



JAIS 2016

今までと何が違ってどう良いの？
これで解決！コアシェルカラムの
基礎の基礎

クロマニックテクノロジーズ

塚本友康 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

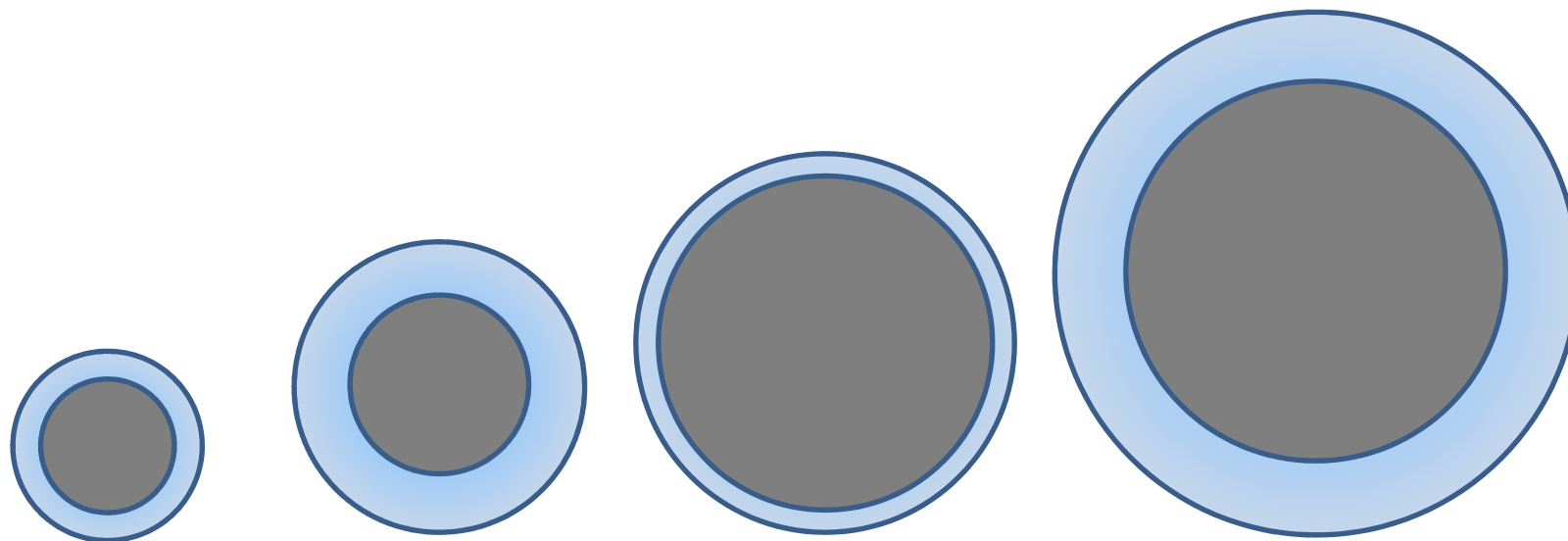
SunShell (クロマニクテクノロジーズ)	: C18, PFP, C8, RP-Aqua, C4-30, C8-30
Halo (AMT)	: C18, PFP, CN, PentaHILIC, BioClass
Capcell Core (資生堂)	: C18, PFP, AQ, PC
Kinetex (フェノメネックス)	: C18, PFP, C8, XB-C18, HILIC, EVOC18
Kinetex Aeris (フェノメネックス)	: C18, C8, C4 (タンパクペプチド分析用)
Ascentis Express (シグマアルドリッチ)	: C18, F5(PFP), 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)





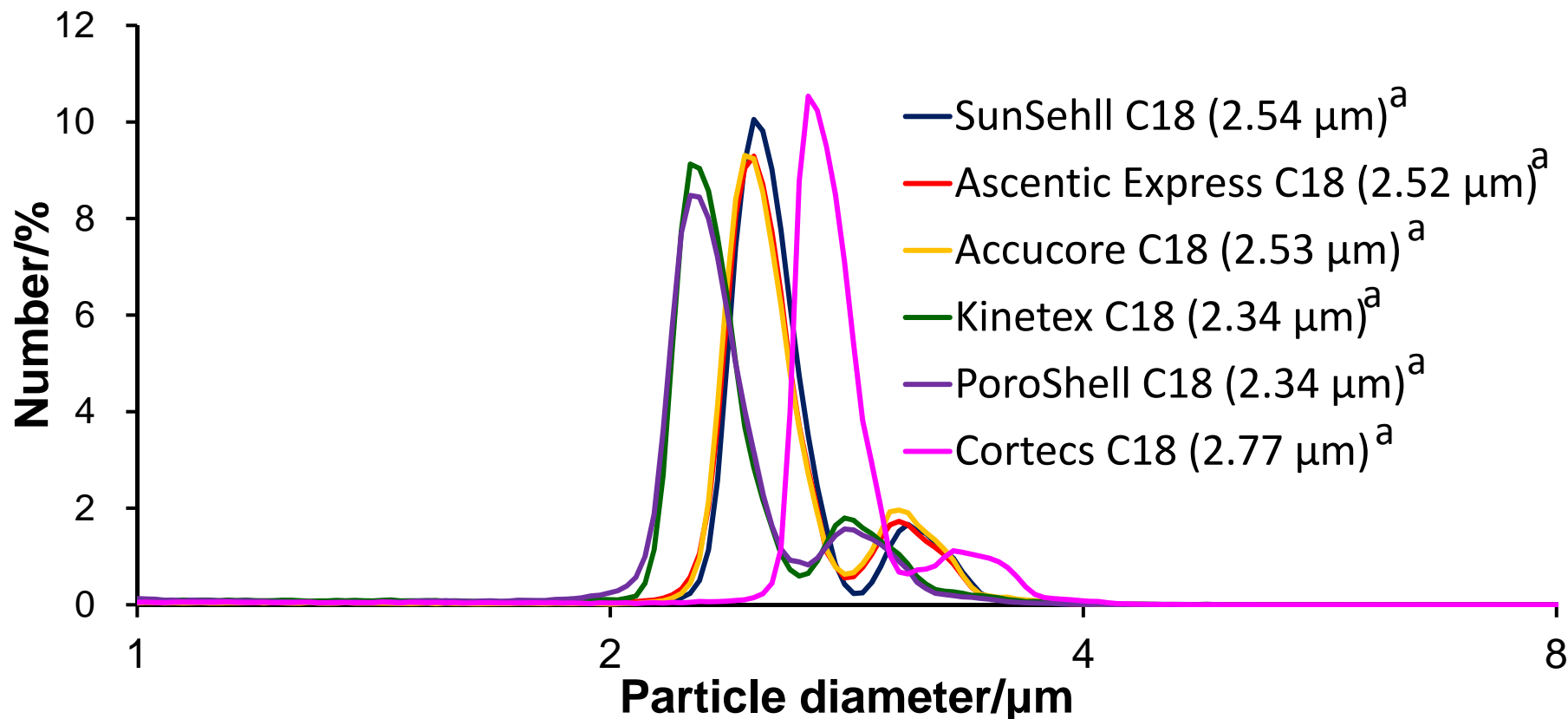
市販されているコアシェル粒子



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%



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。

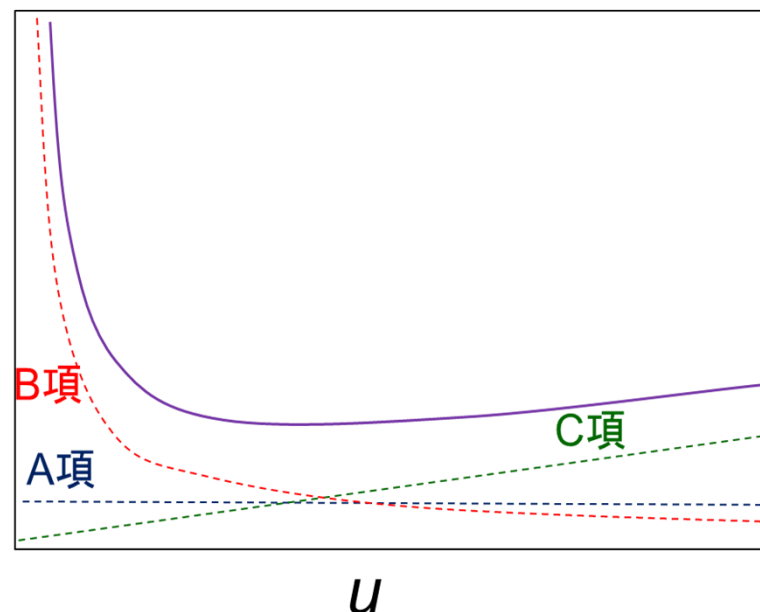


Van Deemterの式

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

粒子径を d_p

アナライトの移動相中の拡散係数を D_m



A項 : 多流路拡散、渦巻き拡散

B項 : カラム軸方向への拡散

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.



コアシェル構造の利点

Van Deemter の式のA項, B項およびC項が小さくなる

コアシェル粒子は粒度分布が狭く、密な充填が比較的簡単にできる。この密な充填がA項を小さくする

高い理論段数が得られる
カラムの性能が高い

コアが溶質の拡散を妨害し、溶質のカラム軸方向への拡散が抑えられるため、B項が小さくなる

流速が遅い条件でも理論段数の低下が少ない

多孔質層が薄く、多孔質内での溶質の拡散距離（移動距離）が短くなるため、C項が小さくなる

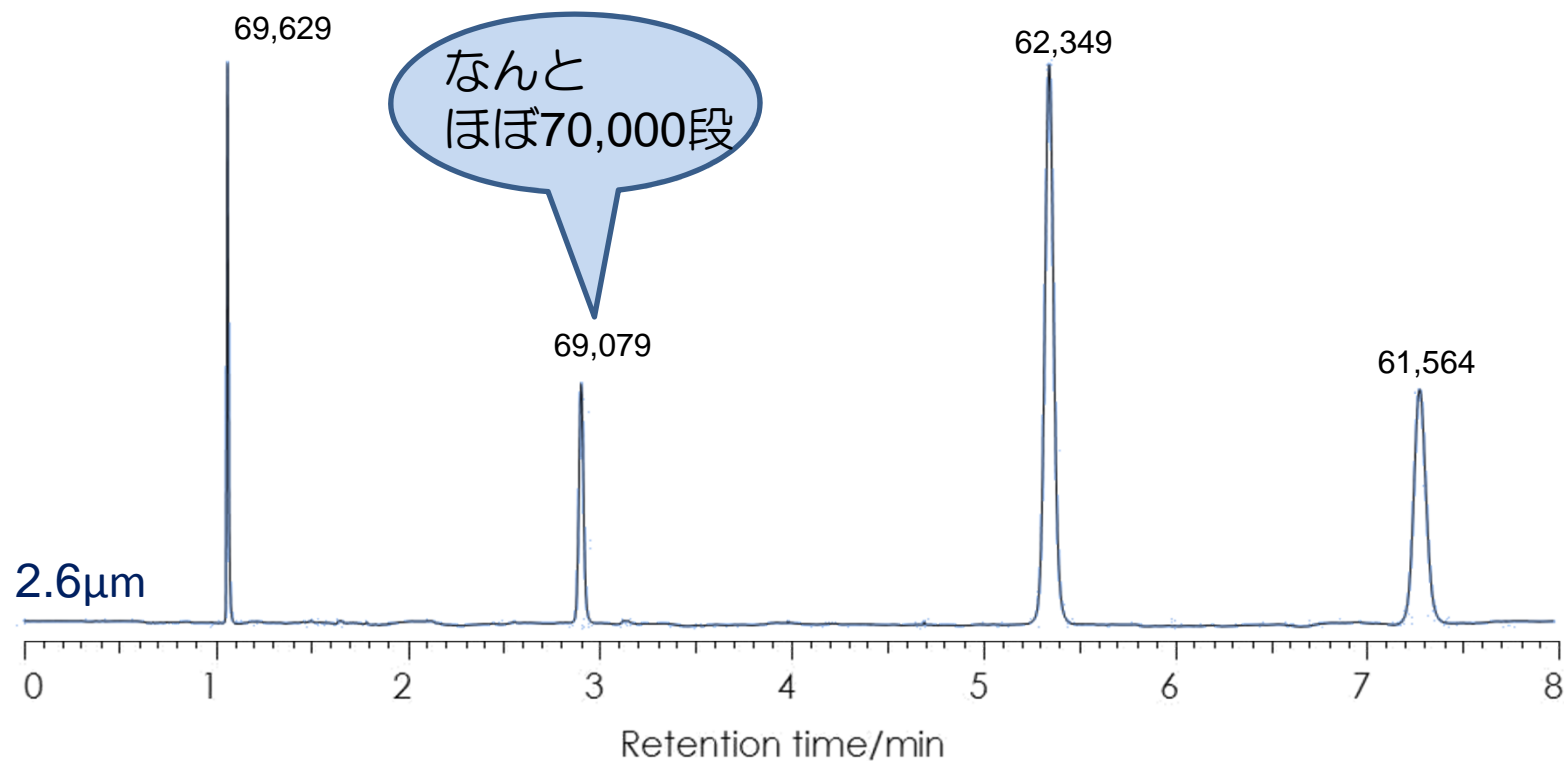
流速が速い条件でも理論段数の低下が少ない

カラムにしたときは・・・

同じ表面処理をしていれば全多孔性シリカカラムと同じ選択性を示す



コアシェルカラムをUHPLCで使う



Column: SunShell C18, 2.6 μ m, 250 x 4.6 mm

Mobile phase: CH₃CN/H₂O= 70/30

Flow rate: 1.8 mL/min,

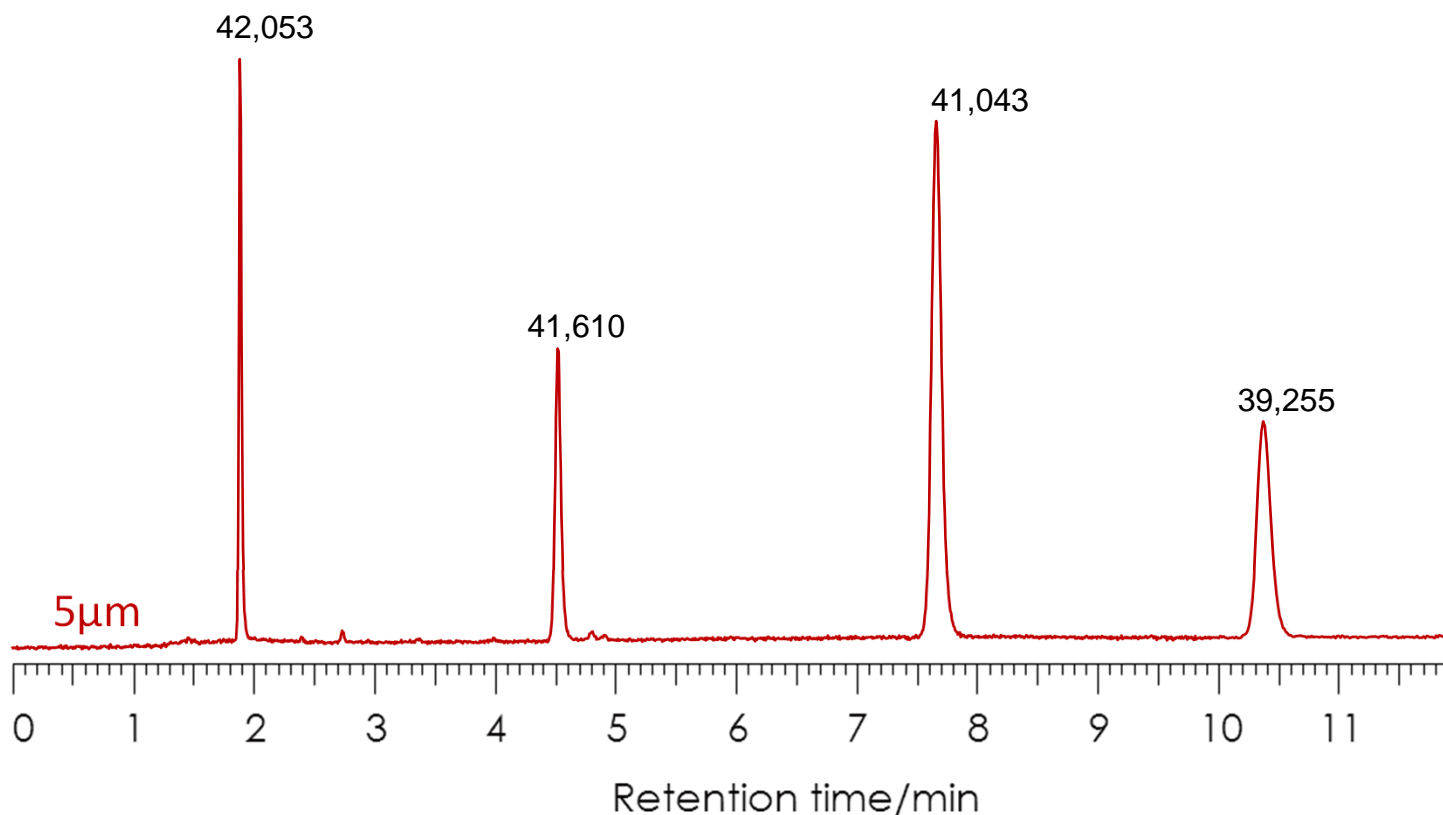
Temperature: 25 °C

Pressure: 45 MPa for 2.6 μ m Detection: UV@250 nm

Sample: 1 = Uracil, 2 = Toluene, 3 = Acenaphthene, 4 = Butylbenzene, HPLC: Jasco X-LC



SunShell 2.6 μm , 5 μm 4.6x250mmカラムの性能



Column: SunShell C18, 5 μm 250 x 4.6 mm

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

Flow rate: 1 mL/min,

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

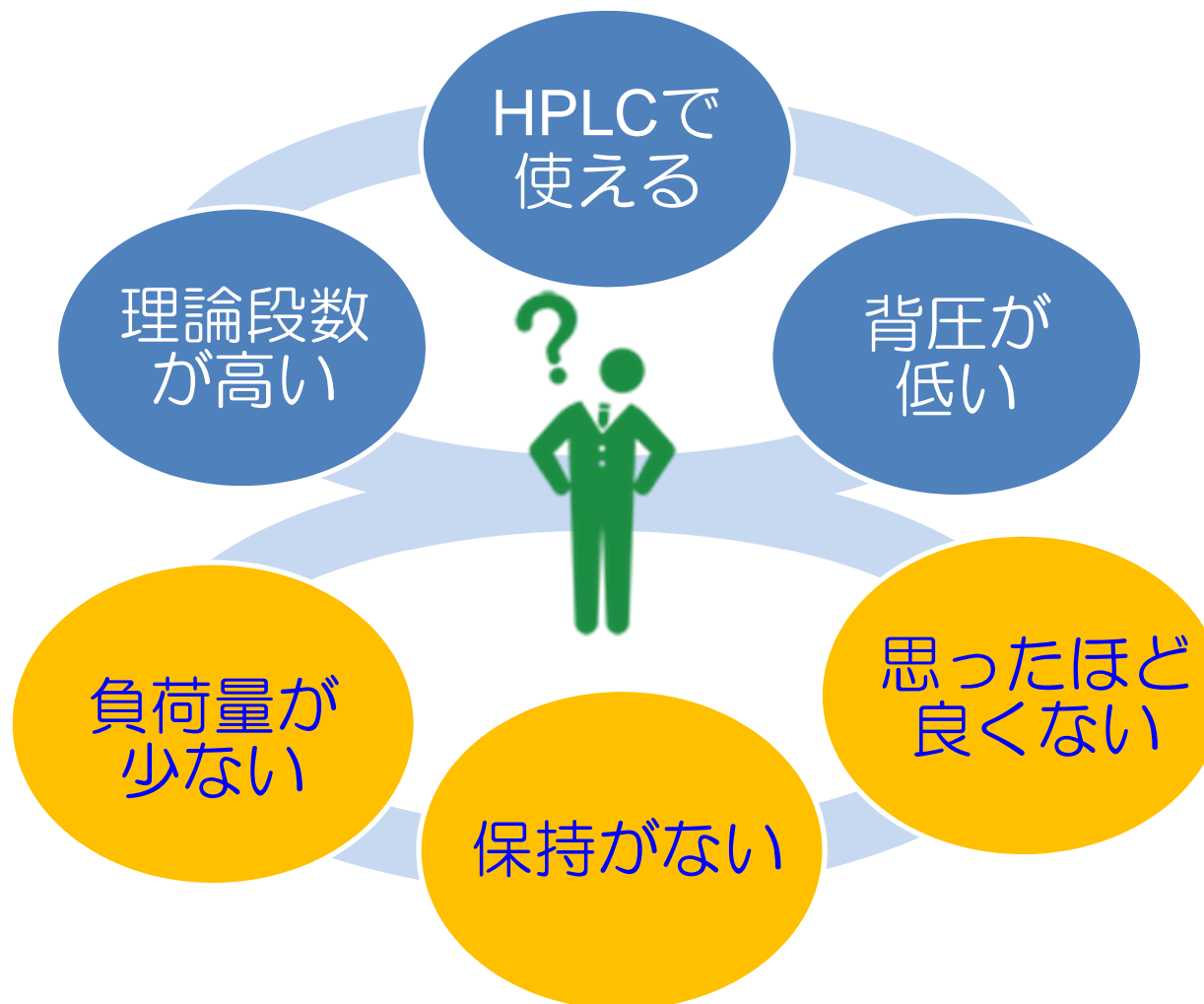
Pressure: 6.7 MPa for 5 μm Detection: UV@250 nm

Sample: 1 = Uracil, 2 = Toluene, 3 = Acenaphthene, 4 = Butylbenzene, HPLC: Hitachi LaChrom ELITE





コアシェルカラムってどうなの？





◇ 全多孔性シリカカラムと比べると

コアシェルカラムは圧力が低い

◇ 全多孔性シリカカラムと比べると

コアシェルカラムは保持が短い

コアシェルカラムは負荷量が少ない

◇ HPLCでも使えるって聞いたけど

コアシェルカラムを使うコツは?





全多孔性シリカカラムと比べると

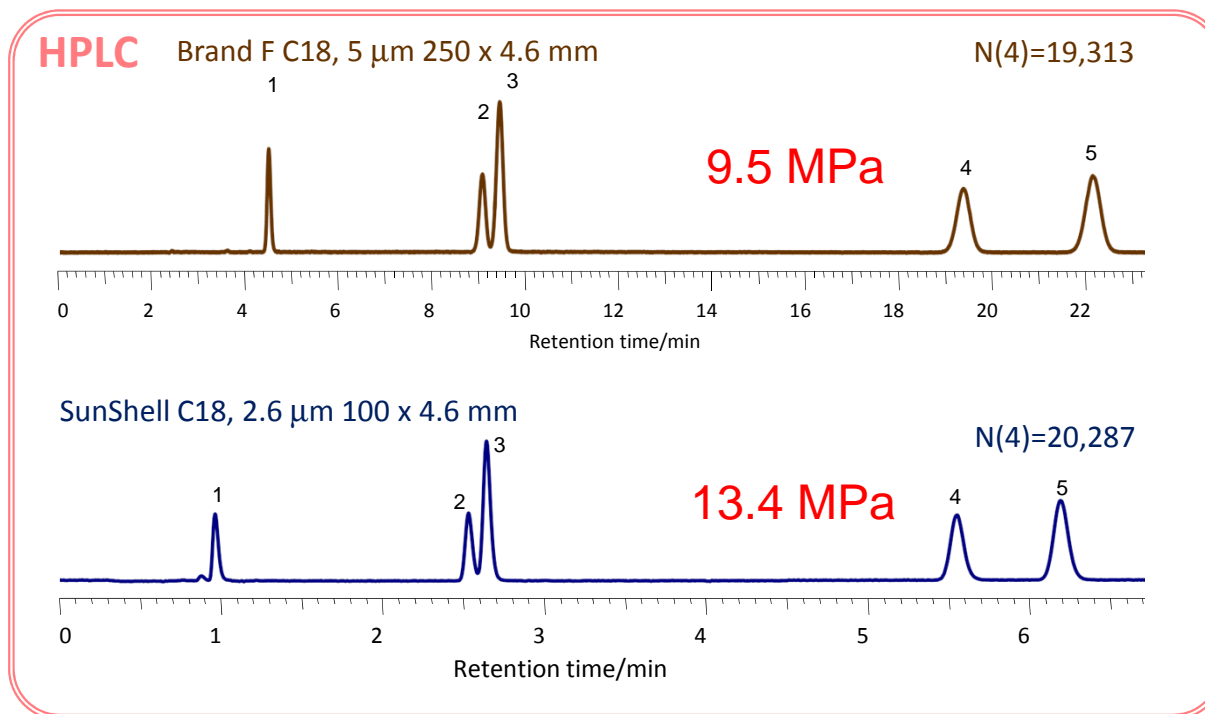
コアシェルカラムは圧力が低い





カラムの背圧

カラムの背圧は粒子径の2乗に反比例



Mobile phase:
CH₃CN/20mM Phosphoric acid = 45/55
Flow rate: 1.0 mL/min,
Temperature: 25 °C
Detection: UV@230 nm
HPLC: Hitachi LaChrom ELITE
(内径0.25mmの配管仕様)

2.6 μm では5 μm の約3.7倍の
圧になる

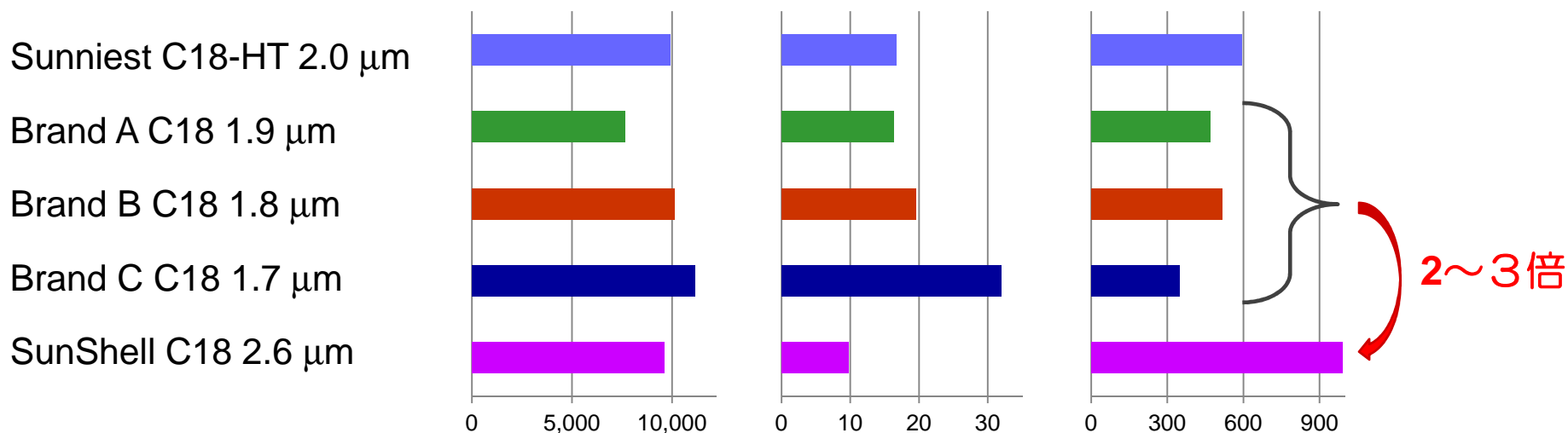
$$9.5 \times 3.7 / 2.5 = 14.1$$

粒子径に準じた背圧



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

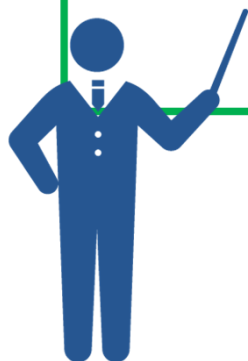


全多孔性シリカカラムと比べると

コアシェルカラムは圧力が低い



圧力は粒子径通りの高さ
だが理論段数は高い





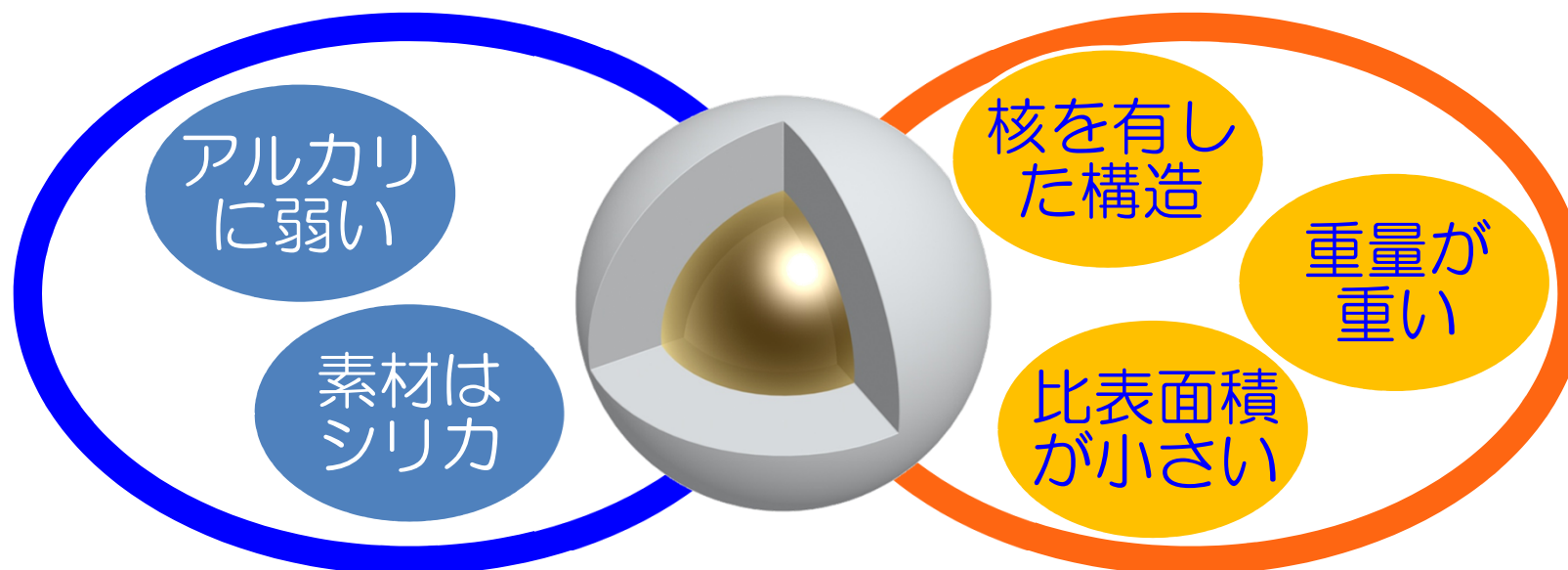
全多孔性シリカカラムと比べると

コアシェルカラムは保持が短い

コアシェルカラムは負荷量が少ない



全多孔性粒子と何が違う？



化学的特徴は全多孔性シリカと同じ

全多孔性シリカカラムで注意すべきこと



コアシェルシリカカラムで注意すべきこと



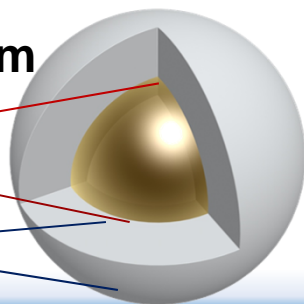
全多孔性シリカとコアシェル型シリカ 2.6 μ mと5 μ mの標準試料の保持比較

	全多孔性シリカ Sunniest C18, 5 mm		コアシェル型シリカ SunShell C18, 2.6 mm		コアシェル型シリカ SunShell C18, 5 mm	
比表面積	340 m ² /g		150 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	1.70	0	1.34	0	1.30	0
2) カフェイン	1.90	0.12	1.46	0.09	1.41	0.08
3) フェノール	2.17	0.28	1.65	0.23	1.57	0.21
4) ブチルベンゼン	13.35	6.85	10.87	7.11	8.93	5.87
5) o-ターフェニル	19.19	10.29	15.49	10.56	12.76	8.82
6) アミルベンゼン	19.96	10.74	16.56	11.36	13.43	9.33
7) トリフェニレン	24.35	13.32	21.95	15.38	16.76	11.89
相対値アミルベンゼン	100%	100%	83%	106%	67%	87%

コアシェル型シリカ 5 μ m

コア径 : 3.4 μ m

シェル層厚 : 0.6 μ m



移動相: Methanol/water(75:25)

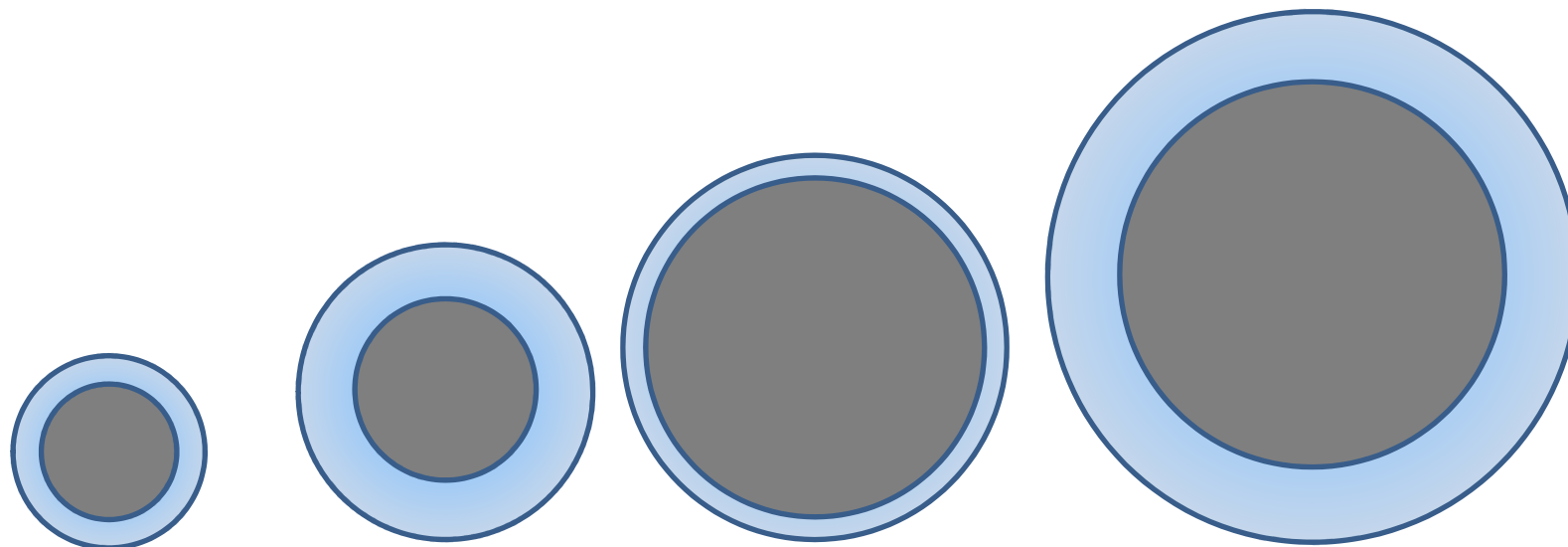
温度: 40°C

カラム: 150 x 4.6 mm

流速: 1.0 mL/min



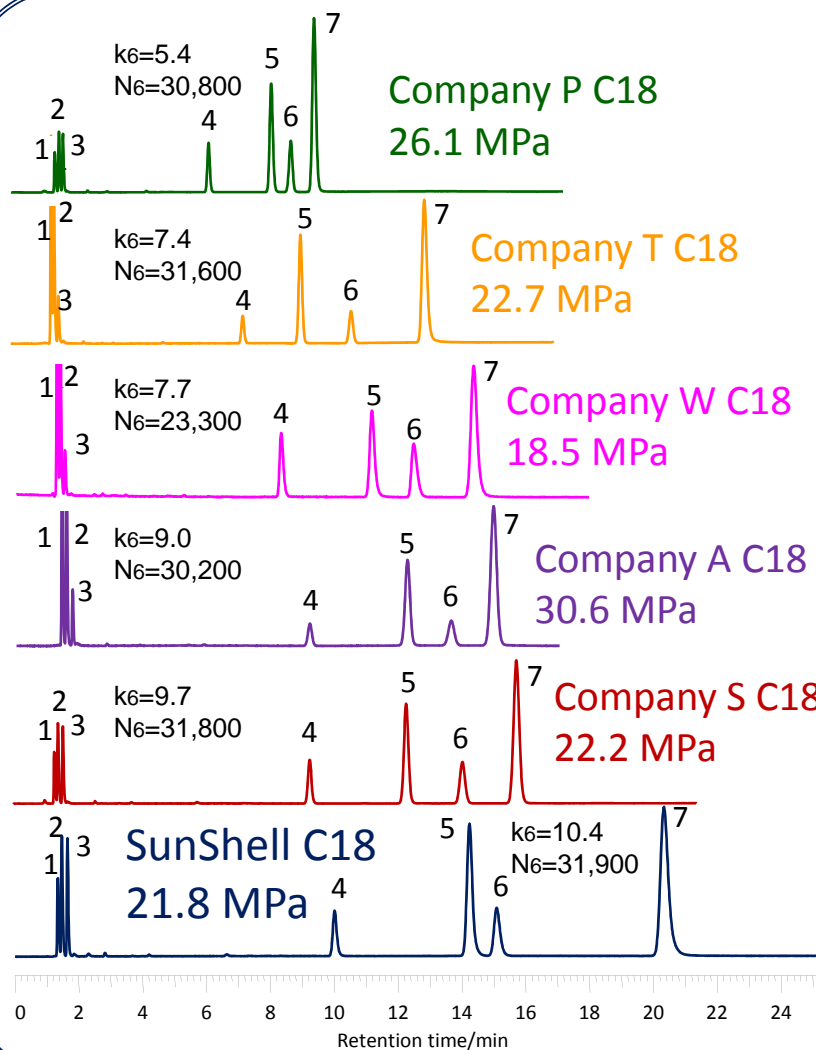
市販されているコアシェル粒子



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%



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 °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



物性値

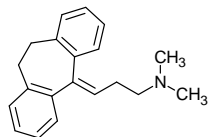
	炭素含有量 Carbon loading (%)	比表面積 Specific surface area ^a (m ² /g)	細孔容積 Pore volume ^a (mL)	細孔径 Pore diameter ^a (nm)
SunShell C18	7.3	125	0.261	8.34
Company S C18	8.0	133	0.278	8.20
Company A C18	8.5	135	0.414	12.3
Company T C18	8.8	130	0.273	8.39
Company W C18	7.3	113	0.264	9.32
Company P C18	4.9	102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

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。

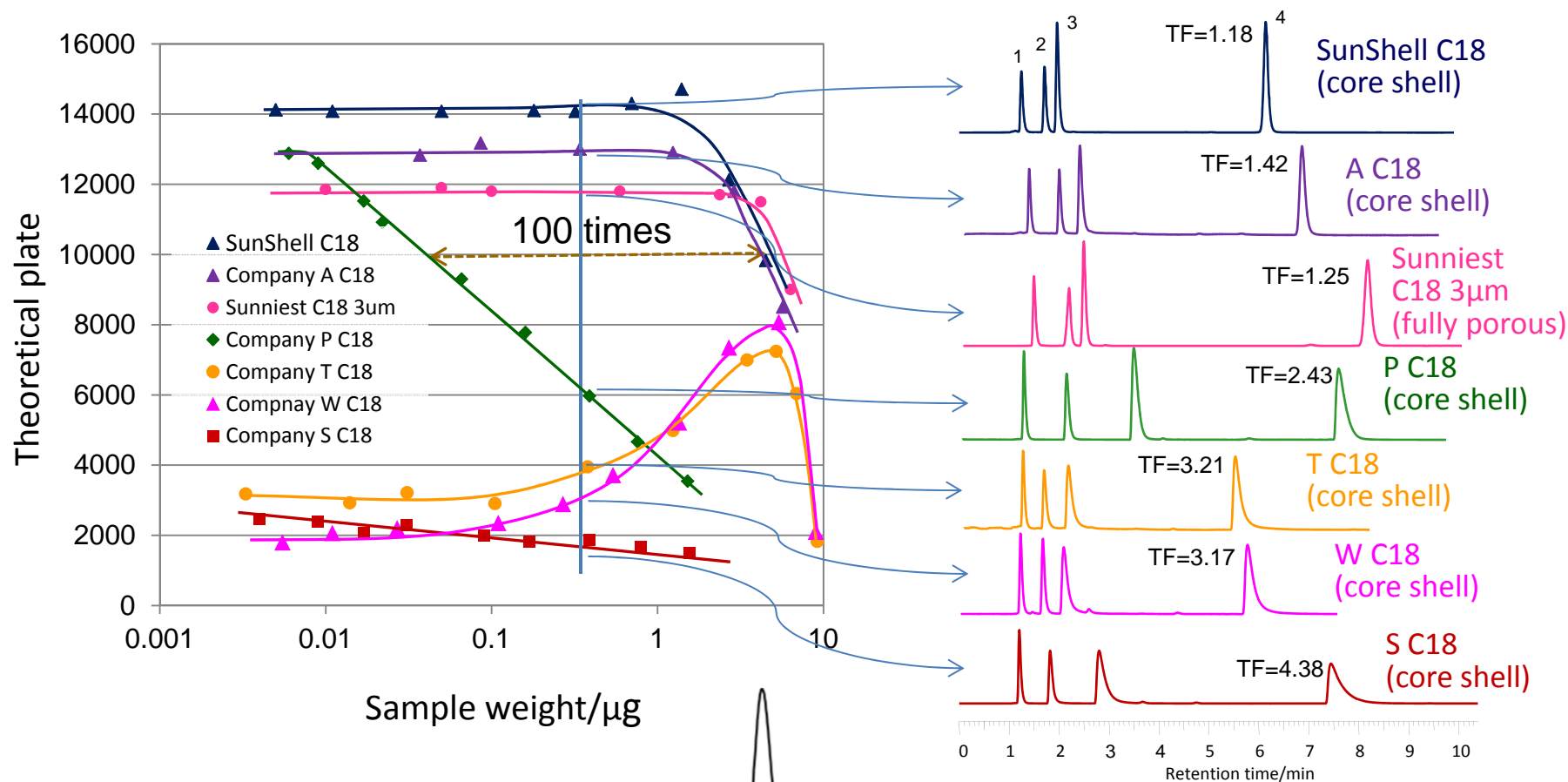
*全ての測定はクロマニックテクノロジーズ社内で行いました。



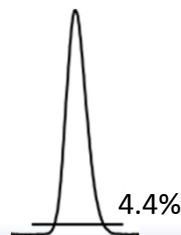
アミトリプチリンの負荷量比較 I



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



全多孔性シリカカラムと比べると

コアシェルカラムは保持が短い



保持時間は短いが保持指数はほぼ同じ
負荷量は少ないがその差は20%



コアシェルカラムは保持時間・負荷量共に
メーカー間の差が大きい



HPLCでも使えるって言うけど

コアシェルカラムをうまく使うコツは？





コアシェルカラムをHPLCで使う

 でも、ちょっとその前に..... 

全多孔性シリカカラムと比較して

カラム内拡散が小さい

物質移動速度が速い

比表面積が20%小さい

HPLCでの使用で必要なこと

応答速度の高速化

低拡散化

低試料負荷



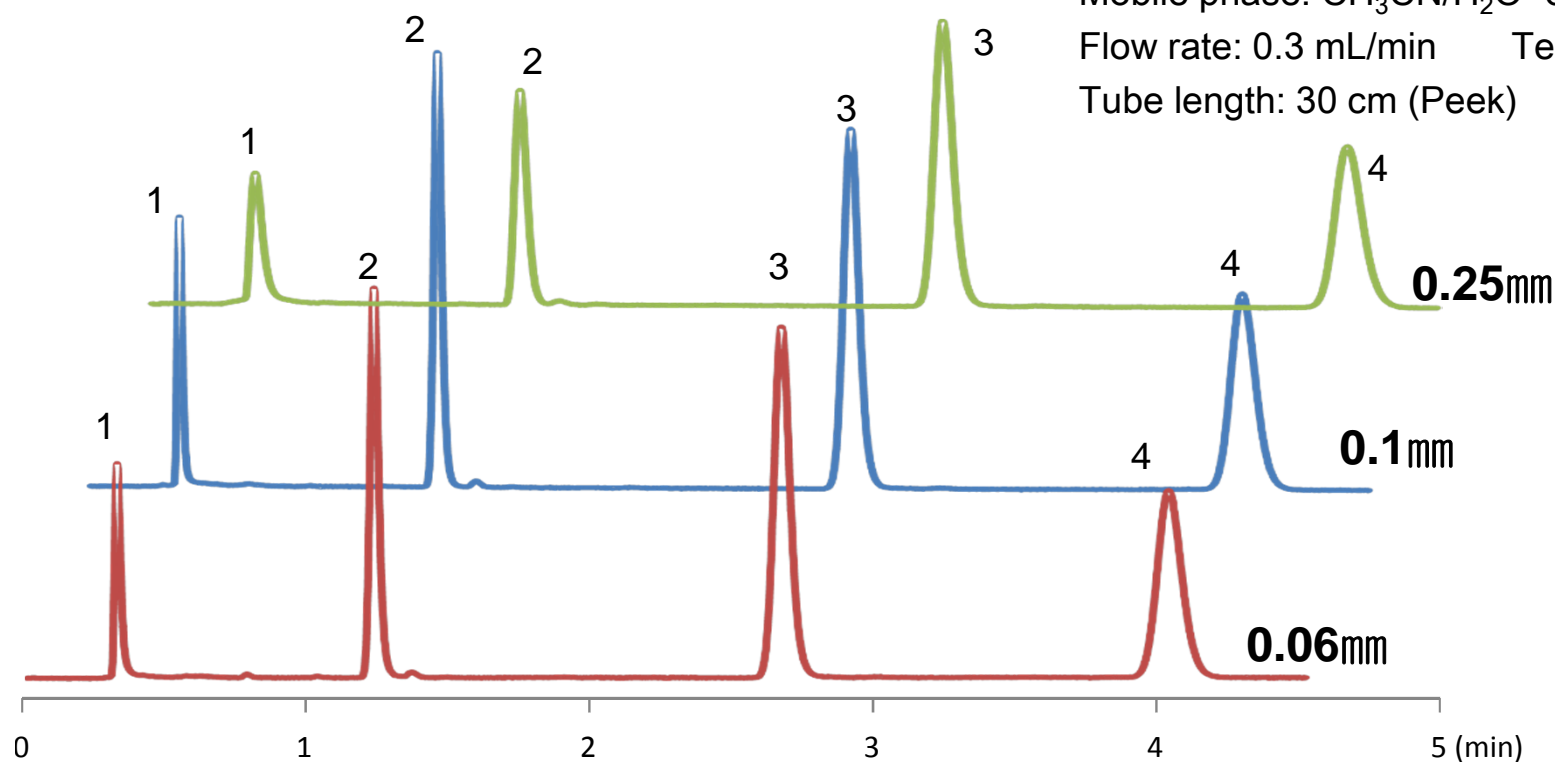
カラムー検出器間における配管の影響

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

Mobile phase: CH₃CN/H₂O=60/40

Flow rate: 0.3 mL/min Temperature: ambient

Tube length: 30 cm (Peek)



理論段数の平均値
(n=3)

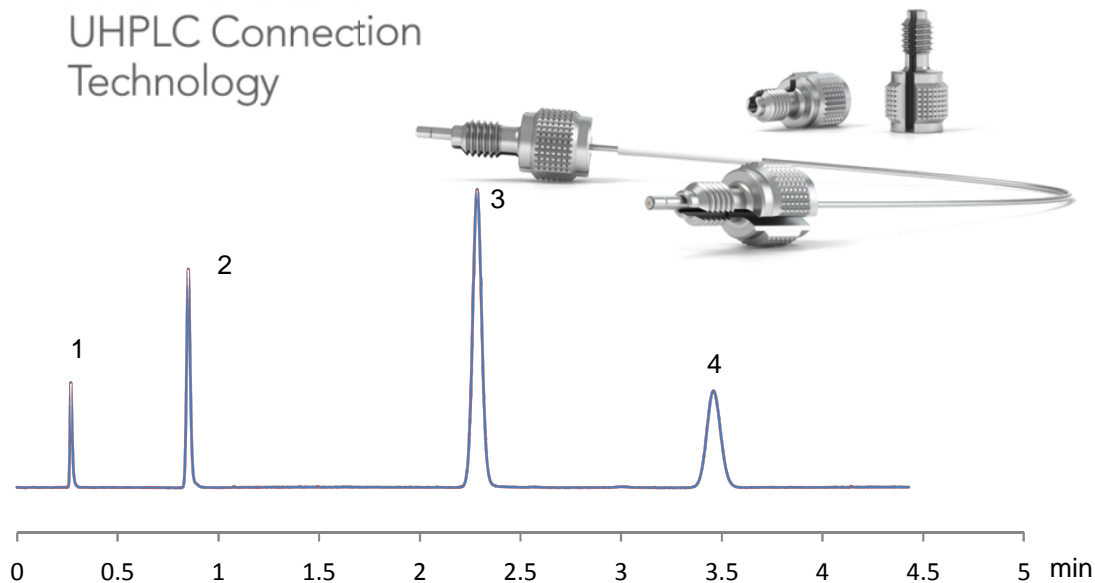
	0.06mm	0.1mm	0.25mm
理論段数(1)	792	785	246
理論段数(2)	7790	7652	3535
理論段数(3)	10704	10345	7998
理論段数(4)	10113	9772	7689



配管の影響 2



耐圧：130MPa
メタルフリー対応



SunShell C18 2.6 μm, 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

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 μm 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 μL

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



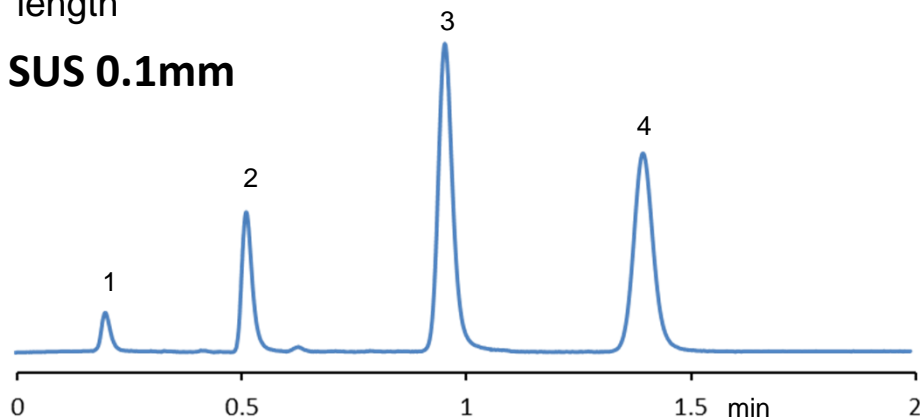
配管の影響 3

Connecting tube

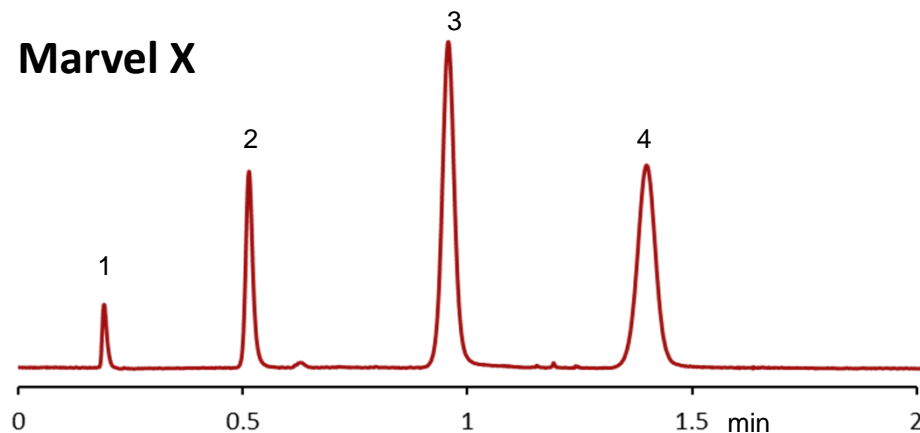
Injector→Column: SUS, 0.1 mm i.d., 300 mm length

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

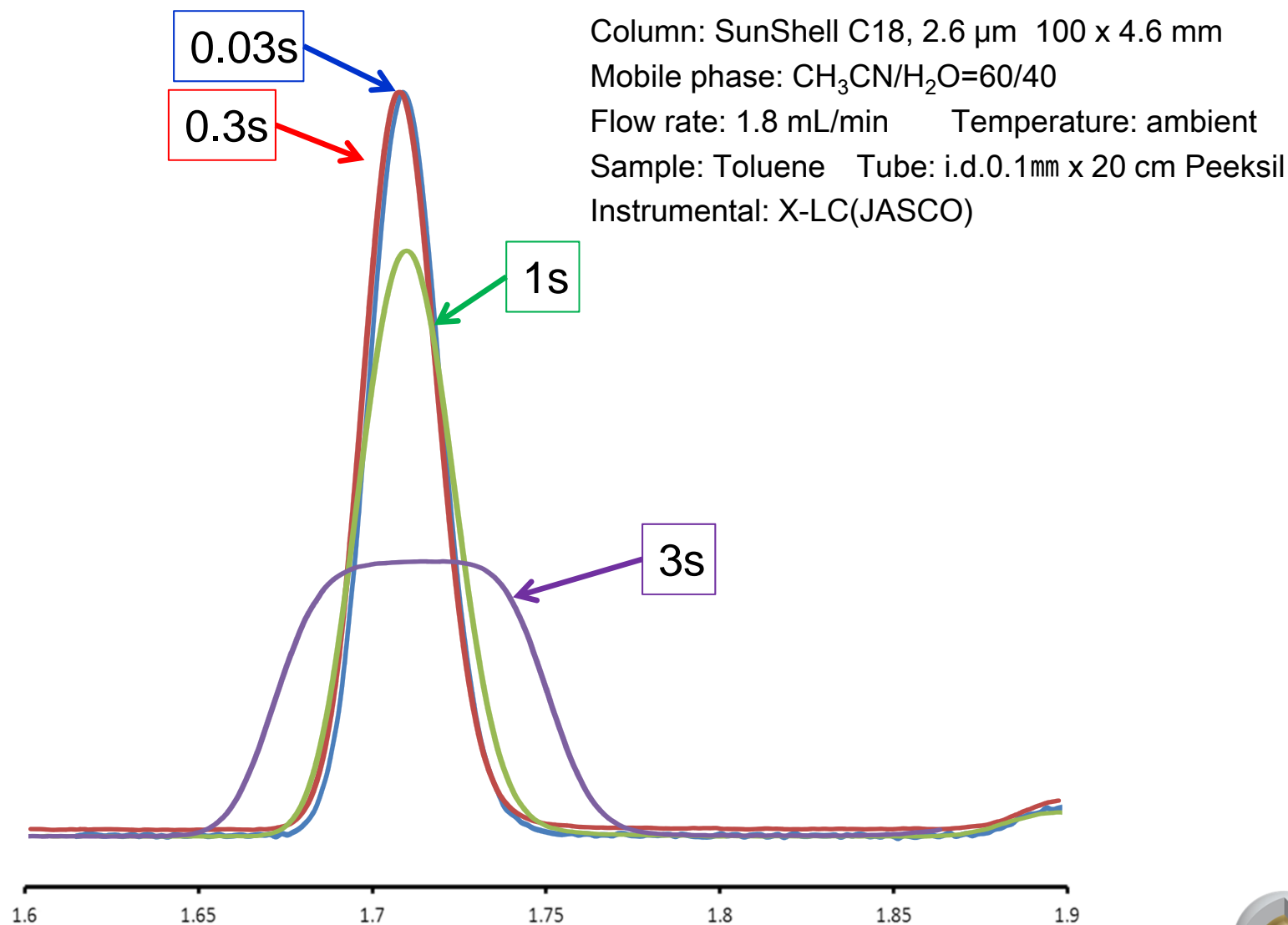
Column: SunShell C8, 2.6 μ m
30 x 2.1 mm
Mobile phase: Acetonitrile/water=60/40
Flow rate: 0.30 mL/min
Temperature: RT
Detection: UV@250 nm
Injection volume: 0.4 μ L
Sample:
1=Uracil
2=Ethylbenzene
3=Acenaphthene
4=Butylbenzene

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

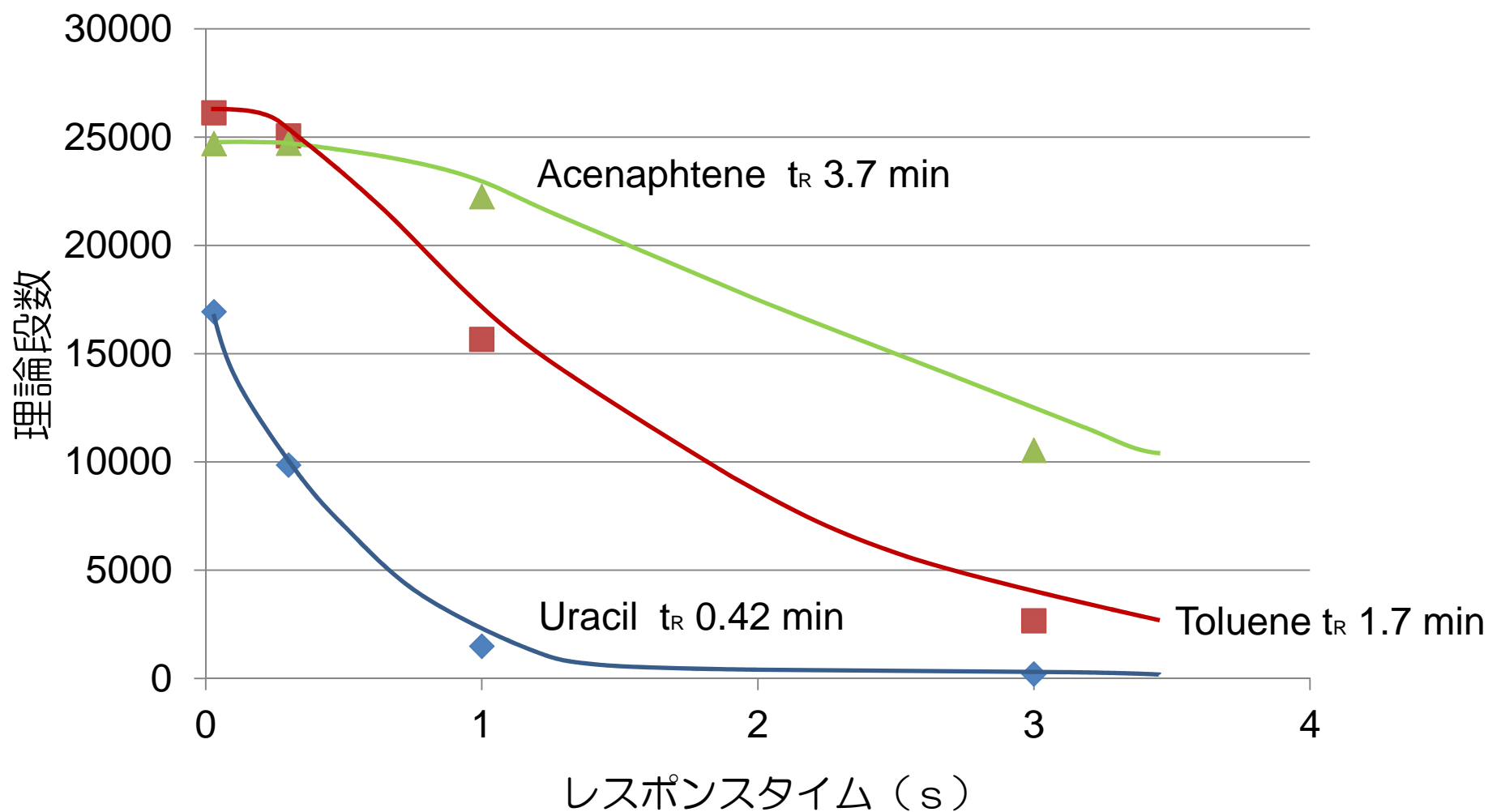


検出器レスポンスタイムの影響



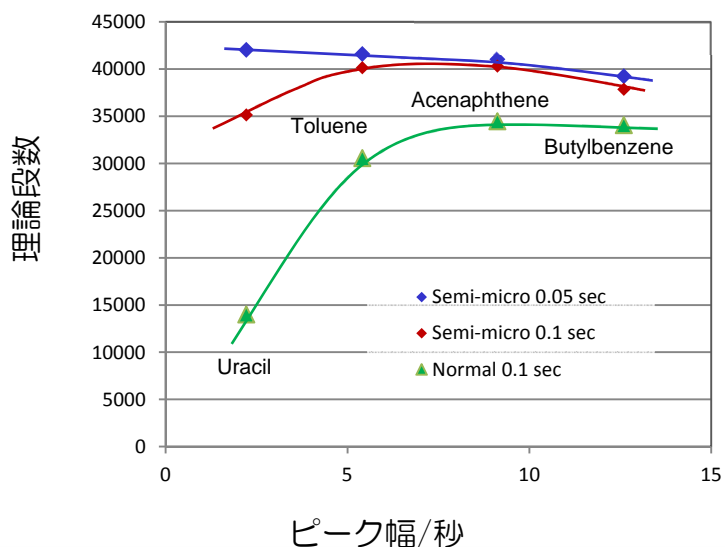
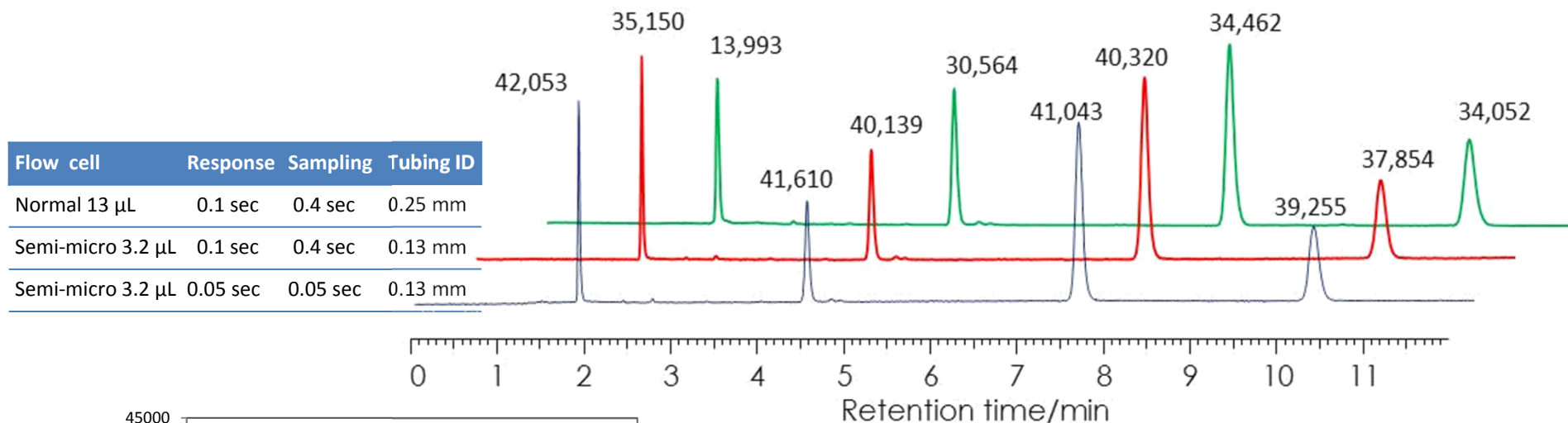


検出器レスポンスタイムの影響





通常仕様とセミマイクロ仕様のHPLCの比較



Column: SunShell C18, 5 μ m 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



HPLCでも使えるって言うけど

コアシェルカラムをうまく使うコツは？



装置のデッドボリウムとなるセル、
配管に注意
検出器のレスポンスタイム等の確認も





まとめ

- コアシェルカラムは、幅広く粒子、固定相の選択ができるようになってきている
- コアシェルカラムは、特別圧力が低いわけではなく、近い性能を有する全多孔性シリカカラムと比較すると圧力は低い
- コアシェルカラムの保持は、同じ化学修飾をした全多孔性シリカカラムと比較すると、保持時間は短くなるが保持指数は変わらない
- コアシェルカラムのサンプル負荷量は、全多孔性カラムと比較すると20%減少する
- HPLCでコアシェルカラムを用いる場合、配管、検出器のレスポンスタイムに注意が必要である