

クロマニックテクニカルノート1005

コアシェルカラム，メーカー間の差はあるの？

1社のカラムのみで評価したら大失敗！

5社のコアシェル型C18カラムを比較しました。

最初に標準試料を用いカラム圧，保持時間，水素結合性・疎水性・立体選択性のパラメータを，次にピリジン・オキシソニ・ギ酸のピーク形状を比較しました。ほぼ同じサイズの粒子径であるにもかかわらず，カラム圧は最大40%もの差があり，塩基性・金属配位性および酸性化合物のピーク形状も大きく異なりました。

中性化合物の試料負荷量は保持時間に比例していると考えられます。しかし塩基性化合物については，残存シラノール基を含む固定相の状態によりピーク形状は大きく異なるため，残存シラノール基の評価で多用されるアミトリプチリンを用いて試料負荷量の比較を行いました。リン酸緩衝液を用いた移動相では，A社C18はSunShell C18に比べ，1/100の試料負荷量であり，コアシェル粒子の構造やC18の結合状態が塩基性試料の負荷量に大きく影響していることが示されました。

耐久性もカラム選択する上で重要な要素になります。そこで耐酸・耐アルカリ性比較を行いました。酸性条件では酸の加水分解によりアルキル基が脱離し，アルカリ性条件ではアルカリによる加水分解で，シリカが溶け出すため，前者は保持を後者は理論段数を縦軸にし，耐久性時間を比較しました。耐久性も同様にカラム間には大きな差が認められました。

最後にそれぞれのカラムから抜き出した充填剤の物性値を測定しました。コアシェルシリカ基剤の物性値は，それぞれのC18充填剤を600°Cで8時間焼成した後に測定しました。

クロマニックテクノロジーズ

コアシェルカラム、 メーカー間の差はあるの？

1社のカラムのみで評価したら大失敗！

長江徳和

株式会社クロマニクテクノロジーズ

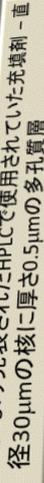
Email: info@chromanik.co.jp

[Http://chromanik.co.jp](http://chromanik.co.jp)

1

コアシェル型シリカの歴史

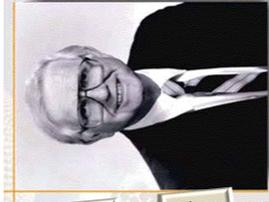
1969年カークランドにより発表されたHPLCで使用されていた充填剤 - 直径30 μm の核に厚さ0.5 μm の多孔質層



2000年にカークランドらにより発表¹、タンバ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)



Fused-Core technology
was developed by
Jack Kirkland.

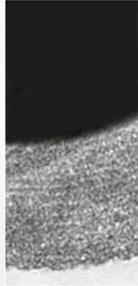
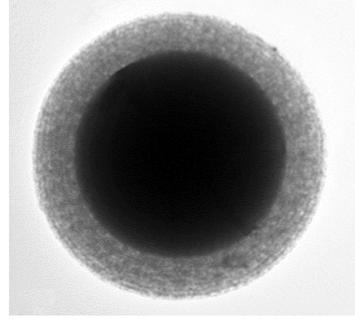
(1) J.J. Kirkland, F.A. Truszkowski, C.H. Dilks, and G.S. Engel, J. Chromatogr., A 890, 3-13 (2000).

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

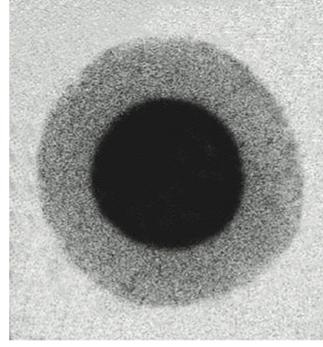
2007年に微小粒子の製造の特許が出願された。

2

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

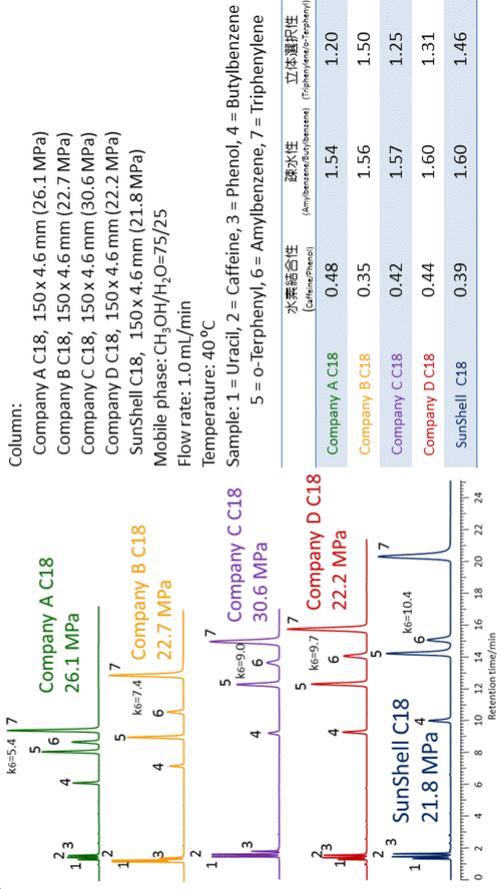
3

5種類のコアシェル型C18の比較

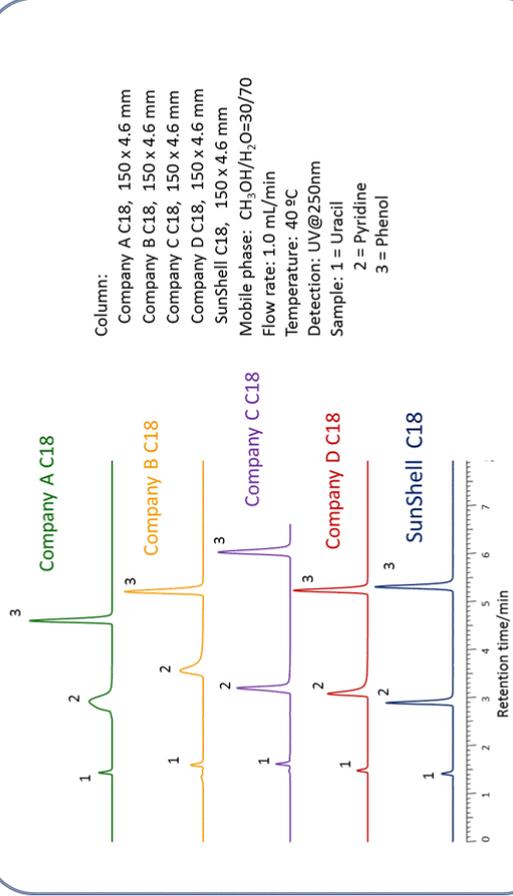
比較したカラム

1. Kinetex C18, 2.6 μm
2. Accucore C18, 2.6 μm
3. PoroShell C18 EC, 2.7 μm
4. Ascentis Express C18, 2.7 μm
5. SunShell C18, 2.6 μm

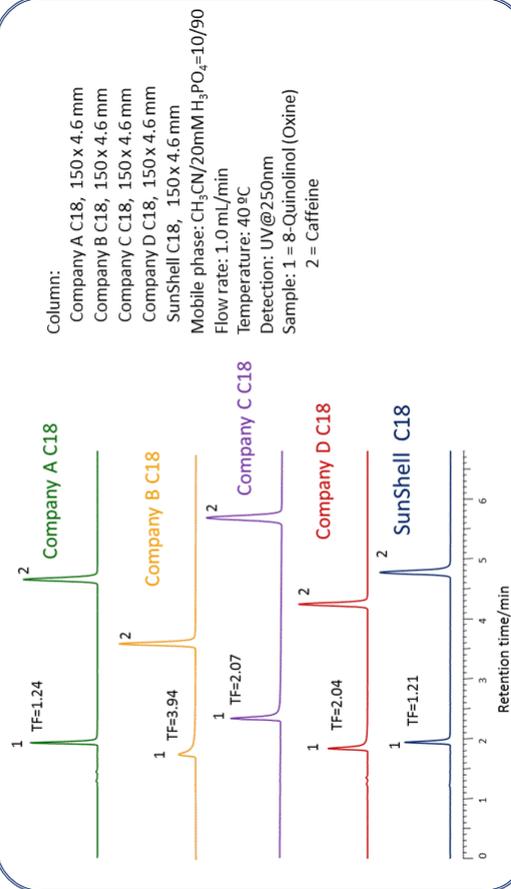
標準試料の分離比較



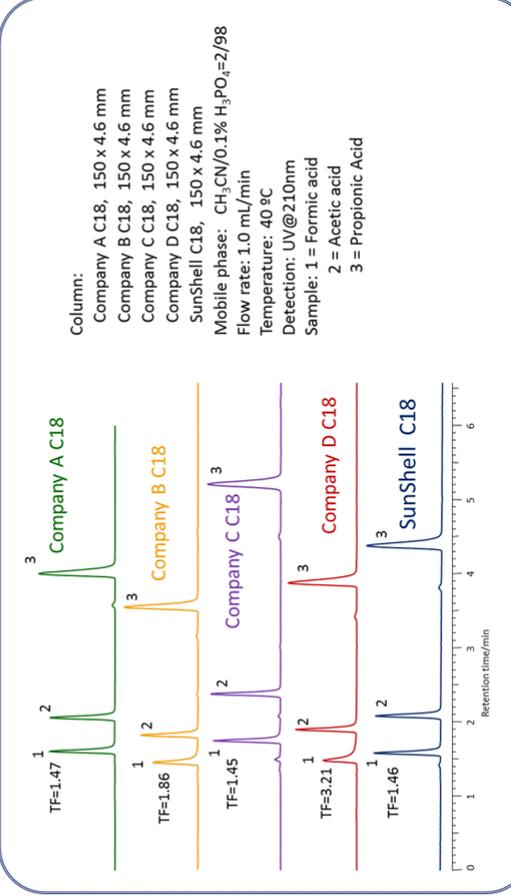
ピリジンピークの比較



金属配位性化合物オキシシンの比較



ギ酸ピークの比較



標準試料の分離比較のまとめ

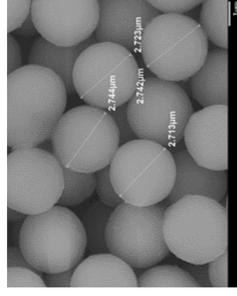
	カラム圧 Pressure ^a	保持指数 Retention ^b	ピリジン Pyridine	オキシン Oxine	ギ酸 Formic acid	Point
SunShell C18	◎21.8	10.4	◎	◎	◎	12
Company D C18	◎22.2	9.7	△	△	×	5
Company C C18	×30.6	9.0	◎	△	◎	7
Company B C18	◎22.7	7.4	×	×	△	4
Company A C18	△26.1	5.4	×	◎	◎	7

a. Mobile phase, methanol:water=75:25, 40 °C, 1mL/min 150 x 4.6mm

b. Retention factor of amylobenzene

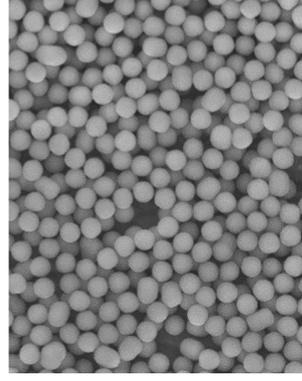
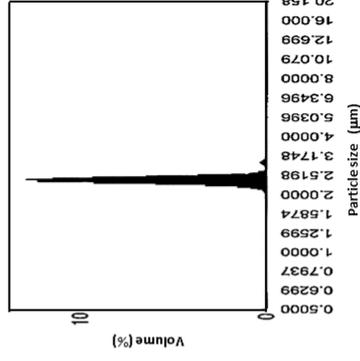
◎: 3 point, ○: 2 point, △: 1 point, ×: 0 point

他社コアシェル粒子の粒度分布

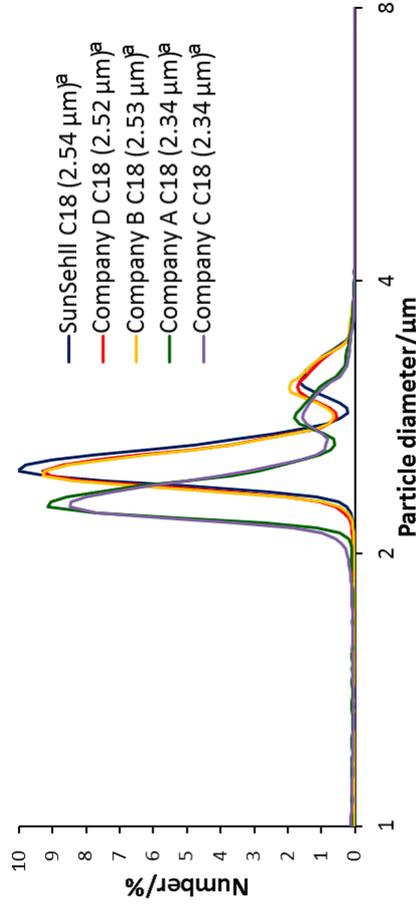


Coulter counter

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



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 D C18	8.0	133 (150) ^b	0.278	8.20 (9) ^b
Company C C18	8.5 (8) ^b	135 (130) ^b	0.414	12.3 (12) ^b
Company B C18	8.8 (9) ^b	130 (130) ^b	0.273	8.39 (8) ^b
Company A C18	4.9 (12 effective) ^b	102 (200 effective) ^b	0.237	9.25 (10) ^b

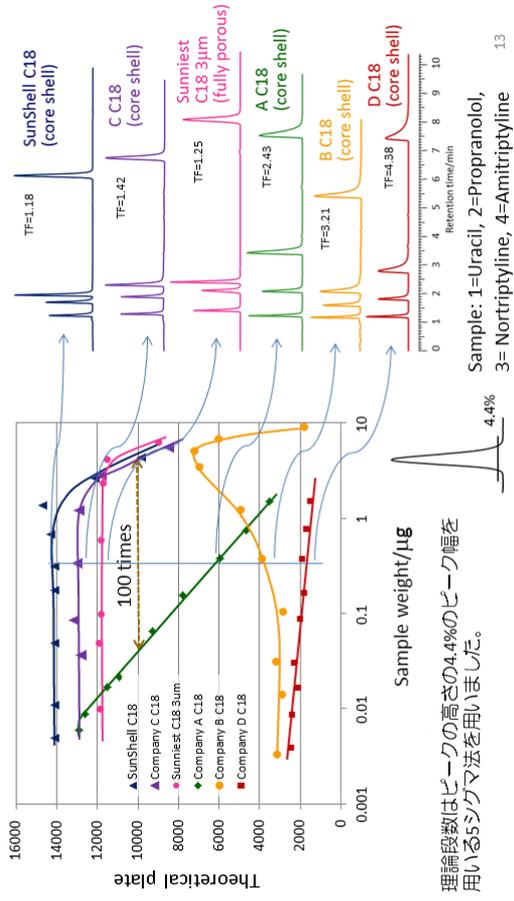
a. C18充填剤を600°Cで8時間焼成し、アルキル基を焼き飛ばした後のコアシェル粒子を測定しました。この測定値はオリジナルのコアシェル粒子の値より小さくなります。

b. カタログに記載されている値

*全ての測定はクロマトックテクノロジーズ社内で行いました。

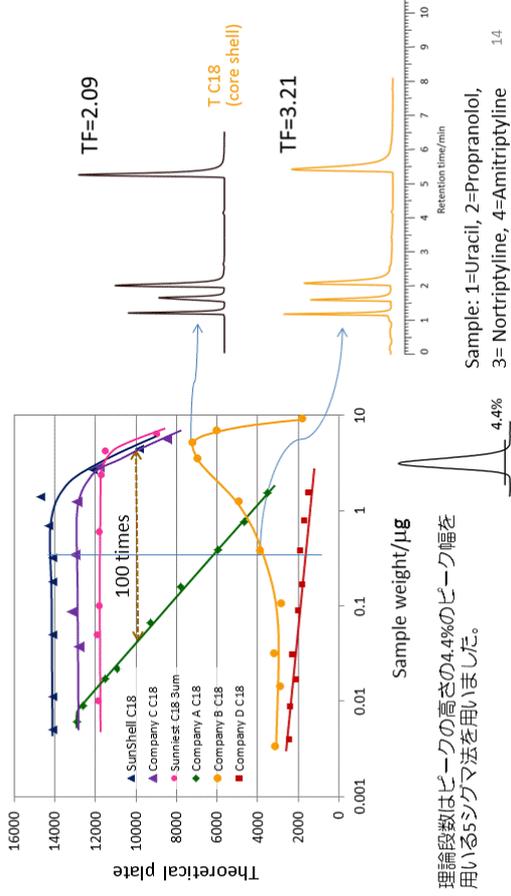
アミトリプチリンの負荷量比較 I

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



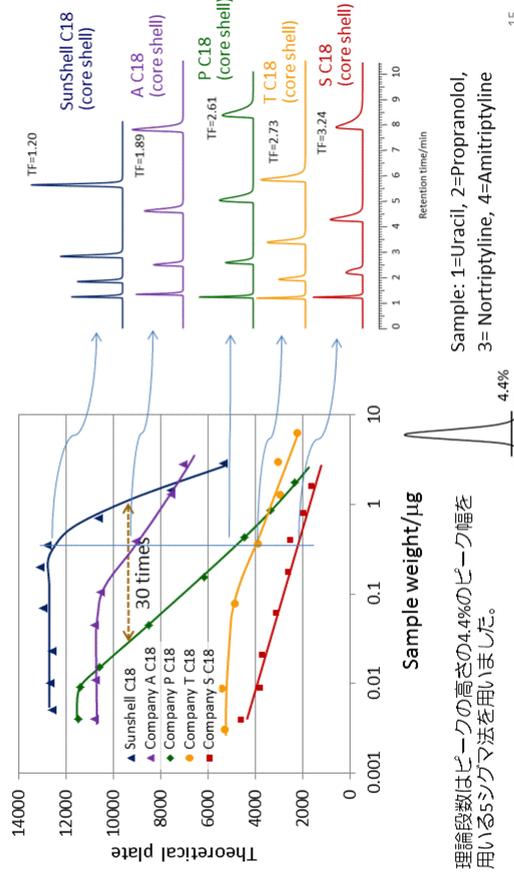
アミトリプチリンの負荷量比較 I

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



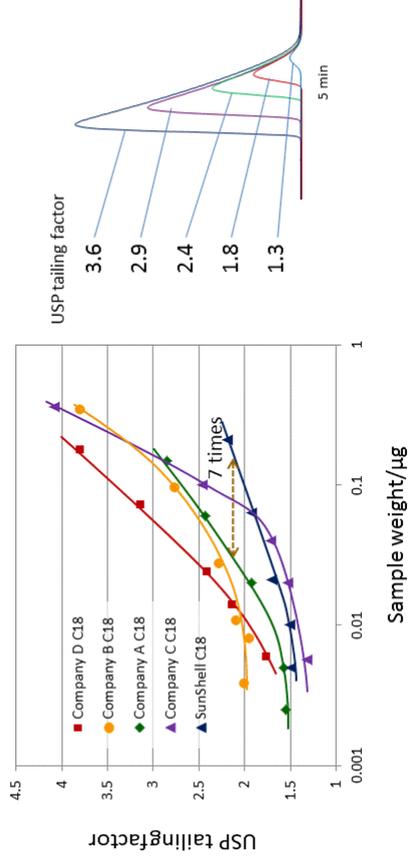
アミトリプチリンの負荷量比較 II

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



アミトリプチリンの負荷量比較 III

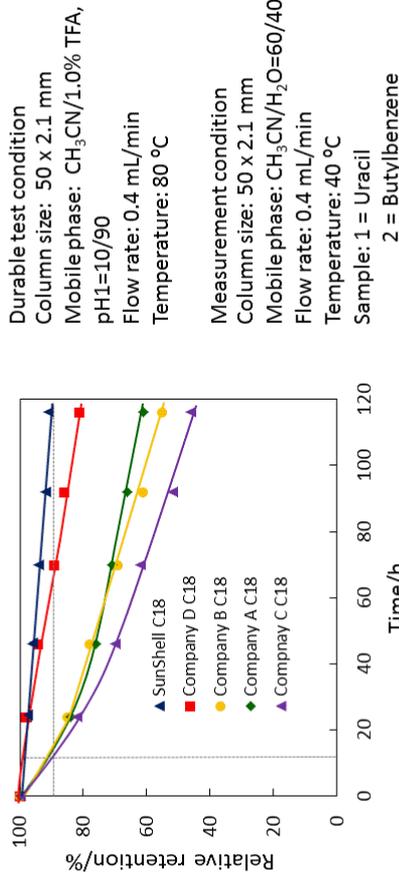
Mobile phase: Acetonitrile/**0.1% formic acid**=(30:70)
Column dimension: 150 x 4.6 mm, Flow rate: 1.0 mL/min, Temp.: 40°C



アセトニトリル/0.1% 甲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。

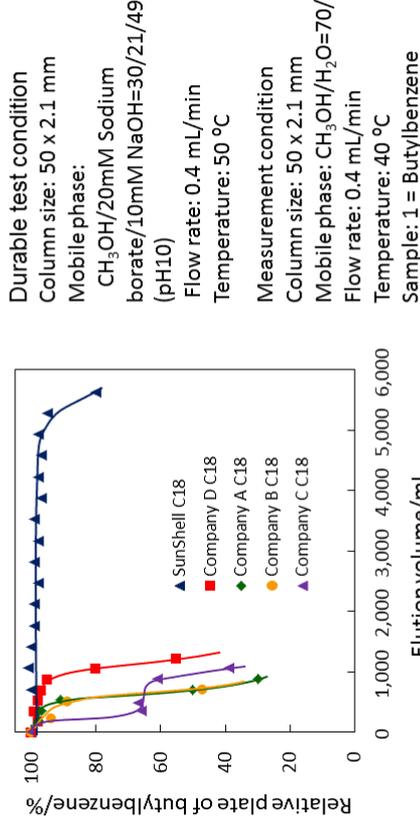
酸性条件での耐久性

(加速試験)



加速試験としてpH1で80°Cの条件を用いました。疎水性試料のプロ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



有機溶媒の濃度が30%と比較的低く、pH10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は他社の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

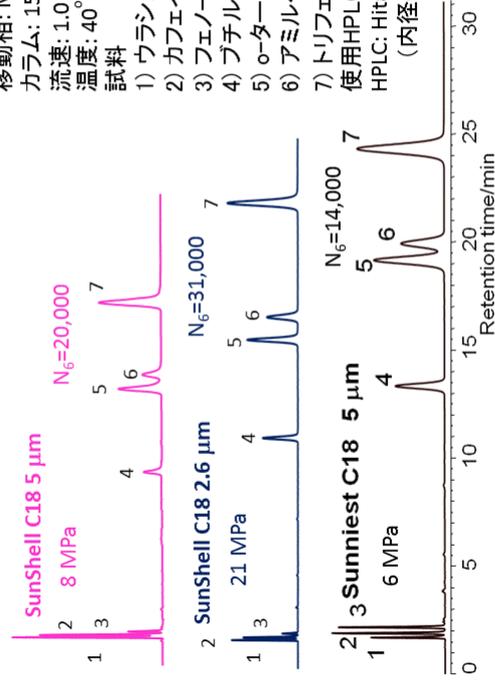
	酸性条件 pH1	アルカリ性 pH10	カタログに記載のpH範囲
SunShell C18	◎	◎	1.5 - 10
Company/D C18	○	○	2 - 9
Company/C C18	△	△	2 - 9
Company/B C18	△	△	1 - 11
Company/A C18	△	△	1.5 - 10

全多孔性シリカとコアシェル型シリカ2.6 μmと5 μmのHPLCを用いた理論段数とカラム圧比較

移動相: Methanol/water(75:25)
カラム: 150 x 4.6 mm
流速: 1.0 mL/min
温度: 40 °C

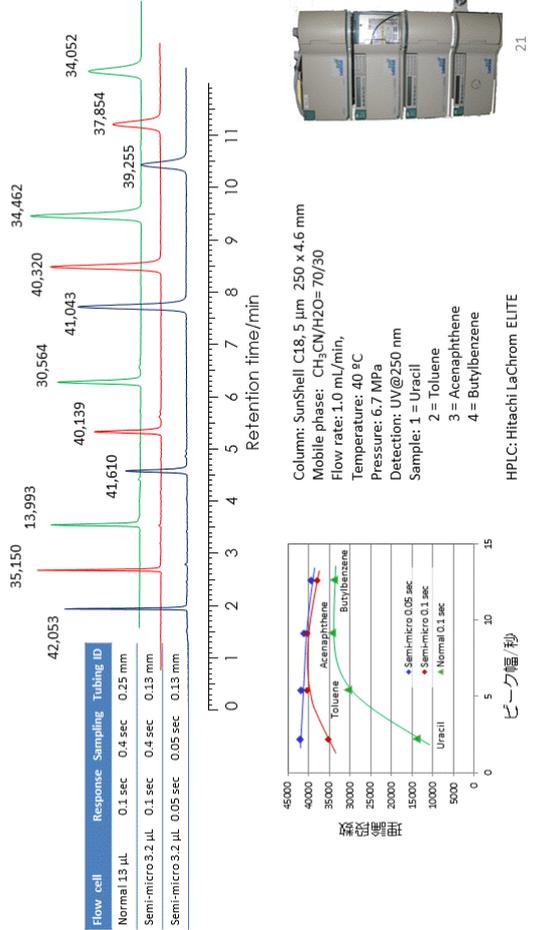


- 試料
- 1) ウラシル
 - 2) カフェイン
 - 3) フェノール
 - 4) プロチルベンゼン
 - 5) o-ターフェニル
 - 6) アミルベンゼン
 - 7) トリアフェニレン



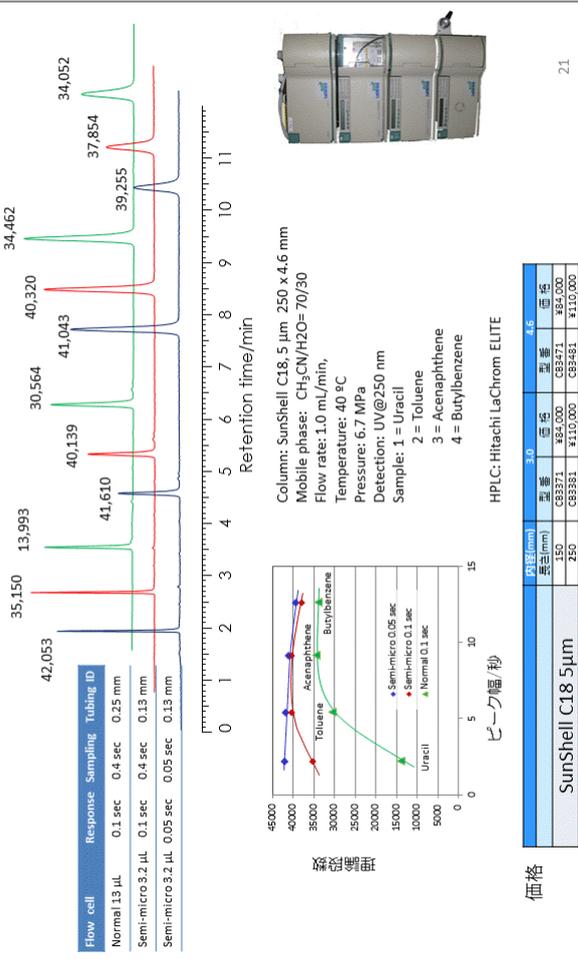
使用HPLC:
HPLC: Hitachi LaChrom ELITE
(内径0.25mmの配管仕様)

通常仕様とセミマイクロ仕様のHPLCの比較



21

通常仕様とセミマイクロ仕様のHPLCの比較



価格

21

製品名	1.0		2.1		3.0		4.6	
	粒径(µm)	価格	粒径(µm)	価格	粒径(µm)	価格	粒径(µm)	価格
SunShell C18 2.6µm	30	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	50	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	75	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	100	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	150	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
SunShell C8 2.6µm	30	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	50	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	75	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	100	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	150	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
SunShell PFP 2.6µm	30	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	50	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	75	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	100	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	150	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
SunShell C18-WP 2.6µm	30	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	50	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	75	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	100	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	150	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
SunShell RP-AQUA 2.6µm	30	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	50	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	75	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	100	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	150	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
SunShell Phenyl 2.6µm	30	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	50	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	75	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	100	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	150	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
SunShell HILIC-Amide 2.6µm	30	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	50	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	75	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	100	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	150	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
SunShell 2-EP 2.6µm	30	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	50	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	75	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	100	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	150	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
SunShell HFC18-16 2.6µm	30	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	50	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	75	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	100	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	150	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
SunShell HFC18-30 2.6µm	30	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	50	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	75	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	100	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	150	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
SunShell AI 2.6µm	30	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	50	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	75	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	100	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421
	150	C8E141	85,000	C8E281	85,000	C8E321	85,000	C8E421

23

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 250x4.6mm カラムはHPLCをセミアミクロ仕様にするには40,000段の性能が発揮される。
- ✓ SunShell C18, 2.6 µm 250x4.6mm カラムはほぼ70,000段の性能である。

24

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
Email: info@chromanik.co.jp URL <http://chromanik.co.jp>