

コアシェル型充填カラムの特性

○塚本 友康, 長江 徳和
(クロマニックテクノロジーズ)

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 μm の核に厚さ0.5 μm の多孔質層

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 μm の核に厚さ0.5 μm 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sub2 μm 充填剤に匹敵する充填剤 -直径
1.7 μm の核に厚さ0.5 μm 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

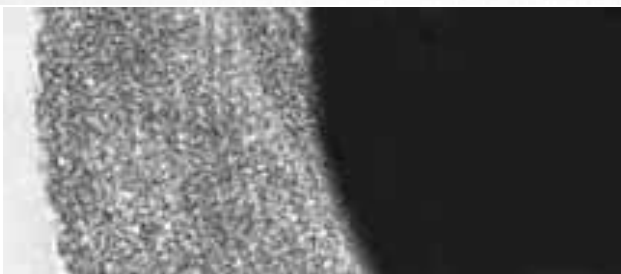
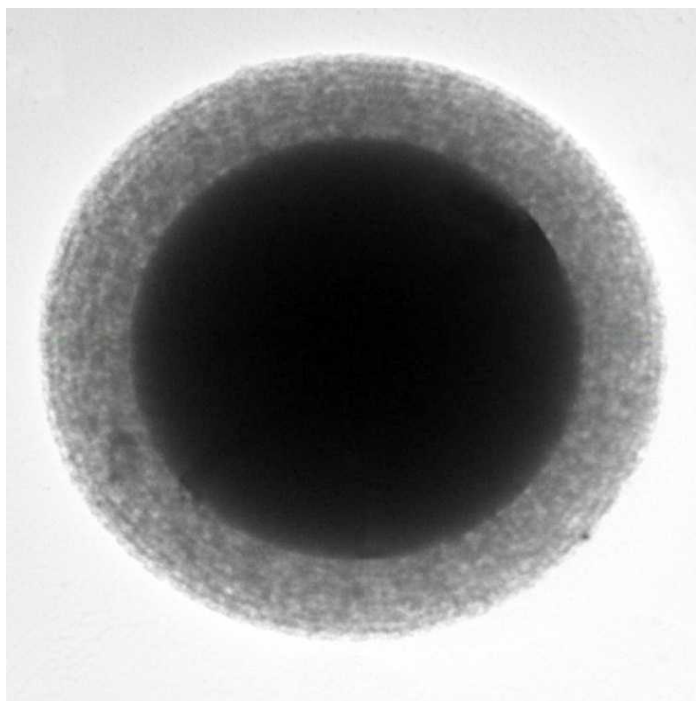


同じ粒子径の全多孔性の粒子に比べ、コアシェル粒子は多孔質層が薄い
ため、溶質の拡散距離が短くなり、速く平衡化するため、段数が高くなる

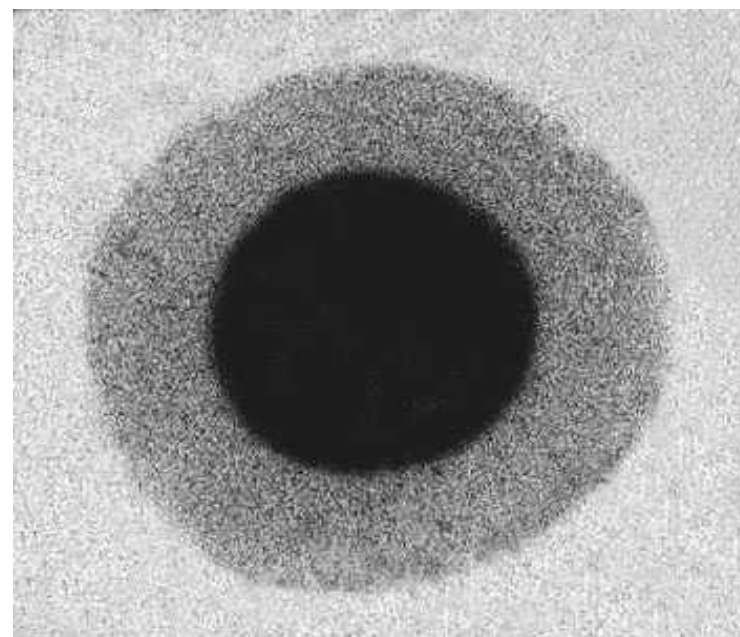


つまり、コアシェルは3 μm 粒子の圧力と同等であるにもかかわらず、サブ2 μm の性能を発揮する

二種類のコアシェル構造のシリカ粒子

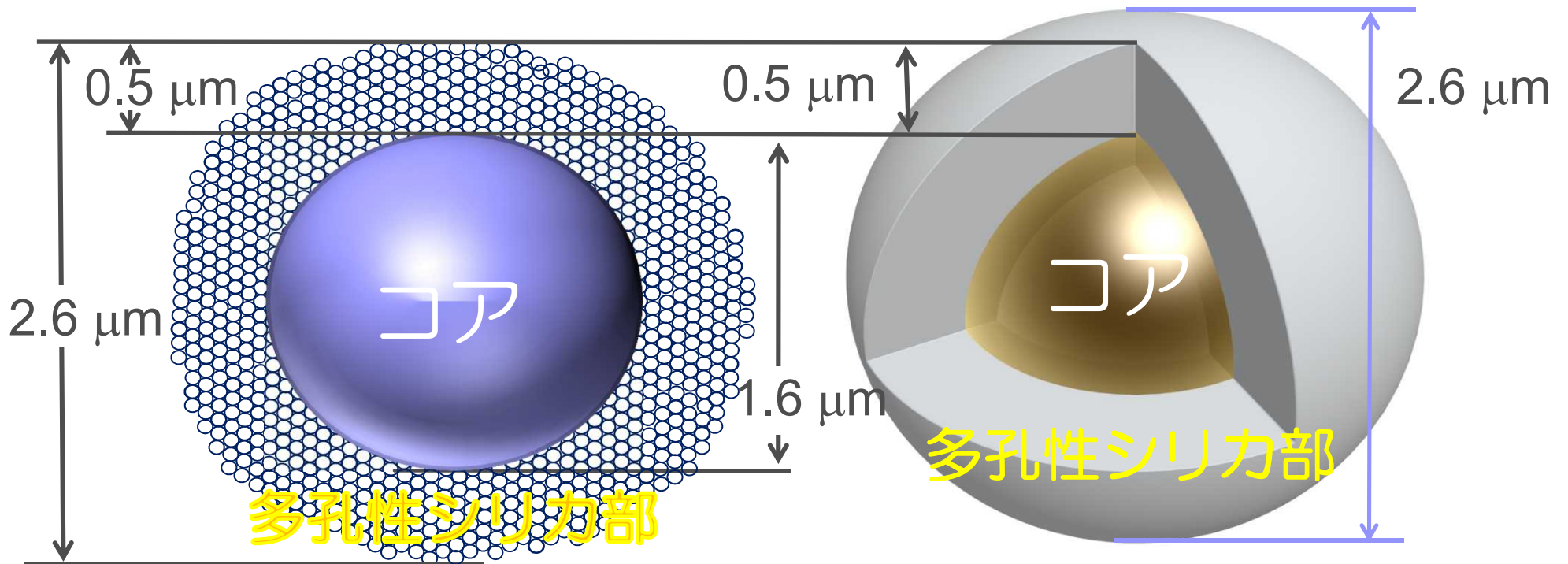


マルチレイヤー（多層）多孔質層構造



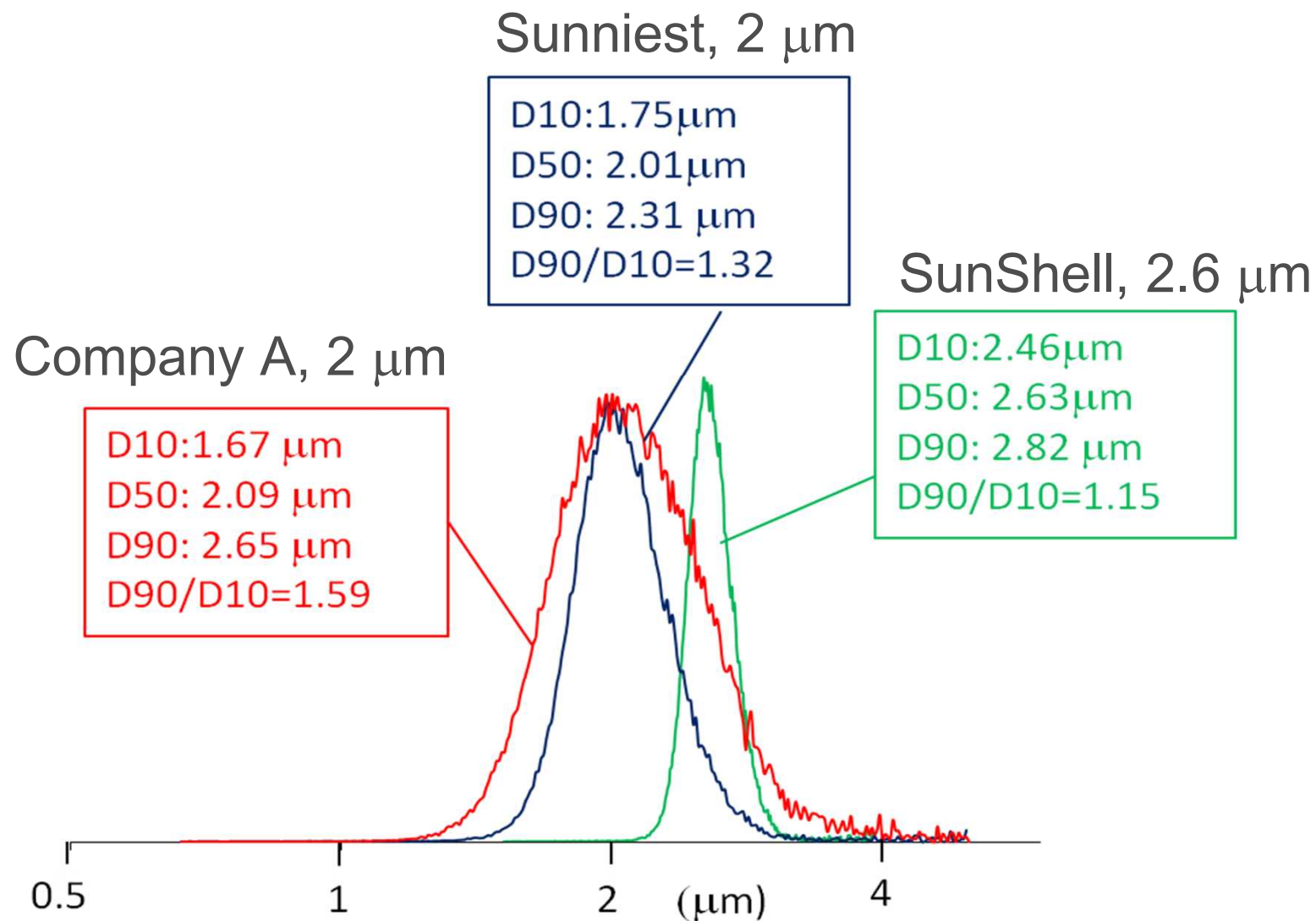
モノレイヤー（単層）多孔質構造

SunShellシリカのコアシェル構造の概略図

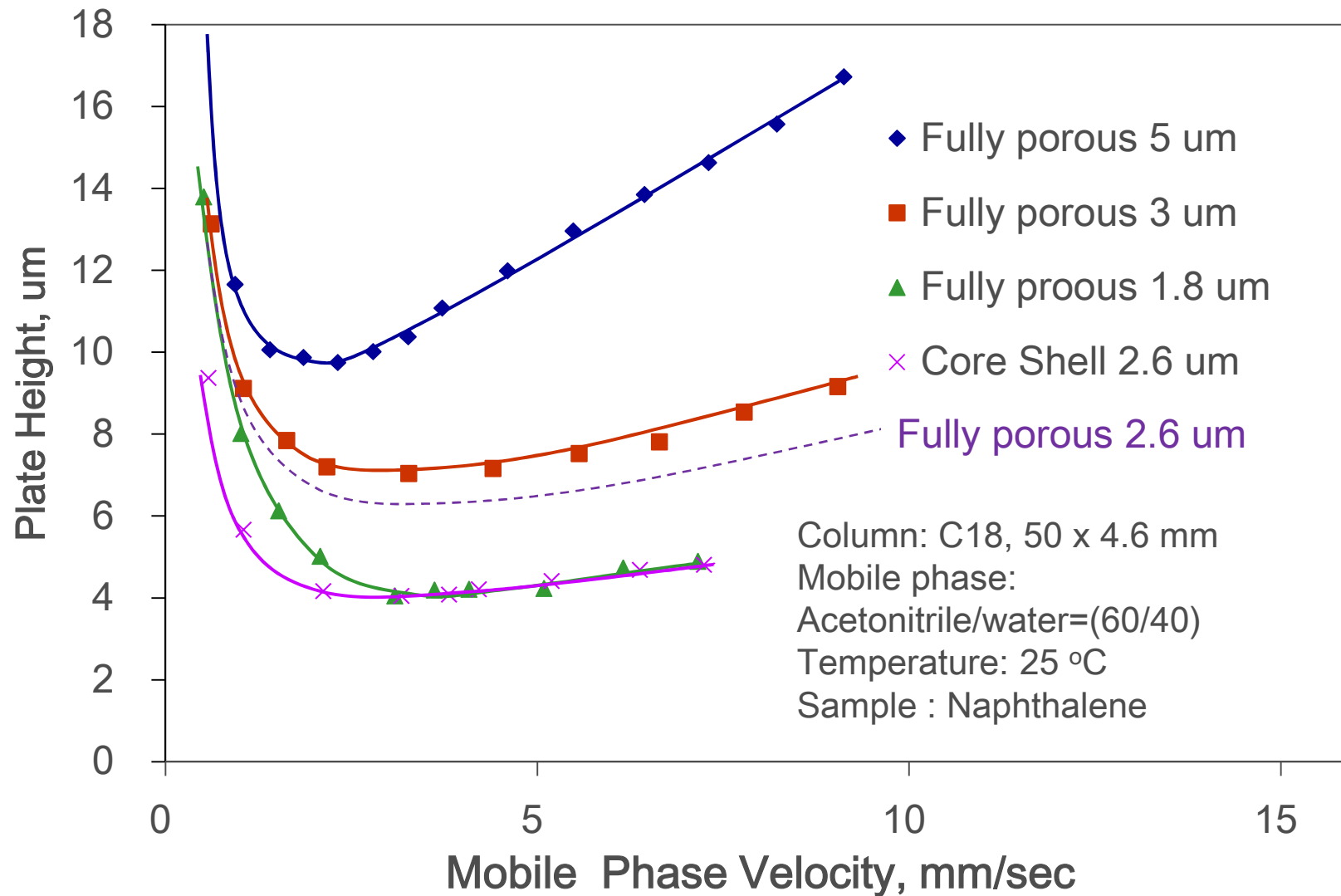


粒子径：2.6 μm，コア径：1.6 μm，多孔質層の厚さ：0.5 μm
 細孔容積：0.30 mL/g，比表面積：150 m²/g，細孔径：9 nm
 多孔性シリカの体積の割合：77%

粒度分布の比較



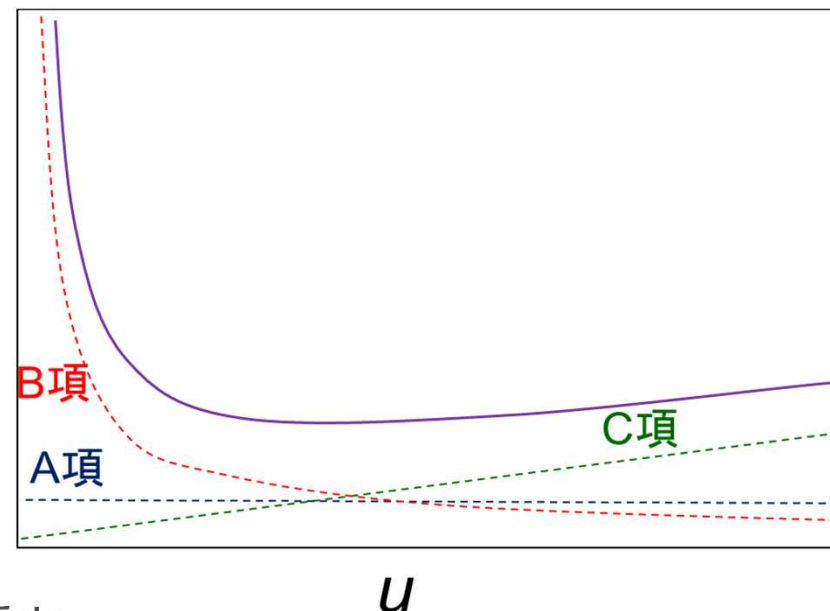
全多孔性とコアシェル型の理論段高さの比較



Van Deemterの式

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

H

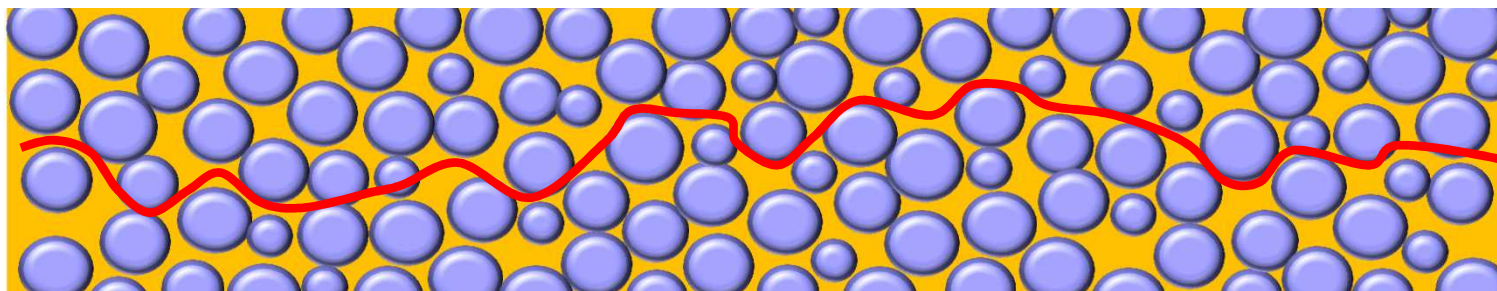


- A項 : 多流路拡散、渦巻き拡散 : 粒径を d_p
- B項 : カラム軸方向への拡散、アナライトの移動相中の拡散係数を D_m
- C項 : 物質移動の項 : 固定相-移動相での物質移動、粒子内での拡散による物質移動に依存

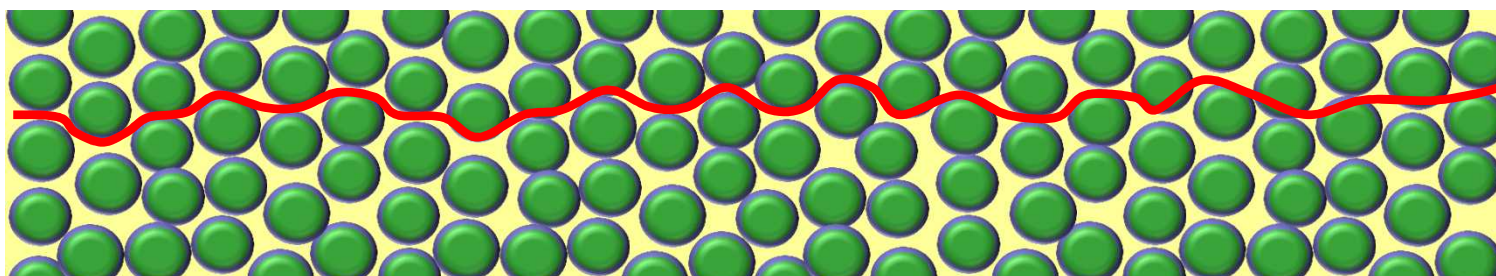
1. F. D. Antia and C. Horvath, *J. Chromatogr.*, 435 (1988) 1-15.

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）

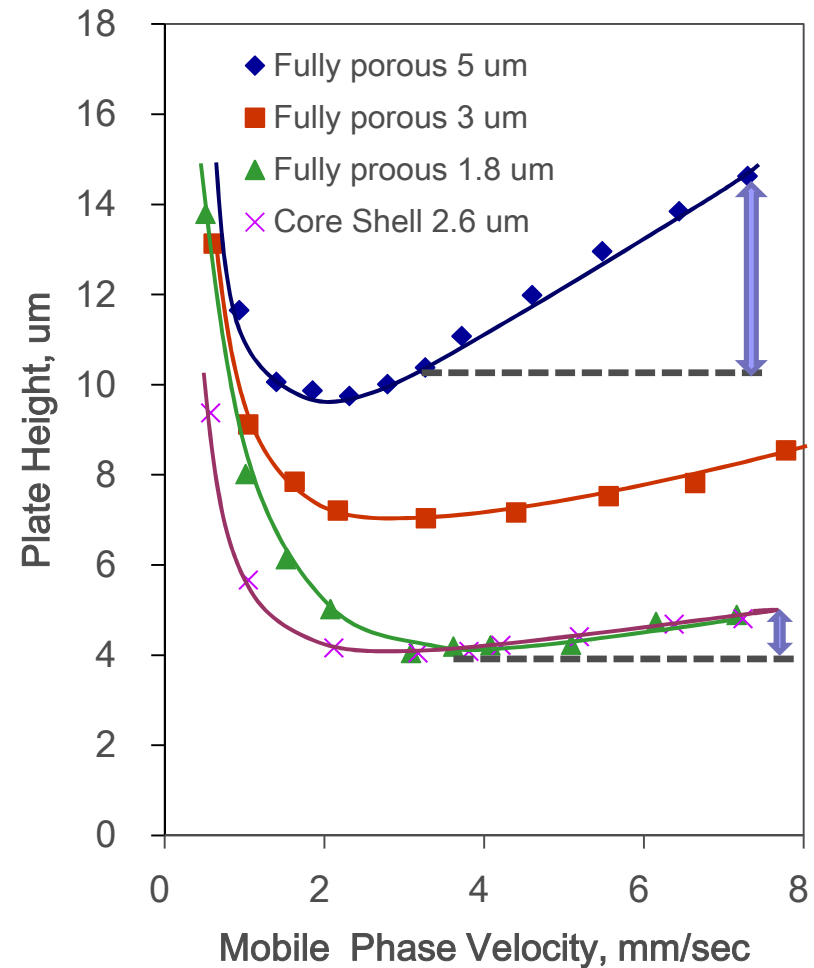
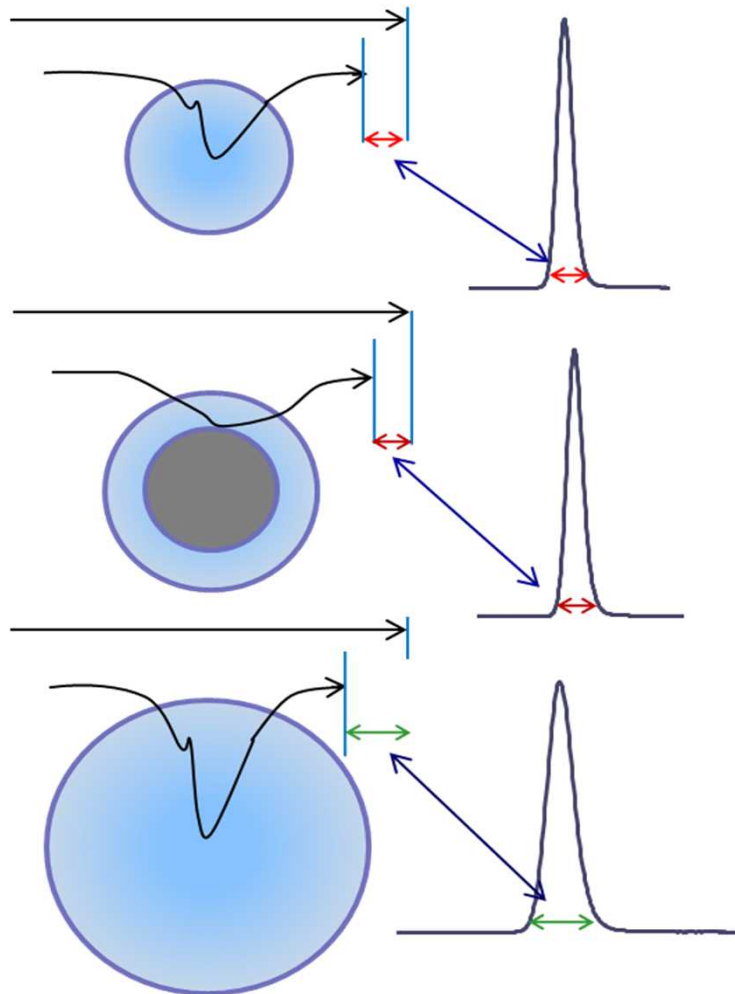


粒度分布の狭充填剤（コアシェルシリカ）

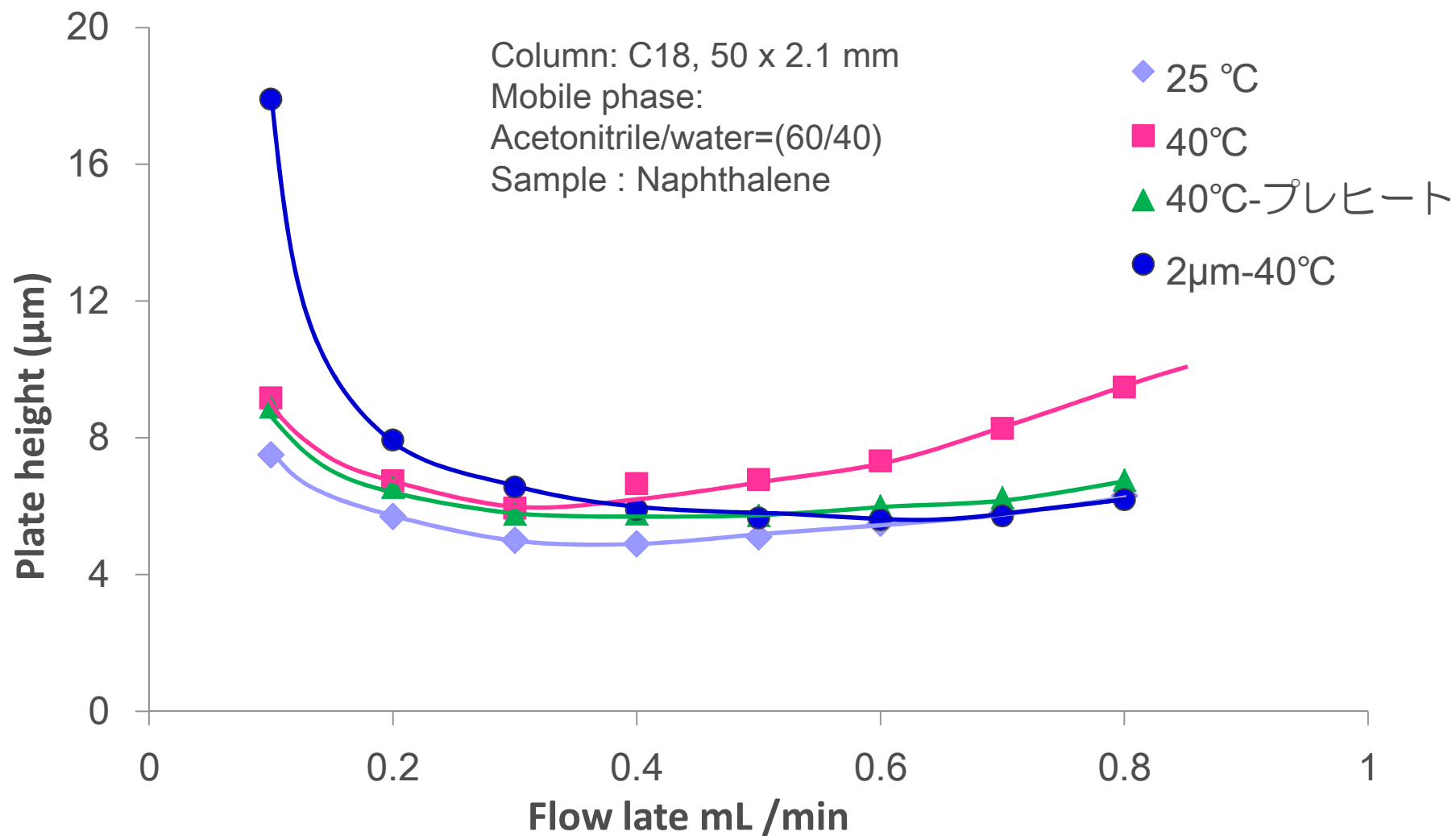


多流路拡散、渦巻き拡散が小さくなる → Ad_p のAが小さくなる

『拡散による物質移動（の遅れ）』はC項に関係している

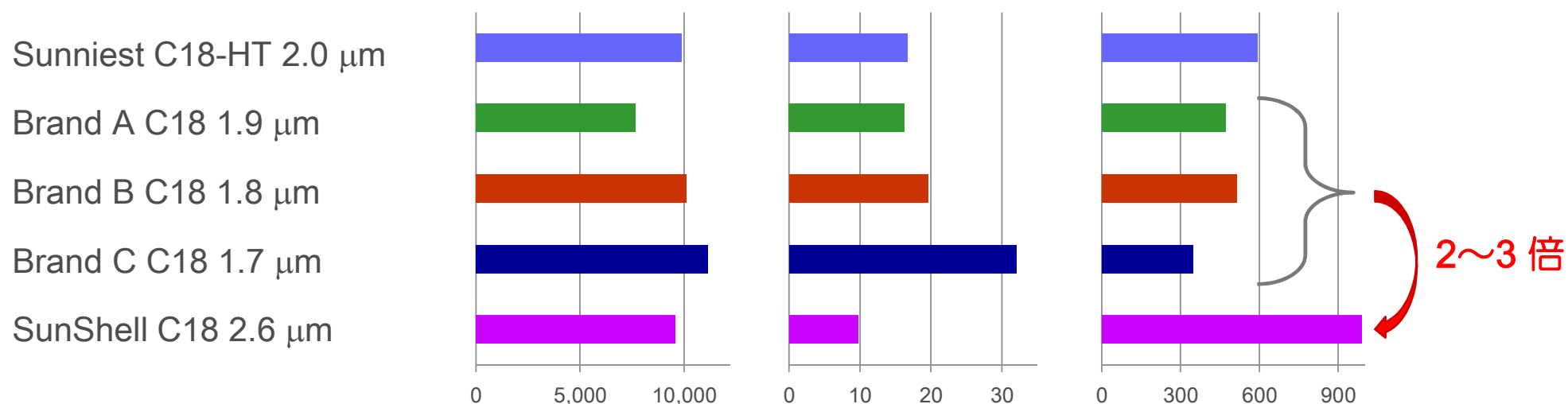


温度の影響



単位圧力あたりの段数比較

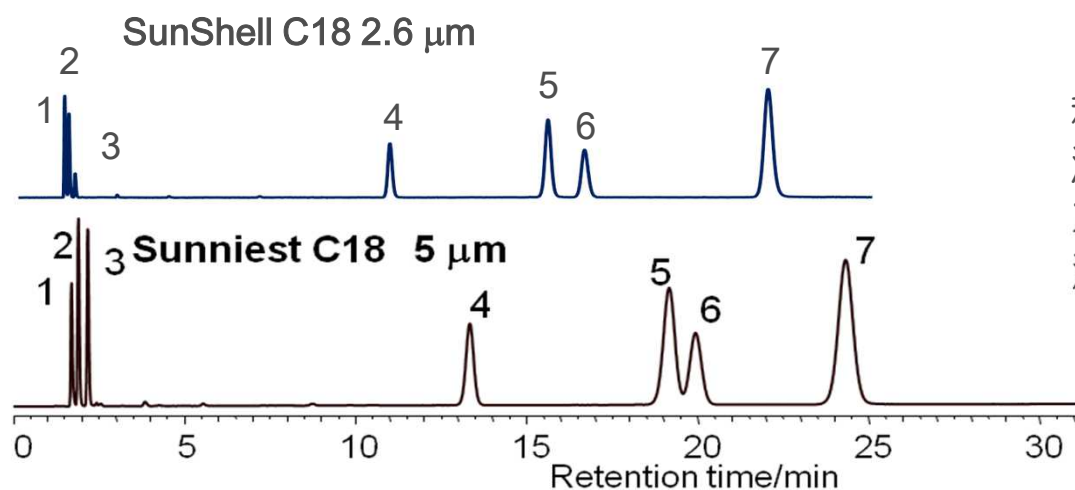
| | Plates | Pressure(MPa) | Plates/pressure |
|-----------------------------------|--------|---------------|-----------------|
| Sunniest C18-HT 2.0 μm | 9,900 | 16.7 | 593 |
| Brand A C18 1.9 μm | 7,660 | 16.3 | 470 |
| Brand B C18 1.8 μm | 10,100 | 19.6 | 515 |
| Brand C C18 1.7 μm | 11,140 | 32.0 | 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_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) |
| 340 m ² /g | | | 150 m ² /g | | Effective 200 m ² /g | |
| 1) ウラシル | 1.70 | 0 | 1.34 | 0 | 1.36 | 0 |
| 2) カフェイン | 1.90 | 0.12 | 1.46 | 0.09 | 1.49 | 0.10 |
| 3) フェノール | 2.17 | 0.28 | 1.65 | 0.23 | 1.61 | 0.18 |
| 4) ブチルベンゼン | 13.35 | 6.85 | 10.87 | 7.11 | 6.19 | 3.55 |
| 5) o-ターフェニル | 19.19 | 10.29 | 15.49 | 10.56 | 8.15 | 4.99 |
| 6) アミルベンゼン | 19.96 | 10.74 | 16.56 | 11.36 | 8.75 | 5.43 |
| 7) トリフェニレン | 24.35 | 13.32 | 21.95 | 15.38 | 9.44 | 5.94 |



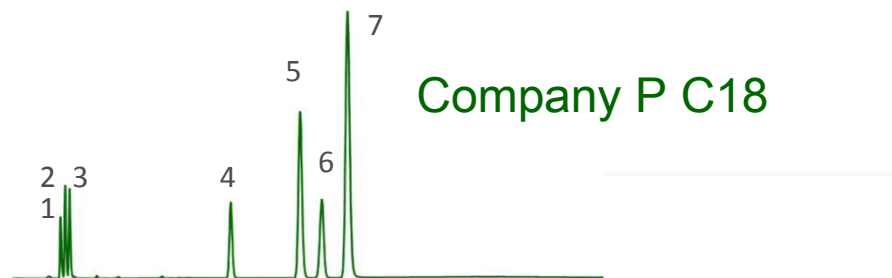
移動相: Methanol/water(75:25)

温度: 40°C

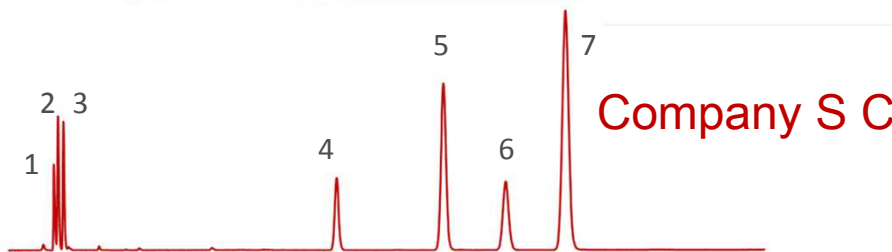
カラム: 150 x 4.6 mm

流速: 1.0 mL/min

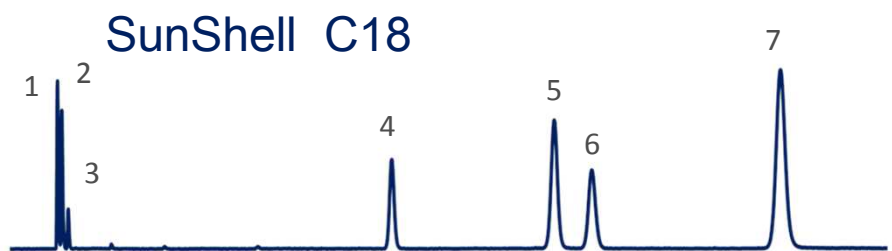
標準試料の保持比較



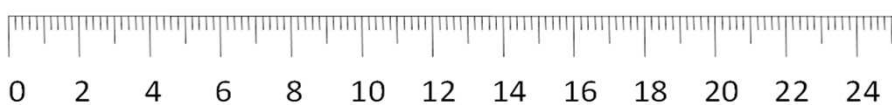
Company P C18



Company S C18



SunShell C18



Retention time/min

Column:

Company P C18, 2.6 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: CH₃OH/H₂O=75/25

Flow rate: 1.0 mL/min

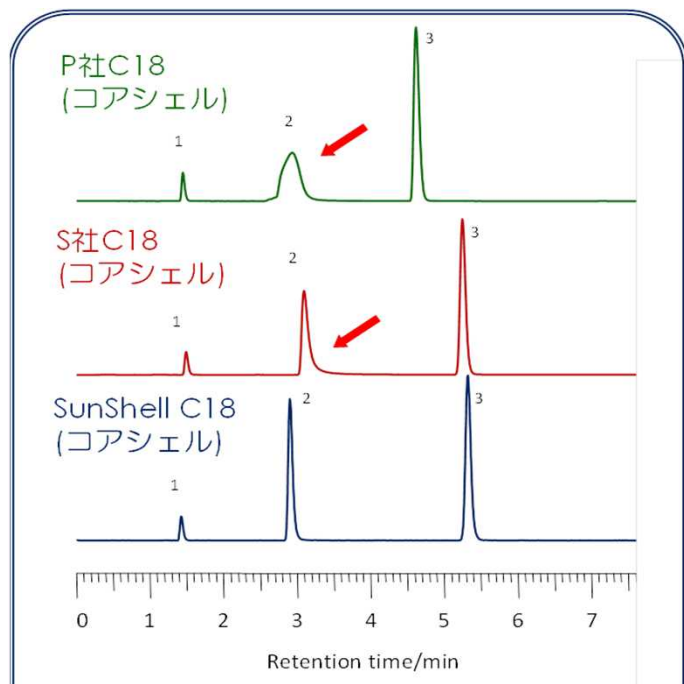
Temperature: 40 °C

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 S C18 | 0.44 | 1.60 | 1.31 |
| SunShell C18 | 0.39 | 1.60 | 1.46 |

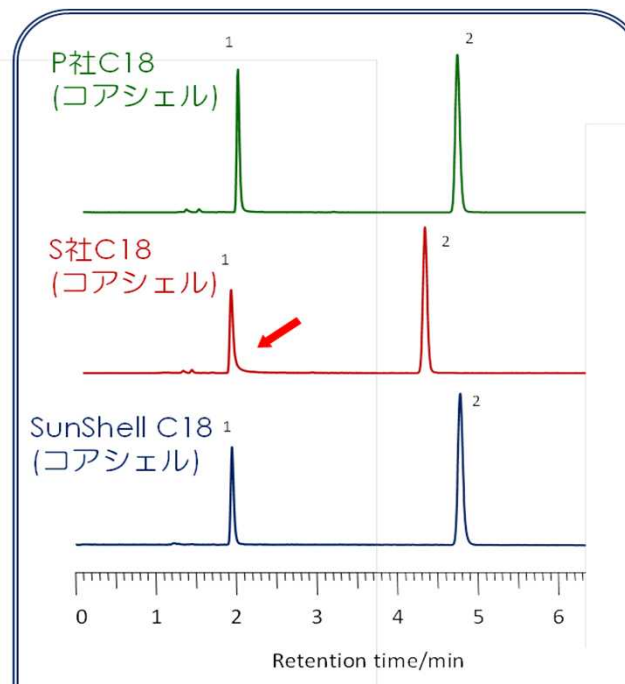
ピリジンのピーク比較



Column:

Brand D C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm
 Brand E 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

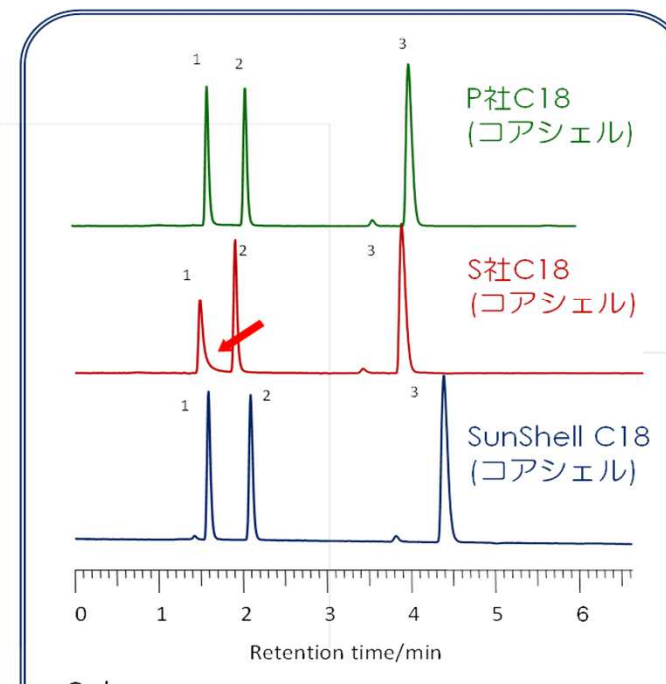
オキシンのピーク比較



Column:

Brand D C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm
 Brand E C18, 2.7 μm 150 x 4.6 mm
 SunShell C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm
 Mobile phase: $\text{CH}_3\text{CN}/20\text{mM}$
 $\text{H}_3\text{PO}_4=10/90$
 Flow rate: 1.0 mL/min
 Temperature: 40 $^\circ\text{C}$
 Detection: UV@250nm
 Sample: 1 = 8-Quinolinol (Oxine)
 2 = Caffeine

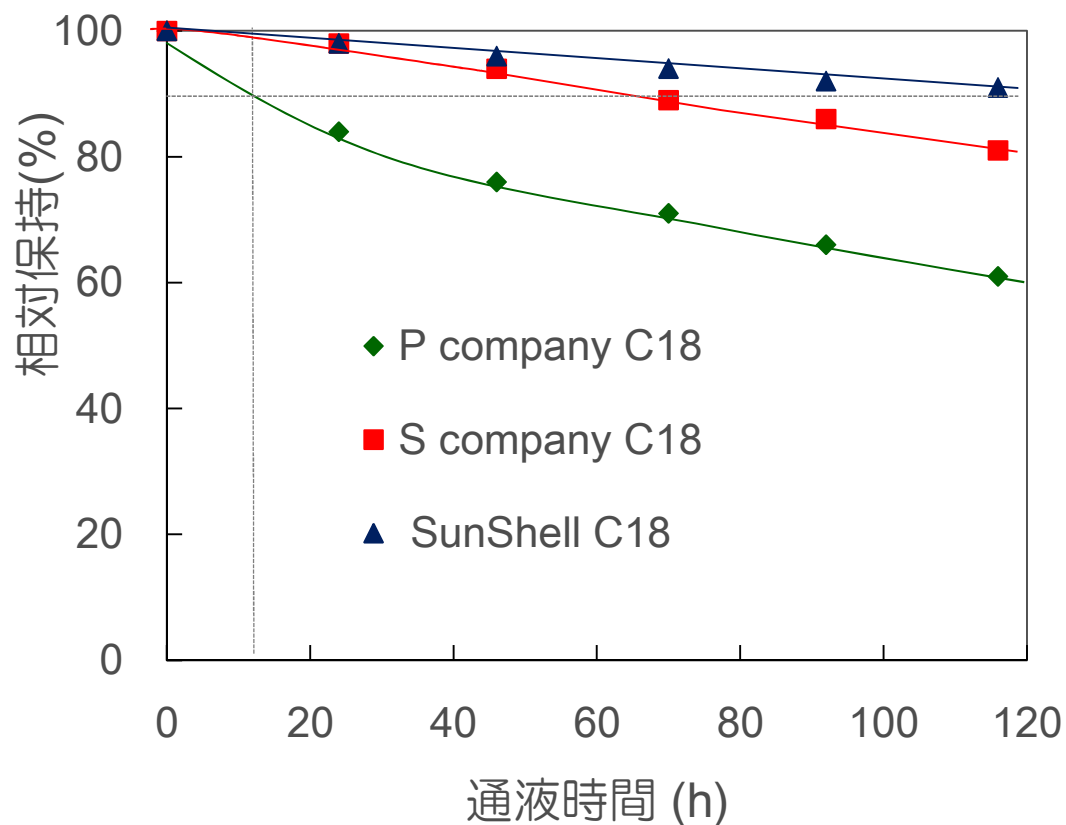
ギ酸のピーク比較



Column:

Brand D C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm
 Brand E 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 $^\circ\text{C}$
 Detection: UV@210nm
 Sample: 1 = Formic acid 2 = Acetic acid
 3 = Propionic acid

コアシェルC18の酸性条件での耐久性



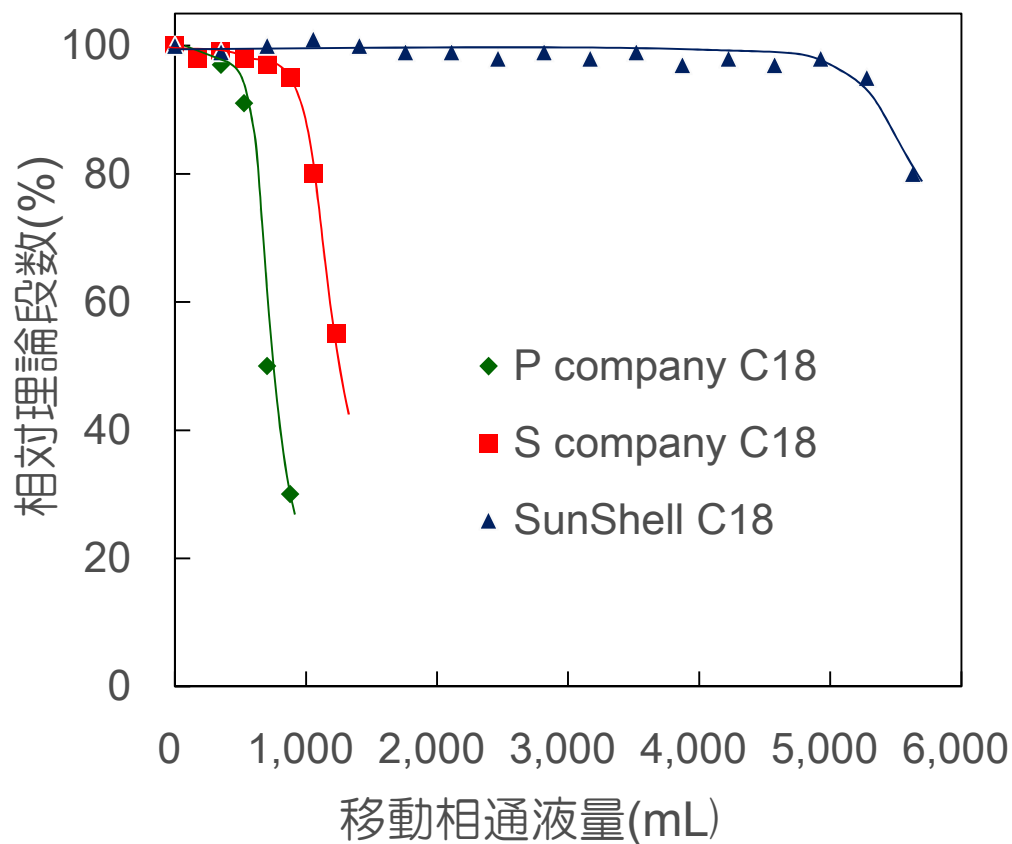
耐久性試験条件

Column size: 50 x 2.1 mm
 Mobile phase: CH₃CN/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: CH₃CN/H₂O=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:

CH₃OH/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:

CH₃OH/H₂O=70/30

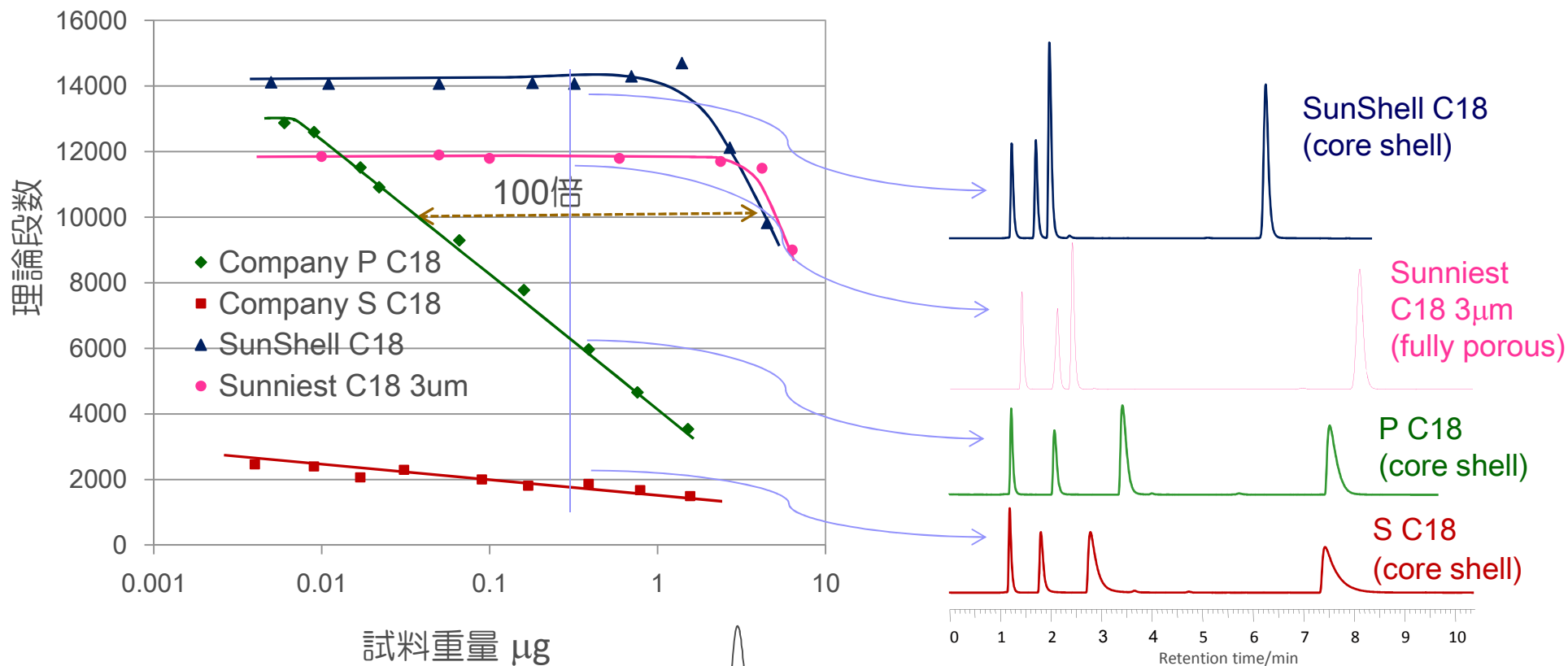
Flow rate: 0.4 mL/min

Temperature: 40 °C

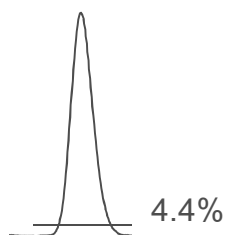
Sample: 1 = Butylbenzene

コアシェルC18のアミトリプチリンの負荷量の比較

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



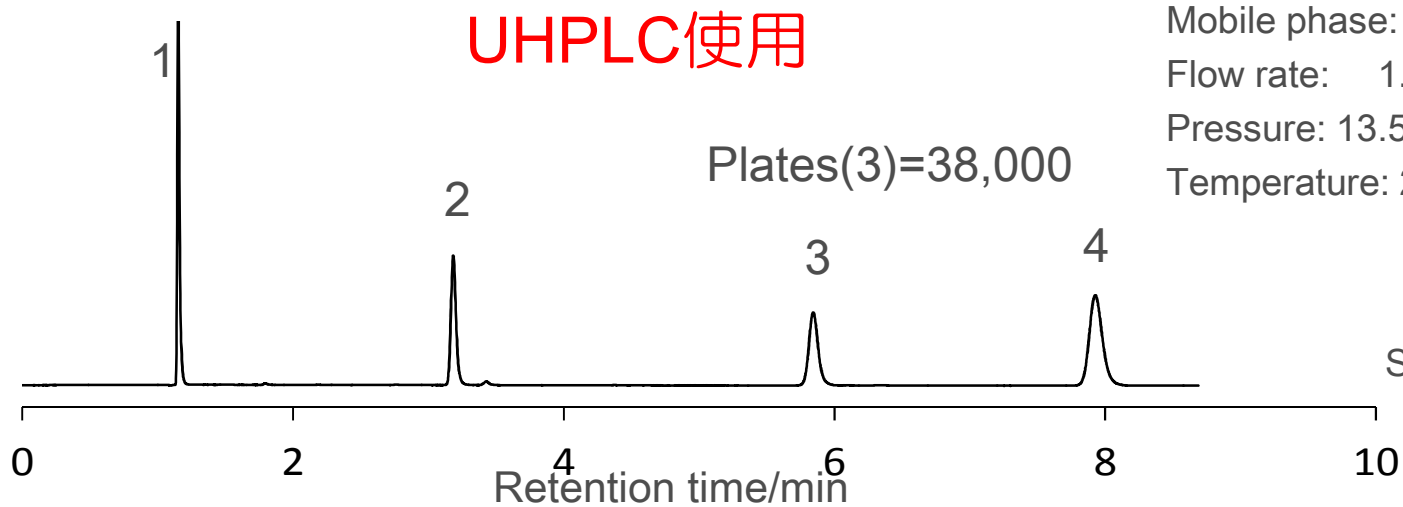
ピークの4.4%の高さの位置でのピーク幅で理論段数を計算 (5 σ 法)



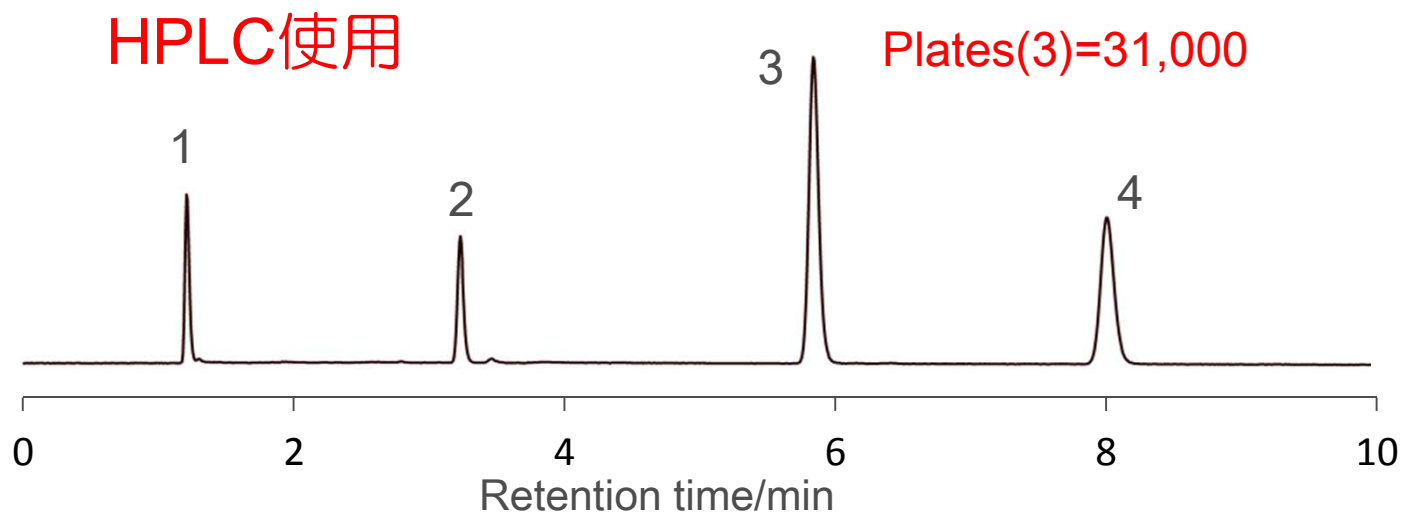
試料: 1 = ウラシル, 2 = プロプラノロール,
 3 = ノルトリプチリン, 4 = アミトリプチリン

コアシェルC18の標準試料の分離例 UHPLCとHPLCの比較

Column: SunShell C18, 2.6 mm 150 x 4.6 mm
 Mobile phase: CH₃CN/H₂O=70/30
 Flow rate: 1.0 mL/min
 Pressure: 13.5 MPa
 Temperature: 25 °C

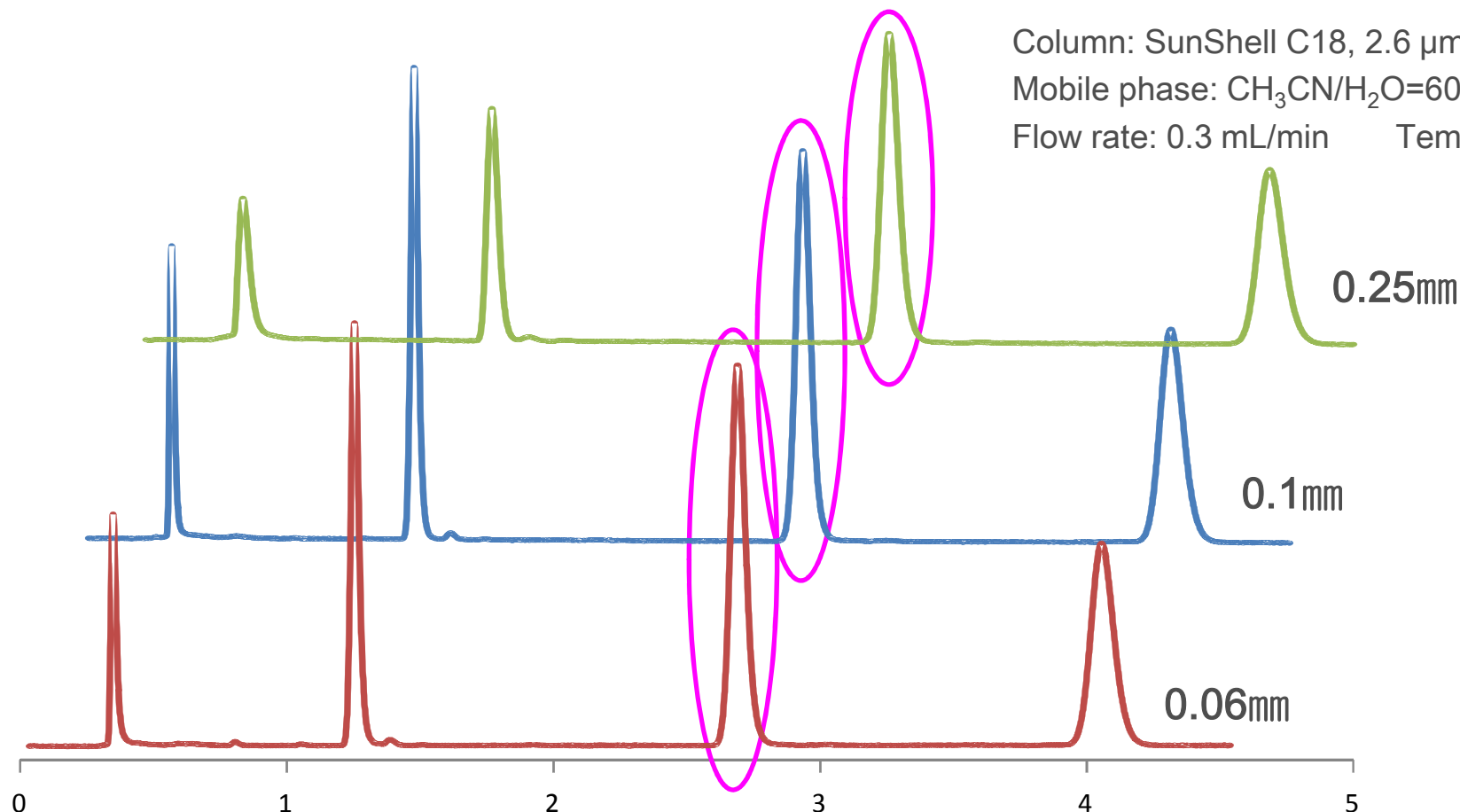


Sample: 1 = Uracil
 2 = Toluene
 3 = Acenaphthene
 4 = BUtylbenzene



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: 25 °C

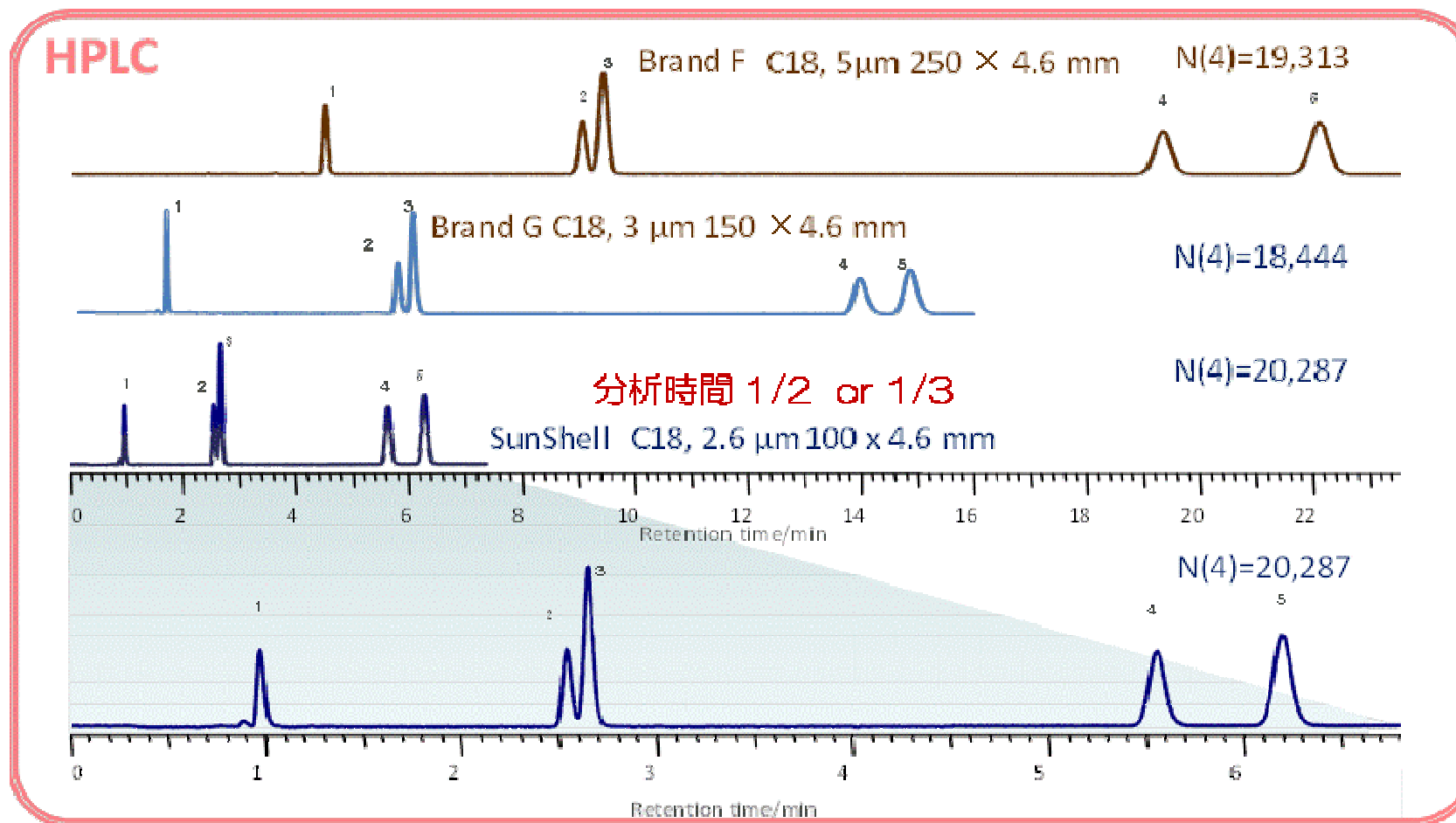


三番目ピークの理論段数の平均値 (n=3)

| | 0.06mm | 0.1mm | 0.25mm |
|------|--------|-------|--------|
| 理論段数 | 10704 | 10345 | 7998 |

イソクラチック溶離例

5 μ m, 3 μ m C18からの移行



Mobile phase: CH₃CN/20mM Phosphoric acid = 45/55

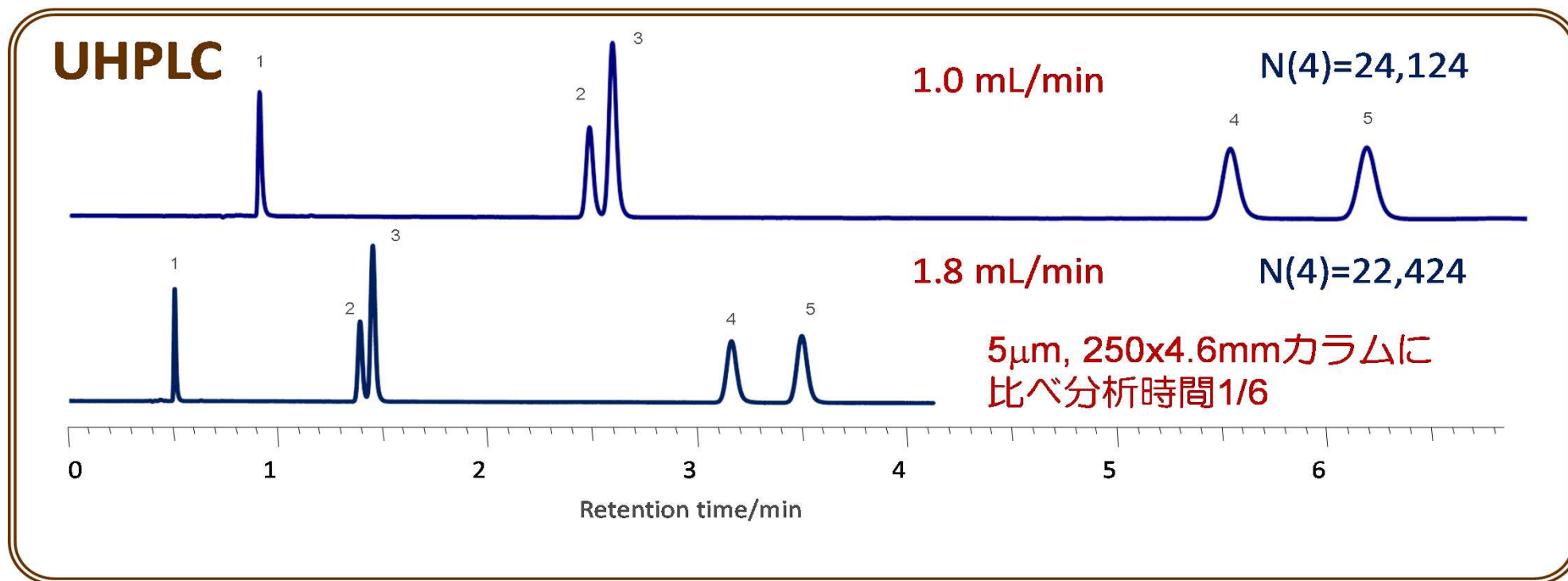
Flow rate: 1.0 mL/min, Temperature: 25 °C, Detection: UV230 nm

Pressure: 9.5 MPa for Brand F C18 5 mm, 13.4 MPa for SunShell C18 2.6 mm

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

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

イソクラチック溶離例 UHPLC



Column: SunShell C18, 2.6 mm 100 x 4.6 mm

Mobile phase: CH₃CN/20mM Phosphoric acid = 45/55

Flow rate: 1.0 mL/min, 1.8 mL/min

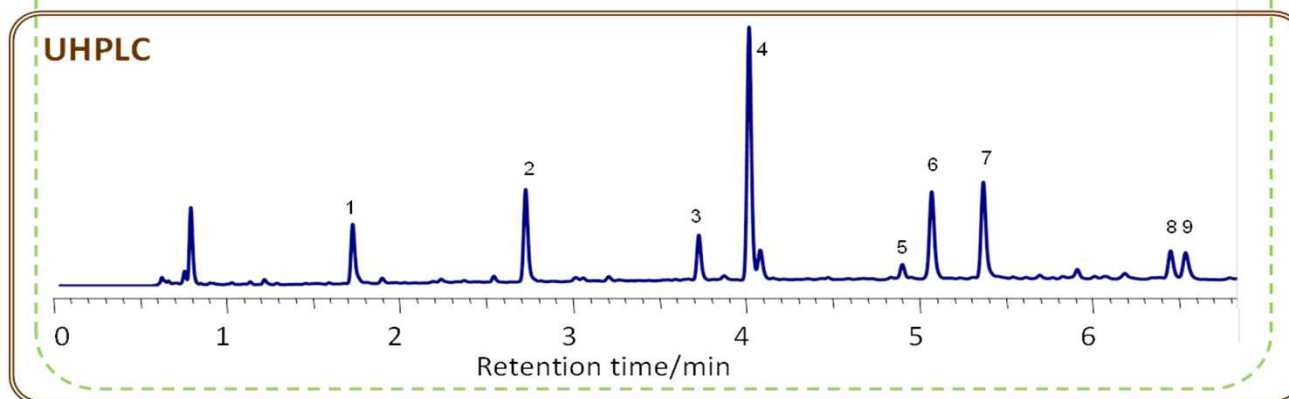
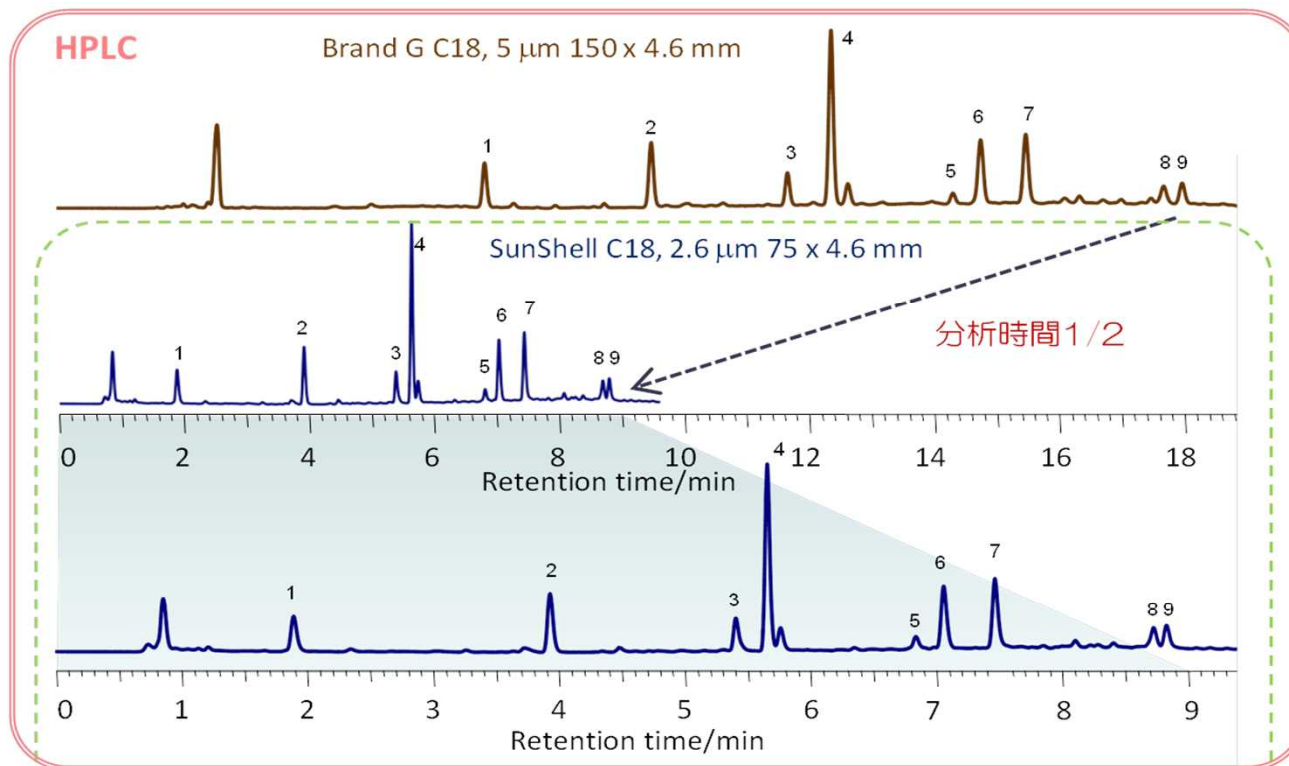
Temperature: 25 °C

Pressure 13.4 MPa Detection: UV230 nm

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

UHPLC: Jasco X-LC

グラジエント溶離例 5 μ m C18からの移行



Column:

Brand G C18, 5 μ m 150 x 4.6 mm
SunShell C18, 2.6 μ m 75 x 4.6 mm

Mobile phase:

A) 0.1% Phosphoric acid
B) CH₃CN

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

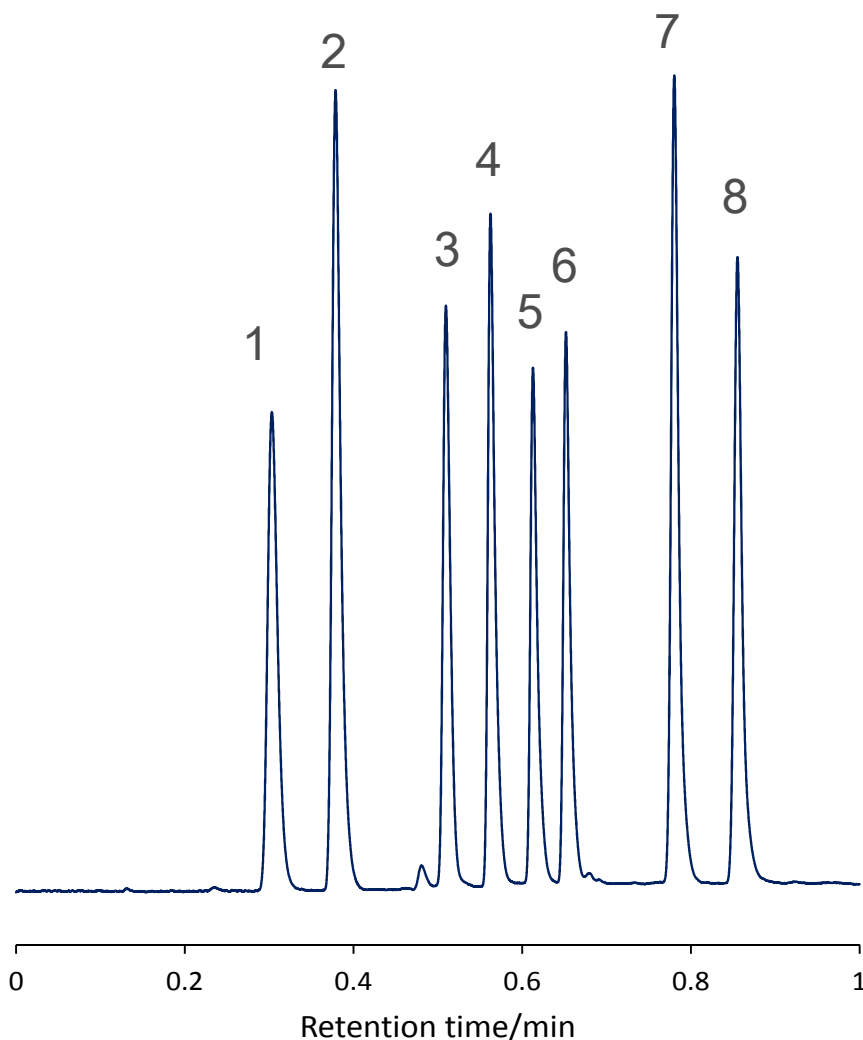
1 = Gallic acid, 2 = Epigallocatechin, 3 = Catechin, 4 = Caffeine, 5 = Epicatechin, 6 = Epigallocatechin gallate, 7 = Gallic acid gallate, 8 = Epicatechin gallate, 9 = Catechin gallate

HPLC: Hitachi LaChrom ELITE

(内径0.25mmの配管仕様)

UHPLC: Jasco X-LC

高速分離例



Column: SunShell C18 2.6 μm , 30 x 3.0 mm.
 Mobile phase: A) Water, B) Acetonitrile; Gradient
 (Acetonitrile %), 0.00 min - 35%, 0.40 min - 100%,
 0.80 min - 100%, 0.85 min - 35%, 1 cycle; 1.8 min,
 (High-pressure gradient).

Flow rate: 1.0 mL/min.

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

Injection Volume: 1 μL .

Wavelength: 200 - 500 nm, CH-9, 215 - 500 nm (Max
 Abs.).

Sample: Mixture of ultraviolet absorbers,
 1 = 2,2',4,4'-Tetrahydroxybenzophenone,

2 = Ethyl *p*-aminobenzoate,

3 = 2, 4-Dihydroxybenzophenone,

4 = 2,2'-Dihydroxy-4-methoxybenzophenone,

5 = 2,2'-Dihydroxy-4,4'-dimethoxybenzophenone,

6 = 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone,

7 = 2-(2'-Hydroxy-5'-methylphenyl) benzotriazole,

8 = 4-tert-Butylphenyl salicylate.

Courtesy of Jasco.

Current Trends in HPLC Column Usage

LCGC Europe Jan 1, 2012 By: Ronald E. Majors

Table 14: Types of columns that will be tried in future.

| Type of Column | Will Try in Future (%) |
|-------------------------------|------------------------|
| Superficially porous particle | 54 |
| Porous, sub 2 μm | 49 |
| Hybrid | 34 |
| Monolith, silica-based | 31 |
| Monolith, polymer-based | 30 |

市販のコアシェル型充填剤

- 1) Halo (AMT)
- 2) Ascentis Express (Sigma Aldrich)
- 3) Poroshell (Agilent Technologies)
- 4) Kinetex (Phenomenex)
- 5) SunShell (ChromaNik Technologies)
- 6) Accucore (Thermo Scientific)
- 7) NucleoShell (Macherey-Nagel)
- 8) Brownlee SPP (Perkin Elmer)

現在数社のコアシェル型充填剤が利用可能

コアシェル型充填剤SunShell

| | コアシェルシリカ | | | 結合相 | | | |
|------------------|--------------------------|-------------|-----------------------------------|--------------|-------------------|------------------------|---------------------|
| | 粒子径 (μm) | 細孔径 (nm) | 比表面積 (m^2/g) | 炭素含有量 (%) | 結合相 | 使用最高圧 | 使用pH範囲 Ⓐ |
| 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 | Pentafluorophenyl | 60 MPa or 8,570 psi | 2 - 8 |
| SunShell PhE | 2.6 | 9 | 150 | 4 | Phenylethyl | 60 MPa or 8,570 psi | 2 - 8 |
| SunShell RP-Aqua | 2.6 | 16 | 90 | 4 | C28 | 60 MPa or 8,570 psi | 2 - 8 ^{a)} |
| SunShell C18-WP | 2.6 | 16 | 90 | 5 | C18 | 60 MPa or 8,570 psi | 1.5 - 10 |

a) SunShell RP-Aquaカラムは水移動相で使用できるため、有機溶媒を含まない緩衝液での使用pH範囲を示す。

まとめ

- コアシエ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 μm のコアシエルはsub 2 μm の全多孔性と同じ理論段数になる)
- 2.6 μm のコアシエル型充填カラムは、sub 2 μm 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 μm の2倍以上の理論段数を示す。
- コアシエル型充填カラムは、HPLC、UHPLCどちらにおいても使用可能である。
- 今後、コアシエル型充填剤は広い分野において使用されていくことが予想される