



JASIS  
2016

9月7日(水) 11:50~12:15

N-5室

えっ!!こんなにも違うの・・・  
知って驚く6社コアシェルC18カラム  
の性能差

～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](mailto:info@chromanik.co.jp)

<http://chromanik.co.jp>





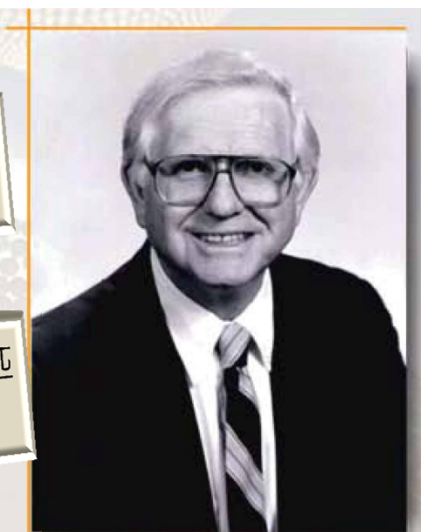
# コアシェル型シリカの歴史

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<sup>1</sup>, タンパク質の高速分離用充填剤 - 直径 $4.5\mu\text{m}$ の核に厚さ $0.25\mu\text{m}$ の多孔質層 (細孔径 $30\text{nm}$ )

2007年三度カークランドらにより発表<sup>2</sup>, 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 $9\text{nm}$ )



• *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。

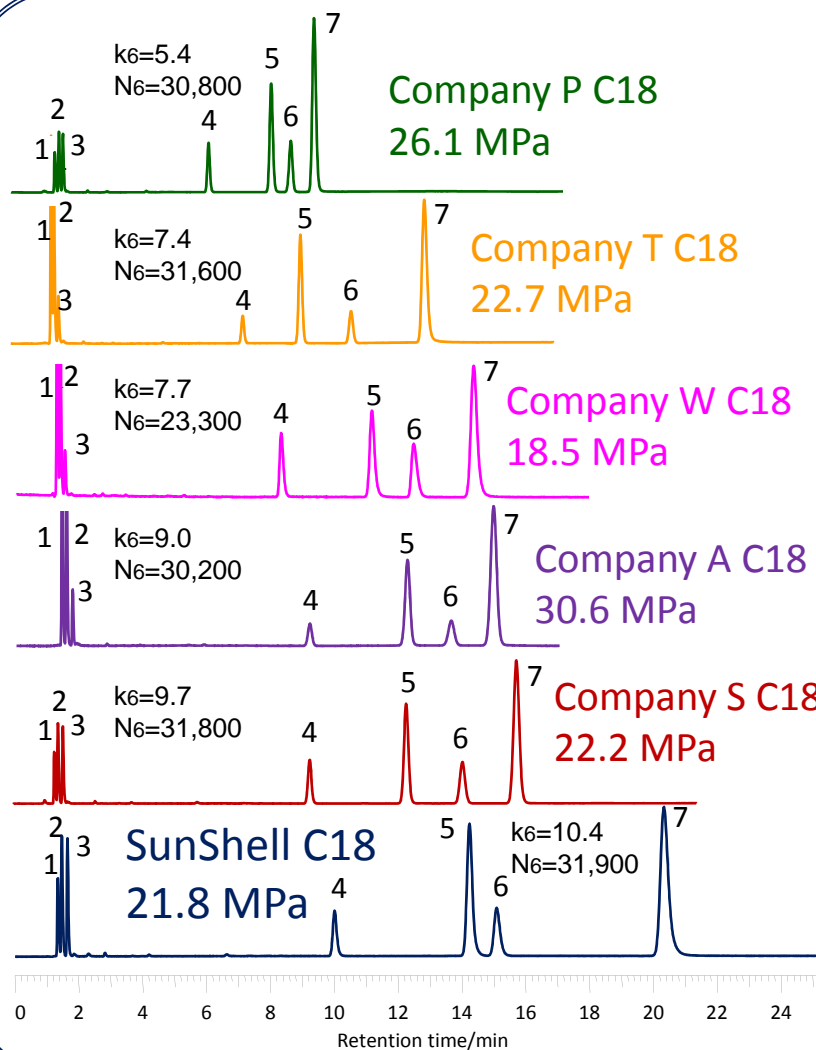


# 市販されているコアシェルカラム

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



# 標準試料の分離比較



Column:

Company P C18, 2.6  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm (26.1 Mpa, 30,800 plate)

Company T C18, 2.6  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm (22.7 Mpa, 31,600 plate)

Company W C18, 2.7  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm (18.5 Mpa, 23,300 plate)

Company A C18, 2.7  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm (30.6 Mpa, 30,200 plate)

Company S C18, 2.7  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm (22.2 Mpa, 31,800 plate)

SunShell C18, 2.6  $\mu\text{m}$  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  $^\circ\text{C}$

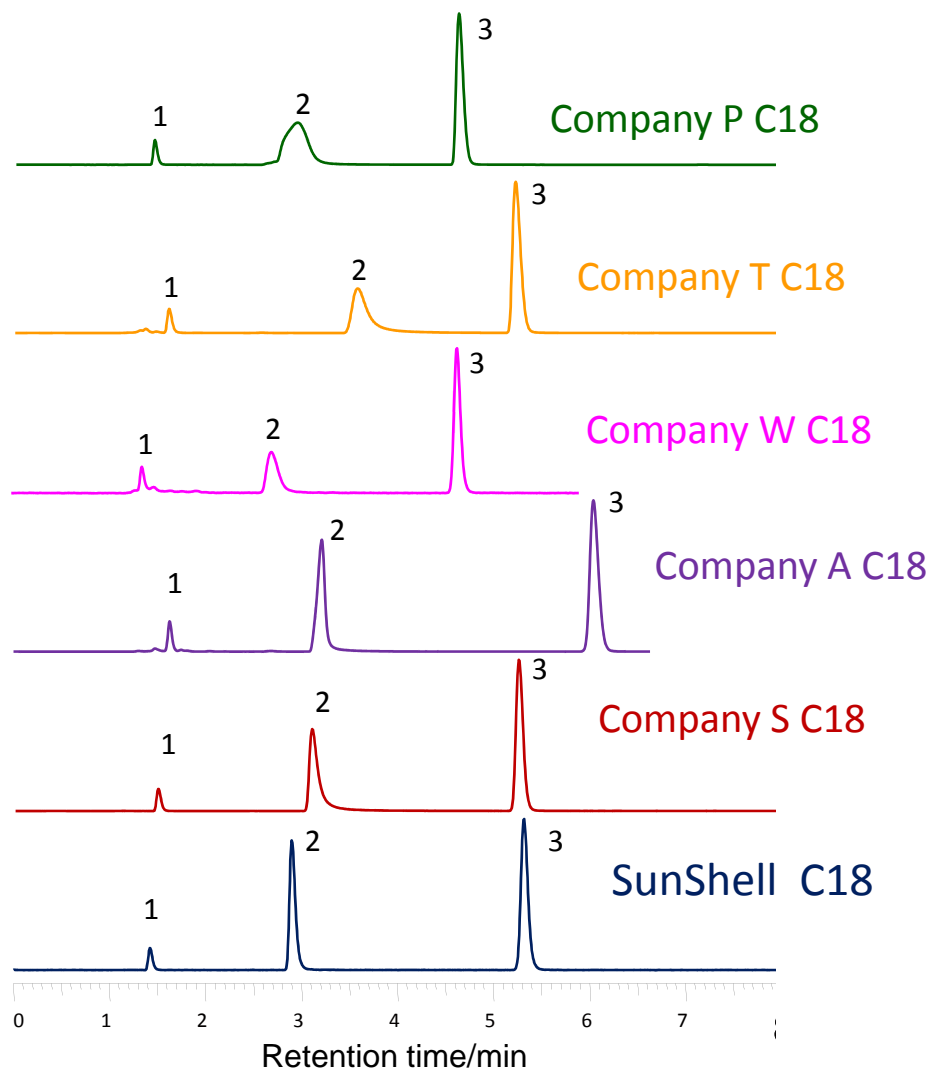
Sample: 1 = Uracil, 2 = Caffeine, 3 = Phenol, 4 = Butylbenzene

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-Terphenylene)
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  $\mu\text{m}$  150 x 4.6 mm

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

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

Company A C18, 2.7  $\mu\text{m}$  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:  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}=30/70$

Flow rate: 1.0 mL/min

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

Detection: UV@250nm

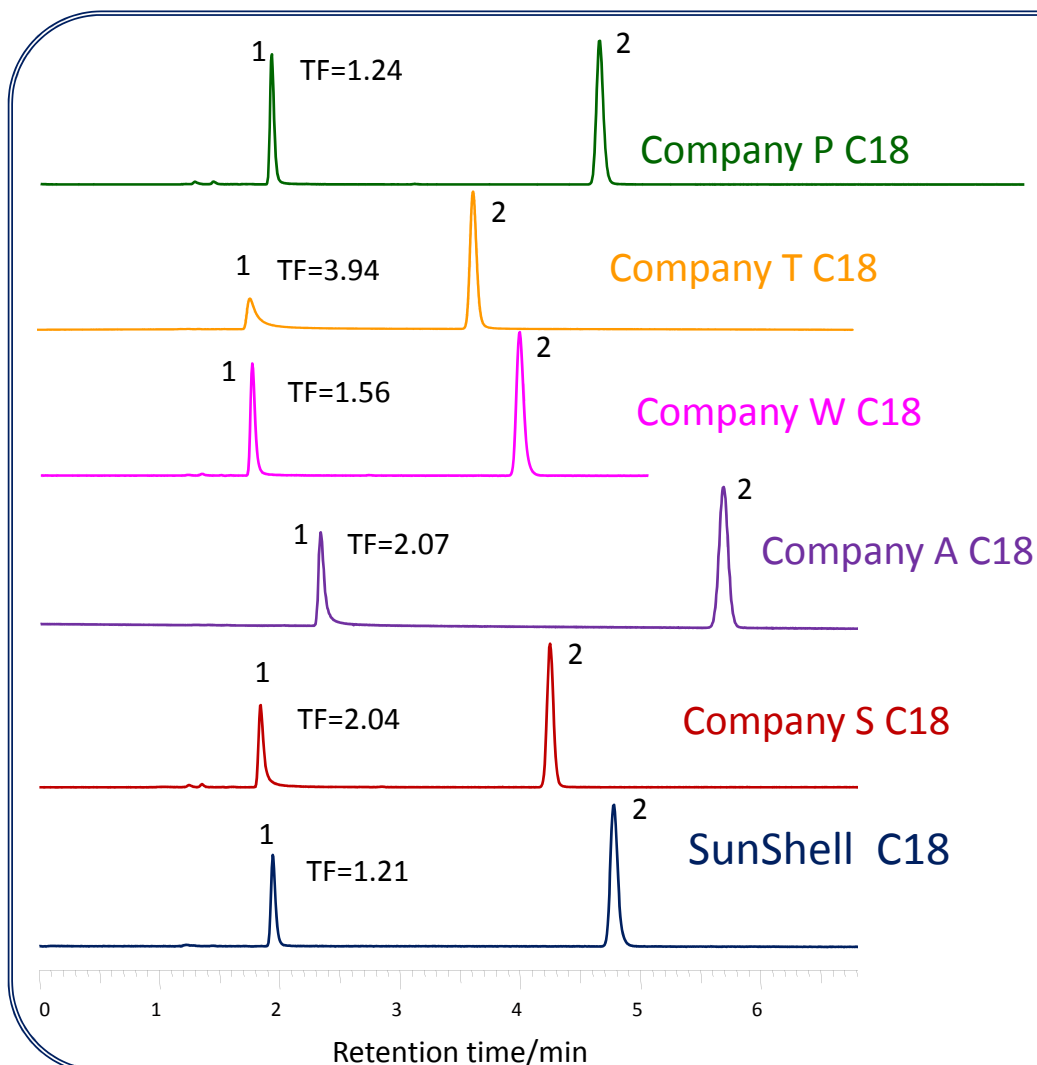
Sample: 1 = Uracil

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

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

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

Company A C18, 2.7  $\mu\text{m}$  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:  $\text{CH}_3\text{CN}/20\text{mM H}_3\text{PO}_4=10/90$

Flow rate: 1.0 mL/min

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

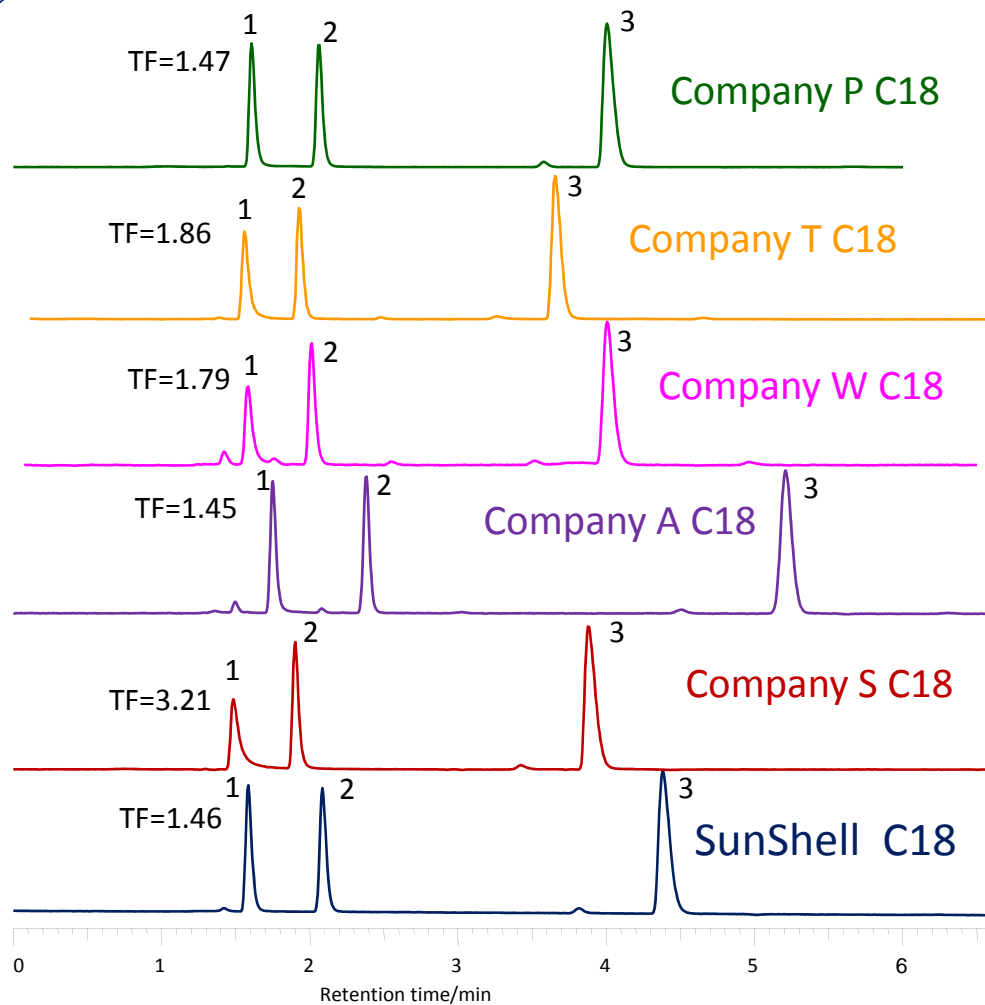
Detection: UV@250nm

Sample: 1 = 8-Quinolinol (Oxine)

2 = Caffeine



# ギ酸ピークの比較



Column:

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

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

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

Company A C18, 2.7  $\mu\text{m}$  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:  $\text{CH}_3\text{CN}/0.1\% \text{H}_3\text{PO}_4=2/98$

Flow rate: 1.0 mL/min

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

Detection: UV@210nm

Sample: 1 = Formic acid

2 = Acetic acid

3 = Propionic Acid



# 標準試料の分離比較のまとめ

	カラム圧 Pressure <sup>a</sup>	保持指数 Retention <sup>b</sup>	理論段数 Plate <sup>c</sup>	ピリジン Pyridine	オキシソ 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

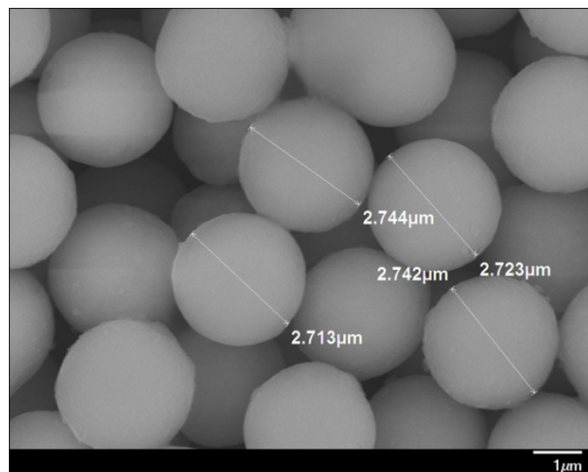
◎: 3 point, ○: 2 point, △: 1 point, ×: 0 point





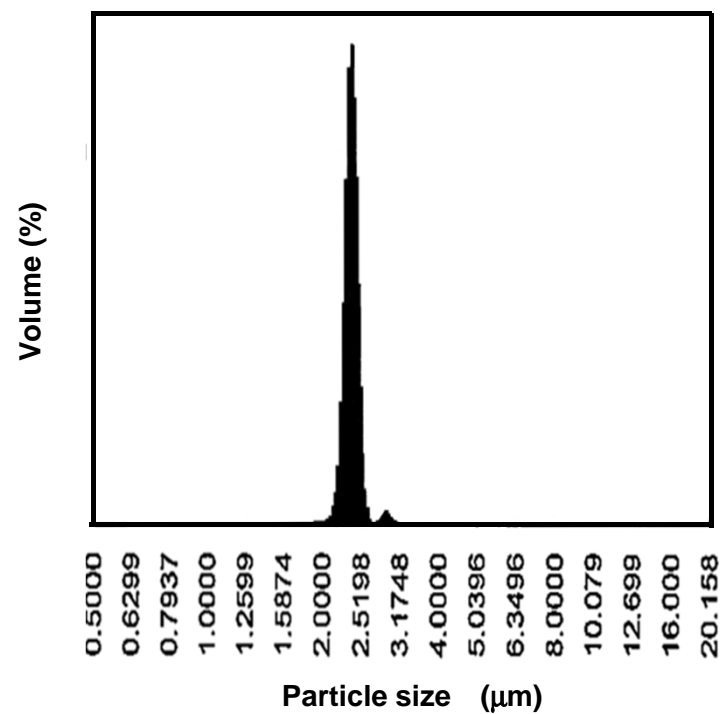
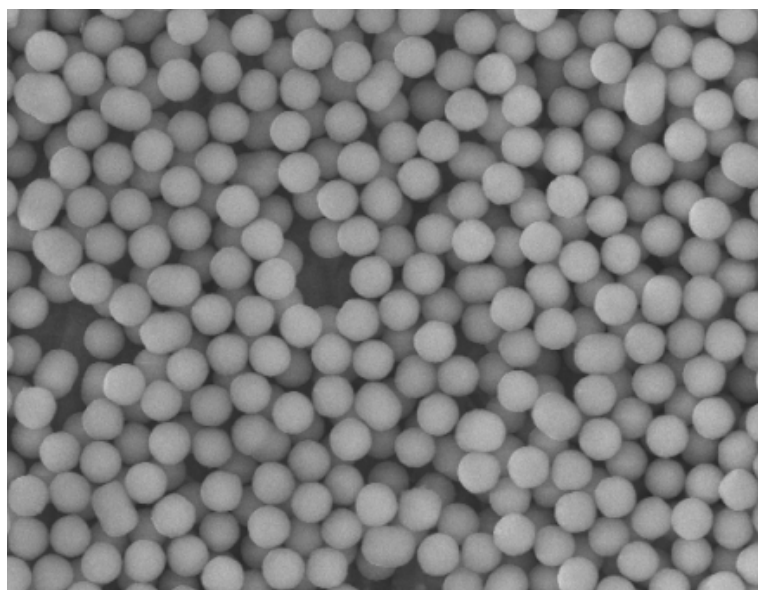


# 他社コアシェル粒子の粒度分布



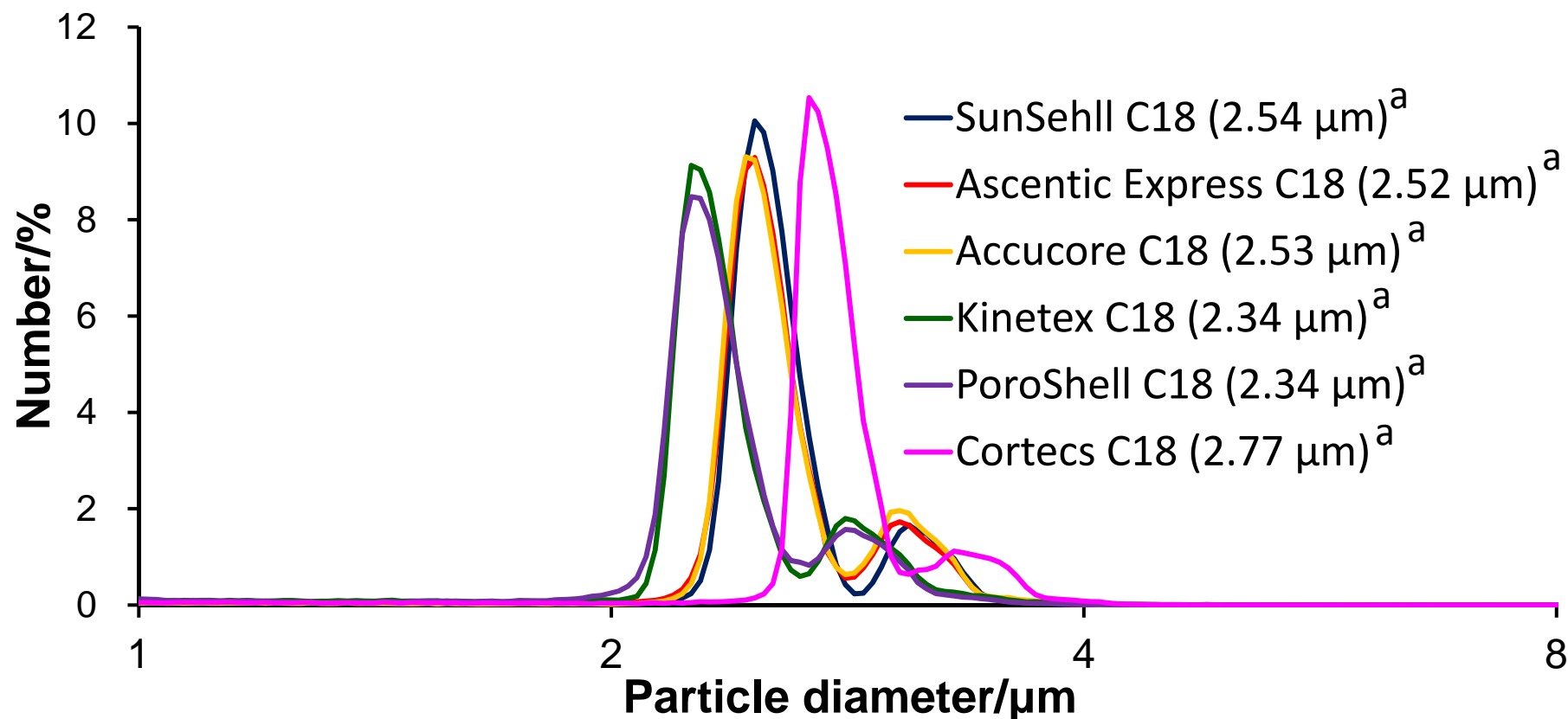
Coulter counter

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





# 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 <sup>a</sup> (m <sup>2</sup> /g)	細孔容積 Pore volume <sup>a</sup> (mL)	細孔径 Pore diameter <sup>a</sup> (nm)
SunShell C18	7.3 (7) <sup>b</sup>	125 (150) <sup>b</sup>	0.261	8.34 (9) <sup>b</sup>
Company S C18	8.0	133 (150) <sup>b</sup>	0.278	8.20 (9) <sup>b</sup>
Company A C18	8.5 (8) <sup>b</sup>	135 (130) <sup>b</sup>	0.414	12.3 (12) <sup>b</sup>
Company T C18	8.8 (9) <sup>b</sup>	130 (130) <sup>b</sup>	0.273	8.39 (8) <sup>b</sup>
Company W C18	7.3 (6.6) <sup>b</sup>	113	0.264	9.32
Company P C18	4.9 (12 effective) <sup>b</sup>	102 (200 effective) <sup>b</sup>	0.237	9.25 (10) <sup>b</sup>

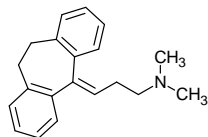
a. C18充填剤を600°Cで8時間焼成し、アルキル基を焼き飛ばした後のコアシェル粒子を測定しました。この測定値はオリジナルのコアシェル粒子の値より小さくなります。

b. カタログに記載されている値

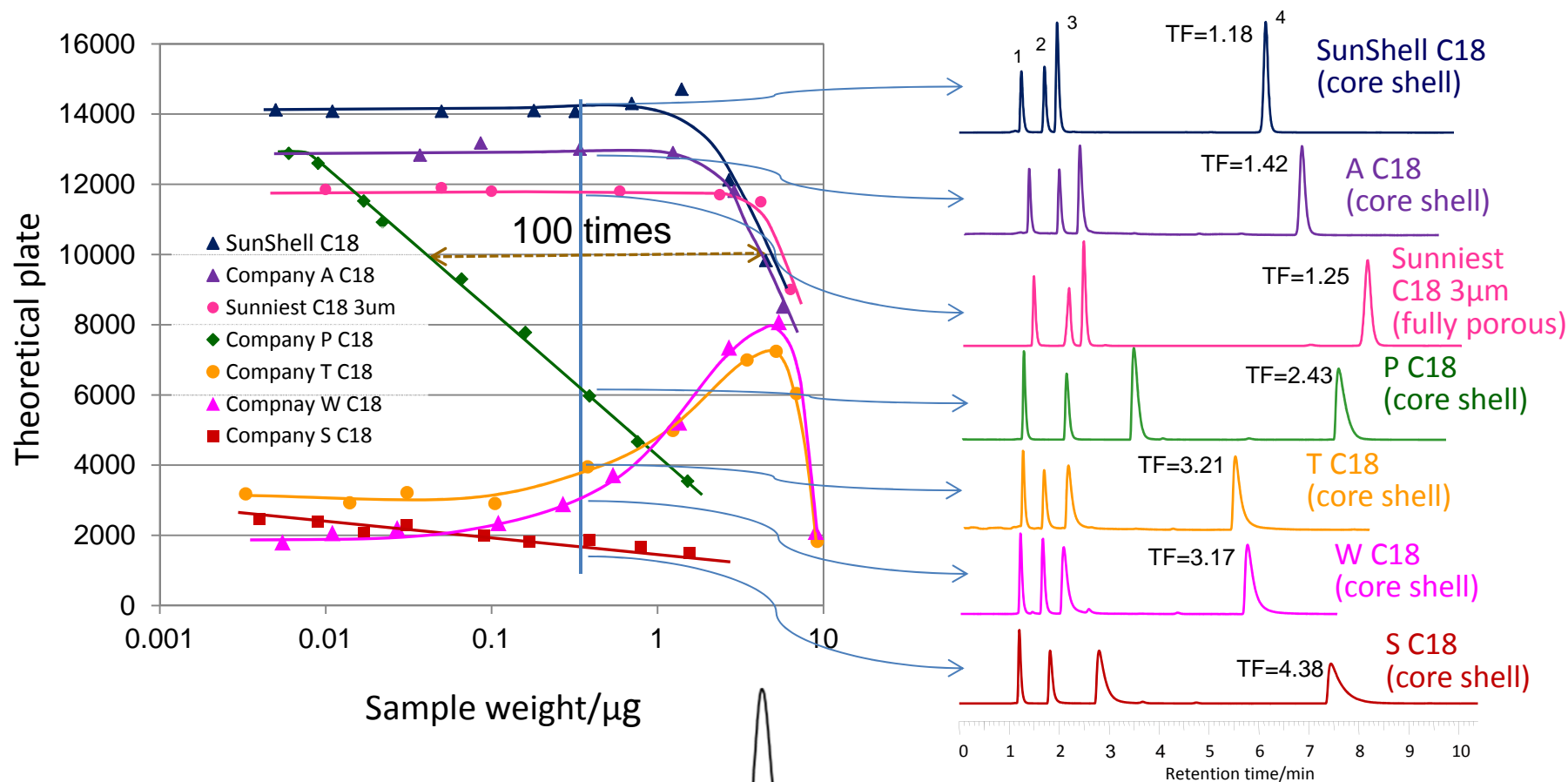
\*全ての測定はクロマニックテクノロジーズ社内で行いました。



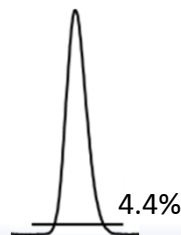
# アミトリプチリンの負荷量比較 I



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。

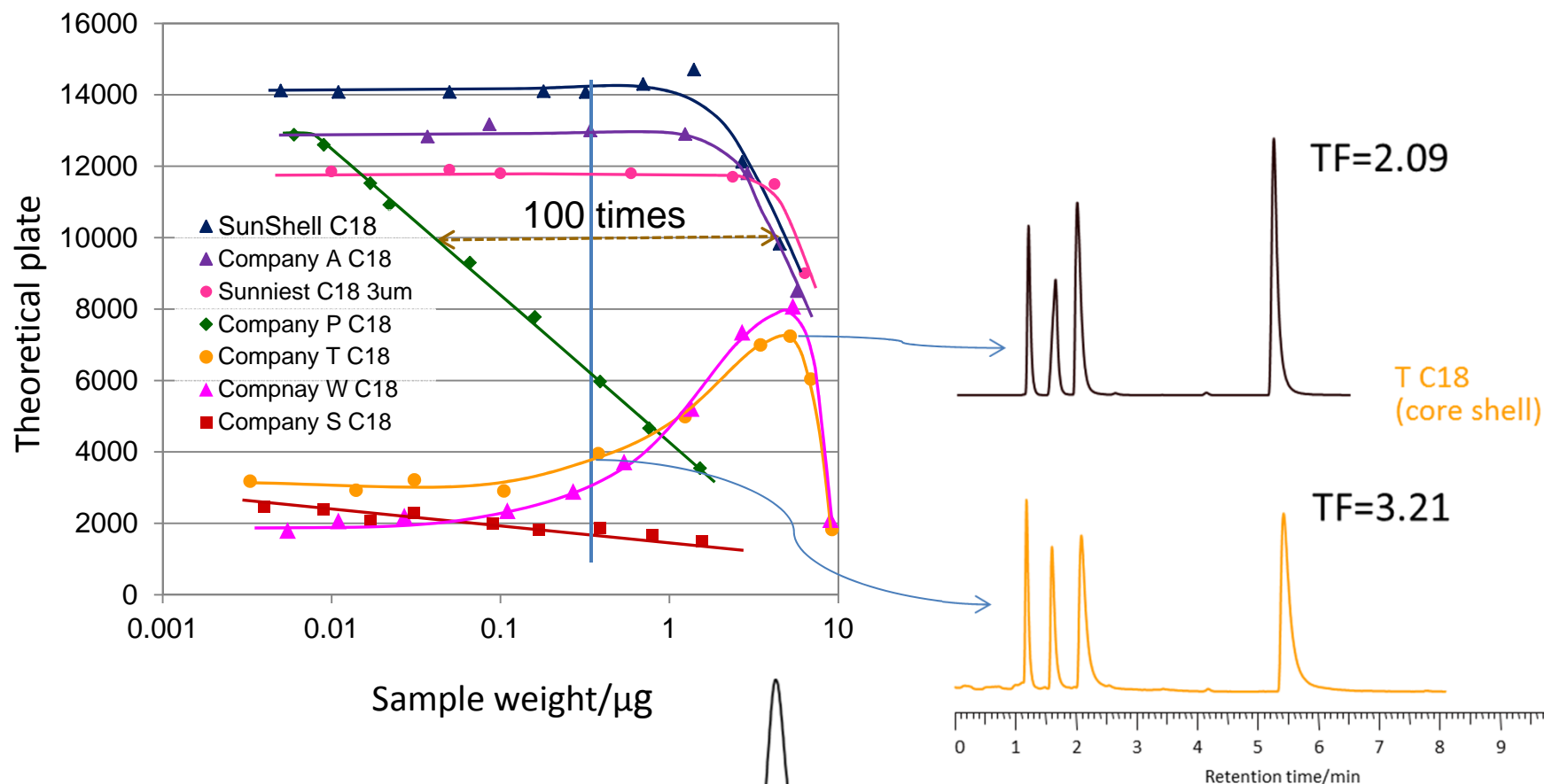


Sample: 1=Uracil, 2=Propranolol, 3= Nortriptyline, 4=Amitriptyline

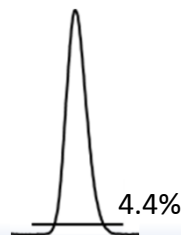


# アミトリプチリンの負荷量比較 I

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。



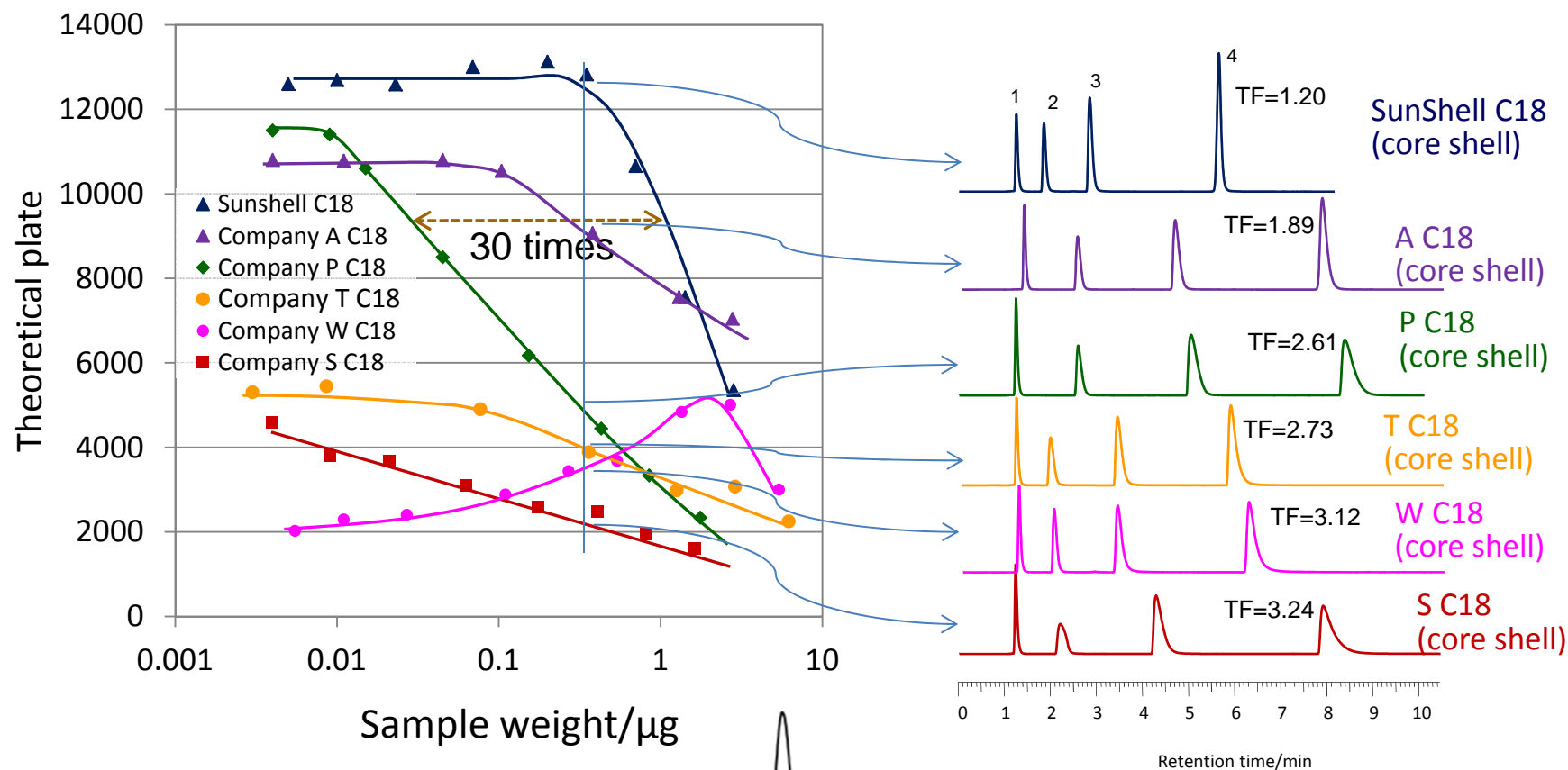
Sample: 1=Uracil, 2=Propranolol, 3= Nortriptyline, 4=Amitriptyline



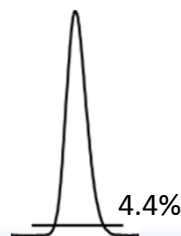
# アミトリプチリンの負荷量比較 II

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。



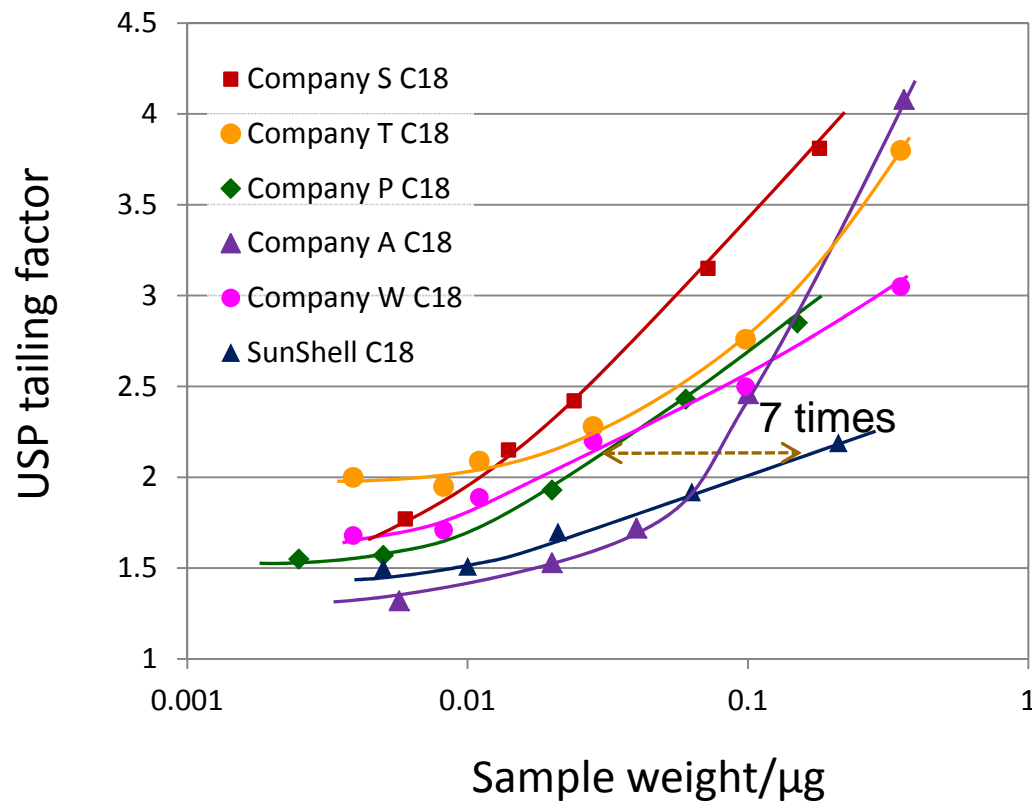
Sample: 1=Uracil, 2=Propranolol, 3= Nortriptyline, 4=Amitriptyline



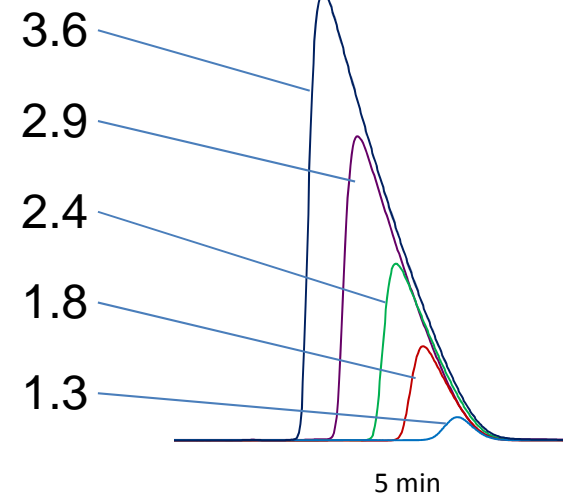
# アミトリプチリンの負荷量比較 III

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



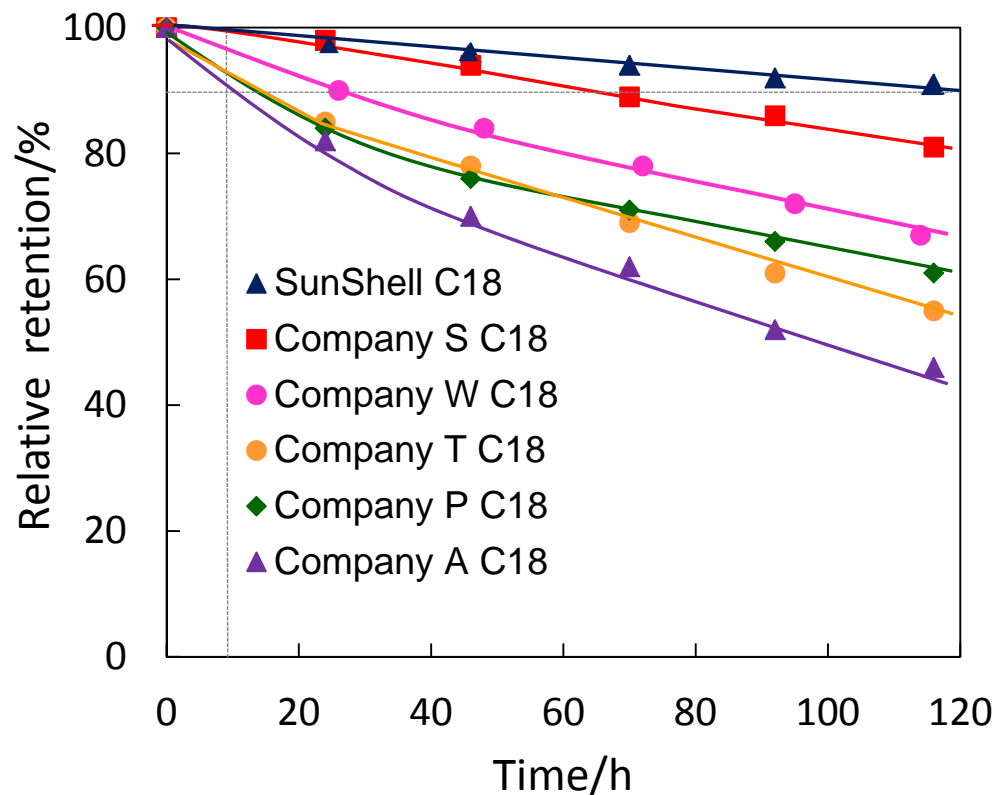
USP tailing factor



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: CH<sub>3</sub>CN/1.0% TFA,  
pH1=10/90  
Flow rate: 0.4 mL/min  
Temperature: 80 °C

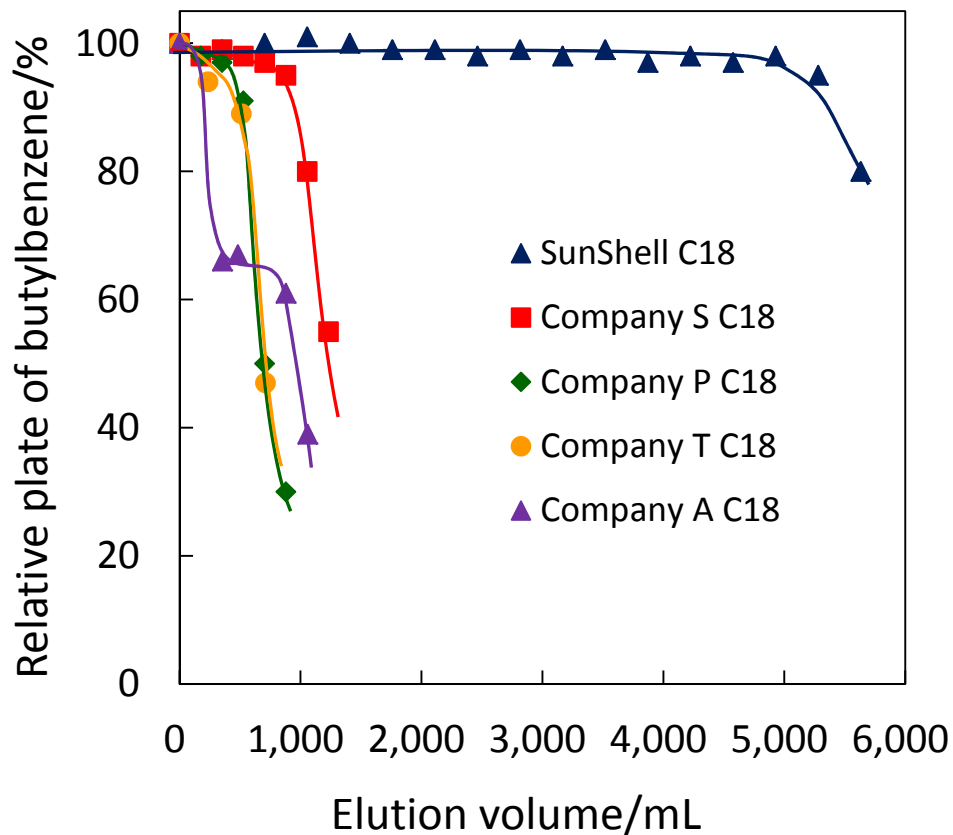
Measurement condition  
Column size: 50 x 2.1 mm  
Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=60/40  
Flow rate: 0.4 mL/min  
Temperature: 40 °C  
Sample: 1 = Uracil  
2 = Butylbenzene

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:

CH<sub>3</sub>OH/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: CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O=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。



# 粒子径 $2\mu\text{m}$ 以下のコアシェル型C18 および 全多孔性C18の分離評価

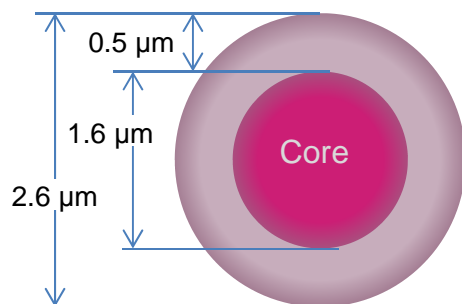
○長江 徳和, 塚本 友康, 小島 瞬



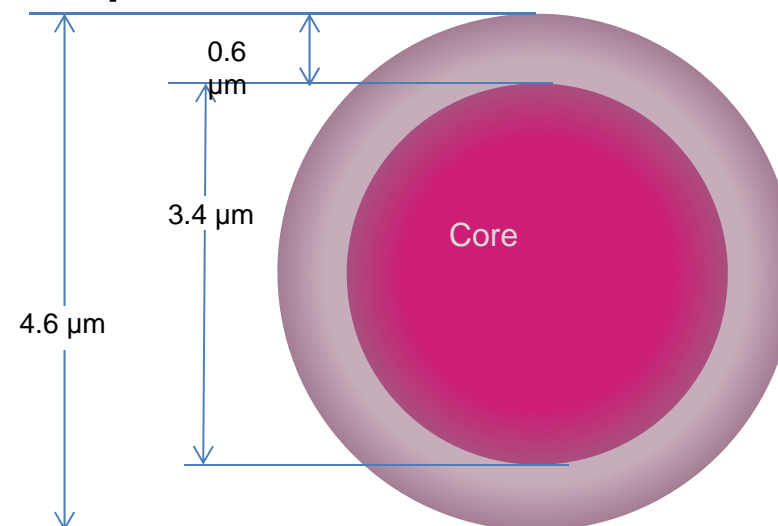


# コアシェル粒子

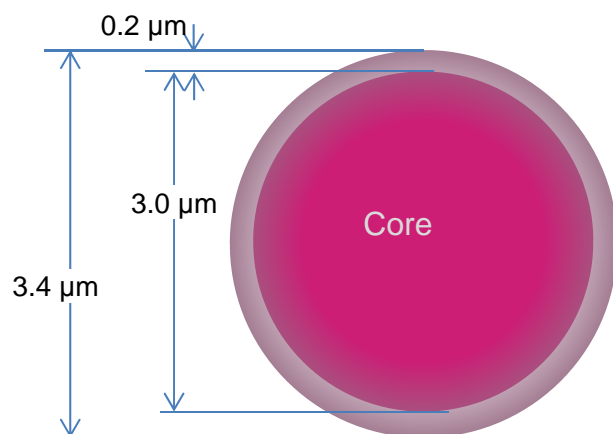
2.6  $\mu\text{m}$



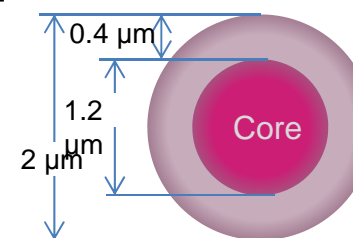
5  $\mu\text{m}$  for routine



3.4  $\mu\text{m}$  for protein



2  $\mu\text{m}$





# 用いたカラム

## コアシェル粒子

SunShell C18 2  $\mu\text{m}$ , 2.1 x 100 mm

Ascentis Express C18 2  $\mu\text{m}$ , 2.1 x 100 mm

Kinetex C18 1.7  $\mu\text{m}$ , 2.1 x 100 mm

## 全多孔性粒子

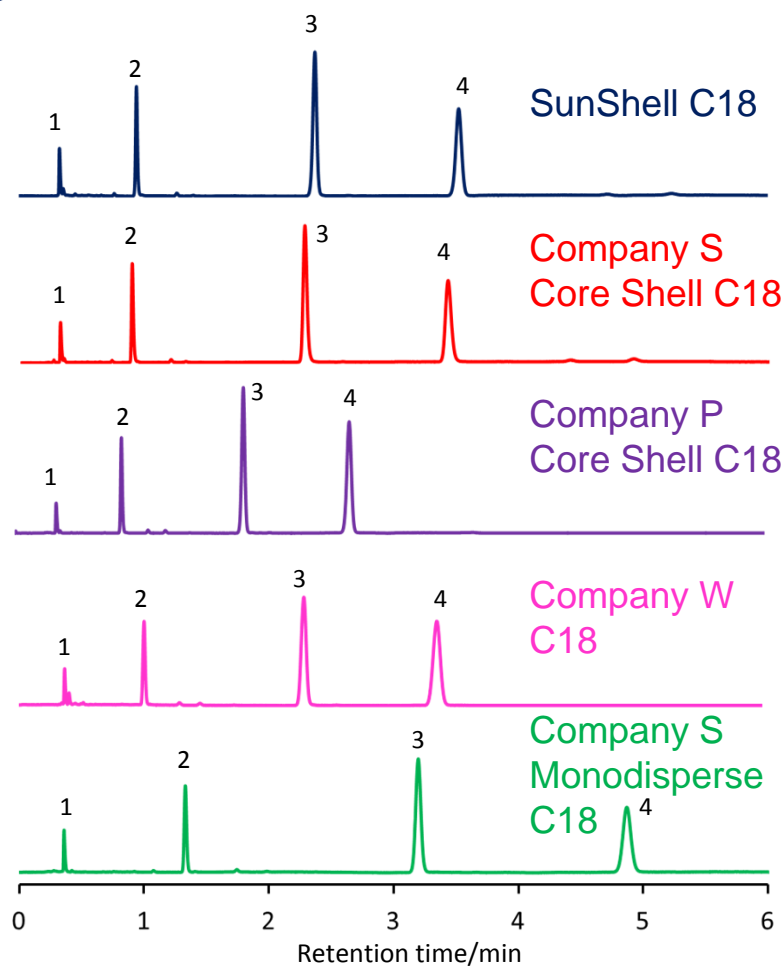
Acquity BEH C18 1.7  $\mu\text{m}$ , 2.1 x 100 mm

Titan C18 1.9  $\mu\text{m}$ , 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



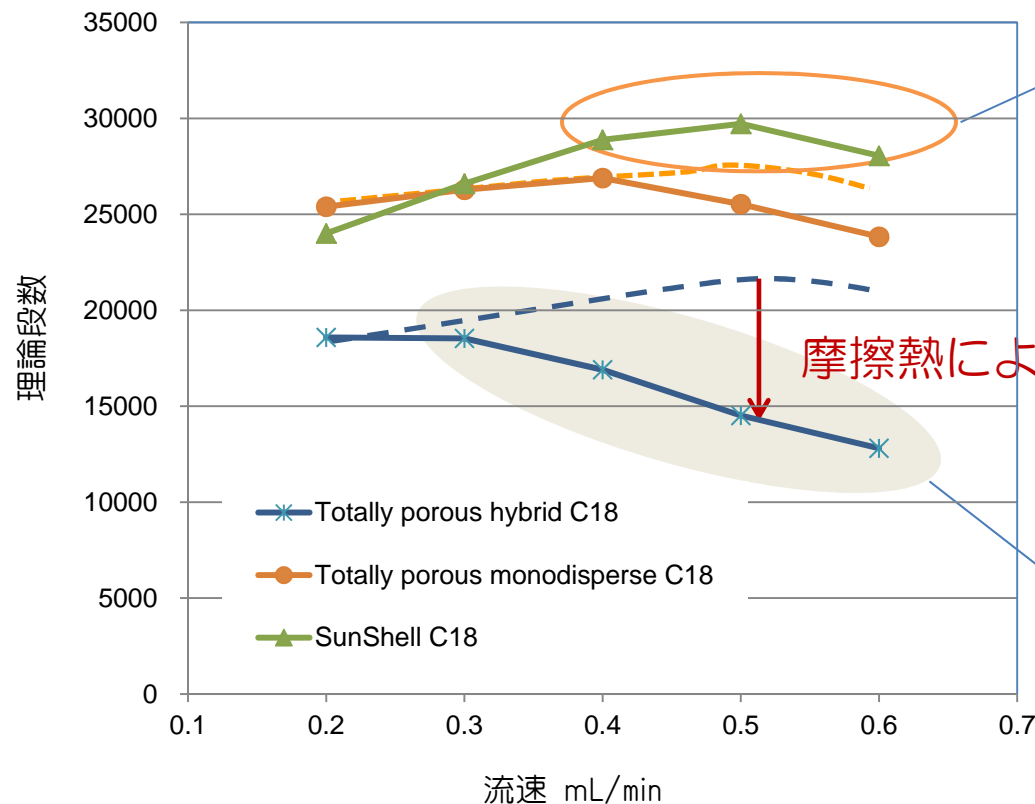
Column: SunShell C18, 2  $\mu$ m 100 x 2.1 mm  
Company S Core Shell C18, 2  $\mu$ m 100 x 2.1 mm  
Company P Core Shell C18, 1.7  $\mu$ m 100 x 2.1 mm  
Company W C18, 1.7  $\mu$ m 100 x 2.1 mm  
Company S Monodisperse C18, 1.9  $\mu$ m 100 x 2.1 mm

Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=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 <sup>-1</sup> )
	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



# 摩擦熱による理論段数低下



Column: 100 x 2.1 mm  
Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=60/40  
Temperature: 40 °C  
Sample: Acenaphthene,

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。

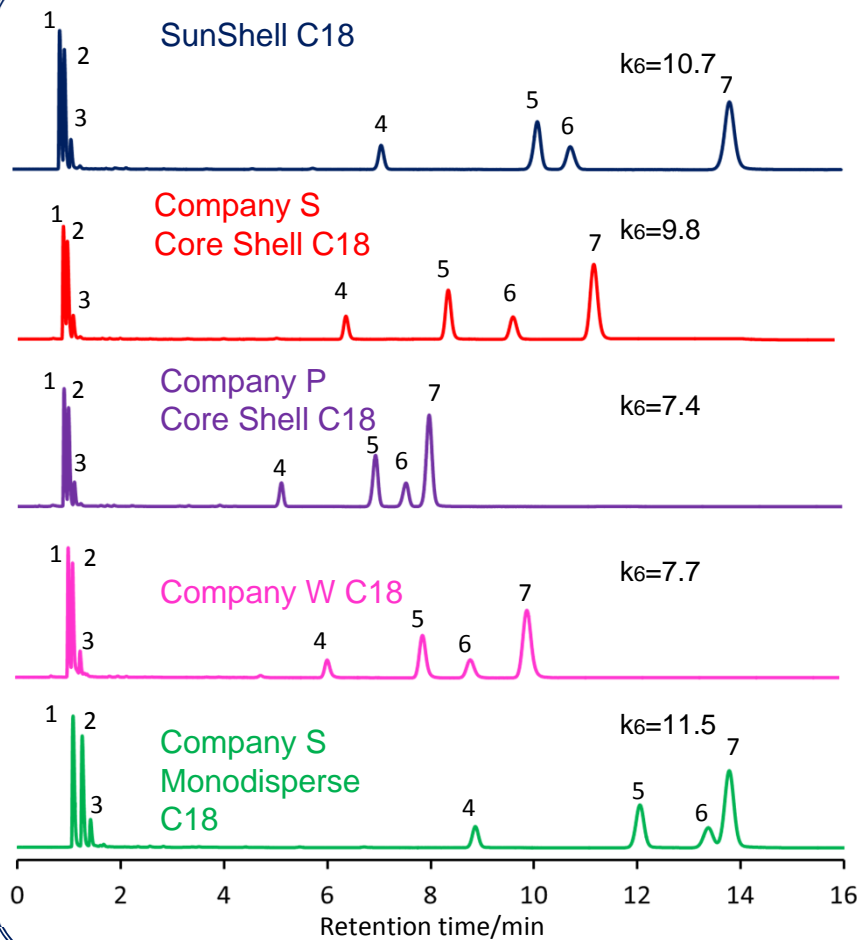
摩擦熱による段数低下

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。





# 標準試料の分離



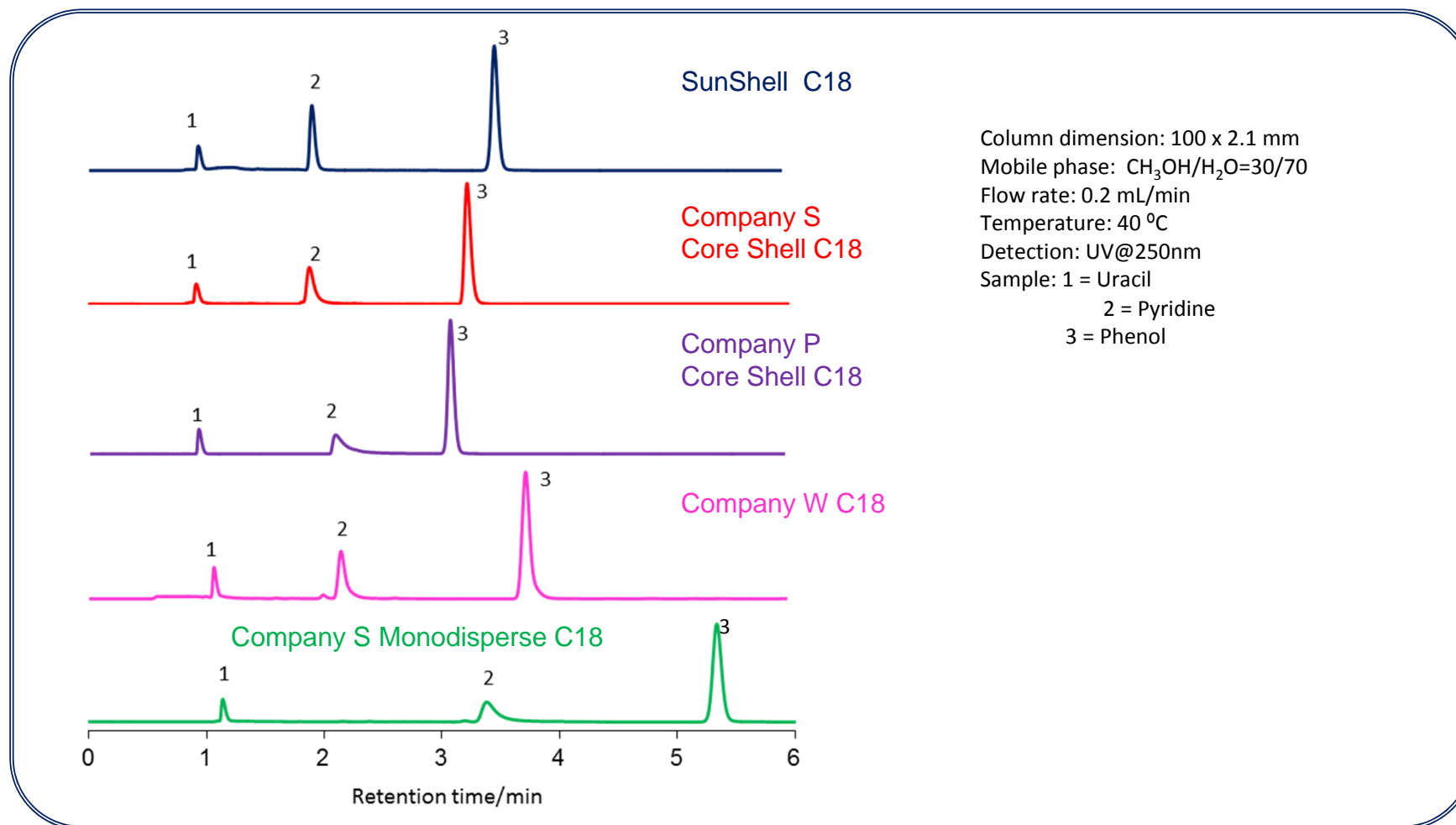
Column: SunShell C18, 2  $\mu\text{m}$  100 x 2.1 mm  
Company S Core Shell C18, 2  $\mu\text{m}$  100 x 2.1 mm  
Company P Core Shell C18, 1.7  $\mu\text{m}$  100 x 2.1 mm  
Company W C18, 1.7  $\mu\text{m}$  100 x 2.1 mm  
Company S Monodisperse C18, 1.9  $\mu\text{m}$  100 x 2.1 mm

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

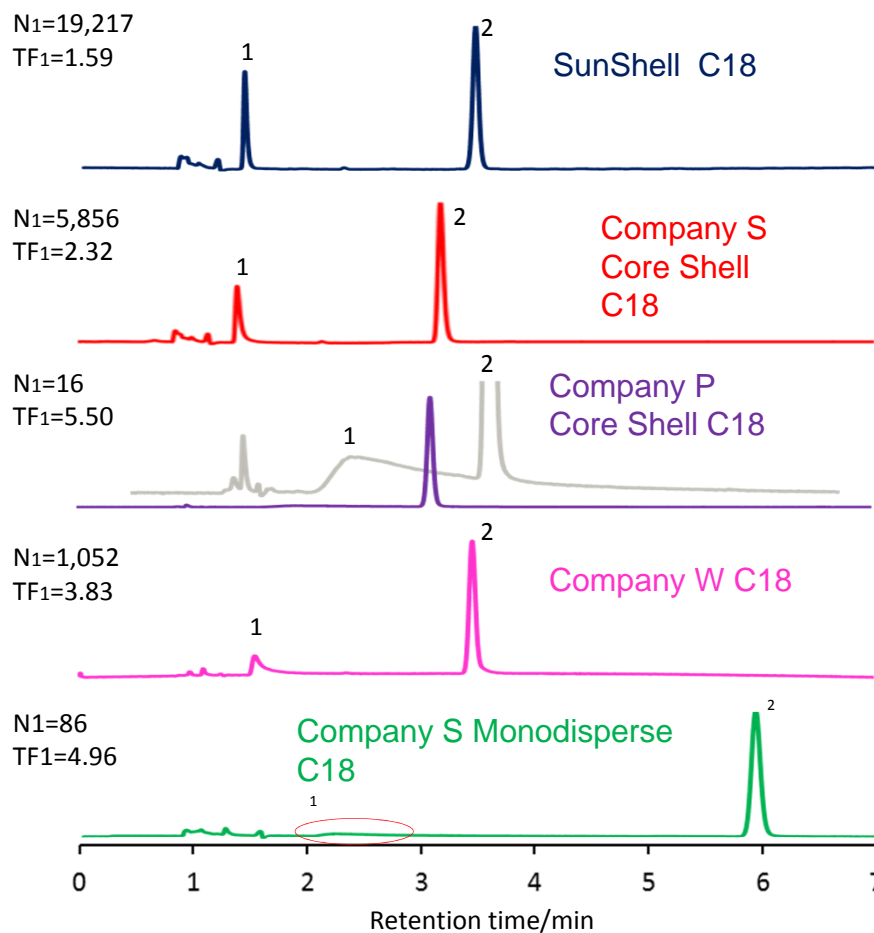


# ピリジンピーク





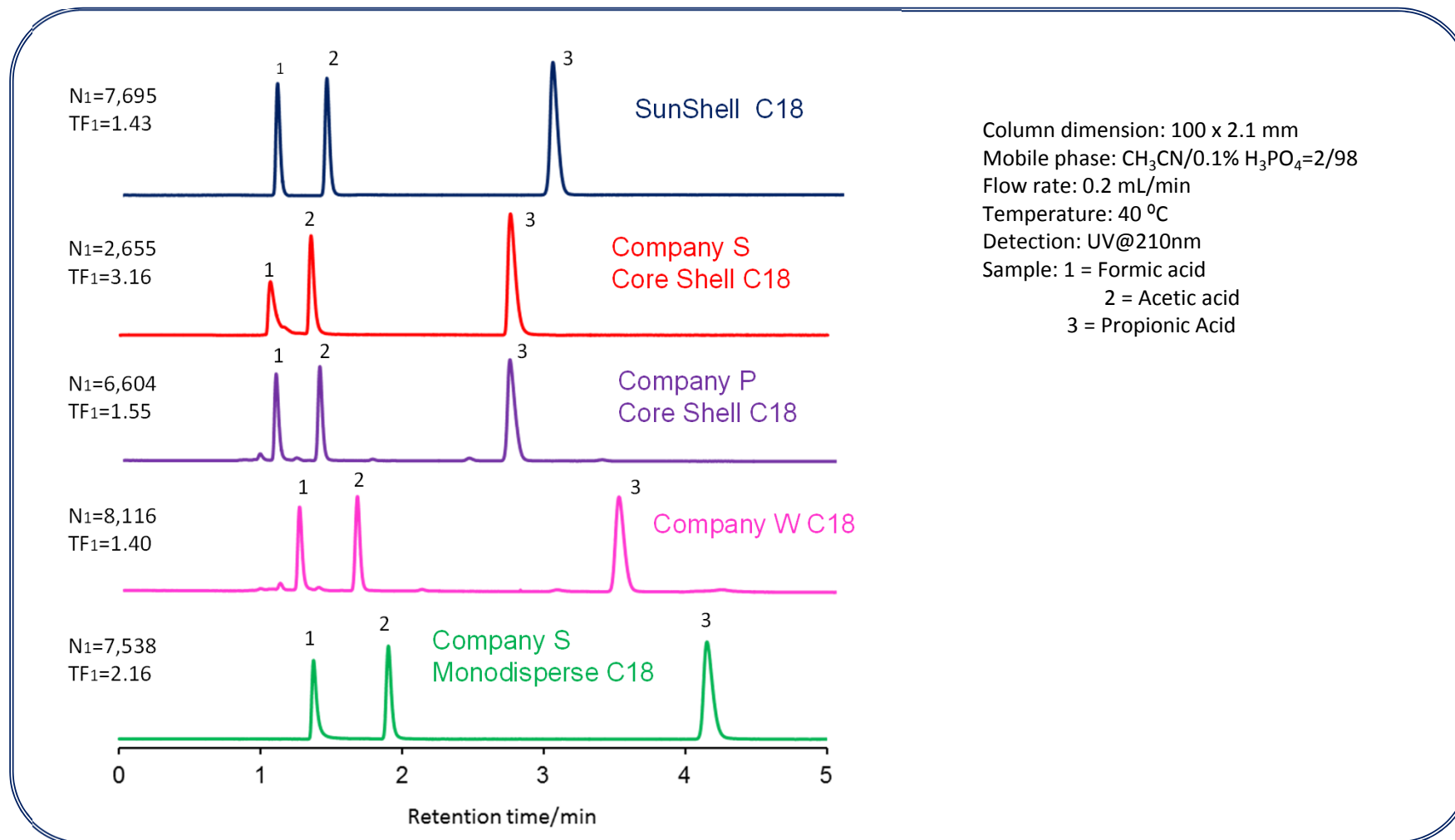
# オキシソリンピーク



Column dimension: 100 x 2.1 mm  
Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/20mM H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>=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





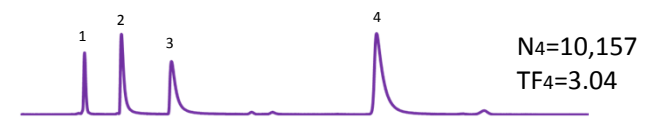
# アミトリプチリンのピーク



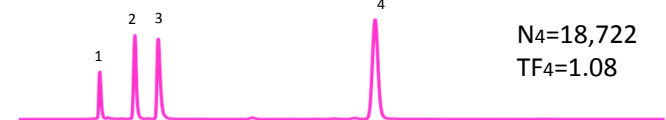
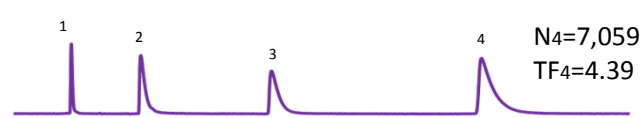
SunShell C18



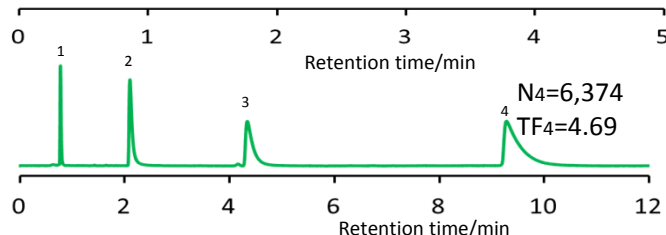
Company S  
Core Shell C18



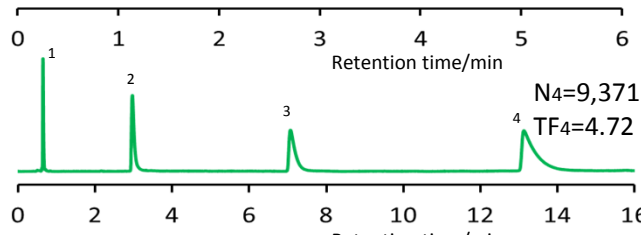
Company P  
Core Shell  
C18



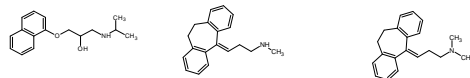
Company W  
C18



Company S  
Monodisperse  
C18



Column dimension: 100 x 2.1 mm  
Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/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: CH<sub>3</sub>CN/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



# まとめ

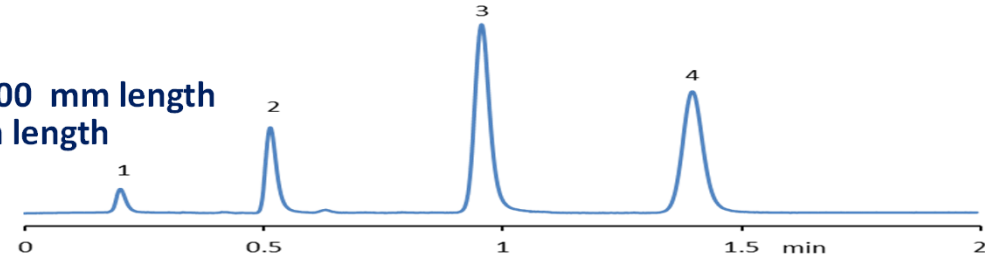
- ◆各カラムの理論段数は大きく異なり，最大2倍の差があり，Company Wは他に比べ低い理論段数であった。また摩擦熱によると考えられる段数低下はハイブリッドシリカが顕著であった。
- ◆金属配位性のオキシソートピーク形状はカラム間に大きな差があり，Company P およびCompany S Monodisperseは100段以下の段数となり，金属不純物の影響が非常に高いことが確認された。
- ◆酸性化合物のギ酸ピークはCompany S Core Shellのみひどくテーリングした。
- ◆塩基性化合物のアミトリプチリンピークはSunShell とCompany Wがテーリングが少なかっ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



# Marvel X 配管

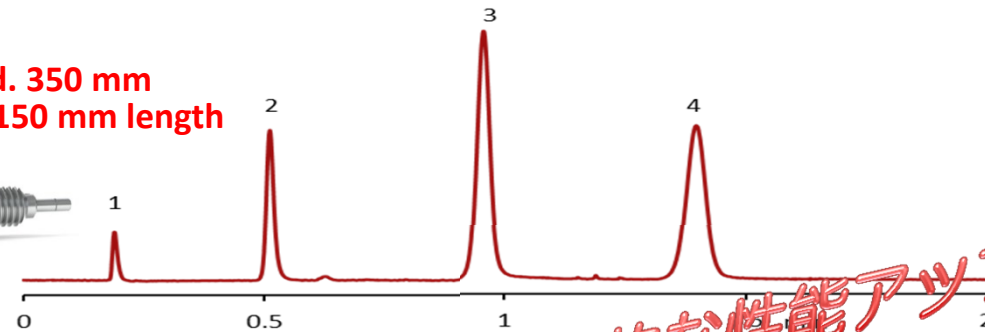
## 配管 (SUS)

インジェクター→カラム : SUS, 0.1 mm i.d., 300 mm length  
 カラム→検出器 : PeekSil, 0.1 mm i.d., 200 mm length



## 配管 (Marvel X)

インジェクター→カラム : Marvel X, 75 μm i.d. 350 mm length  
 カラム→検出器 : Marvel X, 75 μm i.d. 150 mm length



驚異的な性能アップ

## 分離条件

カラム : SunShell C8, 2.6 μm, 30 x 2.1 mm

移動相 : アセトニトリル/水=60/40

流速 : 0.30 mL/min

温度 : 室温

検出 : UV@250 nm

注入量 : 0.4 μL

試料 : 1=ウラシル

2=安息香酸エチル

3=アセナフテン

4=ブチルベンゼン

UHPLC装置 : X-LC (JASCO)

## SunShell C8 2.6 μm, 30 x 2.1 mm

	Peak No.	SUS	Marvel X	比較結果
段数	1	473	1405	197% 上昇
	2	2395	5245	119% 上昇
	3	4377	6030	39% 上昇
	4	4991	5536	11% 上昇
テーリング ファクター	1	1.225	1.037	83% 減少
	2	1.395	1.235	41% 減少
	3	1.266	1.062	77% 減少
	4	1.118	1.028	76% 減少



# 新製品 プライスダウン キャンペーン

## 30% OFF

期間: 2016/9/12~2017/2/28

対象カラム:

SunShell C30 2.6  $\mu\text{m}$ , 内径2.1 mm, 3.0 mm

SunShell C18 2  $\mu\text{m}$ , 内径2.1 mm

### New Products!!

#### SunShell C30

for Lipid-soluble compounds and Isomers

Separation factor: 1.042 35 °C  
 Separation factor: 1.065 30 °C  
 Separation factor: 1.094 25 °C  
 Separation factor: 1.130 20 °C  
 Separation factor: 1.167 15 °C

Column: SunShell C30 2.6  $\mu\text{m}$   
 100 x 2.1 mm  
 Mobile phase: Methanol/water = 96/4  
 Flow rate: 0.35 mL/min  
 Temperature: 15 ~ 35 °C  
 Detection: UV250 nm

Sample:  
 1 = Vitamin K1 (trans)  
 2 = Vitamin K1 (cis)

Pore size: 9 nm  
 Surface area: 120 m<sup>2</sup>/g  
 Carbon loading: 6.5% (C18)

Mobile phase:  
 Acetonitrile/water=70/30  
 Flow rate: 0.4 mL/min  
 Pressure: 64 MPa  
 Temperature: 25 °C

Sample: 1 = Uracil  
 2 = Ethylbenzoate  
 3 = Acenaphthene  
 4 = Butylbenzene

#### SunShell C18, 2 $\mu\text{m}$

2.1 x 150 mm

Amazing!! 307,000 N/m

UHPLC Column  
 SunShell C18  
2 $\mu\text{m}$





メモ



開発・製造・発売元

---

## 株式会社 クロマニックテクノロジーズ

代表取締役社長 長江 徳和

552-0001 大阪府大阪市港区波除6-3-1

TEL: 06-6581-0885 FAX: 06-6581-0890

E-mail: [info@chromanik.co.jp](mailto:info@chromanik.co.jp) URL: <http://chromanik.co.jp>