



9月2日(水) 11:50~12:15

A-2室

6社C18コアシェルカラムの徹底比較・意外と知らないカラムの差公開！！

～6種類のコアシェル型C18カラムの酸性・塩基性・中性化合物の保持・ピーク形状比較および耐久性を紹介する～

クロマニックテクノロジーズ
長江徳和 塚本友康

Email: info@chromanik.co.jp

<http://chromanik.co.jp>





コアシェル型シリカの歴史

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

1967・1968年に基本特許は出願されている。

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 $4\mu\text{m}$ 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², 全多孔性 $\text{sub}2\mu\text{m}$ 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)



• *Fused-Core technology was developed by Jack Kirkland.*

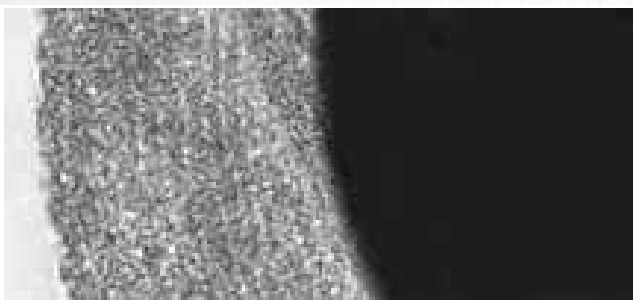
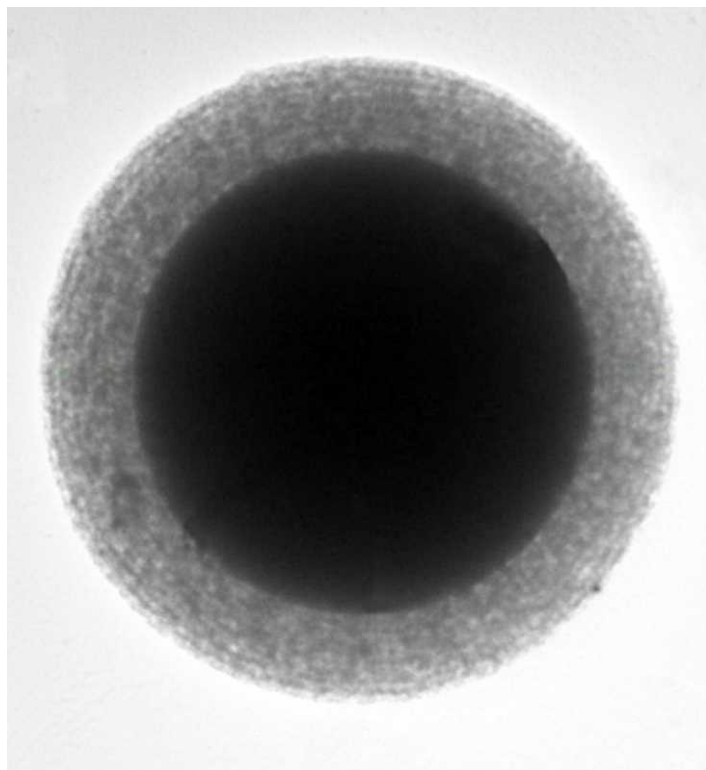
(1) J.J. Kirkland, F.A. Truszkowski, C.H. Dilks, and G.S. Engel, J. Chromatogr., A 890, 3–13 (2000).

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

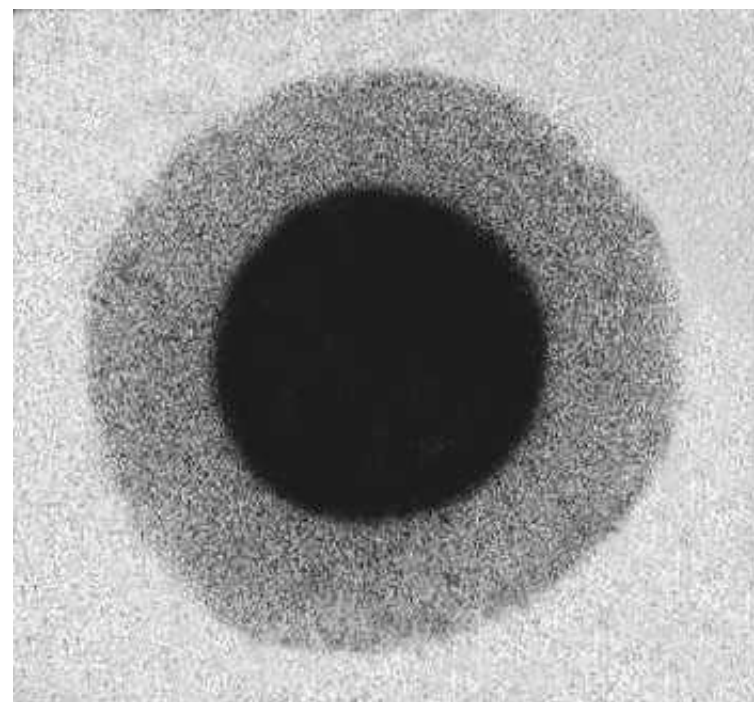
2007年に微小粒子の製造法の特許が出願された。



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

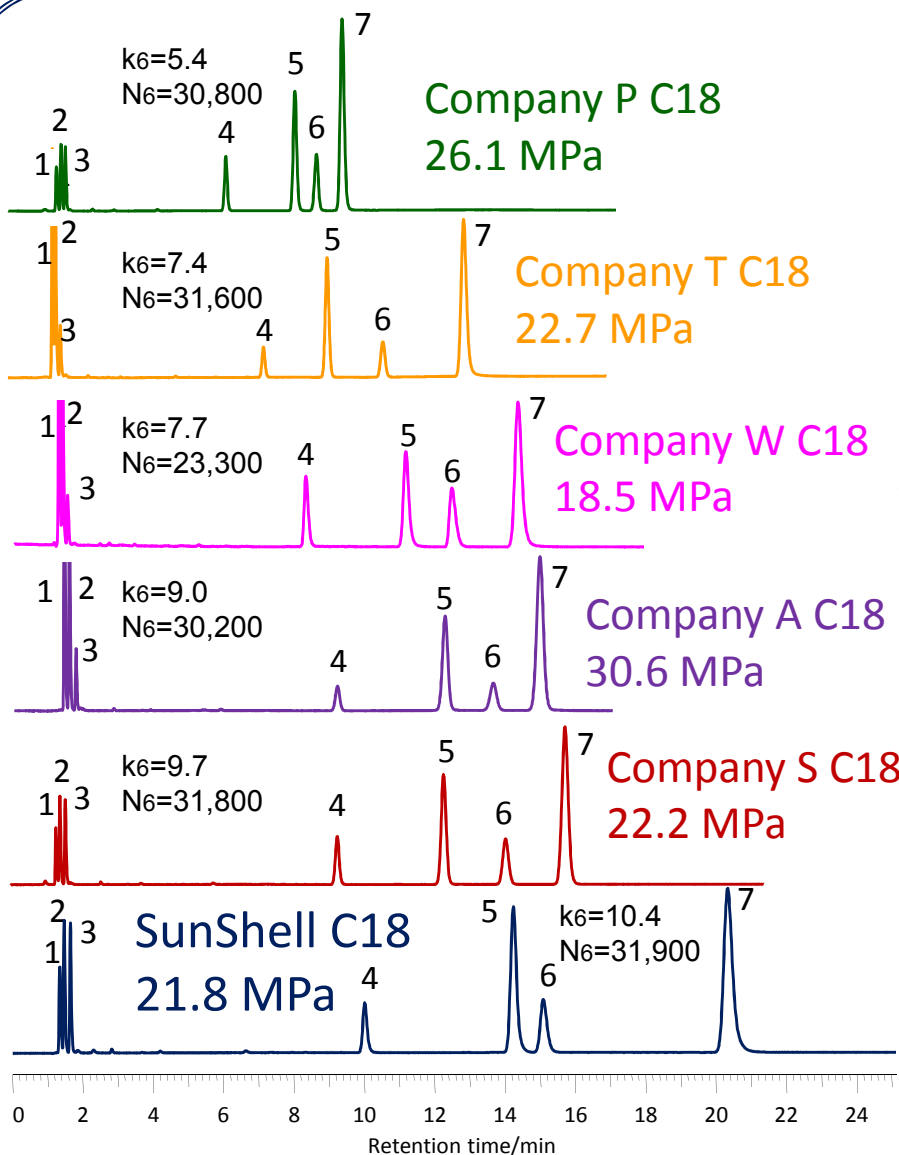


市販されているコアシェルカラム

- Accucore C18 (T)
- Aeris PEPTIDE XB-C18
- Ascentis Express C18 (S)
- BIOShell
- Brownlee SPP C18
- BlueShell C18
- Capcell Core C18
- CORTECS C18 (W)
- COSMOCORE C18
- HALO C18
- Kinetex C18 (P)
- Meteoric Core C18
- NUCLEOSHELL C18
- PoroShell C18 EC (A)
- Raptor ARC18
- ReproShell C18
- SpeedCore C18
- SunShell C18
- Ultra Core C18
- Coresep 100



標準試料の分離比較



Column:

- Company P C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm (26.1 Mpa, 30,800 plate)
- Company T C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm (22.7 Mpa, 31,600 plate)
- Company W C18, 2.7 μm 150 x 4.6 mm (18.5 Mpa, 23,300 plate)
- Company A C18, 2.7 μm 150 x 4.6 mm (30.6 Mpa, 30,200 plate)
- Company S C18, 2.7 μm 150 x 4.6 mm (22.2 Mpa, 31,800 plate)
- SunShell C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm (21.8 Mpa, 31,900 plate)

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

Flow rate: 1.0 mL/min

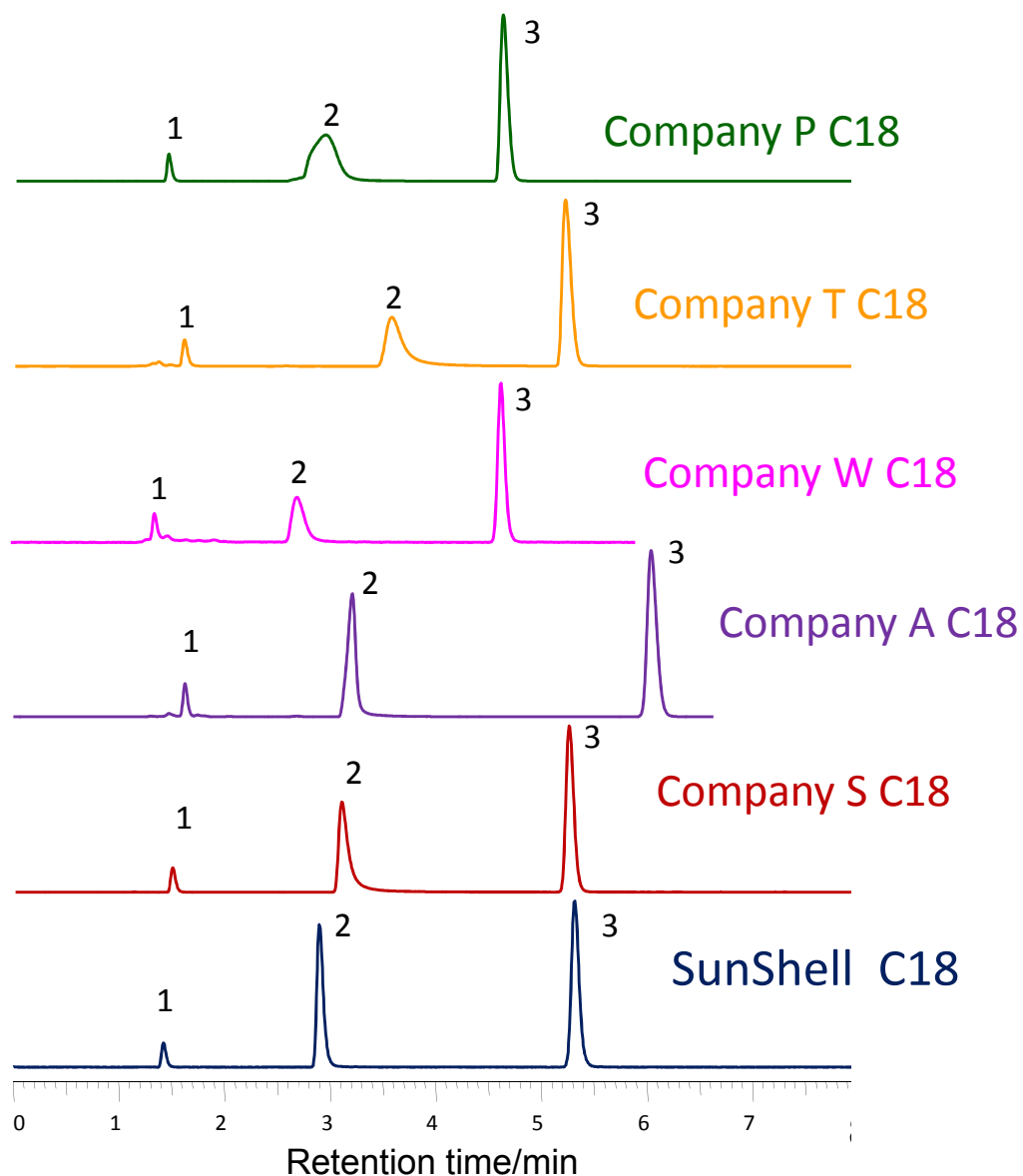
Temperature: 40 $^\circ\text{C}$

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 T C18	0.35	1.56	1.50
Company W C18	0.38	1.59	1.32
Company A C18	0.42	1.57	1.25
Company S C18	0.44	1.60	1.31
SunShell C18	0.39	1.60	1.46



ピリジンピークの比較



Column:

- Company P C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm
- Company T C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm
- Company W C18, 2.7 μm 150 x 4.6 mm
- Company A C18, 2.7 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: $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}=30/70$

Flow rate: 1.0 mL/min

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

Detection: UV@250nm

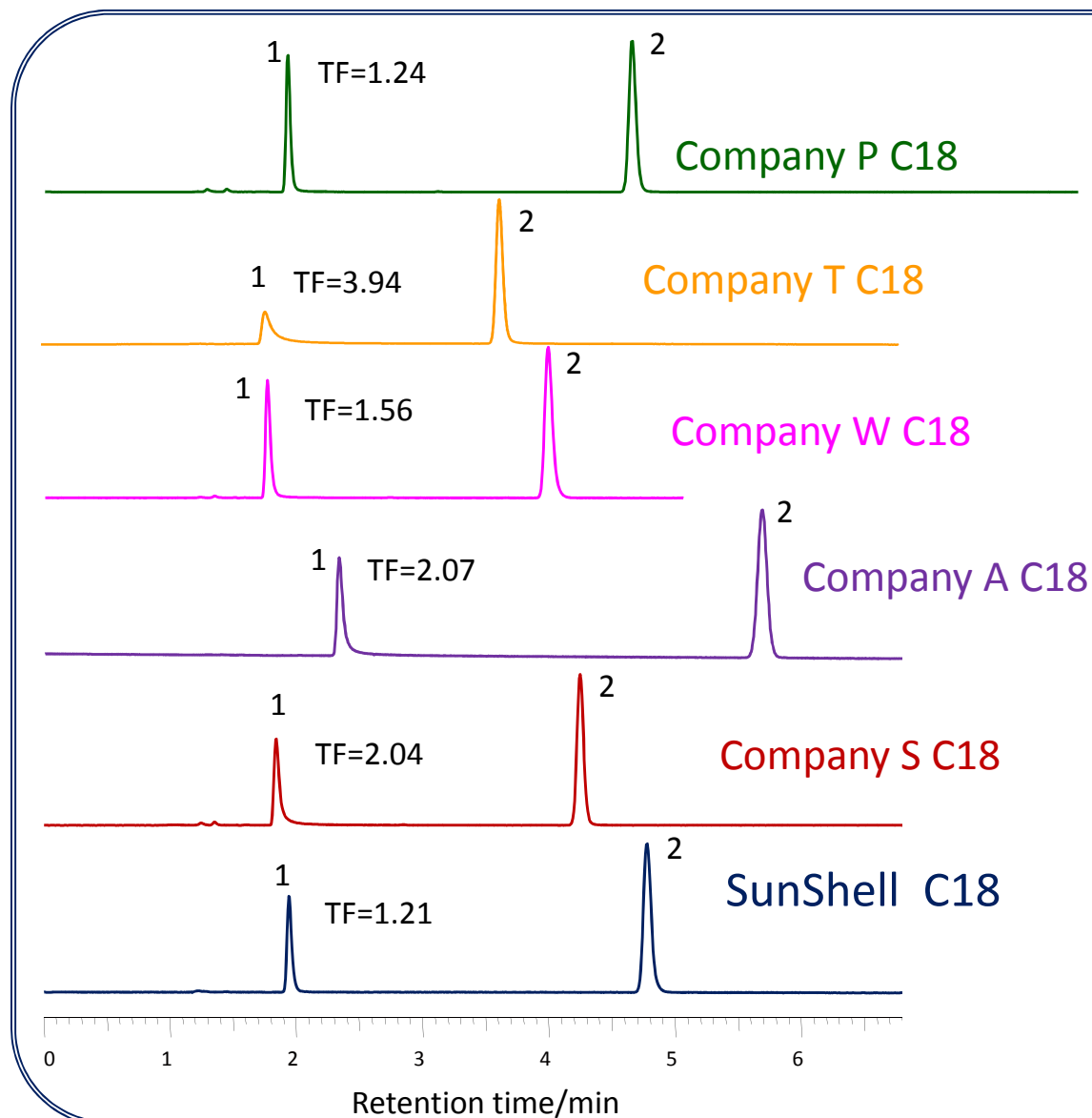
Sample: 1 = Uracil

2 = Pyridine

3 = Phenol



金属配位性化合物オキシンの比較



Column:

- Company P C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm
- Company T C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm
- Company W C18, 2.7 μm 150 x 4.6 mm
- Company A C18, 2.7 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: $\text{CH}_3\text{CN}/20\text{mM H}_3\text{PO}_4=10/90$

Flow rate: 1.0 mL/min

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

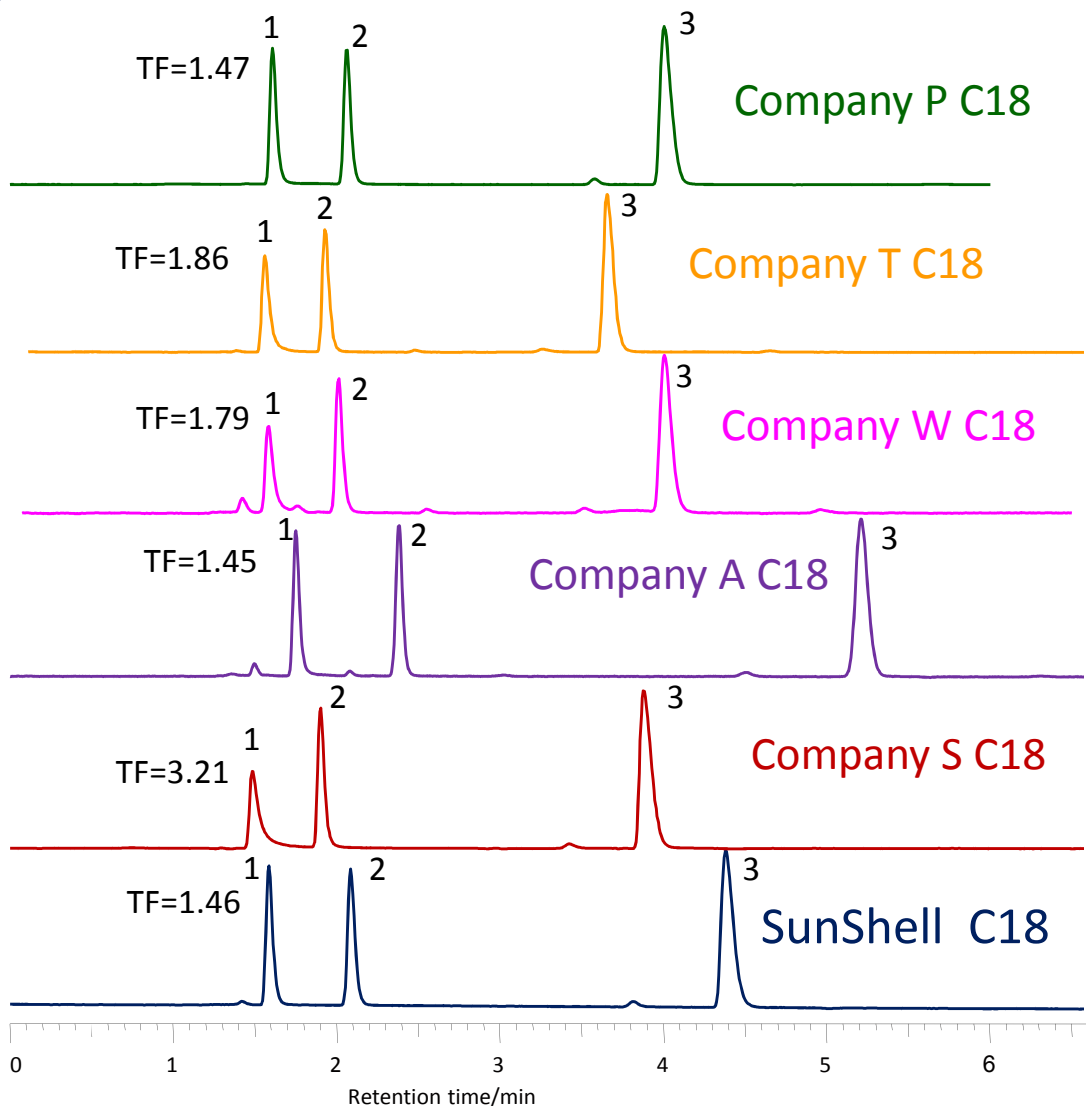
Detection: UV@250nm

Sample: 1 = 8-Quinolinol (Oxine)

2 = Caffeine



ギ酸ピークの比較



Column:

- Company P C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm
- Company T C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm
- Company W C18, 2.7 μm 150 x 4.6 mm
- Company A C18, 2.7 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: $\text{CH}_3\text{CN}/0.1\% \text{H}_3\text{PO}_4=2/98$

Flow rate: 1.0 mL/min

Temperature: 40 °C

Detection: UV@210nm

Sample: 1 = Formic acid

2 = Acetic acid

3 = Propionic Acid



標準試料の分離比較のまとめ

	カラム圧 Pressure ^a	保持指数 Retention ^b	理論段数 Plate ^c	ピリジン Pyridine	オキシシン Oxine	ギ酸 Formic acid	Point
SunShell C18	○21.8	10.4	◎31,900	◎	◎	◎	14
Company S C18	○22.2	9.7	◎31,800	△	△	×	7
Company A C18	×30.6	9.0	◎30,200	◎	△	◎	10
Company W C18	◎18.5	7.7	×23,300	×	○	△	6
Company T C18	○22.7	7.4	◎31,600	×	×	△	6
Company P C18	△26.1	5.4	◎30,800	×	◎	◎	10

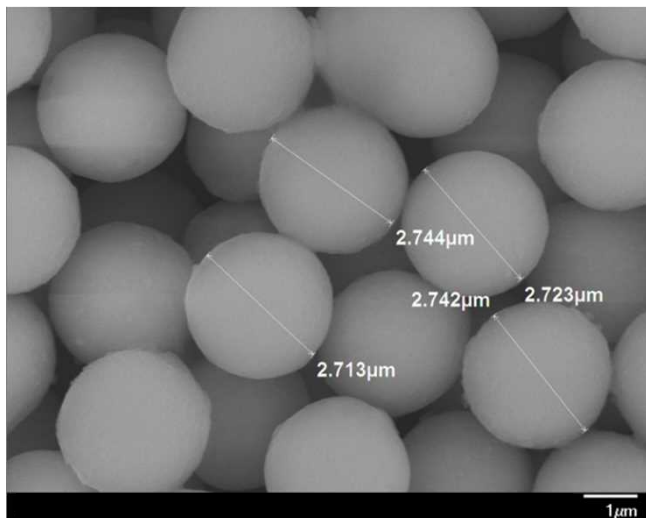
- a. Mobile phase; methanol:water=75:25, 40 °C, 1mL/min, 150 x 4.6mm
- b. Retention factor of amylbenzene
- c. Theoretical plate of amylbenzene

◎: 3 point, ○: 2 point, △: 1 point, ×: 0 point



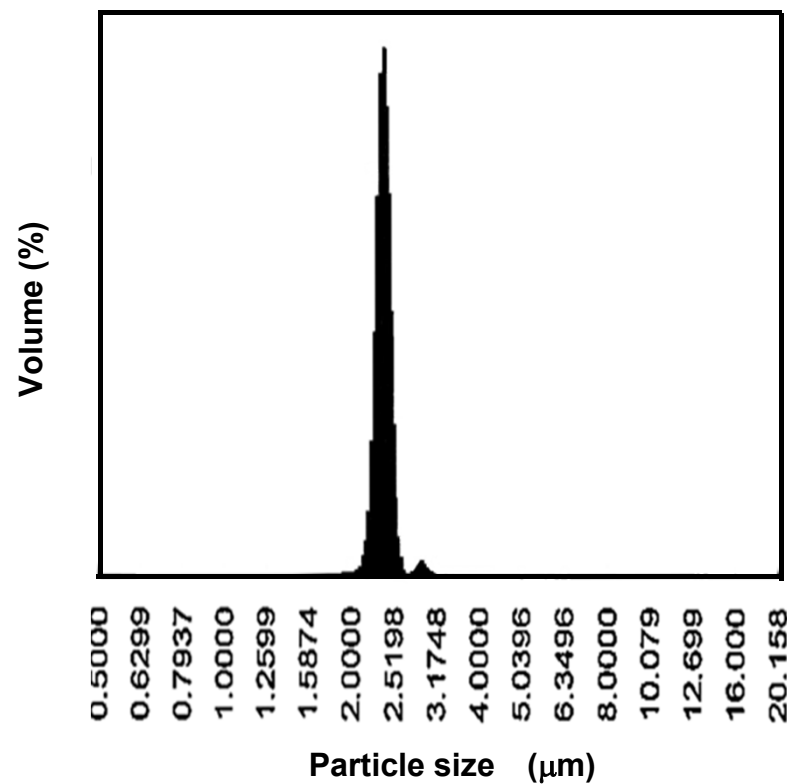
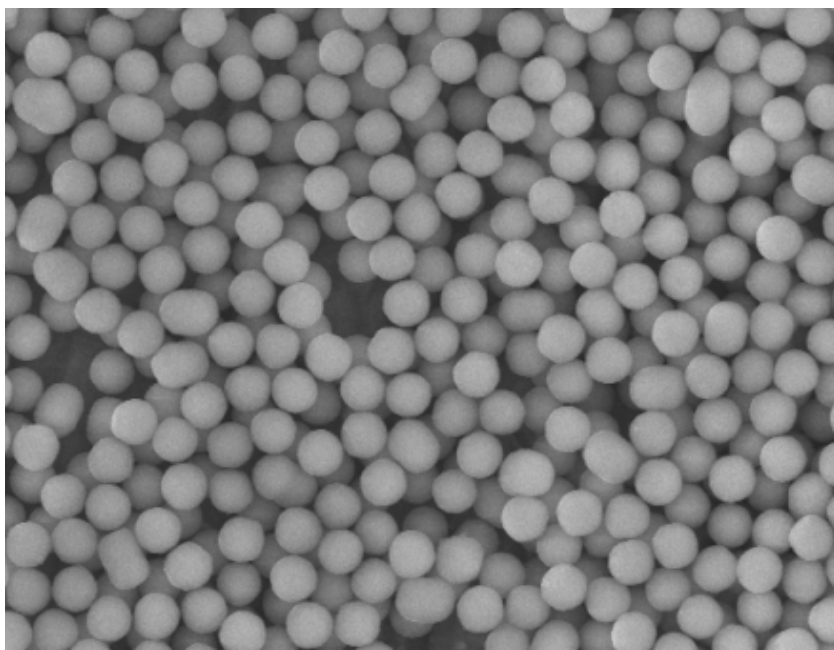


他社コアシェル粒子の粒度分布



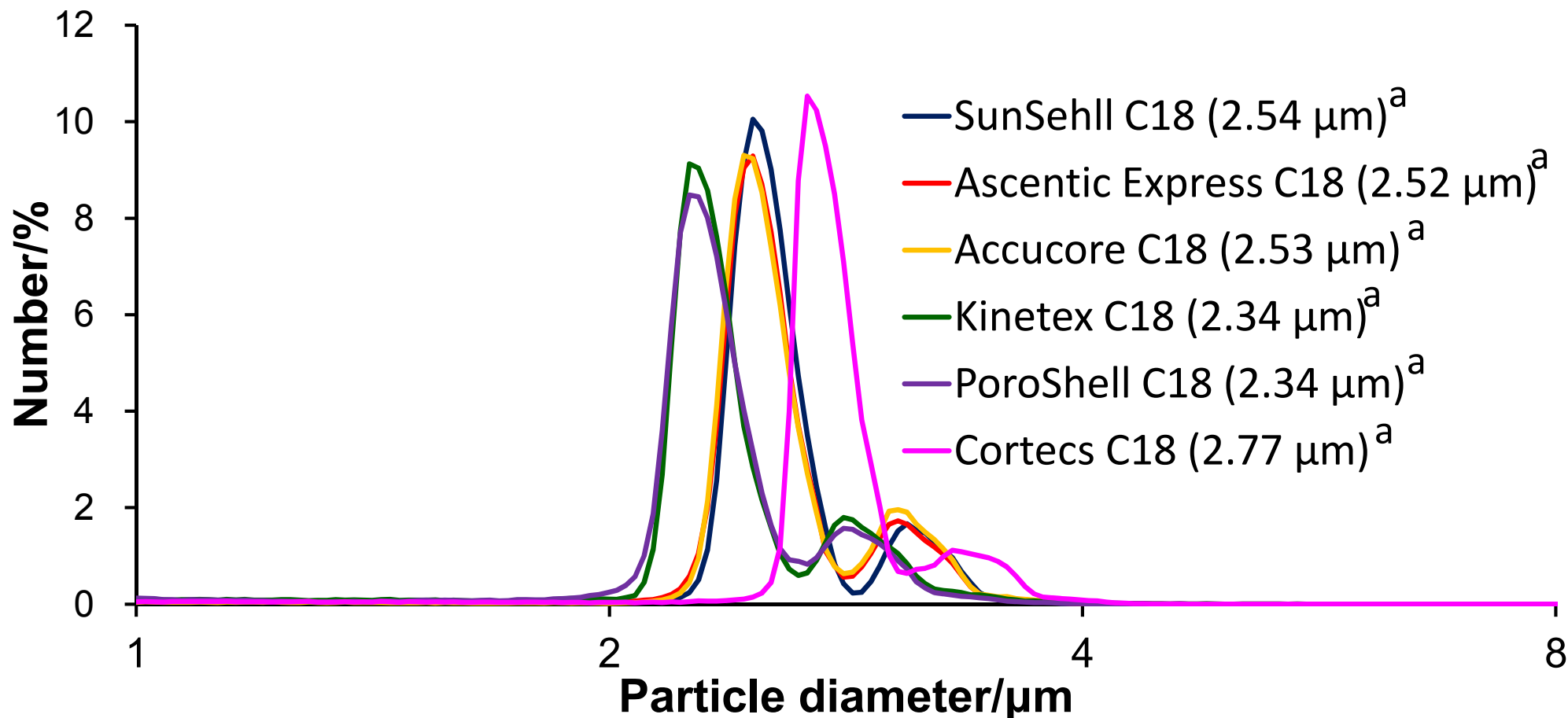
Coulter counter

$$D_{90}/D_{10}=1.12$$





粒度分布



a. 中位径

*C18充填剤を600°Cで8時間焼成し、アルキル基を焼き飛ばした後のコアシェル粒子をBeckman Coulter Multisizer 3で測定しました。この測定値はオリジナルのコアシェル粒子の値とは異なります。



物性値

	炭素含有量 Carbon loading (%)	比表面積 Specific surface area ^a (m ² /g)	細孔容積 Pore volume ^a (mL)	細孔径 Pore diameter ^a (nm)
SunShell C18	7.3 (7) ^b	125 (150) ^b	0.261	8.34 (9) ^b
Company S C18	8.0	133 (150) ^b	0.278	8.20 (9) ^b
Company A C18	8.5 (8) ^b	135 (130) ^b	0.414	12.3 (12) ^b
Company T C18	8.8 (9) ^b	130 (130) ^b	0.273	8.39 (8) ^b
Company W C18	7.3 (6.6) ^b	113	0.264	9.32
Company P C18	4.9 (12 effective) ^b	102 (200 effective) ^b	0.237	9.25 (10) ^b

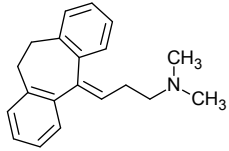
a. C18充填剤を600°Cで8時間焼成し、アルキル基を焼き飛ばした後のコアシェル粒子を測定しました。この測定値はオリジナルのコアシェル粒子の値より小さくなります。

b. カタログに記載されている値

*全ての測定はクロマニックテクノロジーズ社内で行いました。

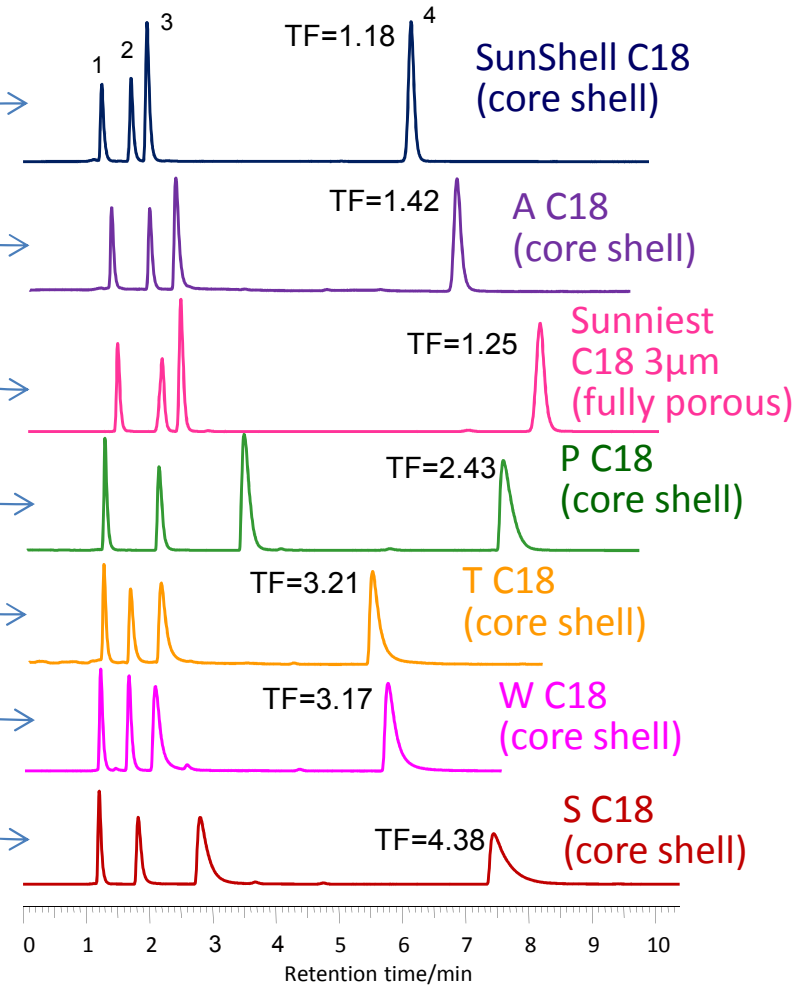
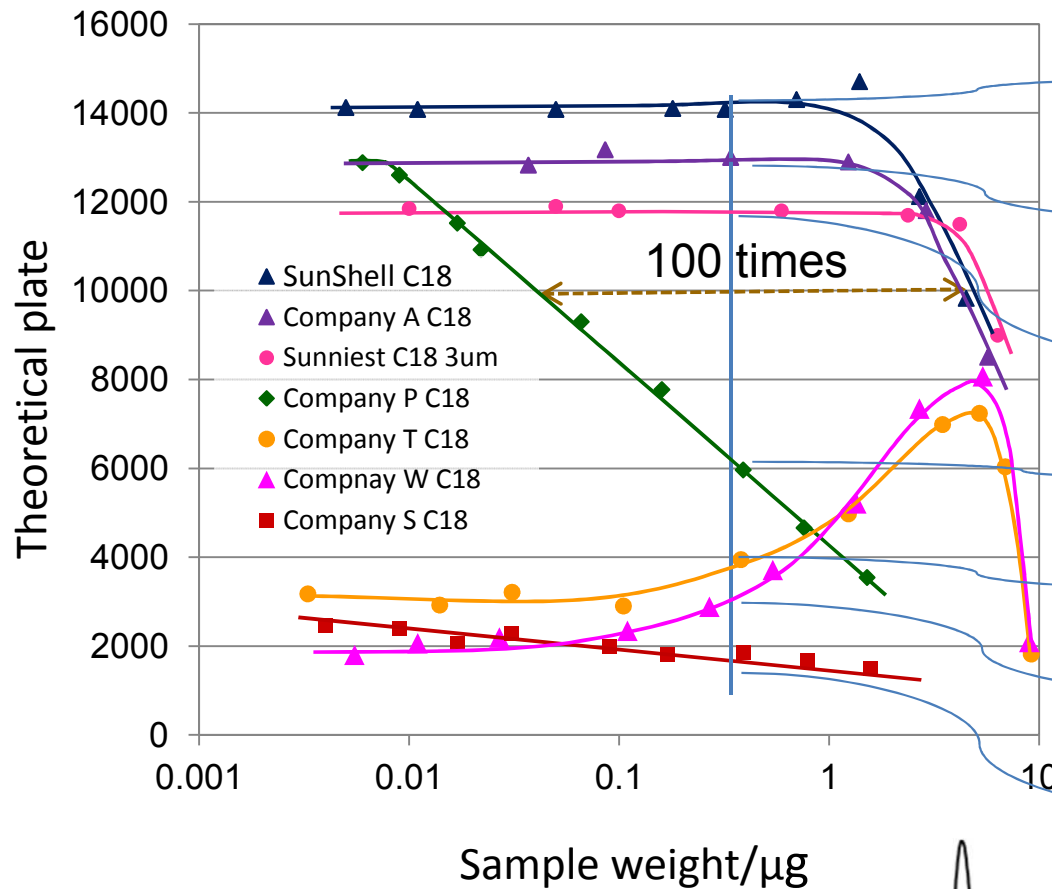


アミトリプチリンの負荷量比較 I

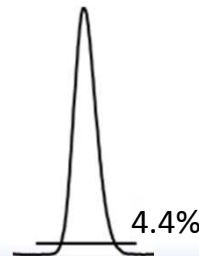


Mobile phase: Acetonitrile/**20mM phosphate buffer pH7.0**=(60:40)

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



理論段数はピークの高さの4.4%のピーク幅を用いる5シグマ法を用いました。



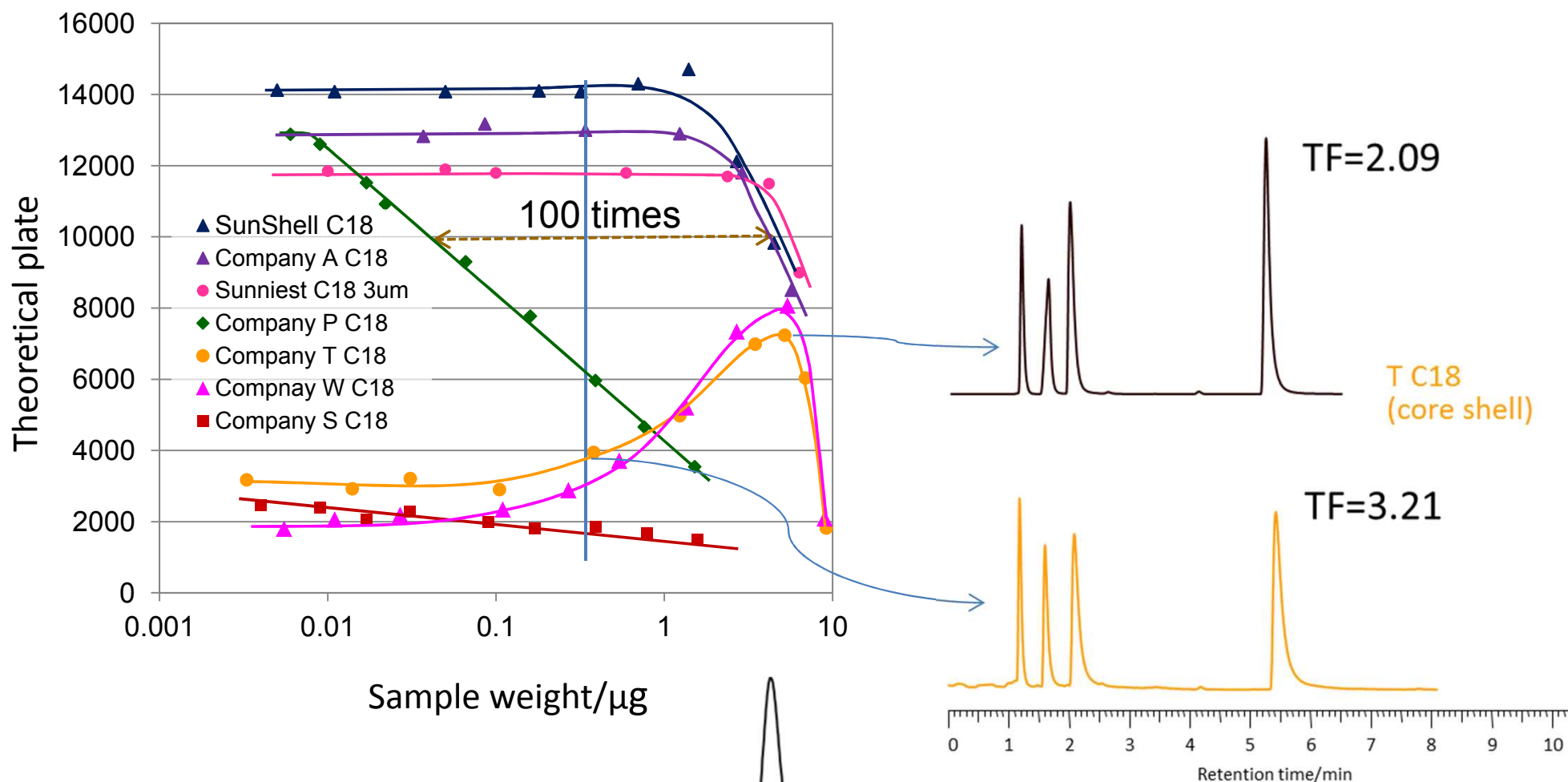
Sample: 1=Uracil, 2=Propranolol, 3= Nortriptyline, 4=Amitriptyline



アミトリプチリンの負荷量比較 I

Mobile phase: Acetonitrile/**20mM phosphate buffer pH7.0**=(60:40)

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



理論段数はピークの高さの4.4%のピーク幅を用いる5シグマ法を用いました。

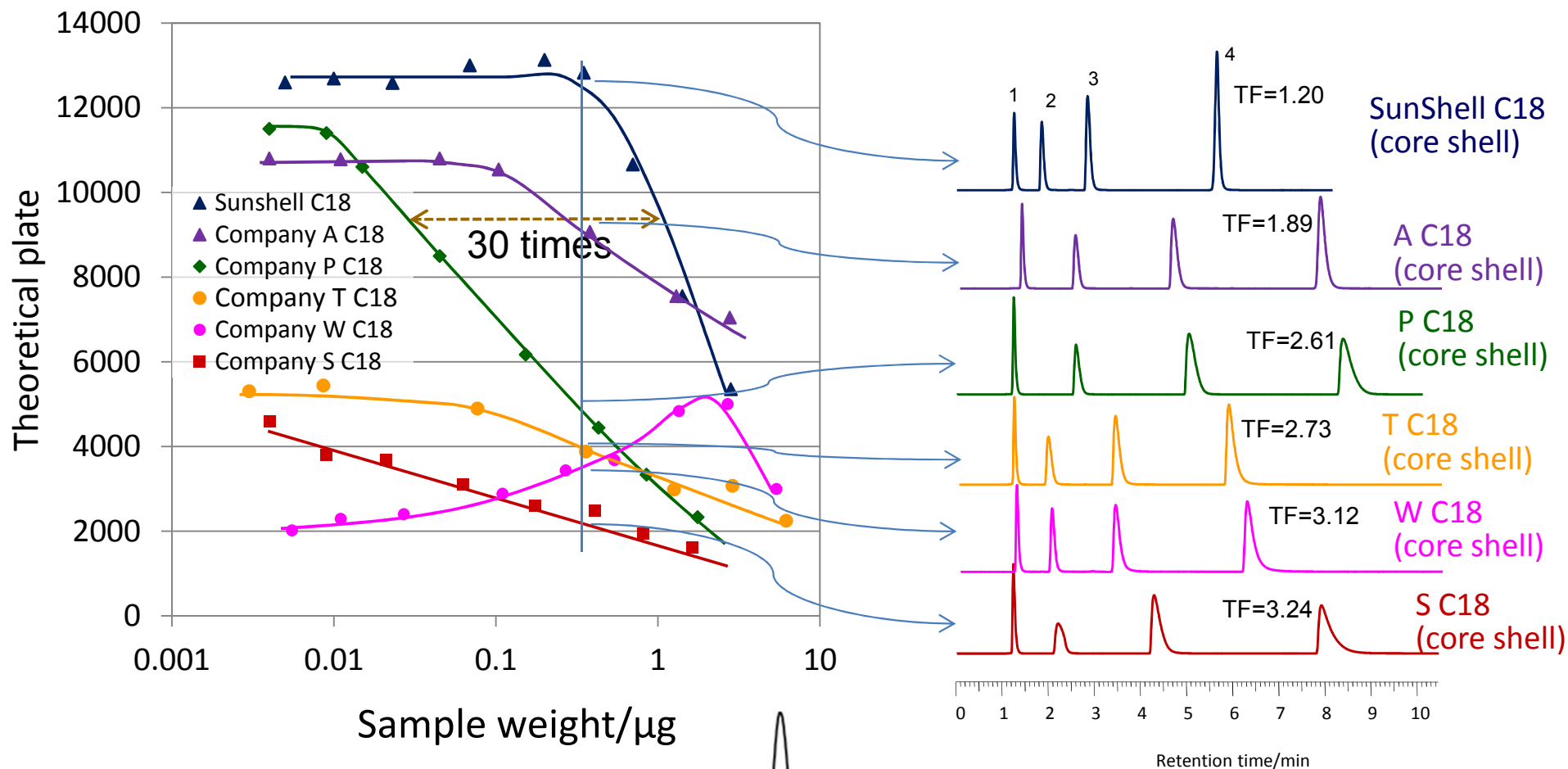
Sample: 1=Uracil, 2=Propranolol, 3= Nortriptyline, 4=Amitriptyline



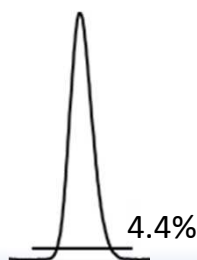
アミトリプチリンの負荷量比較 II

Mobile phase: Acetonitrile/**10mM ammonium acetate pH6.8**=(40:60)

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



理論段数はピークの高さの4.4%のピーク幅を用いる5シグマ法を用いました。



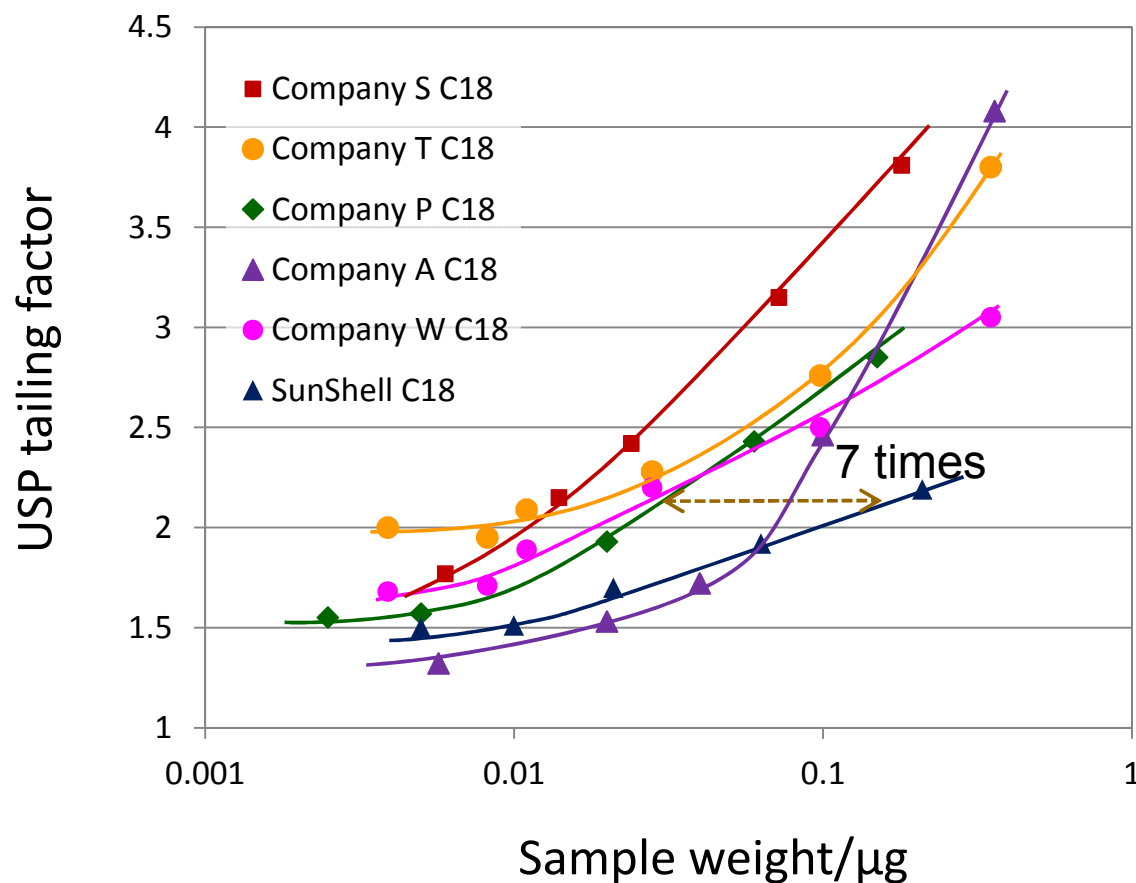
Sample: 1=Uracil, 2=Propranolol, 3= Nortriptyline, 4=Amitriptyline



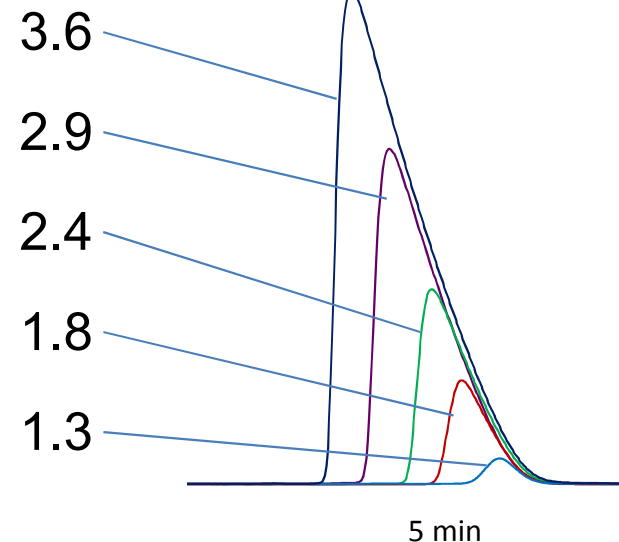
アミトリプチリンの負荷量比較 III

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



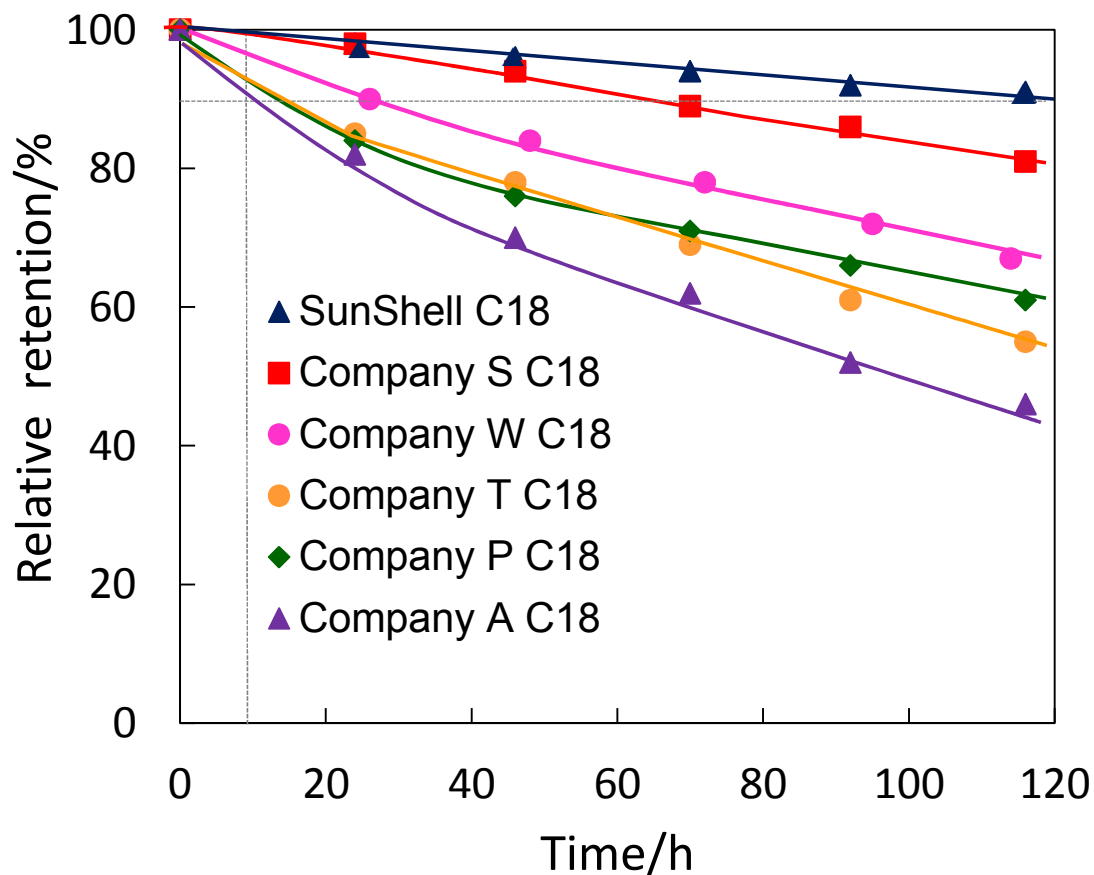
USP tailing factor



アセトニトリル/0.1%ギ酸移動相を用いるような、酸性でイオン強度の低い条件ではアミトリプチリンの負荷量は極端に低くなり、過負荷量では上図のようにテーリングを示すようになります。



酸性条件での耐久性 (加速試験)



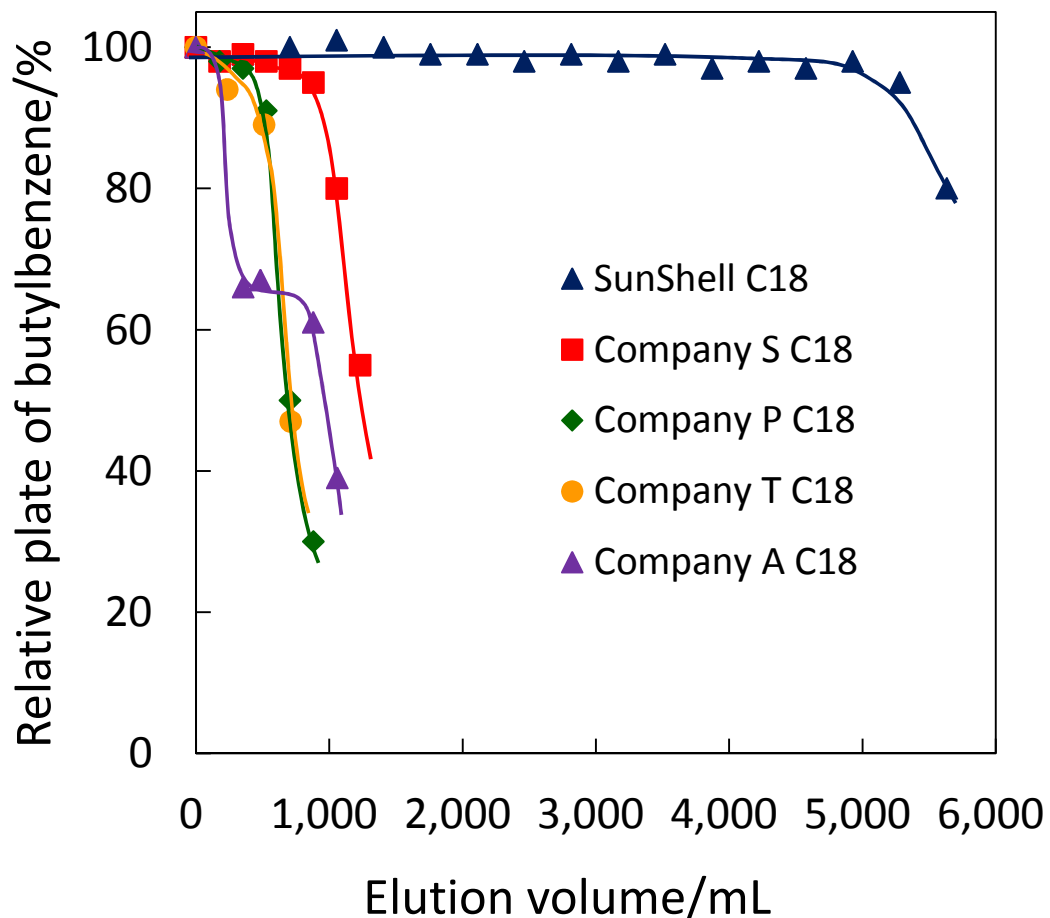
Durable test condition
Column size: 50 x 2.1 mm
Mobile phase: CH₃CN/1.0% TFA,
pH1=10/90
Flow rate: 0.4 mL/min
Temperature: 80 °C

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

加速試験としてpH1で80°Cの条件を用いました。疎水性試料のブチルベンゼンの保持が90%に減少することは、酸によりアルキル基が10%脱離することを意味しています。この10%のアルキル基の脱離でカラム劣化を判断しますとSunShell C18は他社のC18に比べ、2倍から10倍の耐久性を示しました。



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

有機溶媒の濃度が30%と比較的低く、pH 10で50°Cのアルカリ性条件での耐久性を比較しました。アルカリ性条件下ではシリカが溶け出すため、カラムの入口側がへこみ、段数が低下します。SunShell C18は他社C18の5倍から10倍の耐久性を示しました。



耐久性のまとめ

	酸性条件 pH 1	アルカリ性 pH 10	カタログに記載のpH 範囲
SunShell C18	◎	◎	1.5 - 10
Company S C18	○(1/2)	○(1/5)	2 - 9
Company W C18	△(1/5)	not tested	2 - 8
Company A C18	△(1/10)	△(1/10)	2 - 9
Company T C18	△(1/10)	△(1/10)	1 - 11
Company P C18	△(1/10)	△(1/10)	1.5 - 10



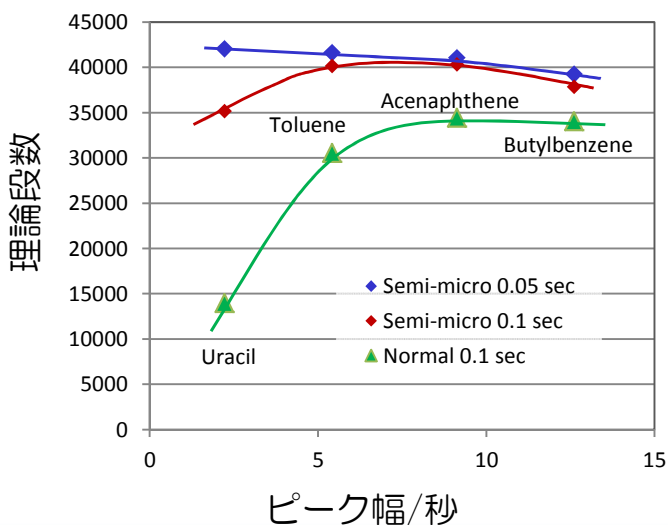
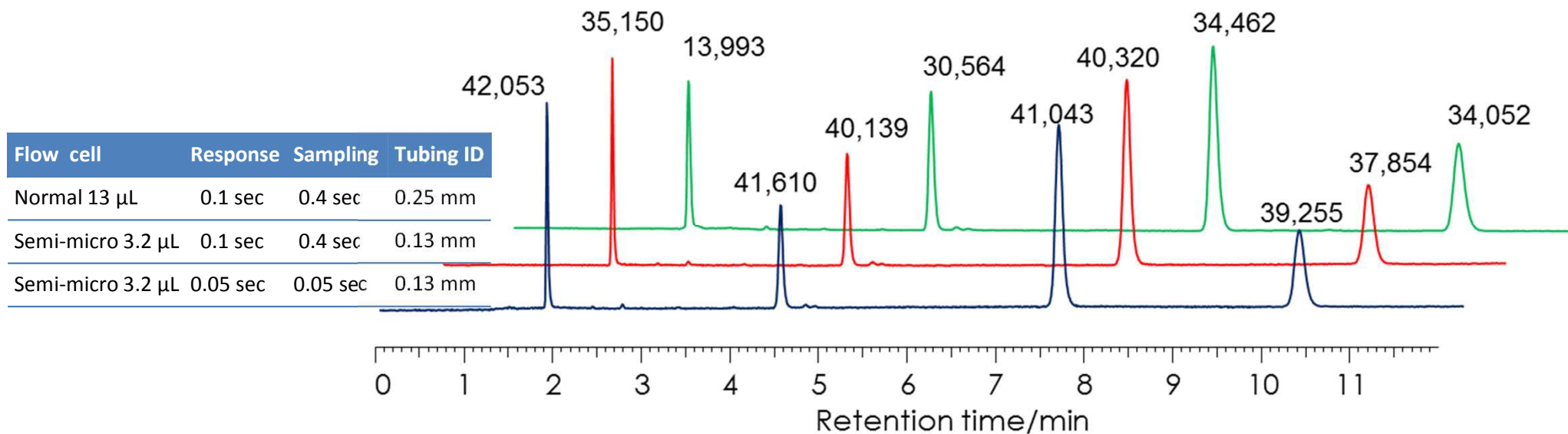
まとめ

- ✓ コアシェルC18カラムも従来の全多孔性C18カラムと同様にメーカー間，ブランド間に保持やピーク形状に大きな差がある。
- ✓ カタログ値はあくまでも参考値であり，実際の測定値と大きくずれる場合がある。特に炭素含有量，比表面積や，使用pH範囲は要注意である。
- ✓ カラム圧は粒子径に依存し，カラム圧の高い充填剤は測定された粒子径も小さい値であった。
- ✓ SunShell C18は保持が大きく，酸性/塩基性・金属配位性化合物のピーク形状も良く，最も高い耐久性を示した。



SunShell C18 5 μm

通常仕様とセミマイクロ仕様のHPLCの比較



Column: SunShell C18, 5 μm 250 x 4.6 mm
 Mobile phase: CH₃CN/H₂O= 70/30
 Flow rate: 1.0 mL/min,
 Temperature: 40 °C
 Pressure: 6.7 MPa
 Detection: UV@250 nm
 Sample: 1 = Uracil
 2 = Toluene
 3 = Acenaphthene
 4 = Butylbenzene

HPLC: Hitachi LaChrom ELITE



SunShell

Core Shell Particle

クロマニクオープン10周年キャンペーン第2弾

SunShell C18, 5 μ m

50% 引きセール

期間: 2015/4/1 ~ 2016/3/31

SunShell C18 5 μ m, 4.6x250mm
 移動相: アセトニトリル/水=7/3
 流速: 1.0mL/min
 カラム圧: 6.7 MPa

理論段数: 40,000段以上

5 μ mのカラム圧で3 μ mの性能を発揮!

全多孔性C18と同等な価格! 是非お試しください!!

	内径(mm)	3.0			4.6		
		長さ(mm)	型番	価格	キャンペーン価格	型番	価格
SunShell C18, 5 μ m	150	CB3371	¥84,000	¥42,000	CB3471	¥84,000	¥42,000
	250	CB3381	¥110,000	¥55,000	CB3481	¥110,000	¥55,000

Sunniest C18 7 μ m, 10 μ m

分析・分取カラムセット

および分取カラム

50%offキャンペーンセール

期間2015/9/1~2016/2/29



型番	カラム	価格	キャンペーン価格
EB788S	Sunniest C18, 7 μ m 20 x 250 mm and 4.6 x 250 mmセット	¥301,500	¥150,750
EB7881	Sunniest C18, 7 μ m 20 x 250 mm	¥280,000	¥140,000
EB7481	Sunniest C18, 7 μ m 4.6 x 250 mm	¥55,000	-----
EB888S	Sunniest C18, 10 μ m 20 x 250 mm and 4.6 x 250 mmセット	¥261,000	¥130,500
EB8881	Sunniest C18, 10 μ m 20 x 250 mm	¥240,000	¥120,000
EB8481	Sunniest C18, 10 μ m 4.6 x 250 mm	¥50,000	-----



HPLC column

SunArmor

サンアーマー SunArmor

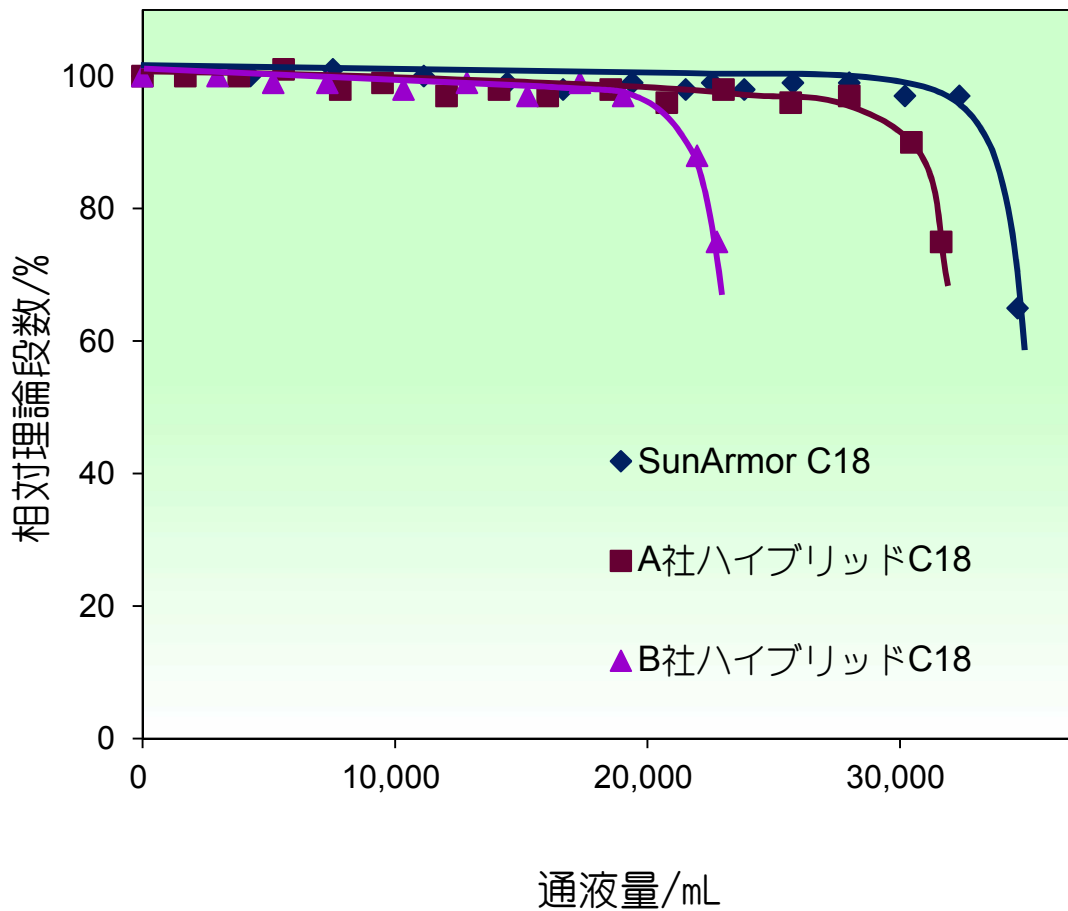
新製品



ChromaNik Technologies Inc.



ハイブリッドタイプ他社カラムと同等な耐アルカリ性



アルカリ性移動相通液条件

カラムサイズ: 50 x 2.1 mm

移動相: メタノール/10 mM 重炭酸アンモニウム (pH 10.5, アンモニア水で調整) = 30/70

流速: 0.8 mL/min

カラム温度: 60 °C

理論段数測定条件

カラムサイズ: 50 x 2.1 mm

移動相: アセトニトリル/水 = 60/40

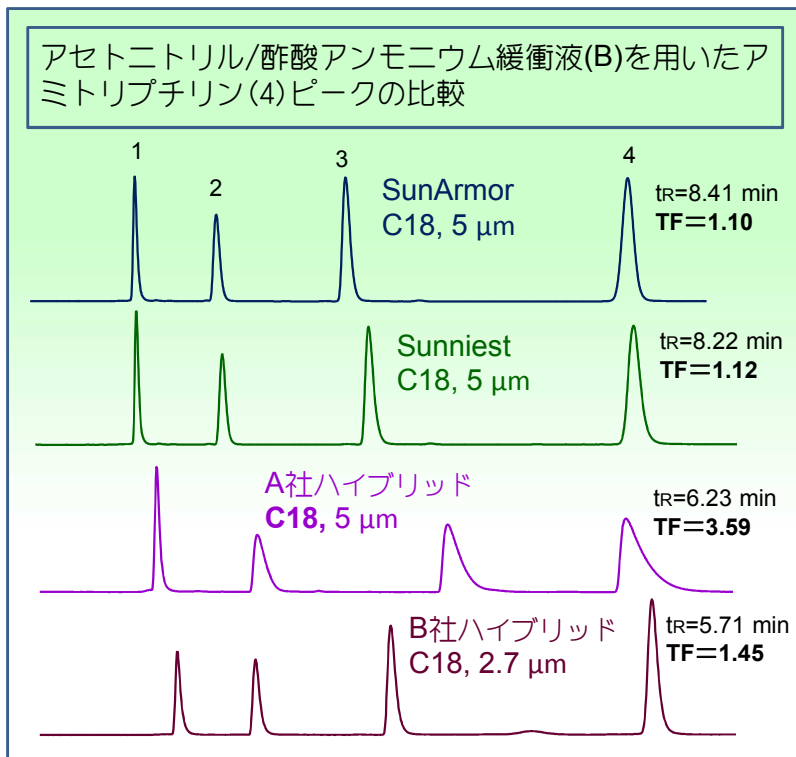
流速: 0.2 mL/min

カラム温度: 40 °C

試料: ブチルベンゼン



塩基性化合物（アミトリプチリン）の比較



<tr: リテンションタイム, TF: テーリングファクター>

測定条件 (アミトリプチリン)

カラサイズ: 150 x 4.6 mm

移動相:

A)アセトニトリル/20 mM リン酸緩衝液
pH 7 = 60/40

B)アセトニトリル/ 10 mM 酢酸アンモニウム pH 6.8 = 40/60

流速: 1.0 mL/min

カラム温度: 40 °C

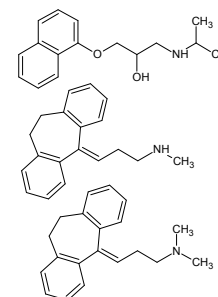
試料:

1 = ウラシル

2 = プロプラノロール

3 = ノルトリプチリン

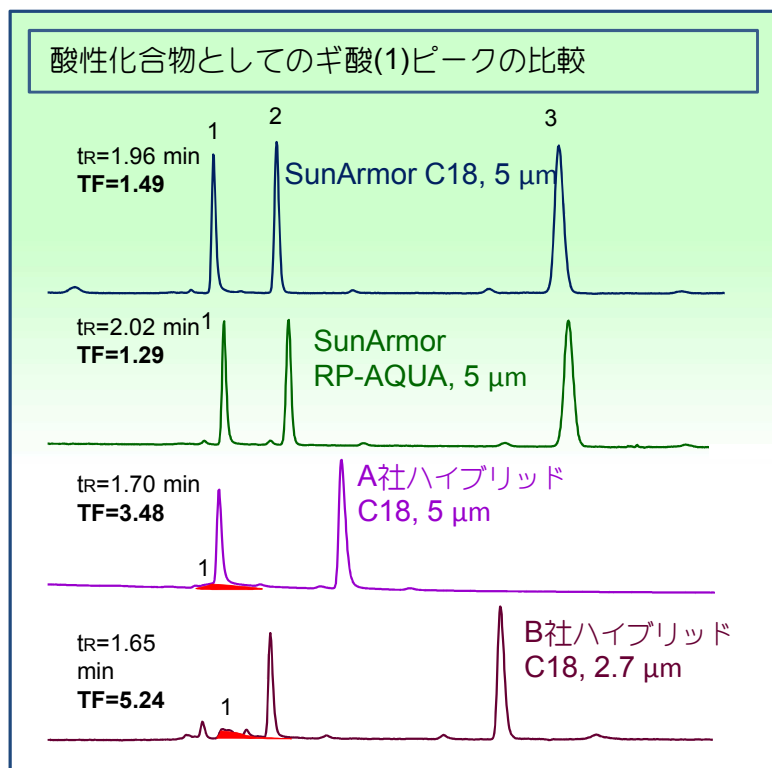
4 = アミトリプチリン



*A社ハイブリッドC18カラムは段数が低く、テーリングしており、残存シラノール基の影響が強出ています。



ギ酸ピークの比較



測定条件 (ギ酸)

カラサイズ: 150 x 4.6 mm

移動相: アセトニトリル/0.1% リン酸 = 2/98

流速: 1.0 mL/min

カラム温度: 40 °C

試料:

1 = ギ酸

2 = 酢酸

3 = プロピオン酸

<tr: リテンションタイム, TF: テーリングファクター>

*官能基としてジメチルアミノ基などを持つシリル化試薬を用いると、副生成物としてのアミンが充填剤に残ります。このアミンはギ酸を強く吸着し、テーリングの原因になります。A社やB社のようにギ酸がテーリングする場合は、アミンが充填剤に残存してる可能性が高いです。