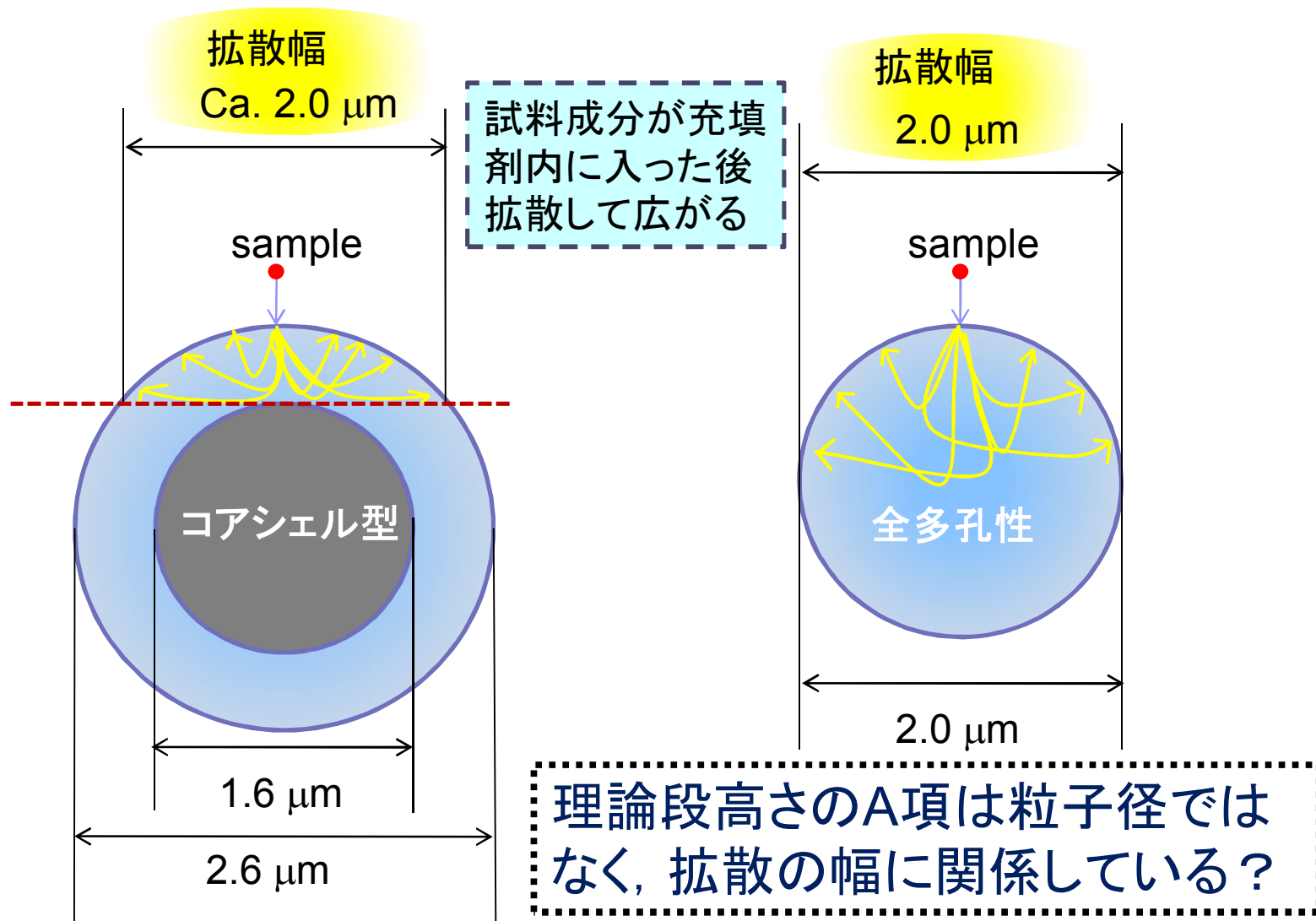


粒度分布の狭充填剤 (コアシェルシリカ)



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

# コアシェル型と全多孔性充填剤の比較



# コアシェルC18の標準試料の分離例

## UHPLC使用

サブ2 $\mu$ m (1.8 $\mu$ m)と同じ段数

段数(3)=21,300

Column: SunShell C18, 2.6  $\mu$ m 100 x 2.1 mm

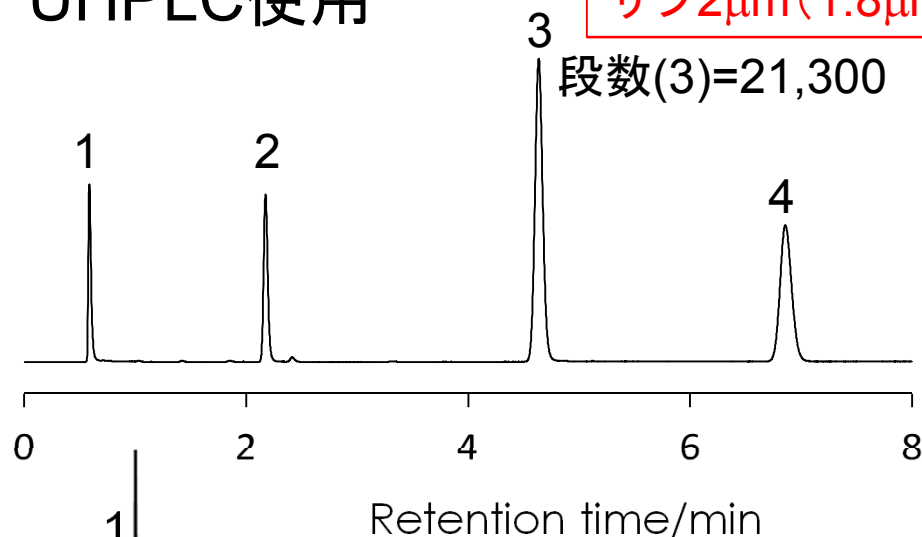
Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=60/40

Flow rate: 0.3 mL/min

Pressure: 12.5 MPa

Temperature: 25 °C

サブ2 $\mu$ m (1.8 $\mu$ m)の  
半分以下の圧力



Sample: 1 = Uracil

2 = Toluene

3 = Acenaphthene

4 = BUtylbenzene

Plates(3)=38,000

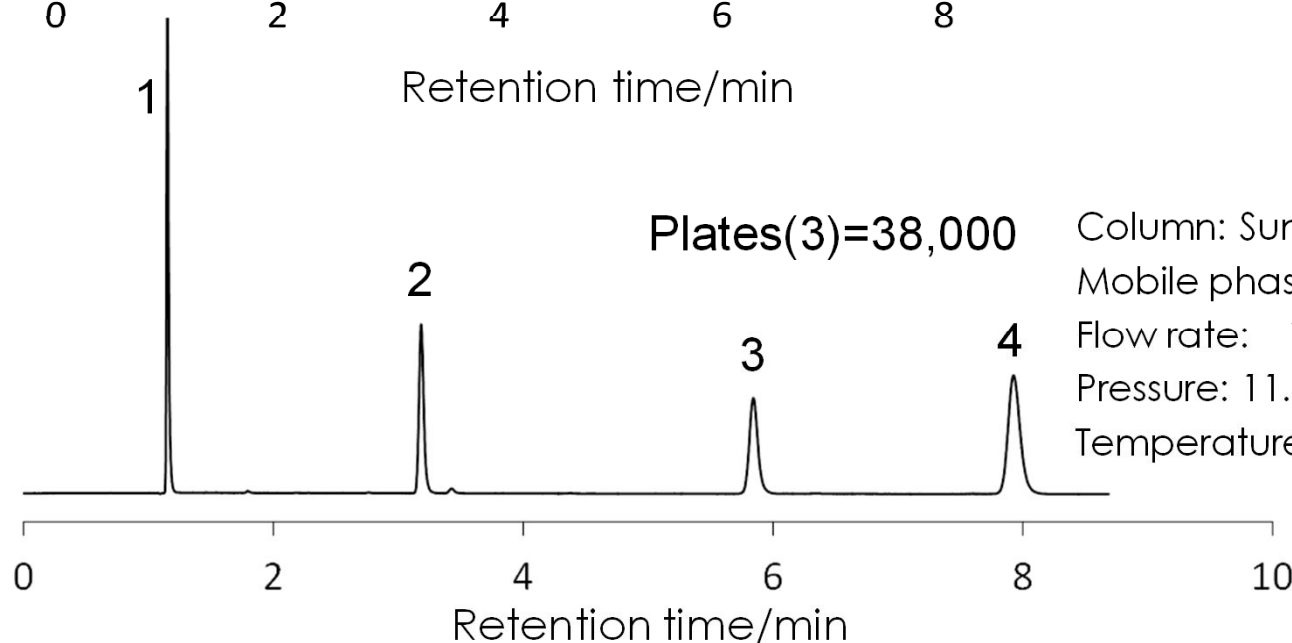
Column: SunShell C18, 2.6  $\mu$ m 150 x 4.6 mm

Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=70/30

Flow rate: 1.0 mL/min

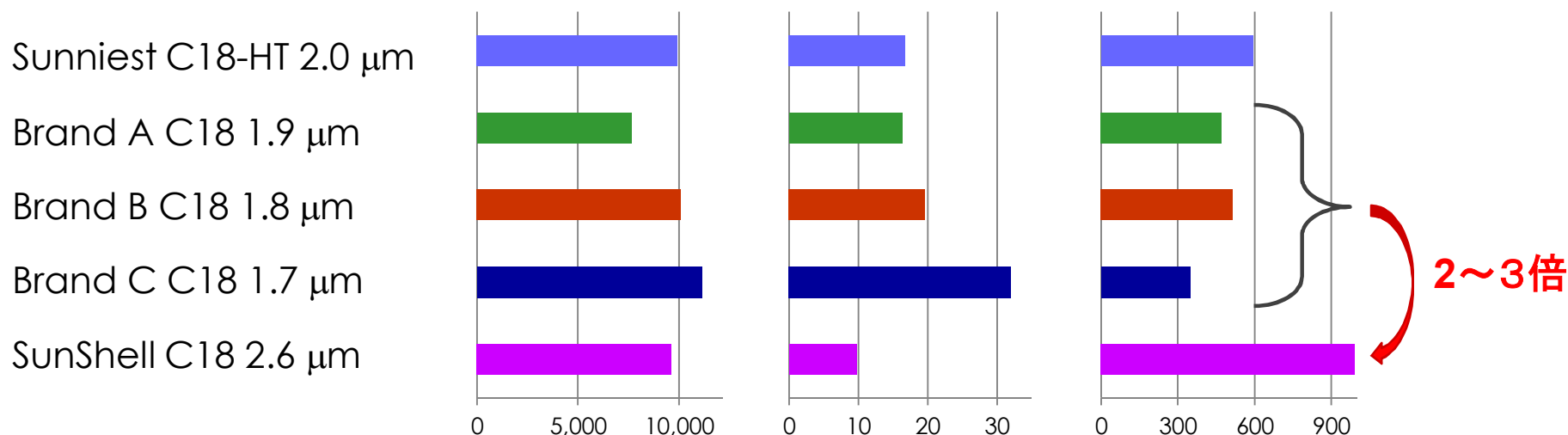
Pressure: 11.5 MPa

Temperature: 25 °C



# 単位圧力あたりの段数比較

	Plates	Pressure(MPa)	Plates/pressure
Sunniest C18-HT 2.0 μm	9,900	16.7	593
Brand A C18 1.9 μm	7,660	16.3	470
Brand B C18 1.8 μm	10,100	19.6	515
Brand C C18 1.7 μm	11,140	32.0	348
SunShell C18 2.6 μm	9,600	9.7	990

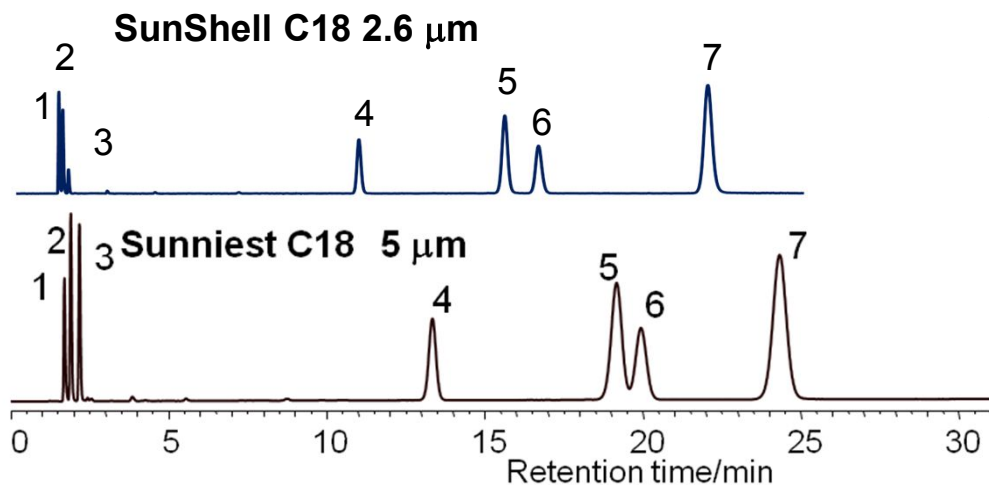


Column: 50 x 2.1 mm C18, Mobile phase: Acetonitrile/water=(70/30), Temperature: 25 °C



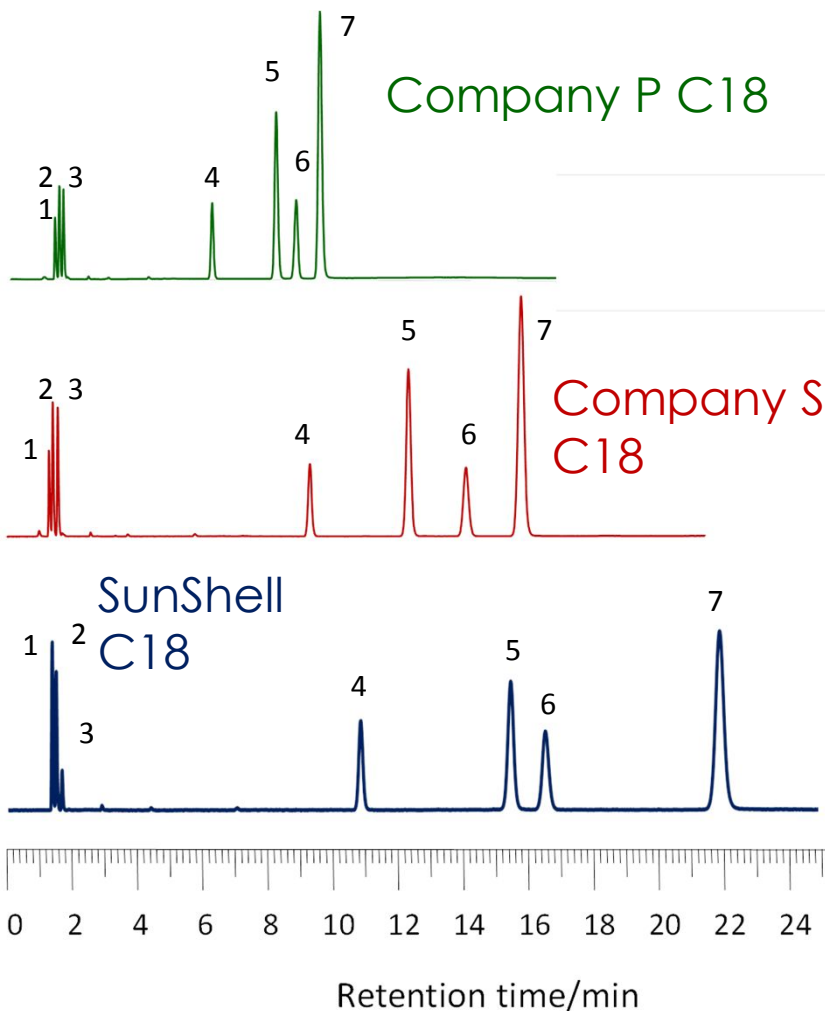
# 全多孔性シリカとコアシェル型シリカの 標準試料の保持比較

比表面積	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	
	保持時間(t <sub>R</sub> )	保持指数(k)	保持時間(t <sub>R</sub> )	保持指数(k)	保持時間(t <sub>R</sub> )	保持指数(k)
340 m <sup>2</sup> /g			150 m <sup>2</sup> /g		Effective 200 m <sup>2</sup> /g	
1) ウラシル	1.70	<b>0</b>	1.34	<b>0</b>	1.36	<b>0</b>
2) カフェイン	1.90	<b>0.12</b>	1.46	<b>0.09</b>	1.49	<b>0.10</b>
3) フェノール	2.17	<b>0.28</b>	1.65	<b>0.23</b>	1.61	<b>0.18</b>
4) ブチルベンゼン	13.35	<b>6.85</b>	10.87	<b>7.11</b>	6.19	<b>3.55</b>
5) o-ターフェニル	19.19	<b>10.29</b>	15.49	<b>10.56</b>	8.15	<b>4.99</b>
6) アミルベンゼン	19.96	<b>10.74</b>	16.56	<b>11.36</b>	8.75	<b>5.43</b>
7) トリフェニレン	24.35	<b>13.32</b>	21.95	<b>15.38</b>	9.44	<b>5.94</b>



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  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm

Company S C18, 2.7  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm

SunShell C18, 2.6  $\mu\text{m}$  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

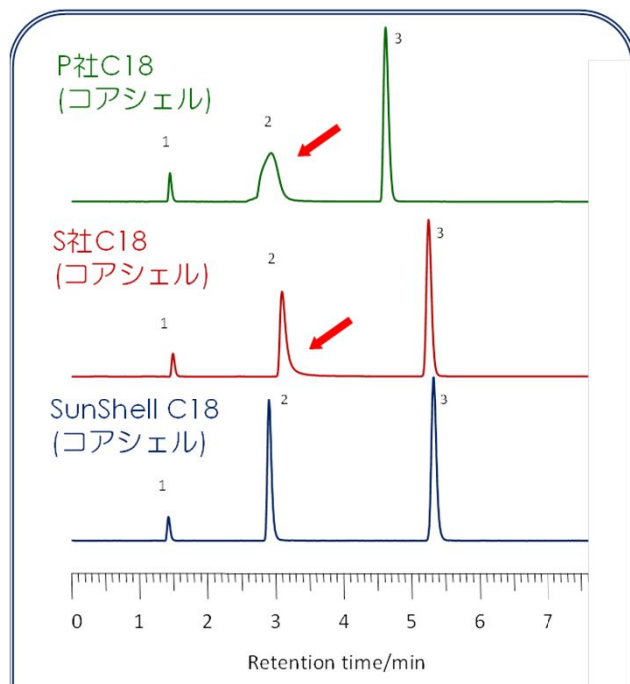
Temperature: 40  $^\circ\text{C}$

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

## ピリジンのピーク比較



Column:

Brand D C18, 2.6  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm

Brand E C18, 2.7  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm

SunShell C18, 2.6  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm

Mobile phase:  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}=30/70$

Flow rate: 1.0 mL/min

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

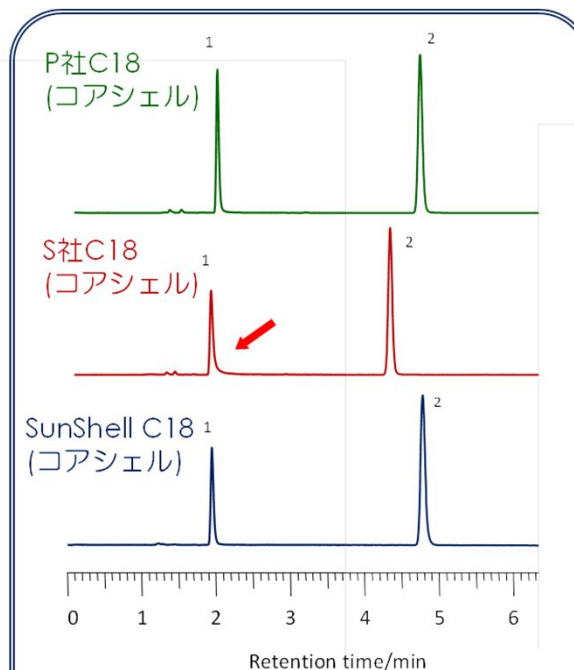
Detection: UV@250nm

Sample: 1 = Uracil

2 = Pyridine

3 = Phenol

## オキシンのピーク比較



Column:

Brand D C18, 2.6  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm

Brand E C18, 2.7  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm

SunShell C18, 2.6  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm

Mobile phase:  $\text{CH}_3\text{CN}/20\text{mM}$

$\text{H}_3\text{PO}_4=10/90$

Flow rate: 1.0 mL/min

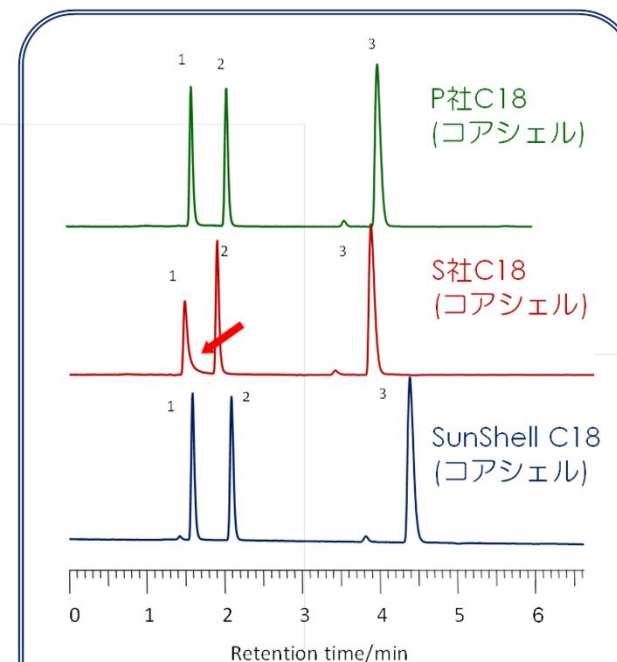
Temperature: 40  $^{\circ}\text{C}$

Detection: UV@250nm

Sample: 1 = 8-Quinolinol (Oxine)

2 = Caffeine

## ギ酸のピーク比較



Column:

Brand D C18, 2.6  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm

Brand E C18, 2.7  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm

SunShell C18, 2.6  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm

Mobile phase:  $\text{CH}_3\text{CN}/0.1\%$

$\text{H}_3\text{PO}_4=2/98$

Flow rate: 1.0 mL/min

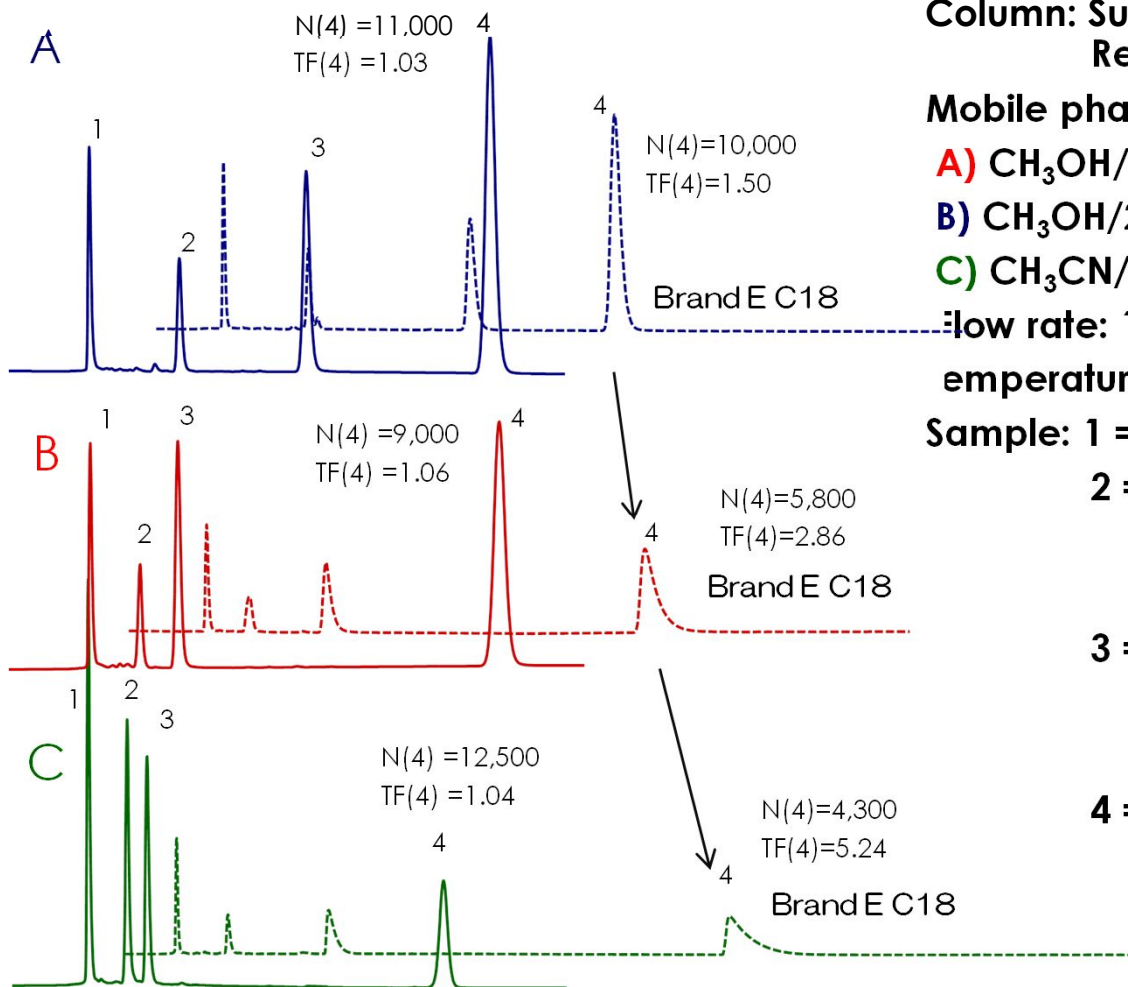
Temperature: 40  $^{\circ}\text{C}$

Detection: UV@210nm

Sample: 1 = Formic acid 2 = Acetic acid

3 = Propionic acid

# アミトリプチリンのピーク比較 I



Column: Sunniest C18(HMODTS), 5  $\mu$ m 150 x 4.6 mm  
Re: Brand E C18, 5  $\mu$ m 150 x 4.6 mm

Mobile phase:

**A)** CH<sub>3</sub>OH/20mM Phosphate buffer pH7.5 = 80/20

**B)** CH<sub>3</sub>OH/20mM Phosphate buffer pH6.0 = 80/20

**C)** CH<sub>3</sub>CN/20mM Phosphate buffer pH7.0 = 60/40

Flow rate: 1.0 mL/min

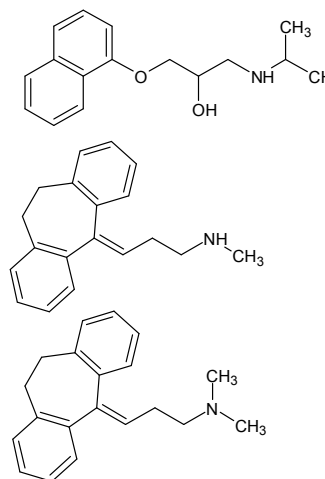
Temperature: 40 °C for **A** and **C**, 22 °C for **B**

Sample: 1 = Uracil,

2 = Propranolol,

3 = Nortriptyline,

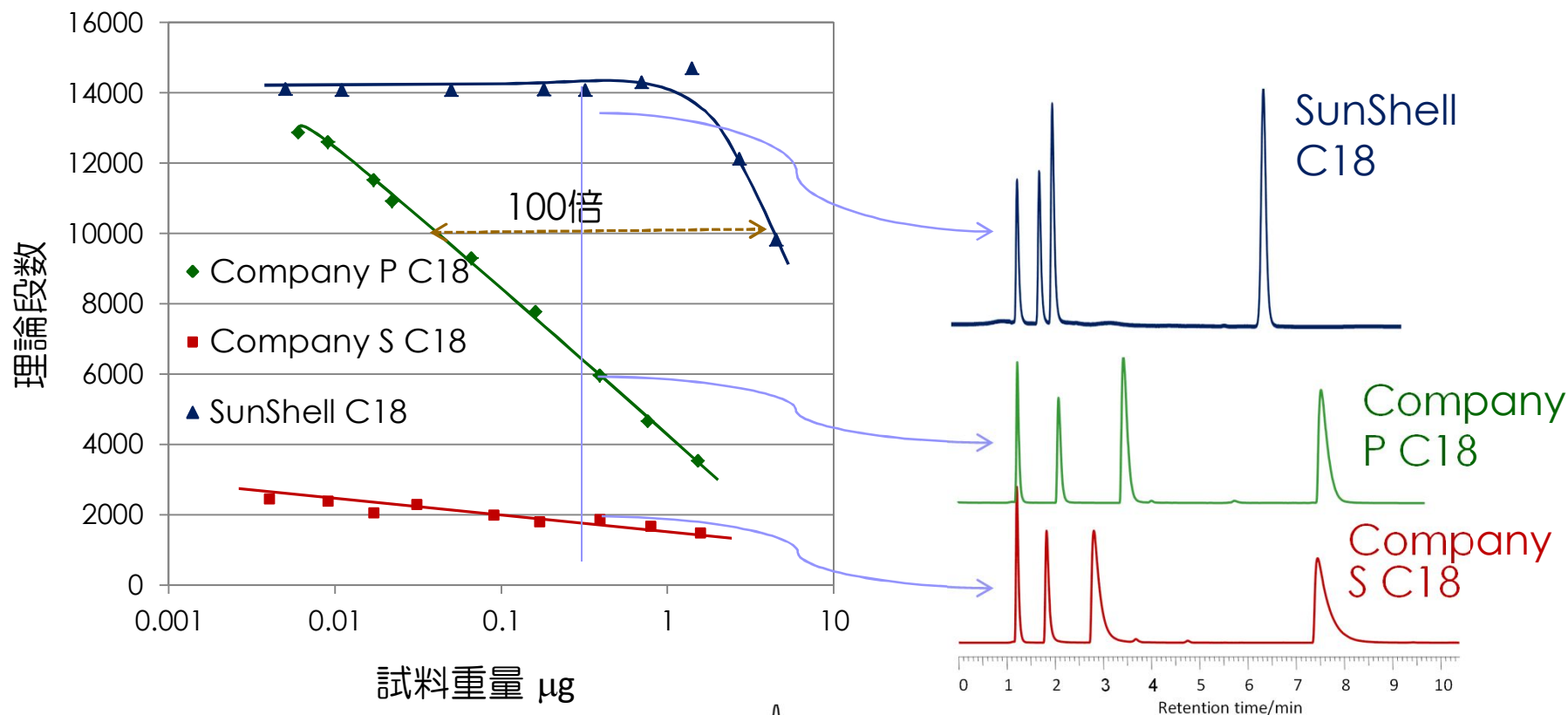
4 = Amitriptyline,



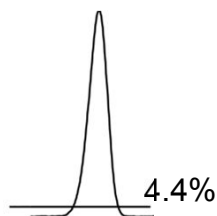
TF: USP tailing factor

# コアシェルC18のアミトリプチロンの負荷量の比較 I

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

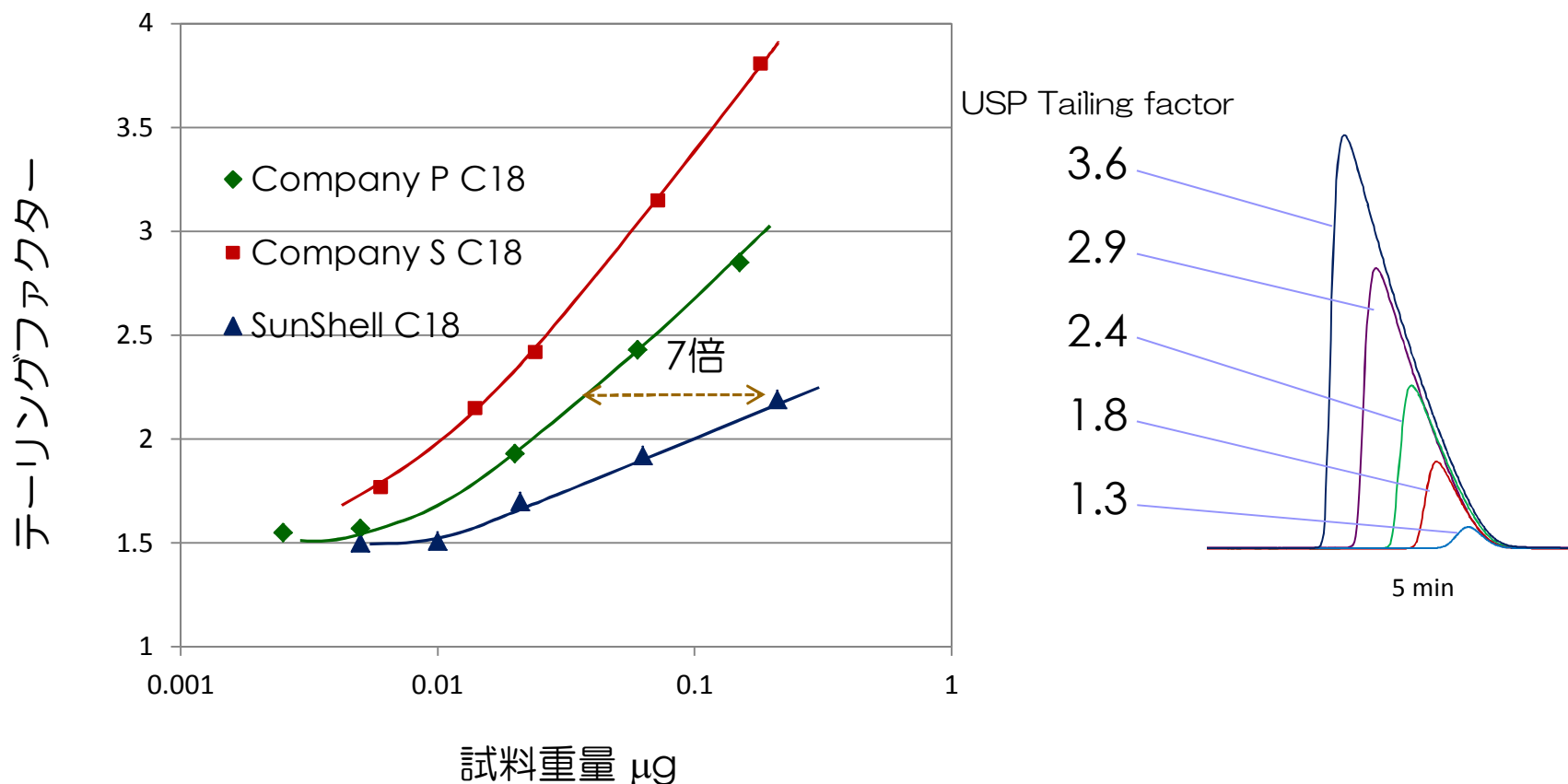


試料: 1 = ウラシル, 2 = プロプラノロール,  
 3 = ノルトリプチリン, 4 = アミトリプチリン

# コアシェルC18のアミトリプチロンの負荷量の比較 II

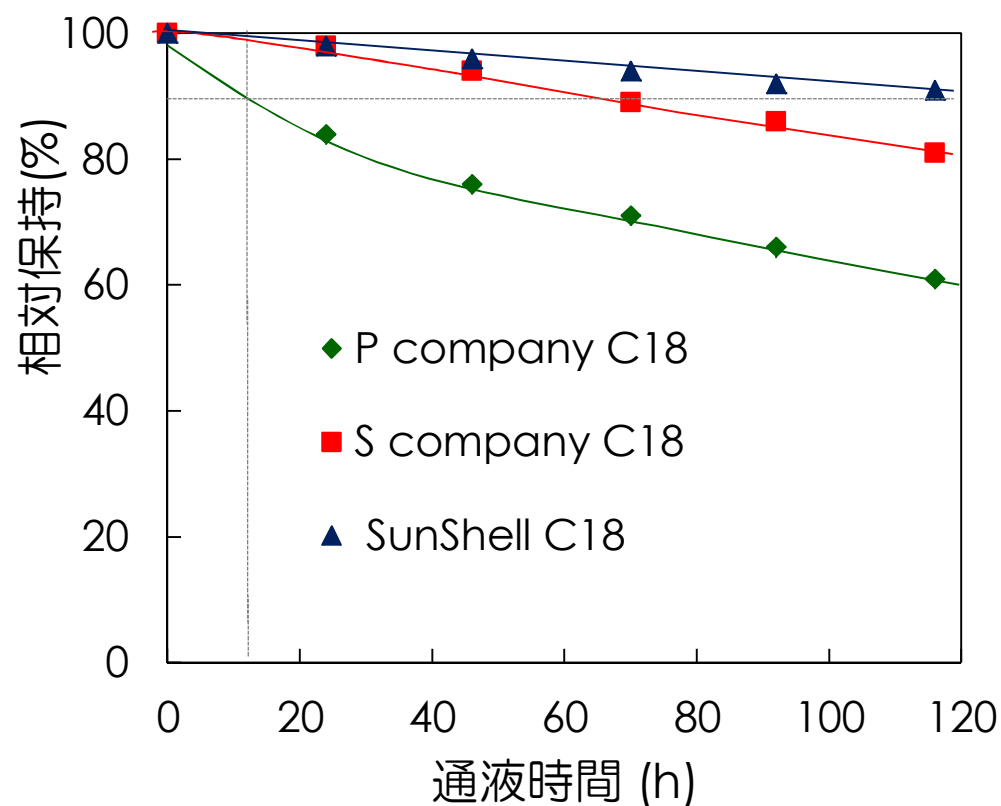
Mobile phase: Acetonitrile/**0.1% formic acid**=(30:70)

Column dimension: 150 x 4.6 mm, Flow rate: 1.0 mL/min, Temp.: 40°C



アセトニトリル/0.1%ギ酸移動相を用いた場合には試料過負荷になりやすく、試料過負荷時にはピークは前にずれ、テーリングが増します。

# コアシェルC18の酸性条件での耐久性



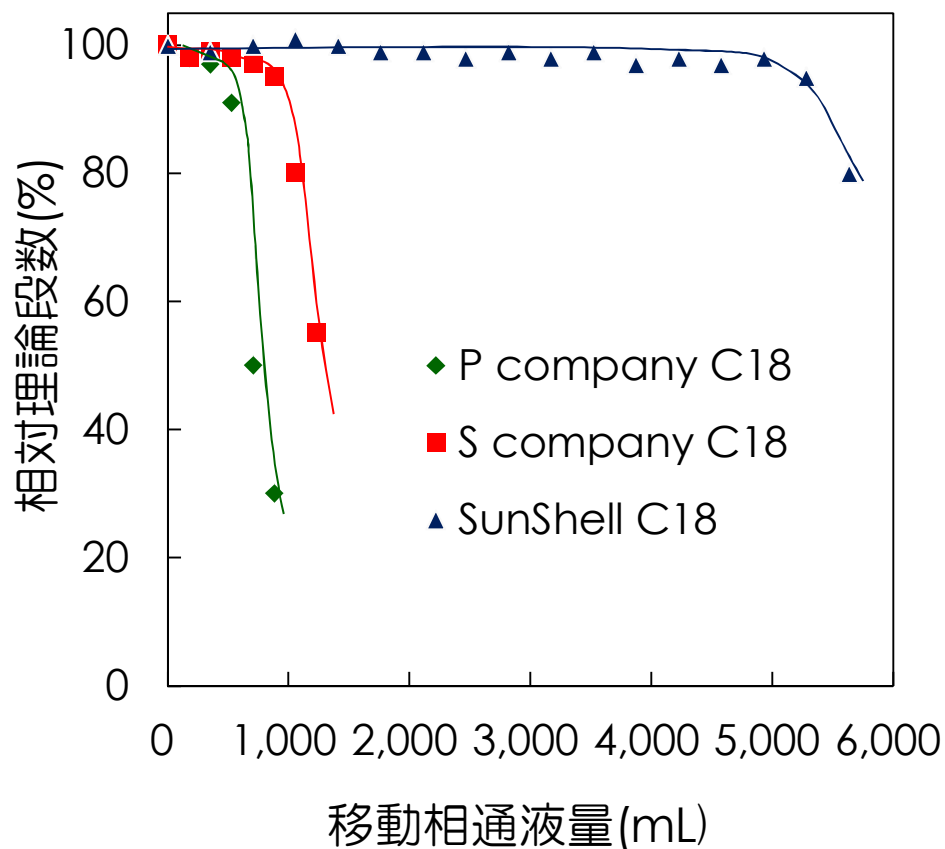
## 耐久性試験条件

Column size: 50 x 2.1 mm  
 Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/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: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=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:

CH<sub>3</sub>OH/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:

CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O=70/30

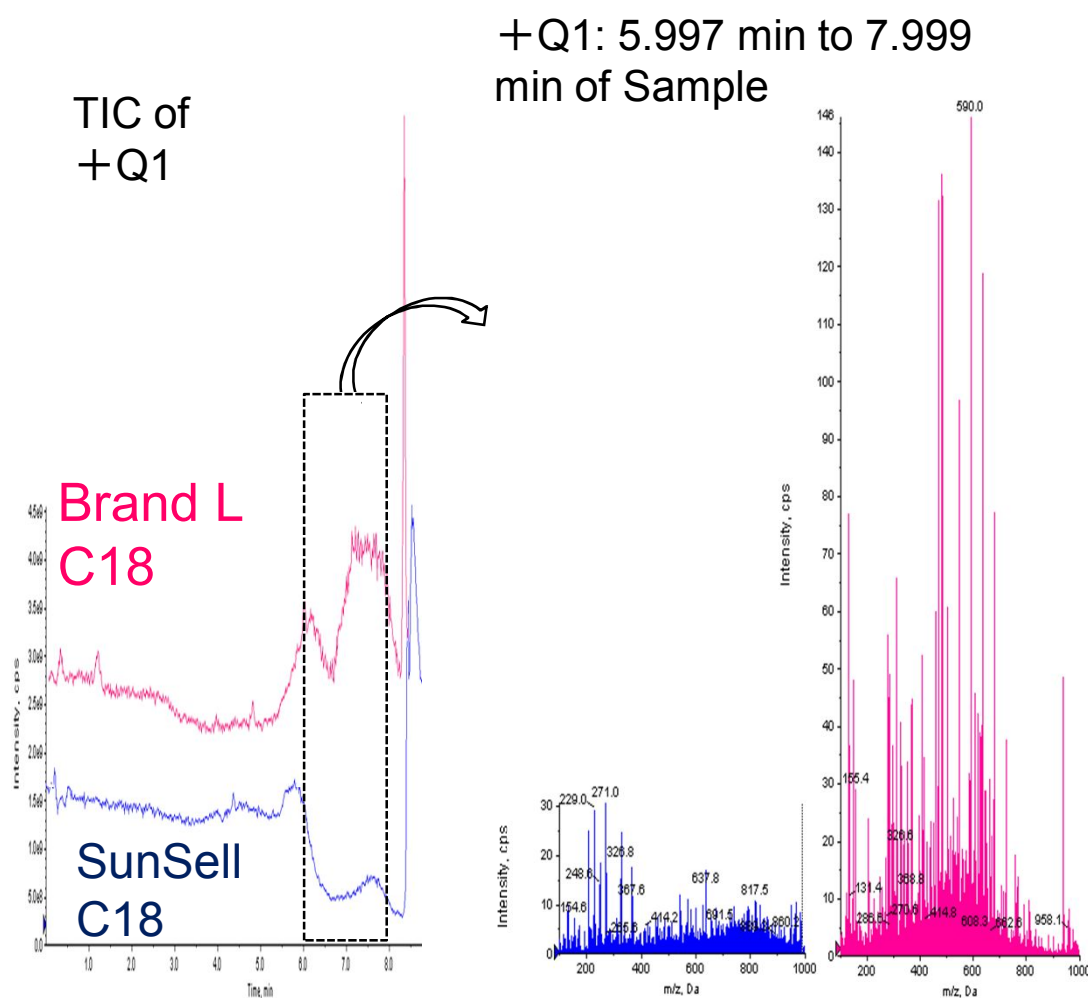
Flow rate: 0.4 mL/min

Temperature: 40 °C

Sample: 1 = Butylbenzene



# MSを用いたブリードテスト



Column size: 50 x 2.1 mm

Mobile phase:

A) 0.1% acetic acid

B) CH<sub>3</sub>CN

Gradient:

Time: 0min 1min 5min 7min

%B: 5% 5% 100%

100%

Flow rate: 0.4 mL/min

Temperature: 40 °C

MS: ABI API-4000

Ionization:

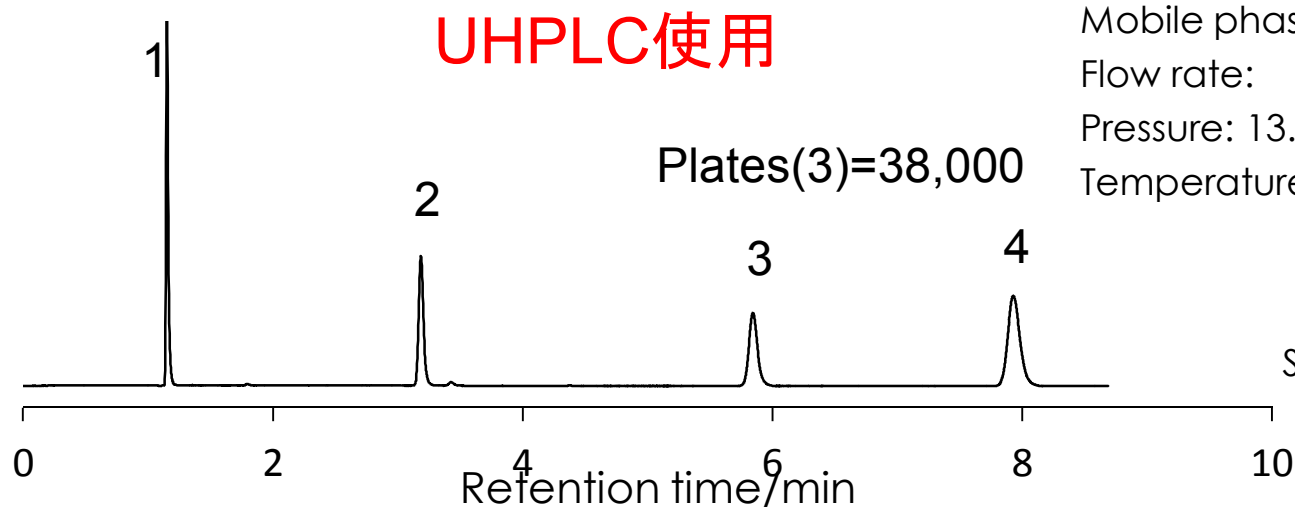
Turboionspray (cation)

Measurement mode:

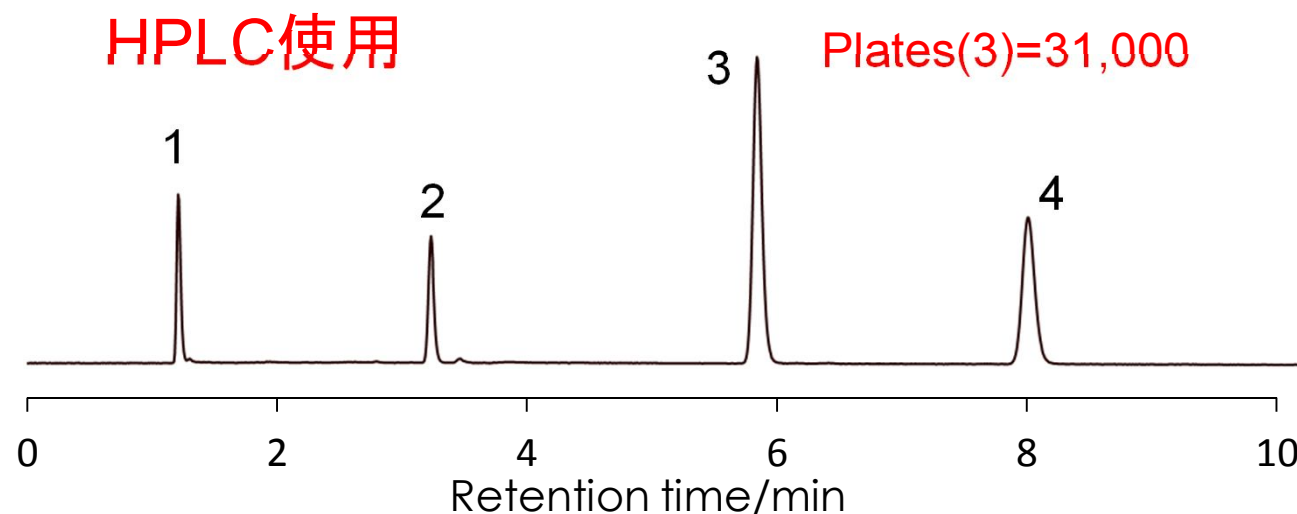
Q1 Scan m/z 100-1000

# 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  $\mu$ m 150 x 4.6 mm  
 Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=70/30  
 Flow rate: 1.0 mL/min  
 Pressure: 13.5 MPa  
 Temperature: 25 °C

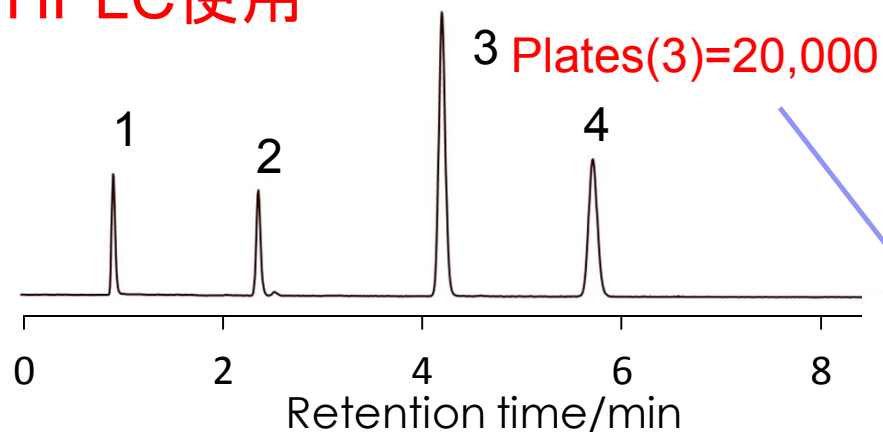


Sample: 1 = Uracil  
 2 = Toluene  
 3 = Acenaphthene  
 4 = BUtylbenzene



# HPLC使用時のコアシェルC18の標準試料の分離例

## HPLC使用



Column: SunShell C18, 2.6  $\mu$ m 100 x 4.6 mm  
150 x 4.6 mm

Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=70/30

Flow rate: 1.0 mL/min

Pressure: 9.5 MPa, 13.5 MPa

Temperature: 25 °C

Sample: 1 = Uracil

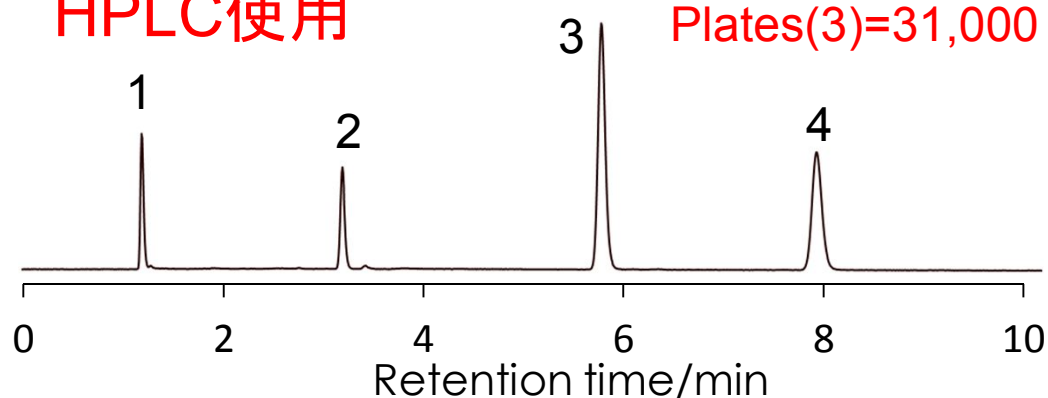
2 = Toluene

3 = Acenaphthene

4 = BUtylbenzene



## HPLC使用

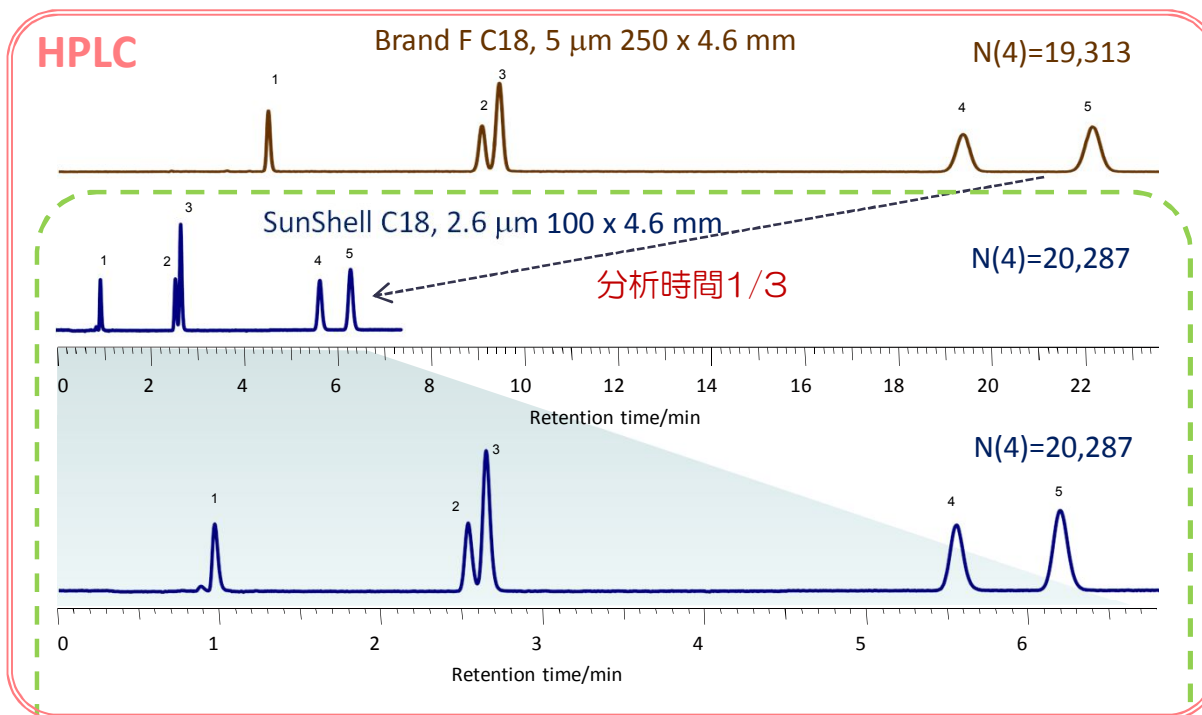


5 $\mu$ m 4.6x250mm  
(20,000段)と同じ段数



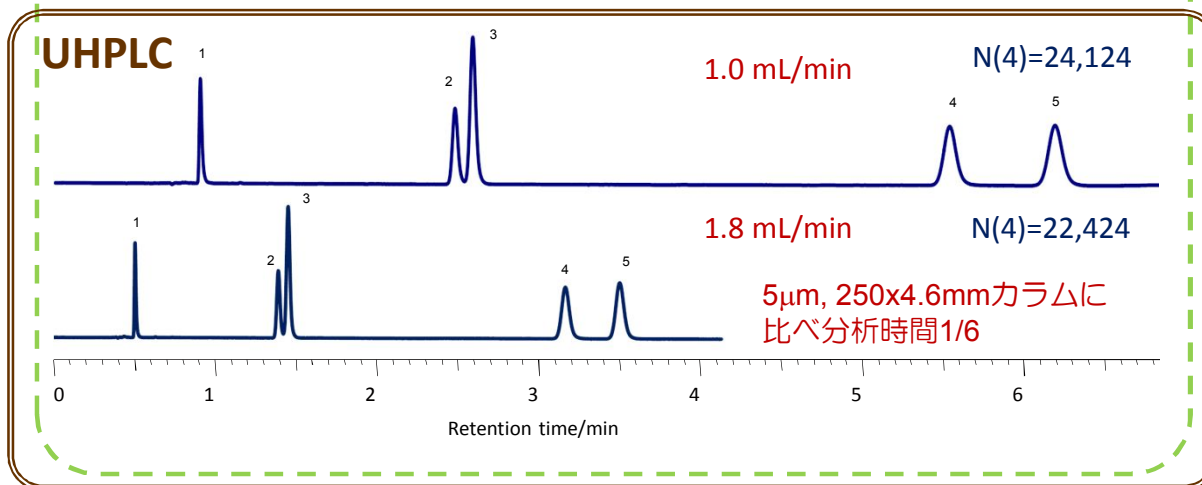
SunSell C18 100x4.6mm  
分析時間40%  
使用溶媒量40%

# イソクラチック溶離例 5 $\mu$ m C18からの移行



Column:  
 Brand F C18, 5  $\mu$ m 250 x 4.6 mm  
 SunShell C18, 2.6  $\mu$ m 100 x 4.6 mm  
 Mobile phase:  
 CH<sub>3</sub>CN/20mM Phosphoric acid = 45/55  
 Flow rate: 1.0 mL/min,  
 1.8 mL/min at the lowest chromatogram  
 Temperature: 25 °C  
 Pressure: 9.5 MPa for Brand F C18 5  $\mu$ m  
 13.4 MPa for SunShell C18 2.6  $\mu$ m  
 Detection: UV@230 nm

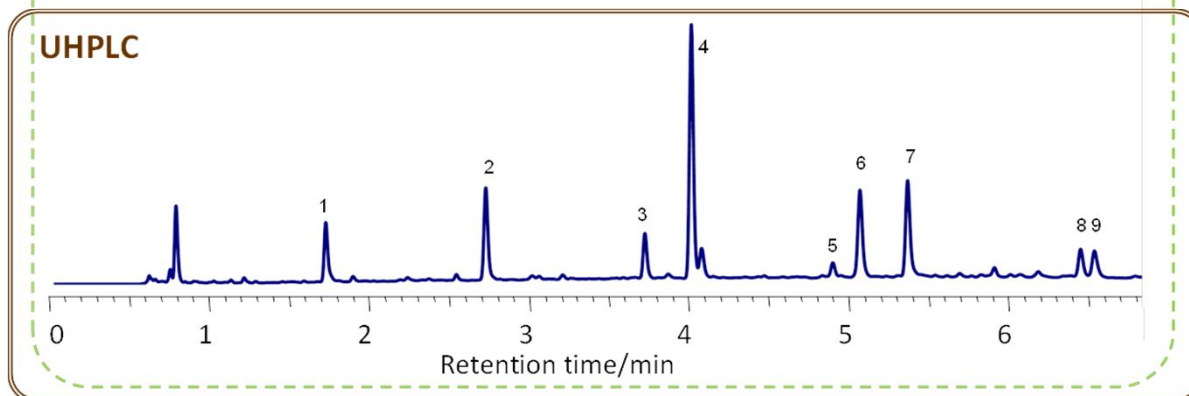
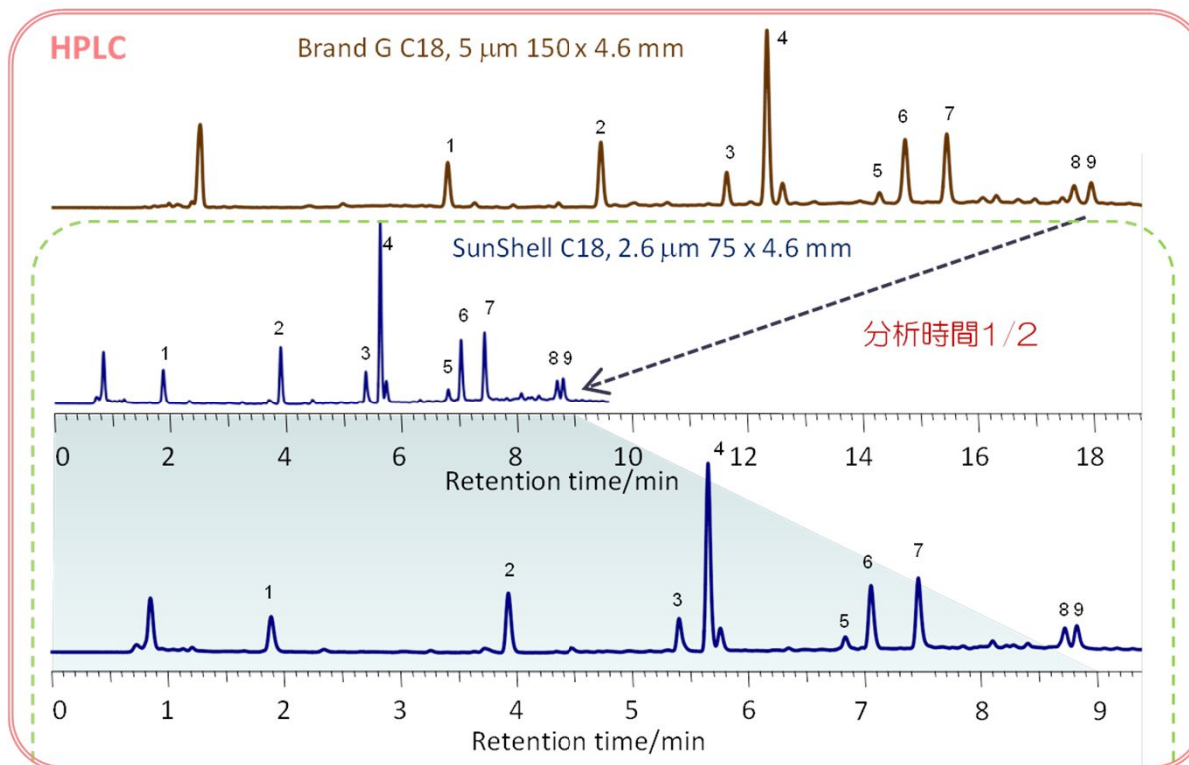
Sample: 1 = Benzydamine  
 2 = Ketoprofen  
 3 = Naproxen  
 4 = Indomethacin  
 5 = Ibuprofen



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

UHPLC: Jasco X-LC

# グラジエント溶離例 5 $\mu$ m C18からの移行



Column:

Brand G C18, 5  $\mu$ m 150 x 4.6 mm  
SunShell C18, 2.6  $\mu$ m 75 x 4.6 mm

Mobile phase:

A) 0.1% Phosphoric acid  
B) CH<sub>3</sub>CN

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

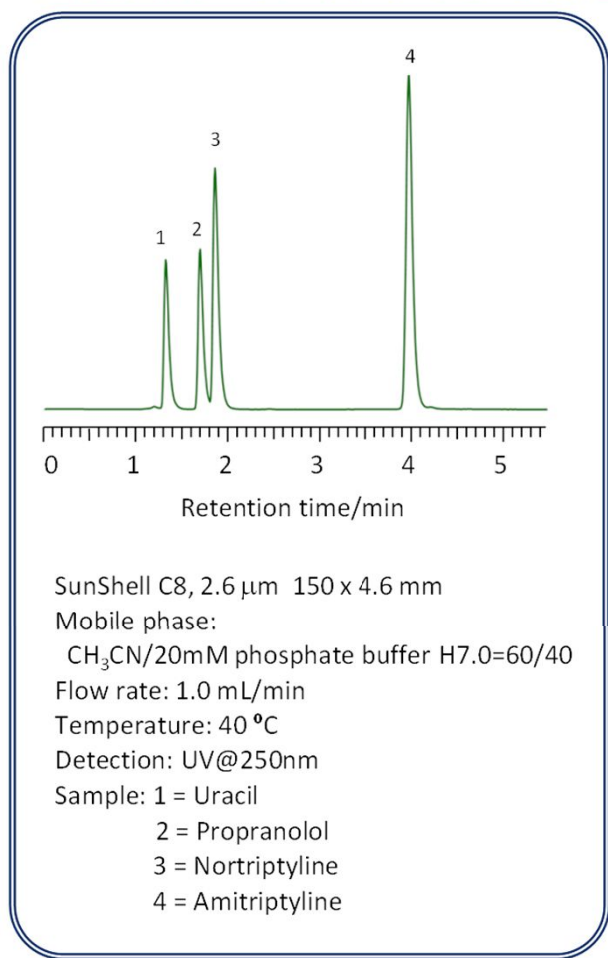
# SunShell C18, C8, PFP

## SunShell の基本特性

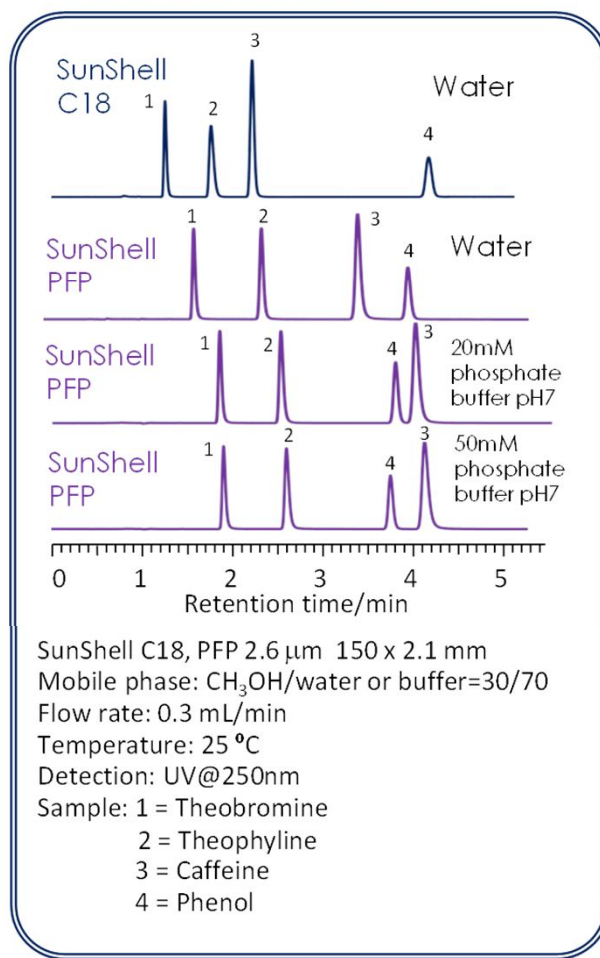
	コアシェルシリカ			炭素含有量 (%)	結合相	使用最高圧	使用pH 範囲
	粒子径 (μm)	細孔径 (nm)	比表面積 (m <sup>2</sup> /g)				
SunShell C18	2.6	9	150	7	C18	60 MPa or 8,570 psi	1.5 - 10
SunShell C8	2.6	9	150	4.5	C8	60 MPa or 8,570 psi	1.5 - 9
SunShell PFP	2.6	9	150	4.5	Penta-fluorophenyl	60 MPa or 8,570 psi	2 - 8

# SunShell C8とPFPの分離例

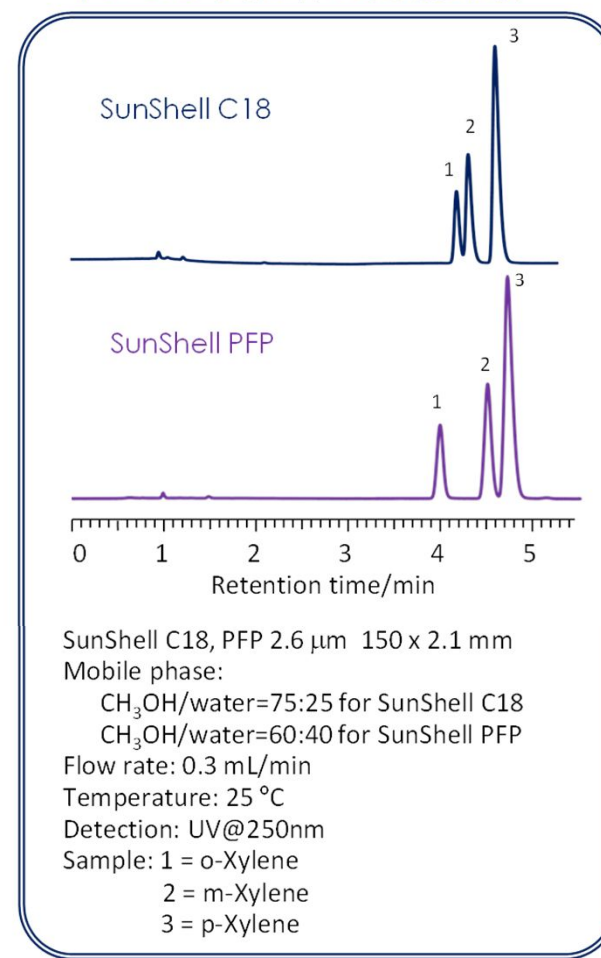
C8によるアミトリプチリンの分離



キサンチン類の分離比較



キシレン異性体の分離比較



# まとめ

- コアシェ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  $\mu\text{m}$ のコアシェルはsub 2  $\mu\text{m}$ の全多孔性と同じ理論段数になる)
- カラム圧は充填剤の径の2乗に反比例する。2.6  $\mu\text{m}$ のコアシェルは、sub 2  $\mu\text{m}$ 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  $\mu\text{m}$ の2倍以上の理論段数を示す。
- 全多孔性充填剤のインピーダンスタイムはある限界値を有しそれ以下にはならないが、コアシェルのインピーダンスタイムが全多孔性の限界値以下にできるのは、コアシェル構造の特性であり、技術的な革新であると言える。
- 汎用の5 $\mu\text{m}$ , 4.6x150mm, 250mmカラムを用いる分析がSunShellでは4.6x75mm, 100mmで達成され、分析時間・使用溶媒量が大幅に削減できる。