

コアシェルに関する最新情報を配信していますので、ぜひ弊社Webサイトもご覧ください。  
また、毎年のJASIS新技術説明会や日本薬学会 新技術・新製品セミナーの資料も公開しております。  
<http://chromanik.co.jp>

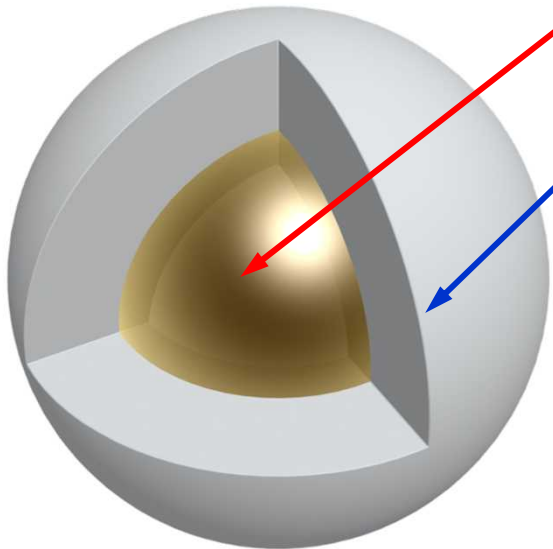
# HPLCを用いてコアシェルカラムの 性能が出ない：その原因と対策

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](mailto:info@chromanik.co.jp)**  
***<http://chromanik.co.jp>***



# 全多孔性シリカ粒子と何が違う？



核を内包している(フューズドシリカ)

多孔質シリカ層

- 構造は異なる(コアがあるか無いか)
- コアがあるため、比表面積が小さい

• 素材はシリカであり、全多孔性、コアシェルとも共通

化学的特徴は全多孔性シリカと同じ

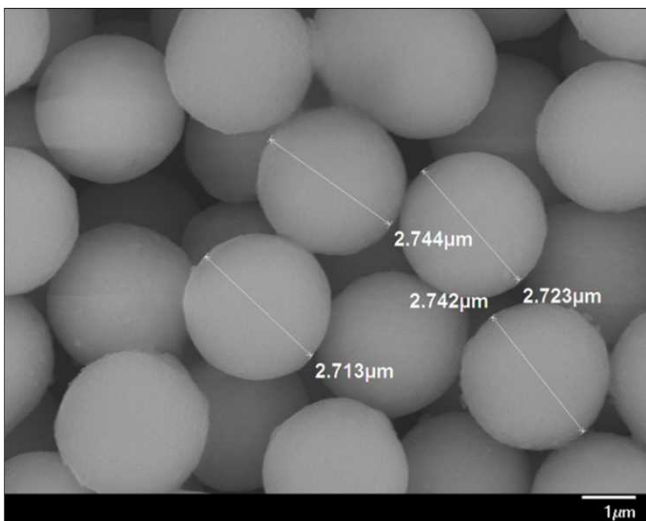
全多孔性シリカカラムで注意すべきこと



コアシェルシリカカラムで注意すべきこと

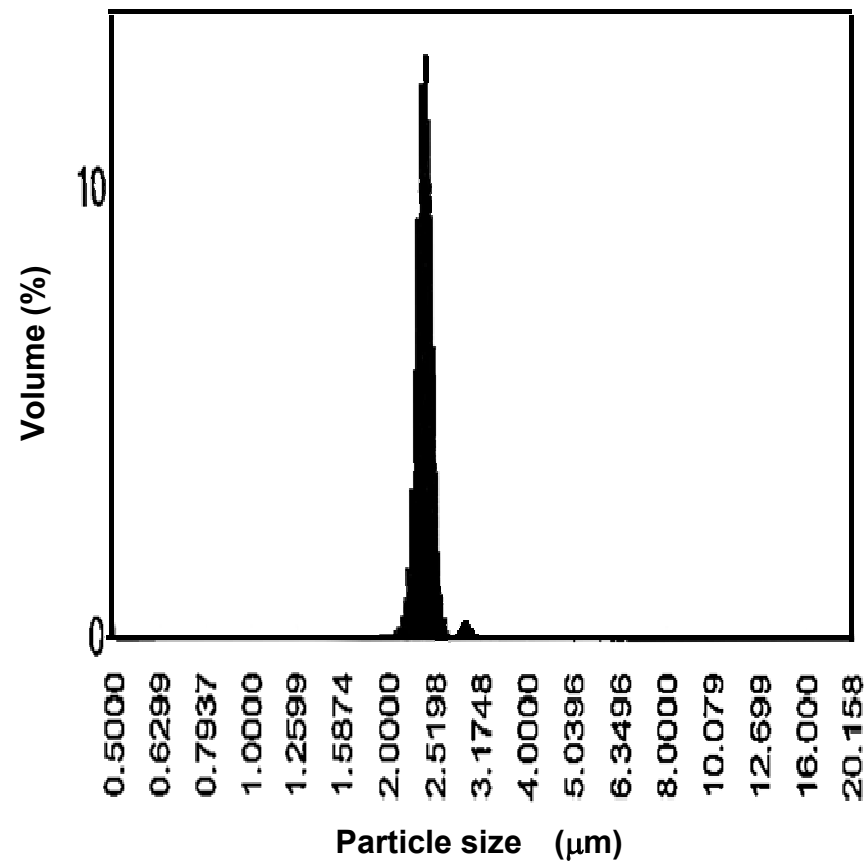
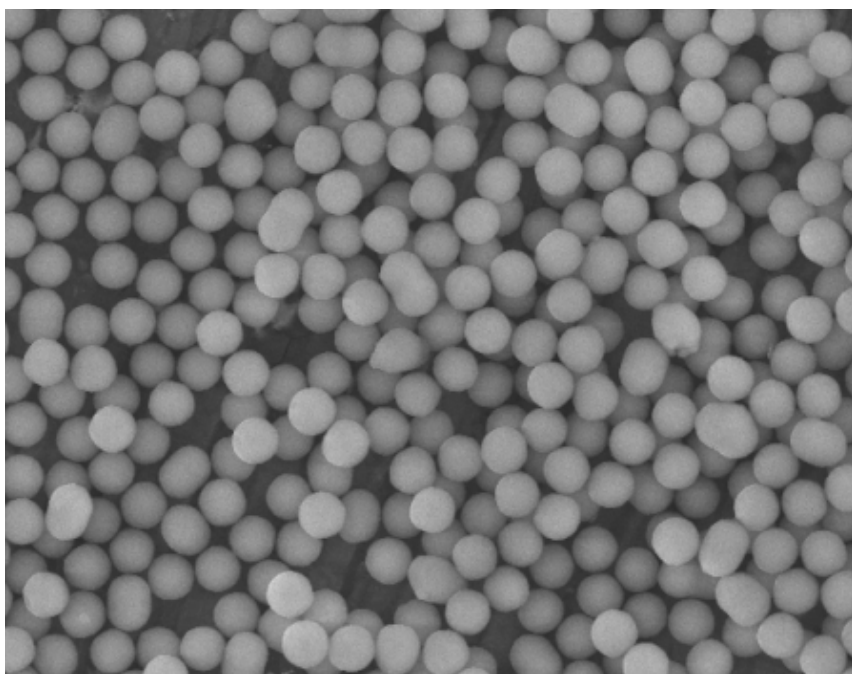


# コアシェルシリカの粒度分布



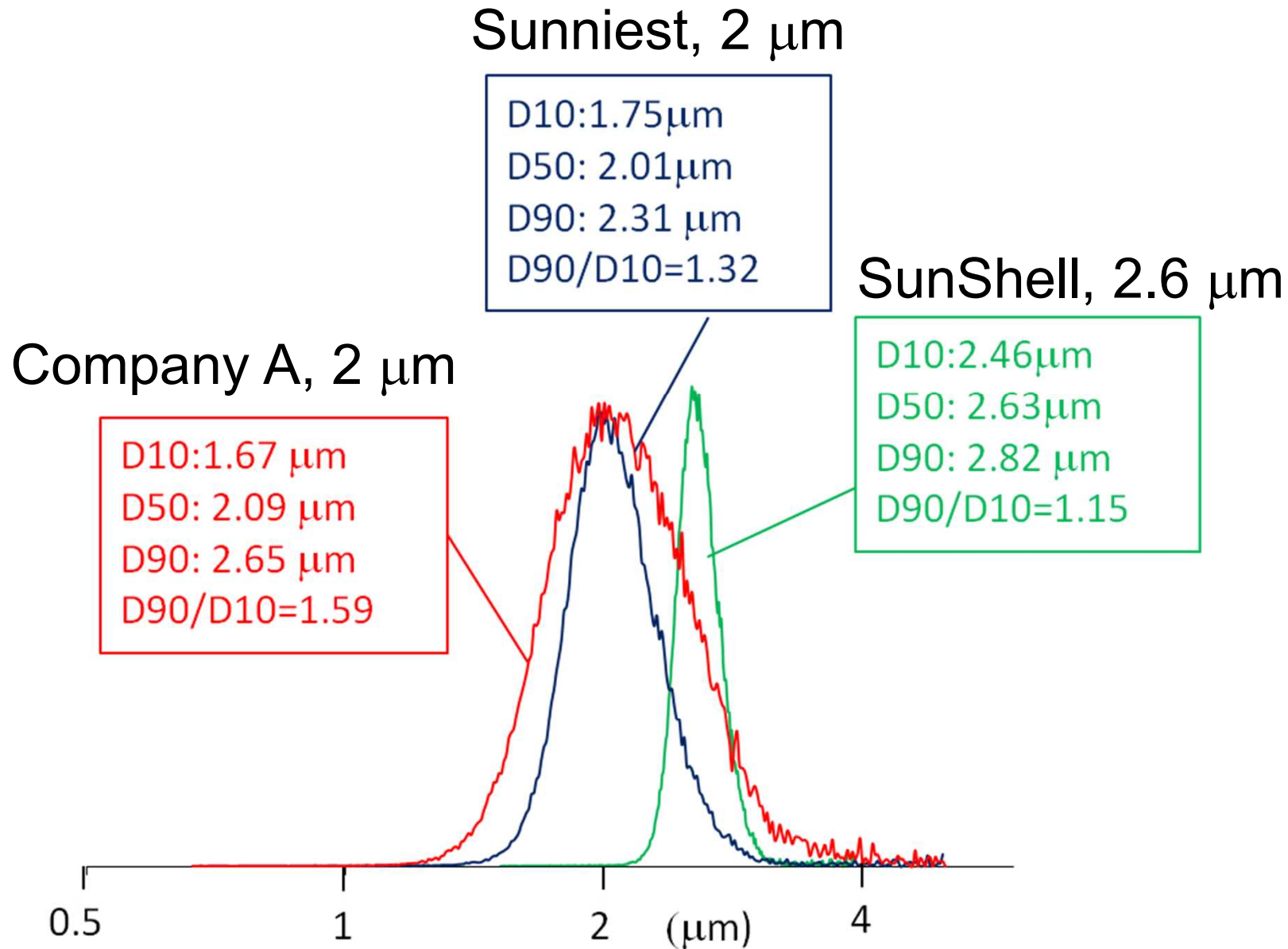
Coulter counter

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





# 粒度分布の比較





# 全多孔性シリカとコアシェル型シリカ2.6 $\mu\text{m}$ と5 $\mu\text{m}$ の標準試料の保持比較

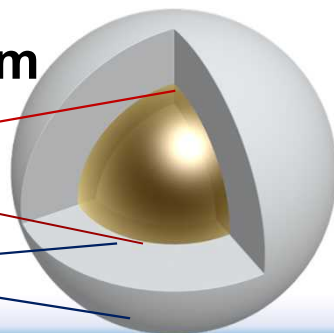
**NEW**

	全多孔性シリカ Sunniest C18, 5 $\mu\text{m}$		コアシェル型シリカ SunShell C18, 2.6 $\mu\text{m}$		コアシェル型シリカ SunShell C18, 5 $\mu\text{m}$	
比表面積	340 m <sup>2</sup> /g		150 m <sup>2</sup> /g		90 m <sup>2</sup> /g	
	保持時間(t <sub>R</sub> )	保持指数(k)	保持時間(t <sub>R</sub> )	保持指数(k)	保持時間(t <sub>R</sub> )	保持指数(k)
1) ウラシル	1.70	<b>0</b>	1.34	<b>0</b>	1.30	<b>0</b>
2) カフェイン	1.90	<b>0.12</b>	1.46	<b>0.09</b>	1.41	<b>0.08</b>
3) フェノール	2.17	<b>0.28</b>	1.65	<b>0.23</b>	1.57	<b>0.21</b>
4) ブチルベンゼン	13.35	<b>6.85</b>	10.87	<b>7.11</b>	8.93	<b>5.87</b>
5) o-ターフェニル	19.19	<b>10.29</b>	15.49	<b>10.56</b>	12.76	<b>8.82</b>
6) アミルベンゼン	19.96	<b>10.74</b>	16.56	<b>11.36</b>	13.43	<b>9.33</b>
7) トリフェニレン	24.35	<b>13.32</b>	21.95	<b>15.38</b>	16.76	<b>11.89</b>
相対値アミルベンゼン	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>83%</b>	<b>106%</b>	<b>67%</b>	<b>87%</b>

コアシェル型シリカ 5  $\mu\text{m}$

コア径 : 3.4  $\mu\text{m}$

シェル層厚 : 0.6  $\mu\text{m}$



移動相: Methanol/water(75:25)

温度: 40°C

カラム: 150 x 4.6 mm

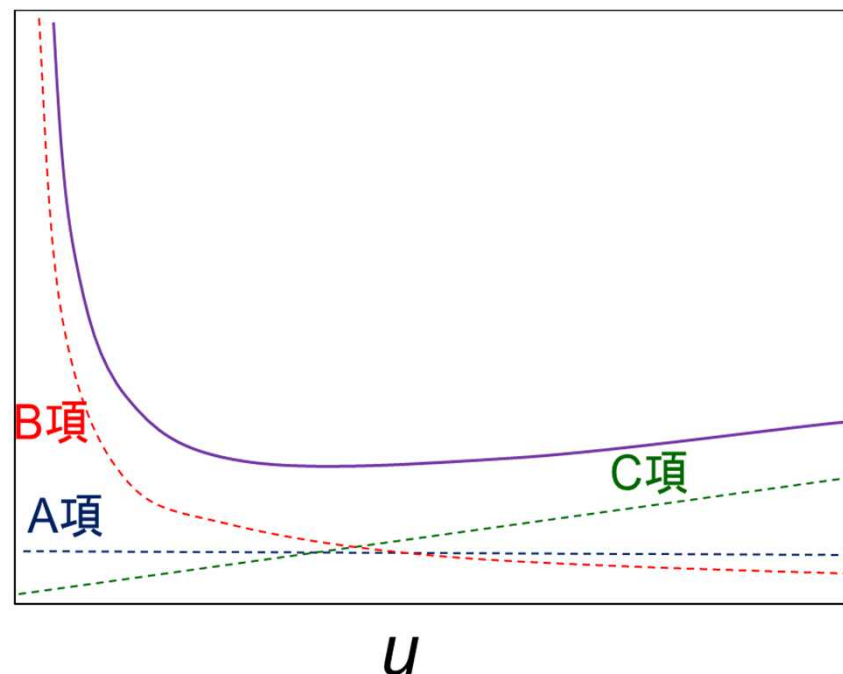
流速: 1.0 mL/min



# Van Deemterの式

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

$H$

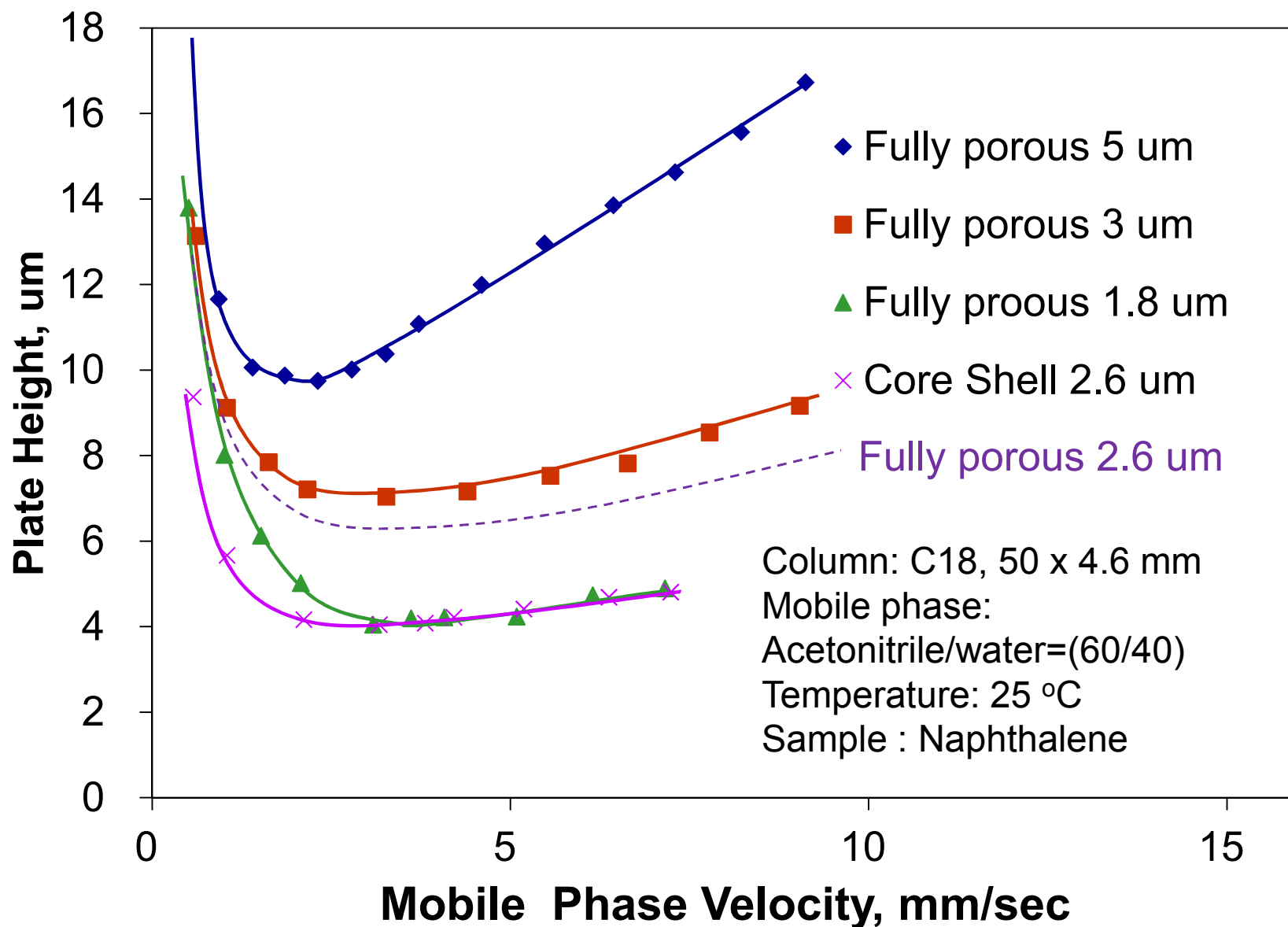


- A項 : 多流路拡散、渦巻き拡散 : 粒径を $d_p$
- B項 : カラム軸方向への拡散、アナライトの移動相中の拡散係数を $D_m$
- C項 : 物質移動の項 : 固定相-移動相での物質移動、粒子内での拡散による物質移動に依存

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



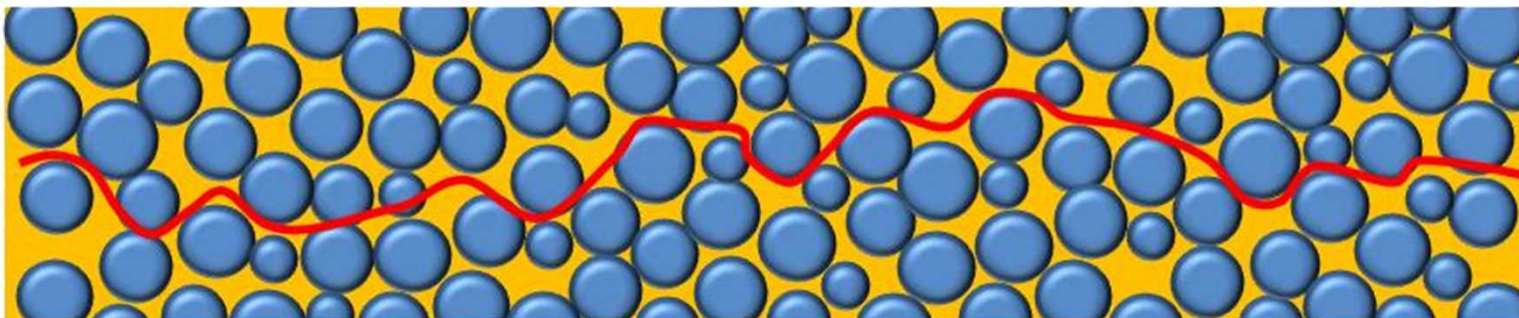
# 全多孔性とコアシェル型の理論段高さの比較



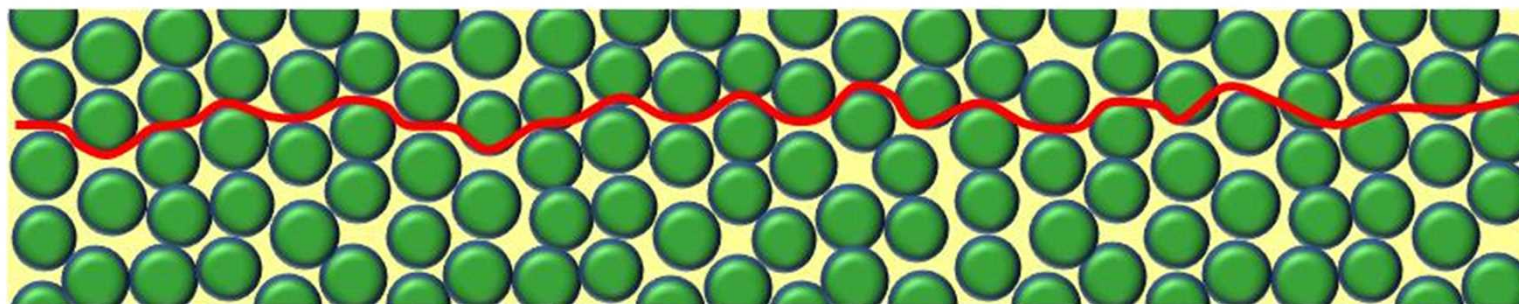


# 多流路拡散・渦巻き拡散が小さくなる

粒度分布の広い充填剤（一般的な全多孔性シリカ，粒子間空隙率:35%~40%）



粒度分布の狭充填剤（コアシェルシリカ，粒子間空隙率:30%~35%）



コアシェルシリカは・・・

粒度分布が狭いため、細密充填に近くなる

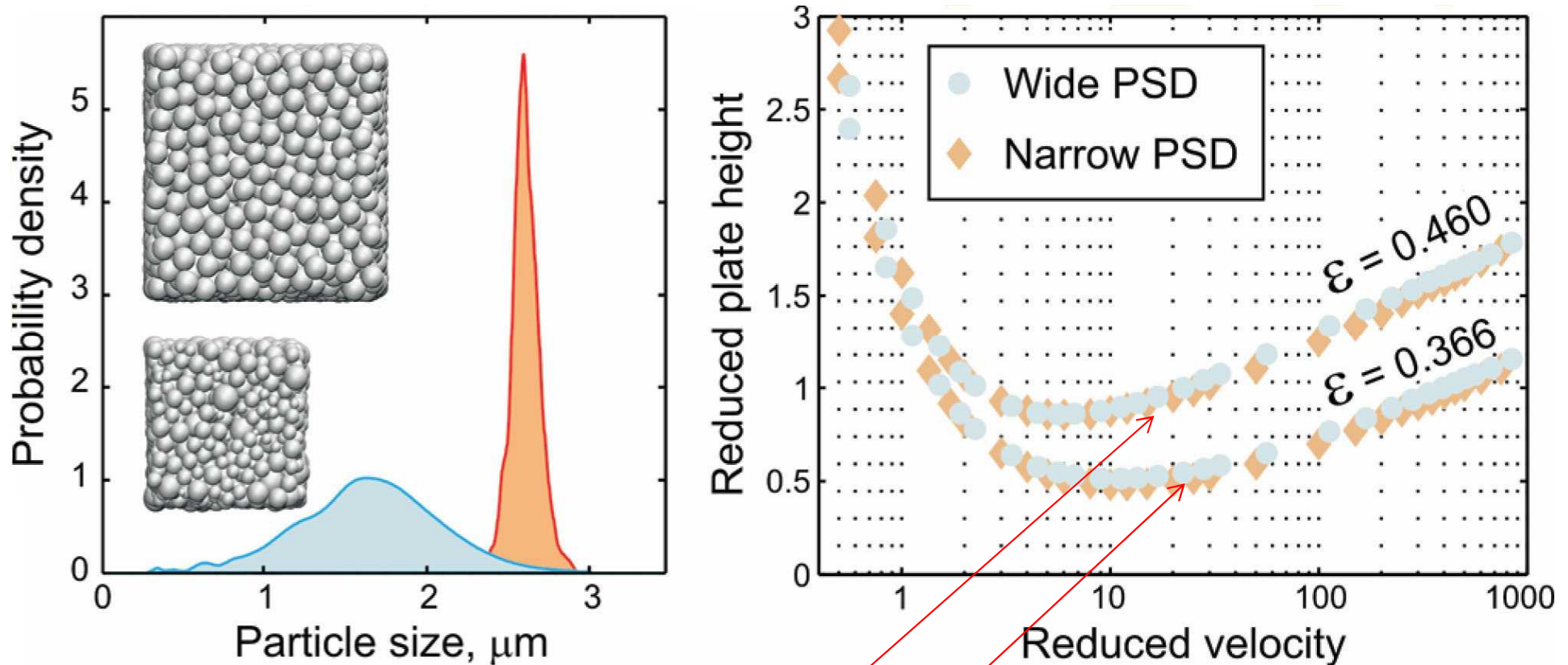
多流路拡散・渦巻き拡散が小さくなる → Ad<sub>p</sub>のAが小さくなる





# エディ拡散に対する粒度分布の影響

(多流路拡散, 渦巻き拡散)



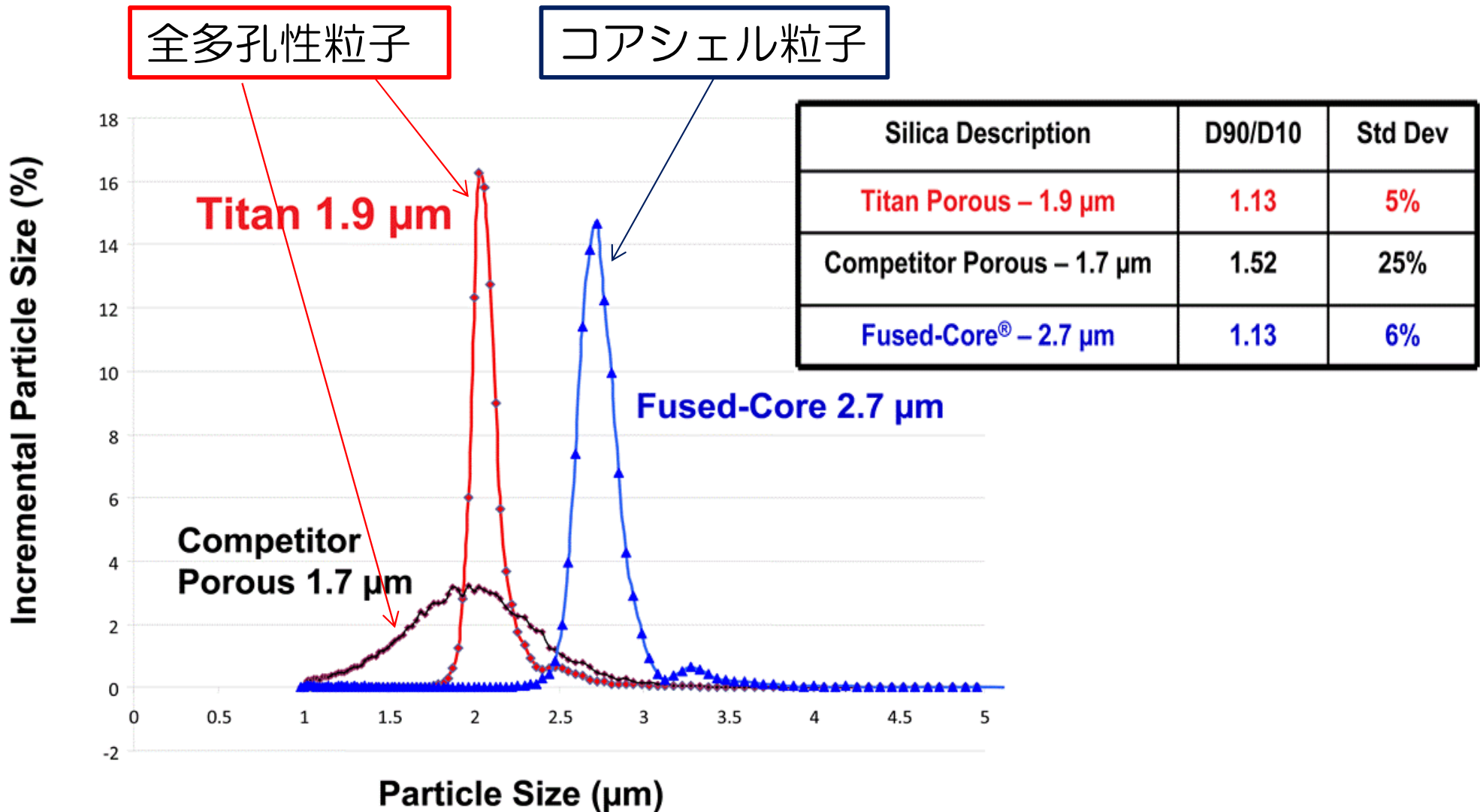
コンピュータ上で充填状態を創作

- 粗く充填
- 密に充填

粒度分布に関係なく  
密な充填状態がエディ拡散  
を小さくする



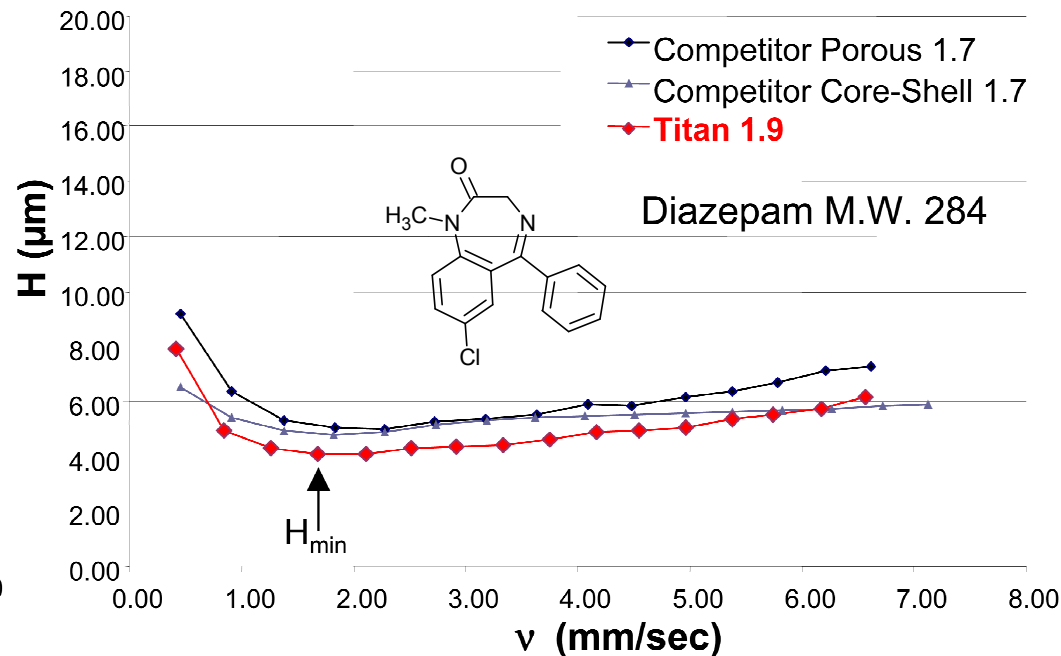
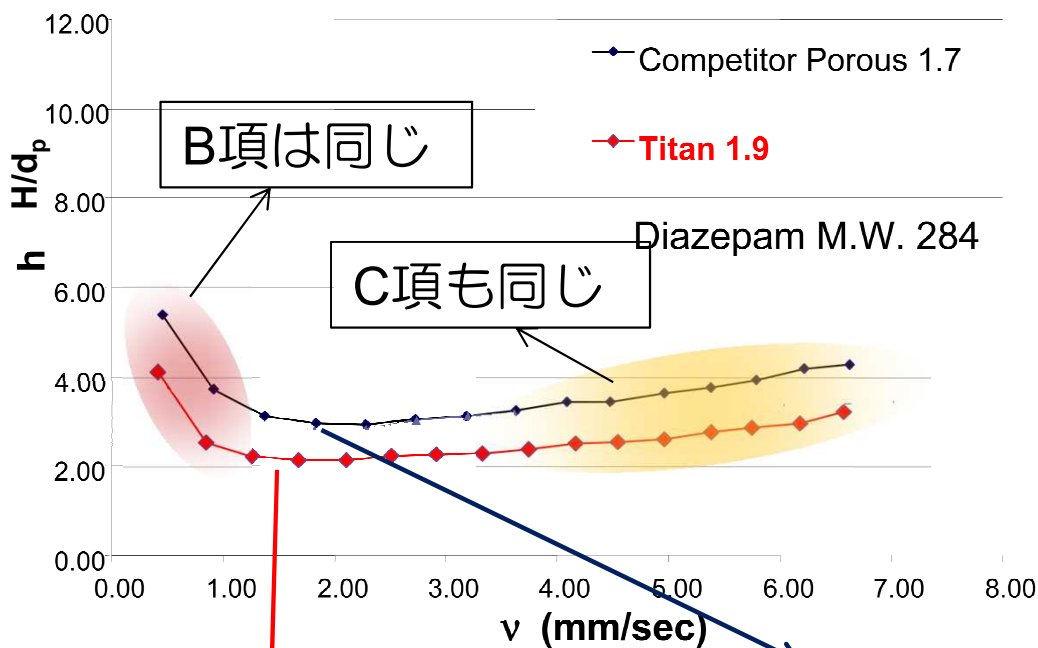
# 粒度分布の比較





# Van Deemter Plot の比較

Columns: C18, 5 cm x 3.0 mm (40:60 acetonitrile:water + 0.1% formic acid, 35 °C)



理論段高さが高い

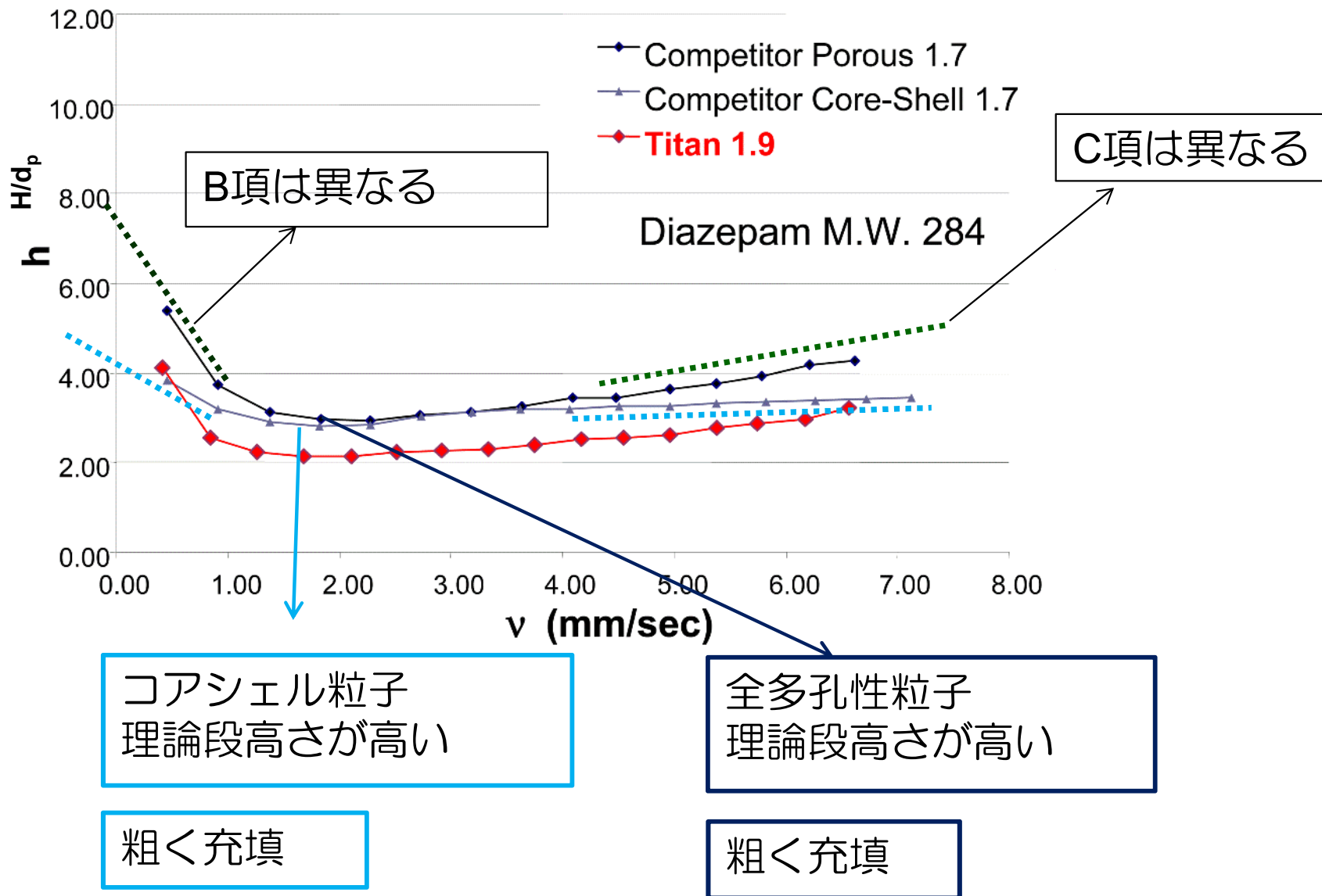
粗く充填

理論段高さが低い

密に充填



# Van Deemter Plot の比較

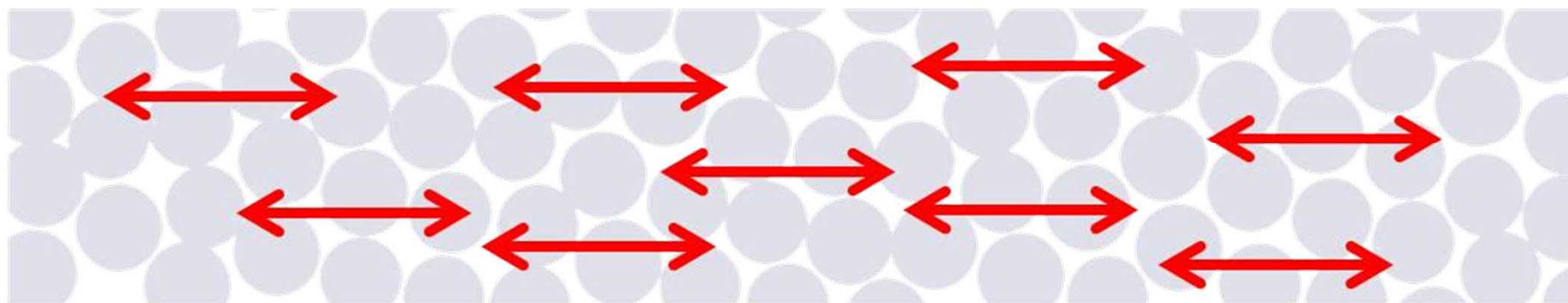




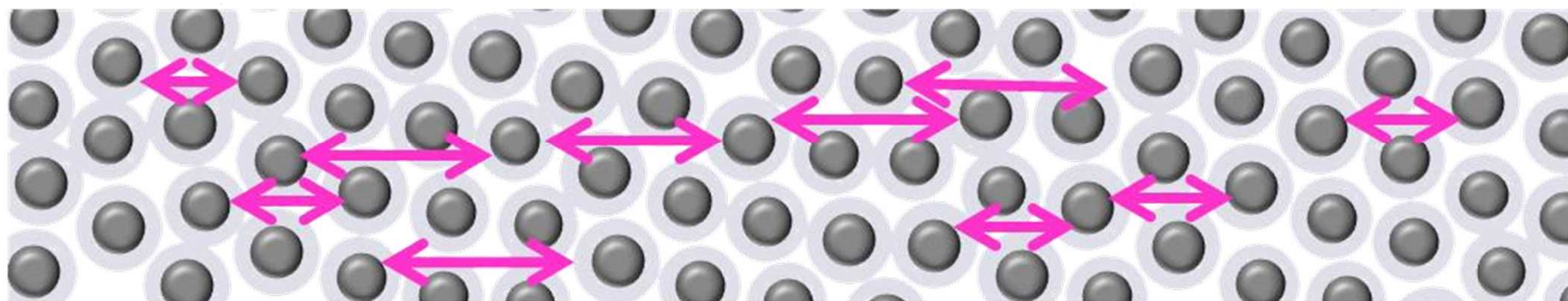
# カラム軸方向への拡散とB項

溶質は細孔内も粒子外と同様に拡散する

全多孔性充填剤



コアシェルシリカ



Flow rate (mL/min)

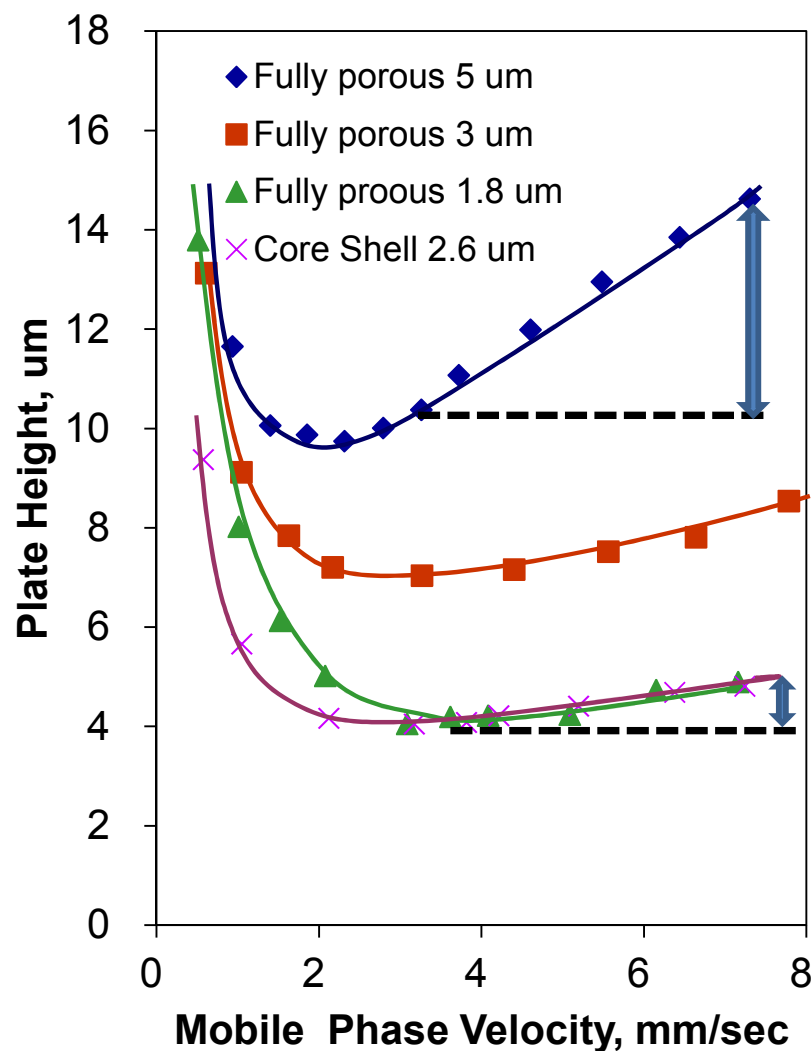
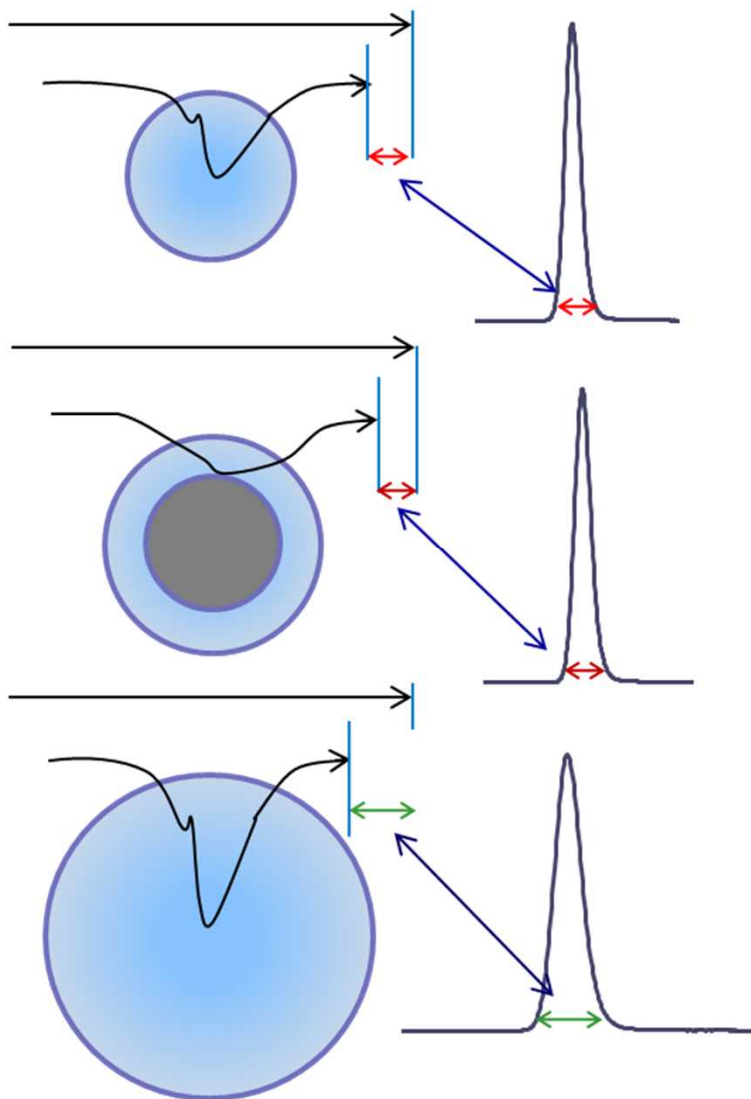
細孔のないコアの存在により、  
カラム軸方向の拡散が阻害される



B項が小さくなる



# 『拡散による物質移動（の遅れ）』とC項



コアシェルシリカは・・・

多孔質層が薄いため、溶質の拡散距離が短くなる → Cが小さくなる



# 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

非常に狭い粒度分布の核（フューズドシリカ）が入手できるため、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

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

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



# コアシェルカラムをHPLCで効率よく 使うために

全多孔性シリカカラムと比較して

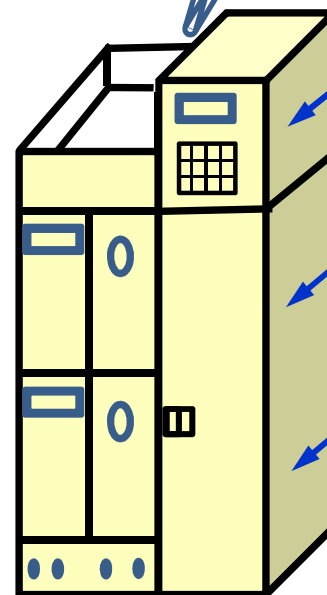


カラム内拡散が小さい

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





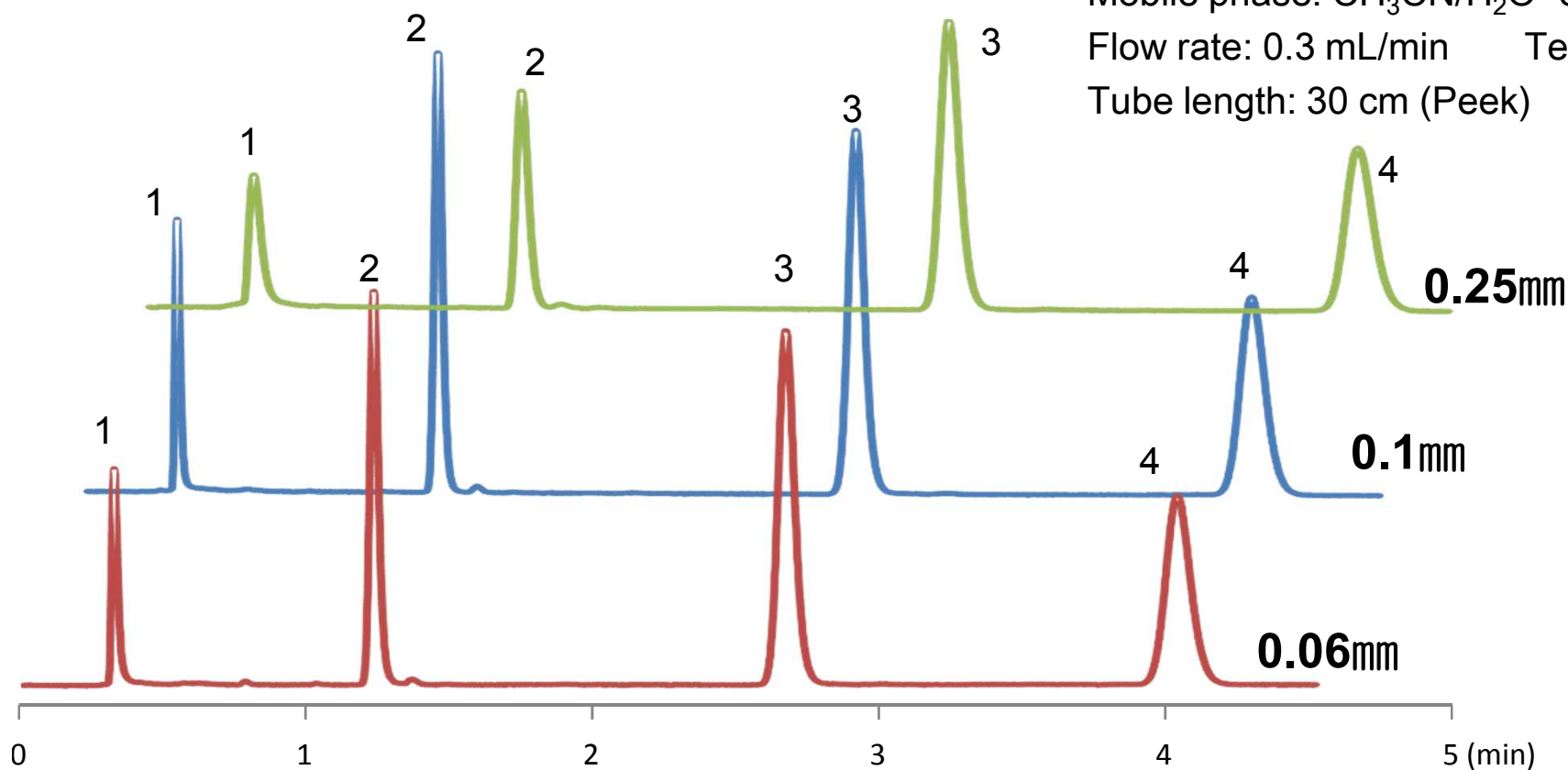
# カラムー検出器間における配管の影響

Column: SunShell C18, 2.6  $\mu$ m 50 x 2.1 mm

Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=60/40

Flow rate: 0.3 mL/min Temperature: ambient

Tube length: 30 cm (Peek)



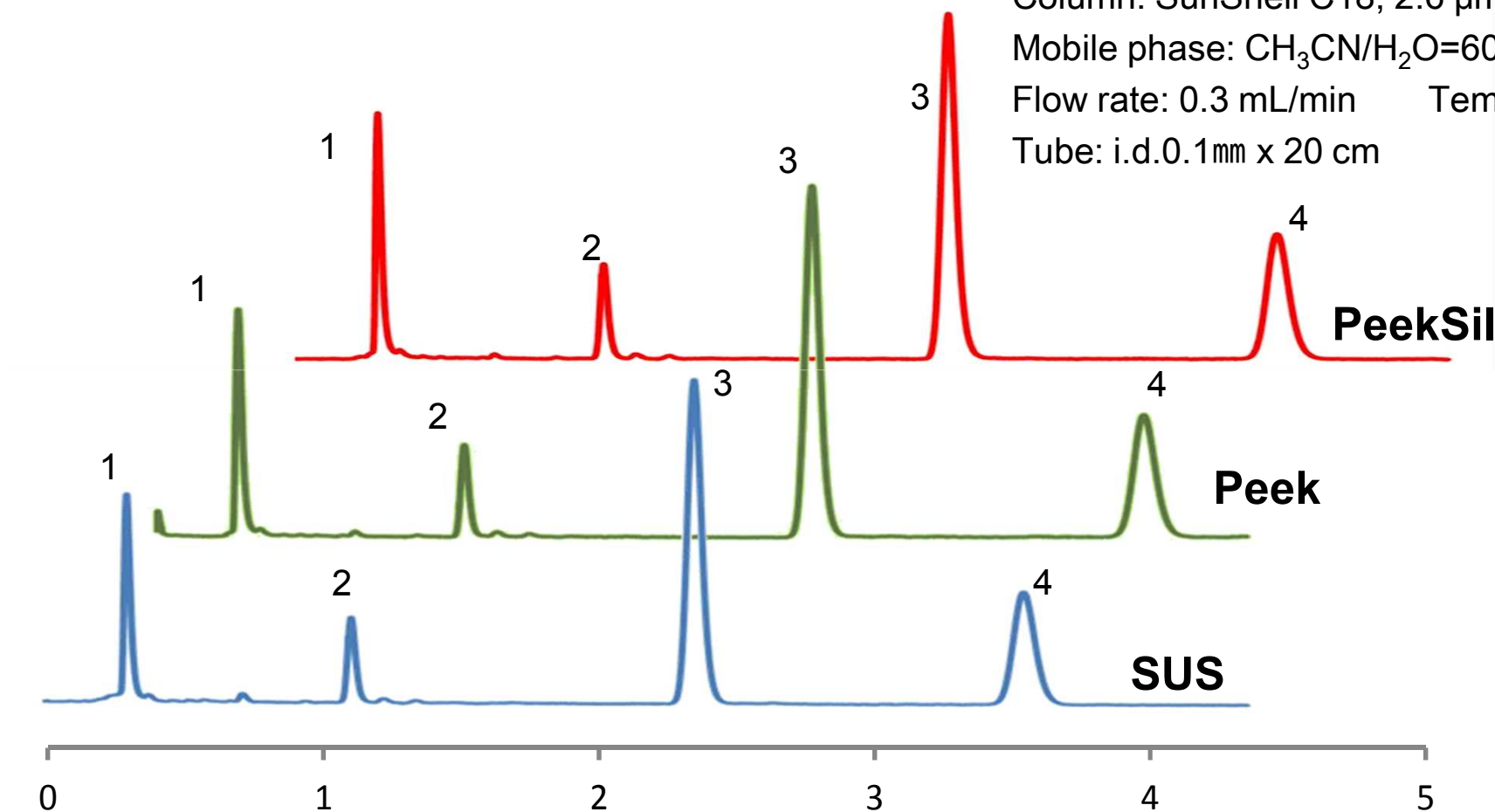
理論段数の平均値  
(n=3)

	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



# カラムー検出器間における配管の影響2

Column: SunShell C18, 2.6  $\mu$ m 50 x 2.1 mm  
Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=60/40  
Flow rate: 0.3 mL/min Temperature: ambient  
Tube: i.d.0.1mm x 20 cm

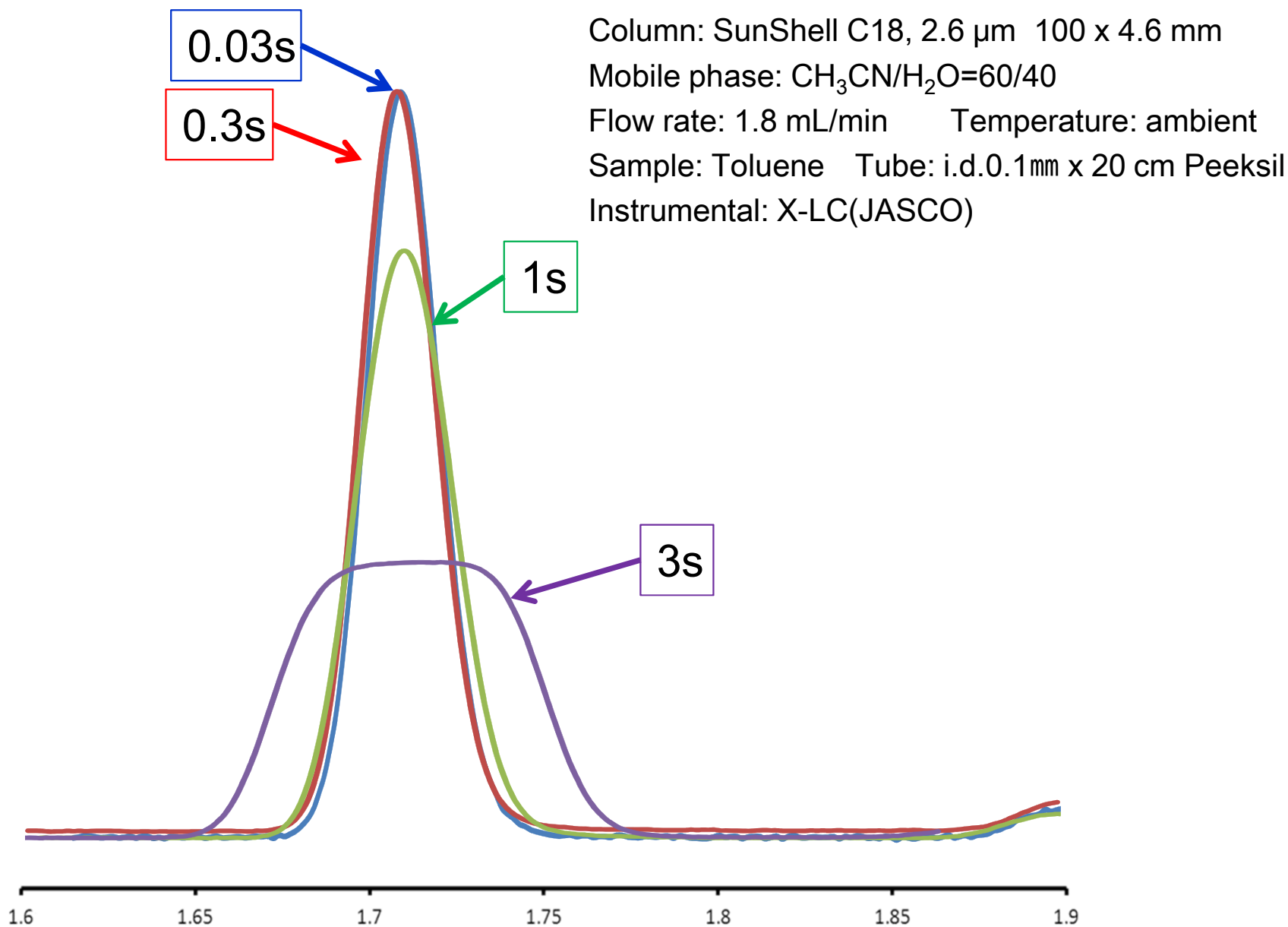


理論段数の平均値  
(n=3)

	SUS	Peek	PeekSil
理論段数(1)	769	780	855
理論段数(2)	6572	6654	6985
理論段数(3)	9520	9406	9488
理論段数(4)	9348	9163	9227

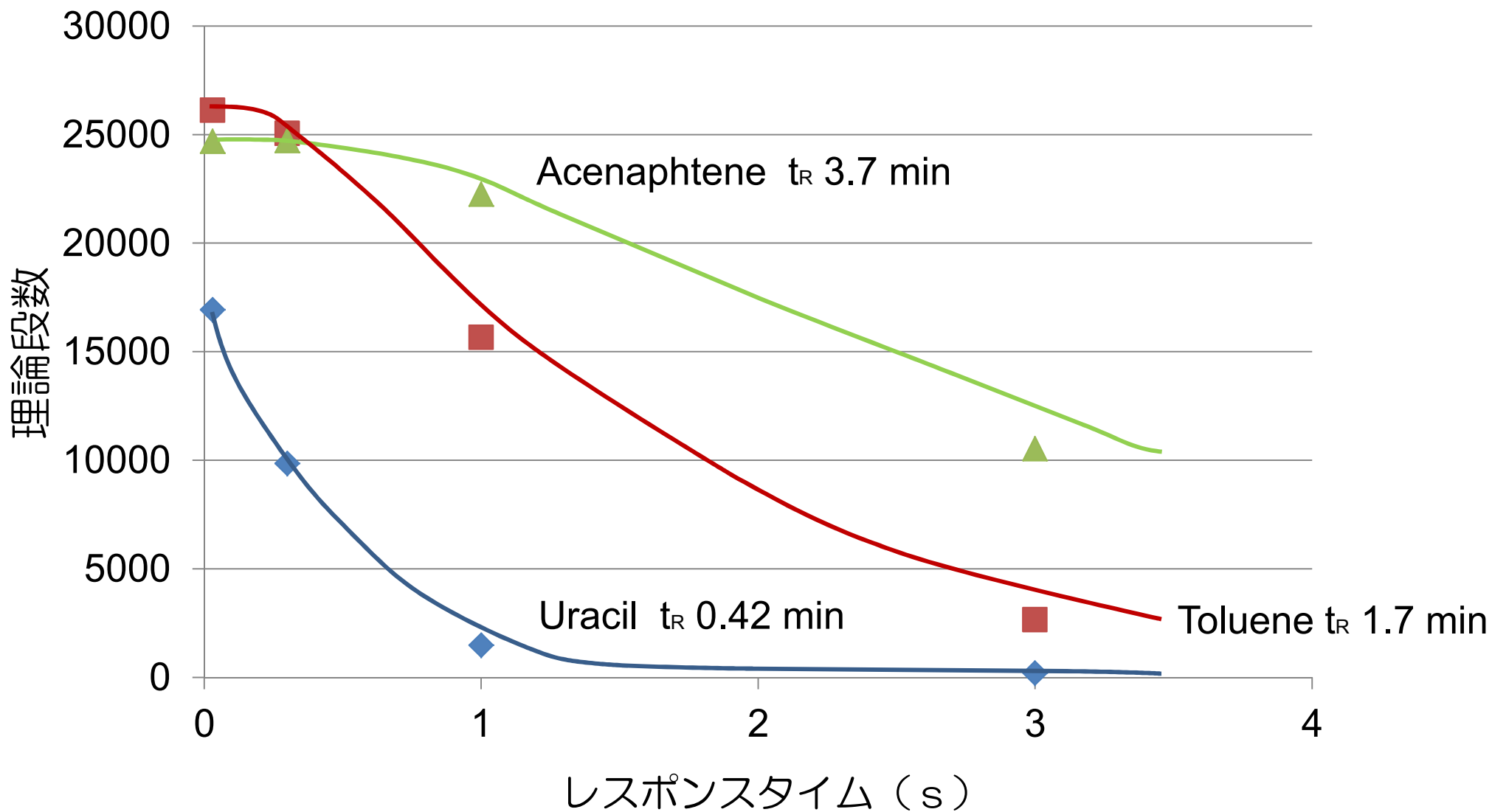


# 検出器レスポンスタイムの影響





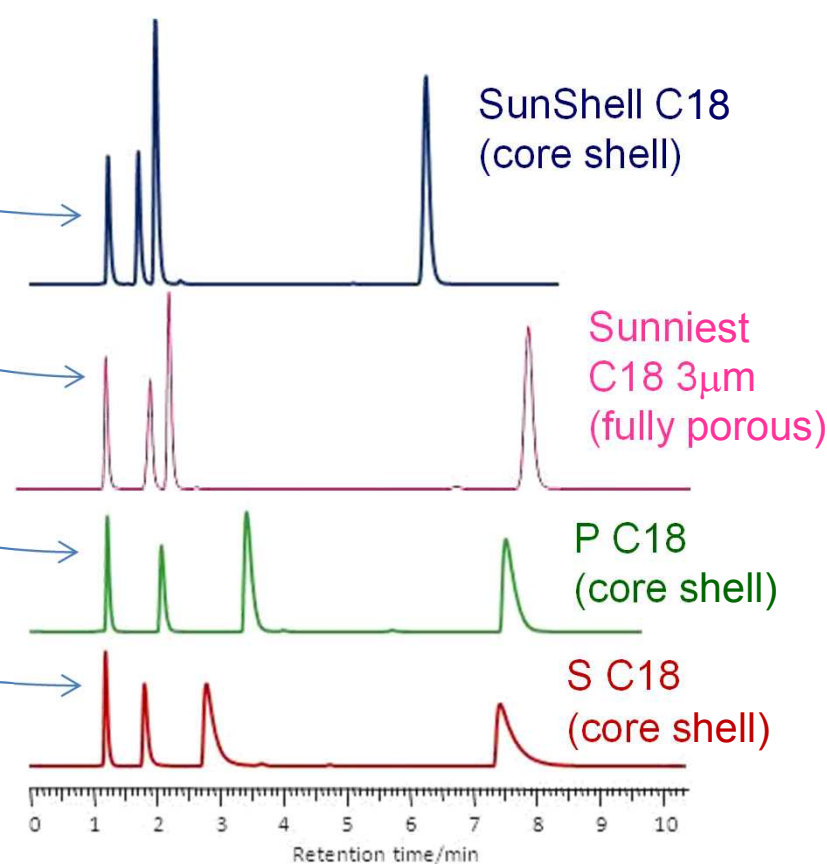
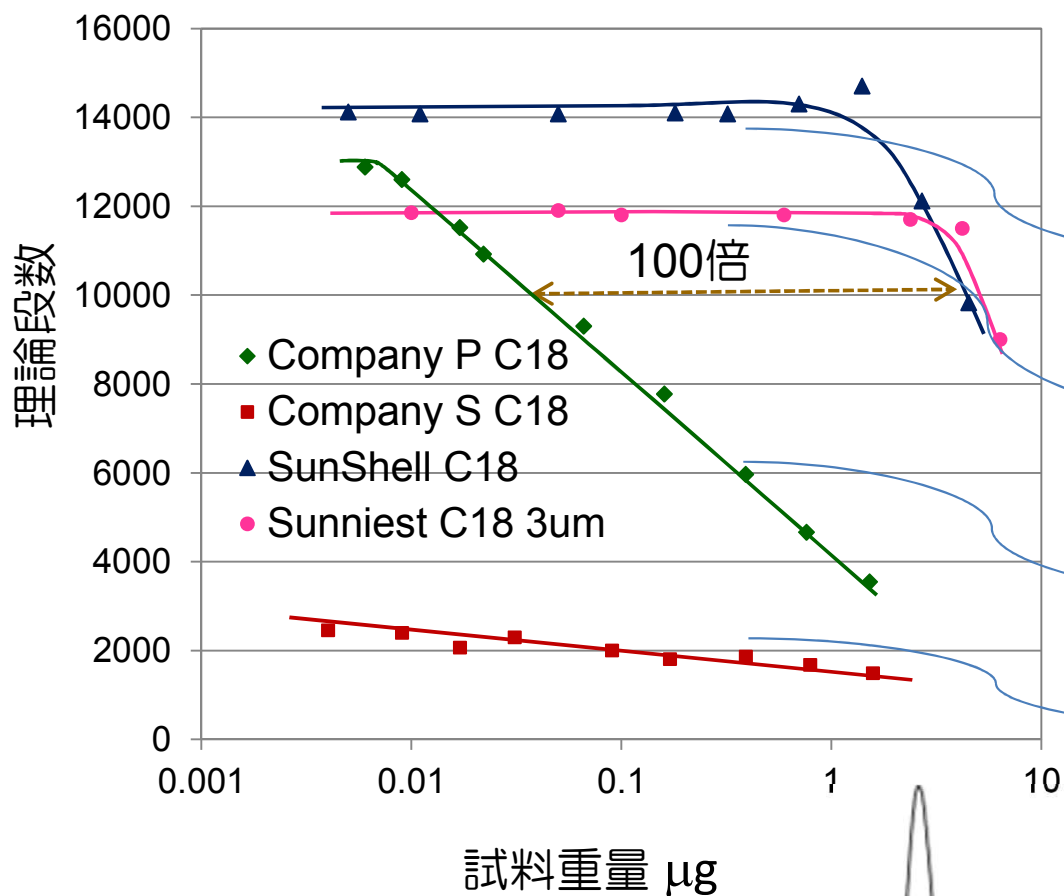
# 検出器レスポンスタイムの影響



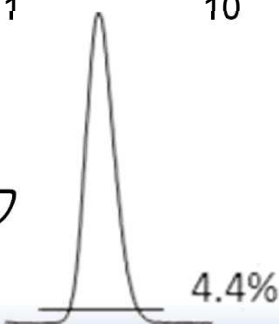


# アミトリプチリンの負荷量の比較

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 (5σ法)

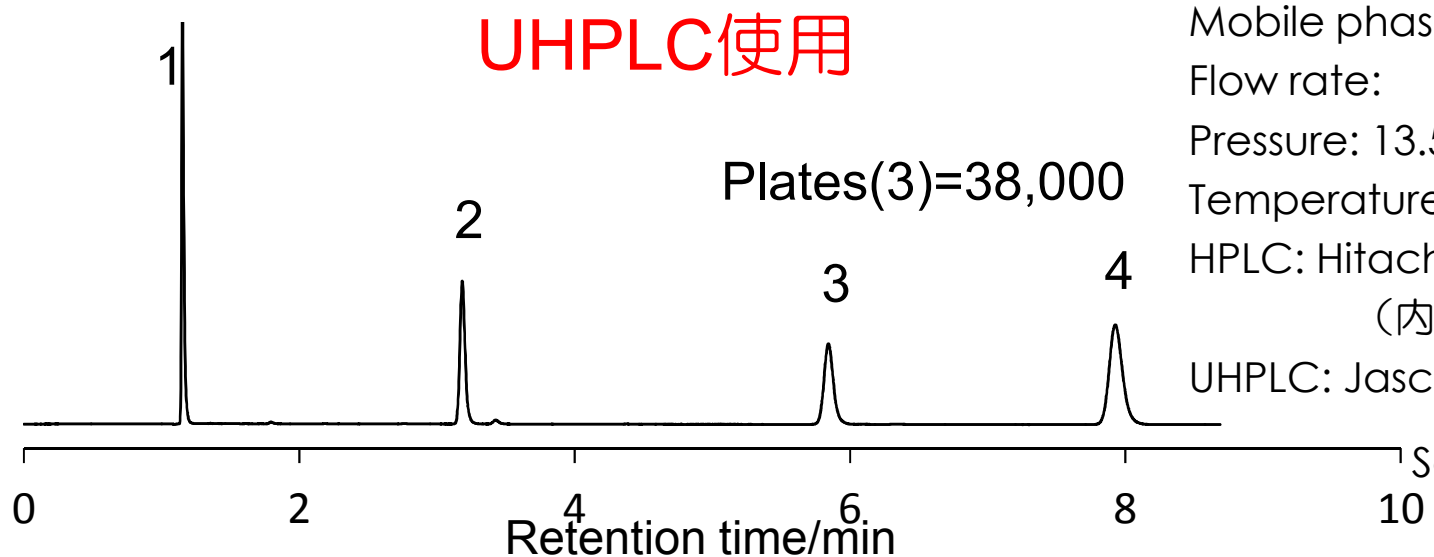


試料: 1 = ウラシル, 2 = プロプラノロール,  
3 = ノルトリプチリン, 4 = アミトリプチリン

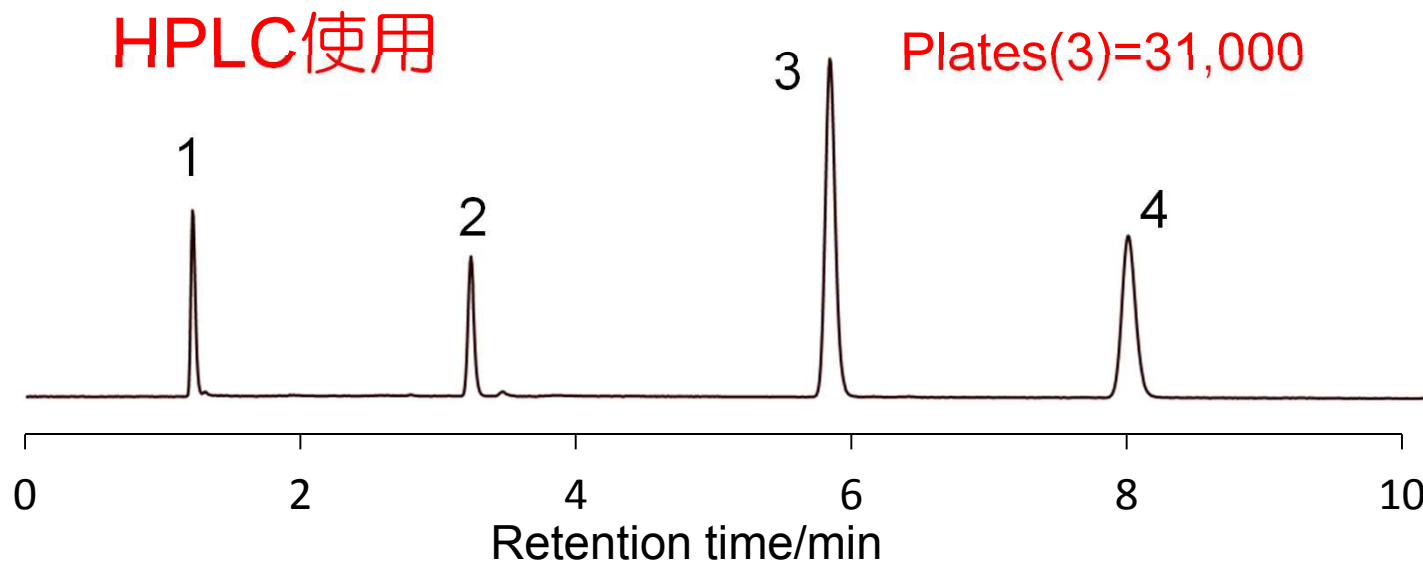


# コアシェルC18の標準試料の分離例 UHPLCとHPLCの比較

Column: SunShell C18, 2.6  $\mu$ m 150 x 4.6 mm  
Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=70/30  
Flow rate: 1.0 mL/min  
Pressure: 13.5 MPa  
Temperature: ambient  
HPLC: Hitachi LaChrom ELITE  
(内径0.25mmの配管仕様)  
UHPLC: Jasco X-LC



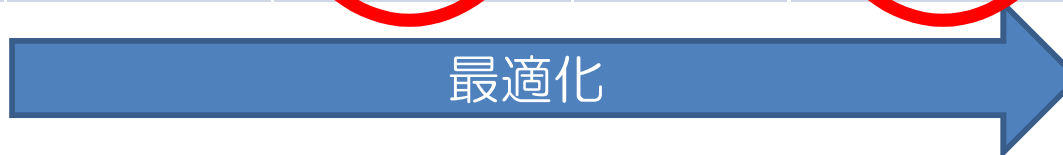
Sample: 1 = Uracil  
2 = Toluene  
3 = Acenaphthene  
4 = BUtylbenzene





# HPLCをコアシェルカラムに最適化すると

	最適化前	レスポンスタイム	配管	マイクロフローセル	UHPLC
5 $\mu\text{m}$ 全多孔性カラム	10141	10463	11195	11738	11637
3 $\mu\text{m}$ 全多孔性カラム	15039	16494	17555	17969	18135
2.6 $\mu\text{m}$ コアシェルカラム	14810	19819	22921	27146	28208

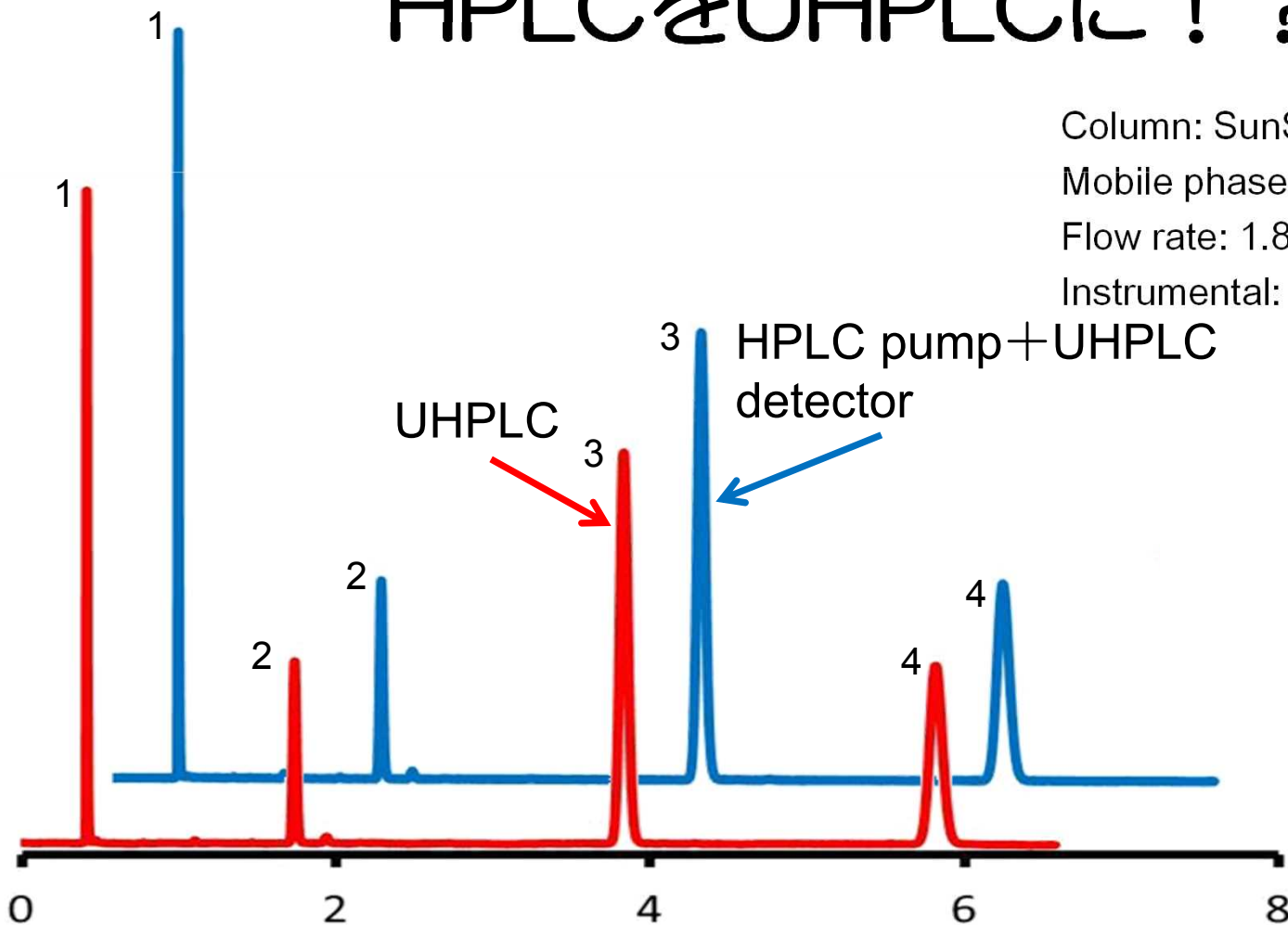


**HPLCでも最適化を行えばコアシェルカラムをUHPLCに近い性能で使うことができることがある**



# HPLCをUHPLCに！？

Column: SunShell C18, 2.6 μm 100 x 4.6 mm  
 Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=60/40  
 Flow rate: 1.8 mL/min Temperature: ambient  
 Instrumental: X-LC, LC2000Plus (JASCO)



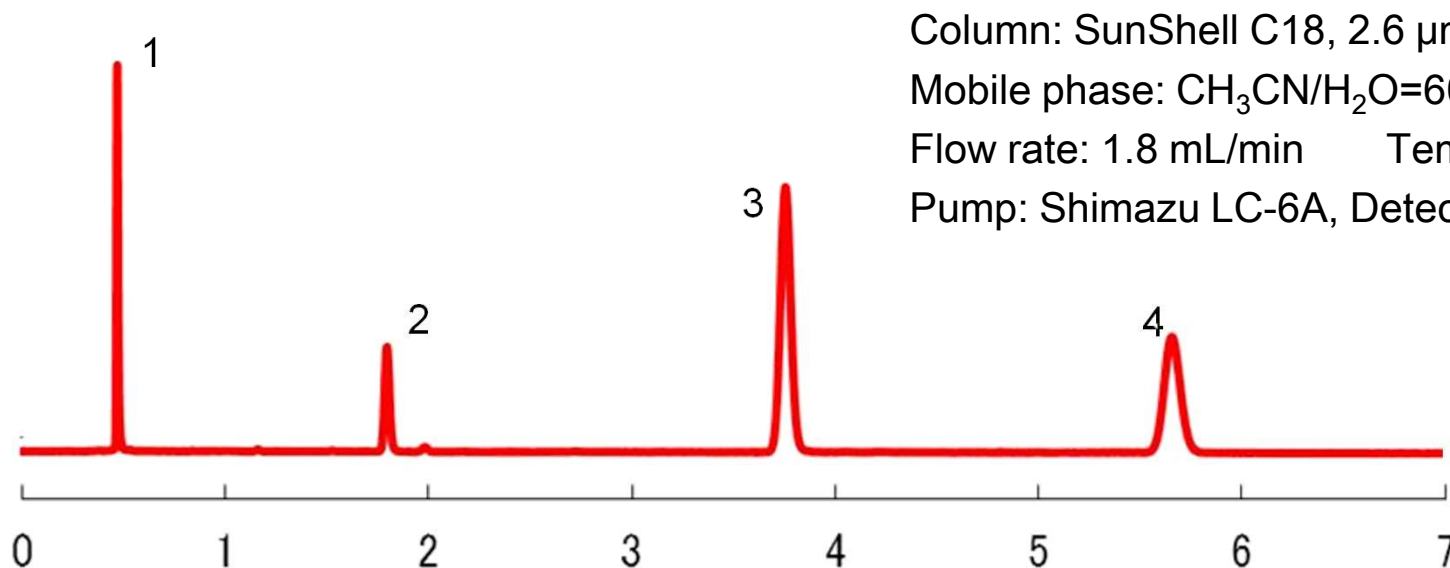
	HPLC	UHPLC
理論段数(1)	16835	16900
理論段数(2)	26013	26107
理論段数(3)	24548	24505
理論段数(4)	22823	22791







# 旧式HPLCポンプ+UHPLC検出器



Column: SunShell C18, 2.6  $\mu$ m 100 x 4.6 mm

Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=60/40

Flow rate: 1.8 mL/min Temperature: ambient

Pump: Shimadzu LC-6A, Detector: X-LC3075UV

	理論段数(1)	理論段数(2)	理論段数(3)	理論段数(4)
HPLC	16944	25727	24933	23211





## まとめ

- コアシェル粒子は、全多孔性シリカ粒子と化学的な特徴は同じである
- コアシェルカラムは、カラム内拡散が小さく、物質移動が速いため高理論段数が得られる
- 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、試料負荷量に注意が必要である
- HPLCポンプにUHPLC検出器を組み合わせて使用した場合、UHPLCと同等の結果が得られた