

Technical Review

コアシェル型 C18 充填剤の特性

長江 徳和・塚本 友康

Characteristics of superficially porous (core shell) C18 particle

Norikazu Nagae, Tomoyasu Tsukamoto

ChromaNik Technologies Inc.

6-3-1 Namiyoke, Minato-ku, Osaka 552-0001, Japan.

Abstract

Superficially porous particle (core shell particle) has been available as an alternative to using sub-2 μ m particle for HPLC or UHPLC. Core shell particles are composed of a 1.2 to 1.9 μ m solid core encircled a 0.25 μ m to 0.5 μ m porous layer. Especially a 2.6 μ m or 2.7 μ m core shell particle shows a half back pressure and almost the same efficiency to compare with sub-2 μ m particle because of a large particle and reducing mass transfer due to a thin porous silica layer. In this study, separation characteristics of a core shell particle C18 column was compared with 2 μ m and sub 2 μ m particle C18 columns and the availability of a core shell particle C18 column for a routine analysis instead of a 5 μ m particle column was evaluated.

Keywords: Superficially porous particle, Core shell, C18

1. 緒言

1969年に Jack Kirkland により発表された HPLC に用いられていた充填剤はペリキュラー型シリカと呼ばれていた表面多孔性シリカであった。これは直径30 μ m の核の表面に約 0.5 μ m の多孔質層が存在するシリカで、多孔質層が薄く、物質移動が速く達成されるため、当時は高性能な分離が期待された。しかし数年後には粒子径10 μ m の全多孔性シリカが多用されるようになり、表面多孔性シリカは試料負荷量が少なく、理論段数が高くないためほとんど使用されることはなくなった。その後2000年に再び Kirkland らにより、直径 4 μ m の核とその表面に細孔径30nm の多孔質層を0.5 μ m の厚さで形成させた粒子径 5 μ m の粒子がタンパク質の高速分離に有効であると発表[1]され、再度表面多孔性充填剤が注目を浴

びるようになった。しかしこれらの表面多孔性粒子は粒子全体に対する多孔質部の割合が低く、全多孔性粒子に比べ分離場として作用する表面積が小さく、試料負荷量が少ない欠点が指摘されていた。三度 Kirkland のグループは2007年に核の直径を1.7 μ m にまで小さくし、0.5 μ m の厚さの多孔質層を有する表面多孔性粒子の有用性を発表[2]した。細孔径が 9 nm で低分子化合物の分離に適していることと、多孔質層の粒子全体に対する割合が75%と高いため、これまでの低い試料負荷量で問題視されていた欠点を克服した。この粒子径 2.7 μ m の表面多孔性充填剤はサブ 2 μ m の全多孔性充填剤とほぼ同じ理論段数が得られ、カラム背圧はサブ 2 μ m 充填剤の半分以下となり、従来の全多孔性充填剤と大きく異なった性能が報告されている。この表面多孔性粒子は Superficially

株式会社クロマニックテクノロジーズ
〒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: nagae@chromanik.co.jp

porous particle または Core shell particle (コアシェル粒子) と呼ばれている。現在粒子径2.6 μm や2.7 μm の表面多孔性であるコアシェル型の充填剤を充填したカラムが数社から市販されている。本報告ではコアシェル型 C18 充填剤の分離特性について全多孔性 C18 充填剤との比較を交え述べる。

2. コアシェル粒子の構造

コアシェル粒子は中心部の核 (Core) と外側の多孔質層 (Shell) の2つの異なるシリカから構成される。Advanced Materials Technology (AMT) 社のコアシェルシリカである Halo 粒子の構造を Figure 1 に示す。これは2007年に Kirkland らにより発表されたものであり、1.7 μm のフューズドシリカの核の周りを厚さ0.5 μm のシリカゲル層が覆っている。Figure 2 にはこのコアシェル粒子 (Halo) の電子顕微鏡写真を示す。この電子顕微鏡写真から一般的な全多孔性粒子に比べ、コアシェル粒子は粒子径分布が狭いことが確認できる。また、半分にスライスされた粒子の状態から、核としての

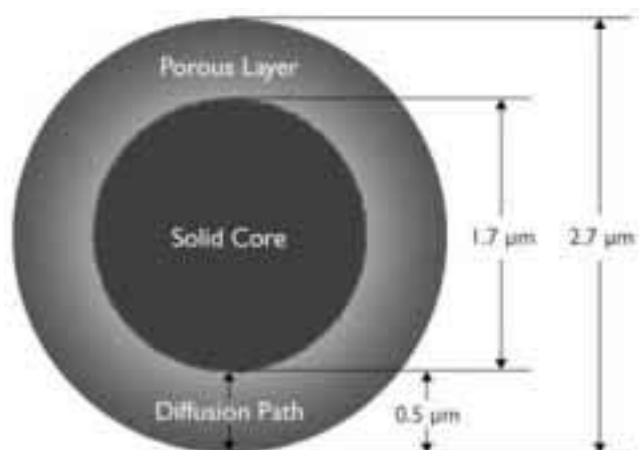


Figure 1. Structure of HALO particle (Core shell). (Courtesy of AMT.)

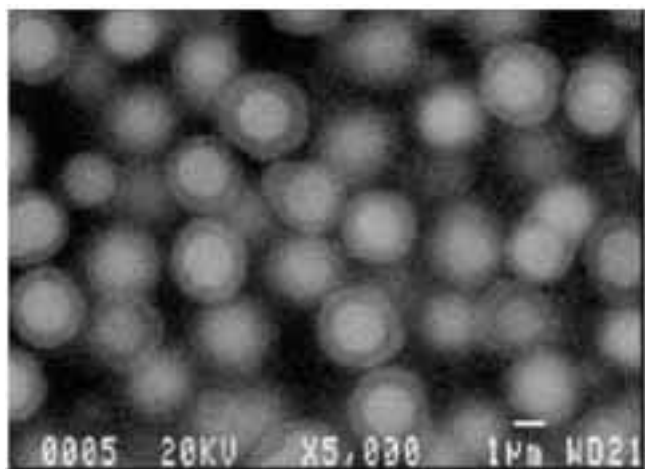


Figure 2. Scanning electron microscope (SEM) photograph of HALO particles. (Courtesy of AMT.)

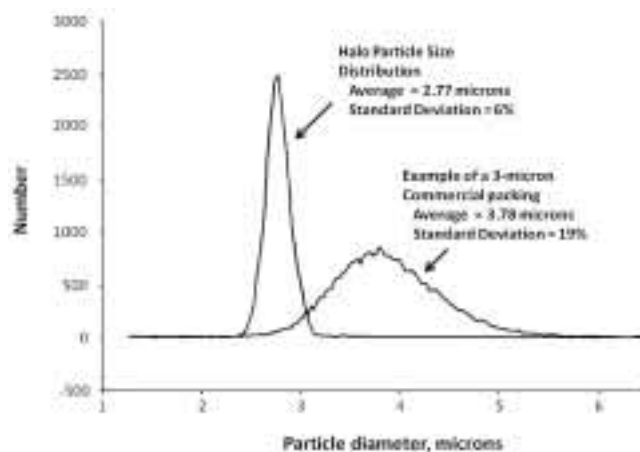


Figure 3. Comparison of particle distribution. (Courtesy of AMT.)

フューズドシリカとその外側の表面多孔性シリカが確認される。Figure 3 ではコアシェル粒子と一般的な全多孔性粒子の粒子径分布を比較した。粒子径分布は Beckman Coulter 社製 Multisizer III を用い測定した。両者の標準偏差 (Standard Deviation) はそれぞれ 6 % と 19 % となり、コアシェル粒子は全多孔性粒子に比べ粒子径分布の標準偏差が 1/3 以下の非常に狭い粒子径分布である。コアシェル型充填剤充填カラムは AMT 以外にも数社から販売されており、1.2 μm から 3.4 μm の核と 0.20 μm から 0.6 μm の表面多孔質層のものがあ、り、粒子径としては 1.7 μm から 4.6 μm が利用可能である。

3. 理論段高さとカラム背圧

5 μm 、3.5 μm および 1.8 μm の全多孔性 C18 シリカと 2.7 μm コアシェル型 C18 シリカ (Halo C18) の理論段高さと移動相線流速の関係 (Van Deemter Plot) を Figure 4 に示す。Van Deemter の式は以下の様に表される。

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

H、 d_p 、 u および D_m はそれぞれ理論段高さ、粒子径、移動相の線流速およびアナライトの移動相中の拡散係数である。A 項は多流路拡散・渦巻き拡散 (エディー拡散)、B 項はカラム軸方向への拡散、C 項は物質移動の項であり、特に C 項は固定相 - 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する。Van Deemter の式に示される様に、A 項は粒子径に比例し、C 項は粒子径の二乗に比例する。これは粒子径が小さくなるほど理論段高さは低くなり、カラム長を理論段高さで除した値の理論段数は高くなることを表している。全多孔性の C18 充填剤では粒子径が小さいほど理論段高さは低くなる。しかしながらコアシェル型 C18 の理論段高さは、粒子径が 2.7 μm でありながら、1.8 μm の全多孔性 C18 よりやや低くなった。粒子径のみが異なり他の物性が同じ全多孔性 C18 は A 項・B 項・C 項の定数 A・B・C は同じ値であると考えられるが、コアシェル型 C18 ではこの定数の

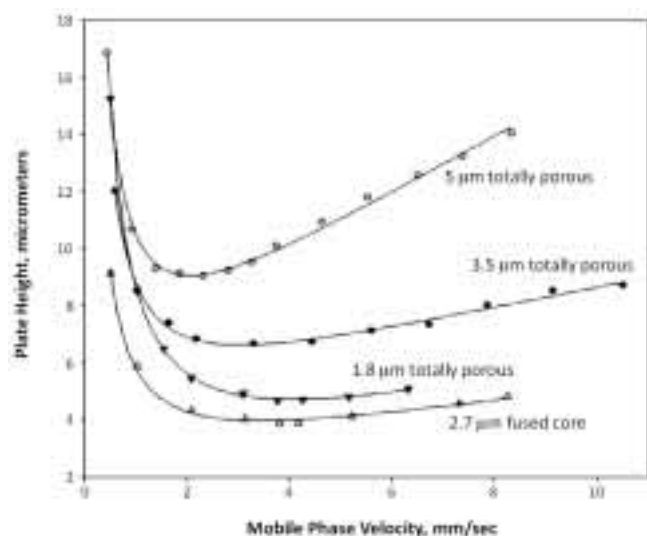


Figure 4. Comparison of Van Deemter plots.

Columns: 50 × 4.6 mm, Ace 5-C18, 5 μm; Zorbax XDB-C18, 3.5 μm; Zorbax XDB-C18, 1.8 μm; Halo C18, 2.7 μm. Solute: naphthalene. Mobile phase: 60% ACN/40% water. Temperature: 24°C. (Courtesy of AMT.)

値が異なっていると考えられる。Figure 4 の Van Deemter プロットを比較すると、2.7μm のコアシェル型 C18 は Van Deemter の式の定数 A・B・C 全てが小さくなると推測される。2.7μm のコアシェル型 C18 の最低理論段高さは 1.8μm の全多孔性 C18 よりも低いことから、2.7μm のコアシェル型 C18 の方が定数 A 値は小さくなっている。これは粒度分布の狭いコアシェル型粒子の大きな特性であると言える。カラム内の粒子間隙が狭いほど、カラム内の粒子間での多流路拡散・渦巻き拡散が小さくなり A 項の値が小さくなる。粒度分布の狭い粒子ほど、細密充填に近い状態で充填できることから、A 項の値を小さくできる[3]。仮に全多孔性 C18 粒子でもコアシェル型 C18 粒子と同じ粒度分布であれば、同様に A 項は小さくなると考えられる。しかしコアシェル型 C18 粒子と同等な粒度分布の全多孔性 C18 は現段階では市販されていない。これは全多孔性シリカの製造工程上の問題で、コアシェル型粒子と同等な粒度分布にするためには分級コストが高くなってしまふことが原因であると思われる。またコアシェル型粒子は核を内包しており、この核は無細孔のフューズドシリカであるため、溶質はこの核を通り抜けることはできない。全多孔性粒子ではその構造上溶質は拡散により粒子内を通り抜けるのに対し、コアシェル型粒子は内包している核により拡散が制御される。この結果溶質のカラム内での拡散はコアシェル型粒子の方が小さくなる。カラム軸方向への拡散が少ないほど、B 項は小さくなるので、コアシェル型粒子の B 項は全多孔性粒子の B 項より小さくなる。Figure 4 に示されているように、コアシェル型粒子の Halo C18 のプロットが 2 mm/sec 以下の線流速領域で低線流速側に膨らんでいることは B 項が小さくなっていることを裏付けている。さ

らに核を内包していることにより、C 項も小さくなる。コアシェル型粒子において、試料成分は表面の多孔質層内のみに拡散するため、粒子内に入り込み、その後出てくるまでの時間または移動距離が同じ粒子径の全多孔性粒子よりも短くなる。つまりコアシェル型粒子は粒子内での拡散による物質移動時間・移動距離が短くなるので、C 項の値が小さくなると考えられる。

Van Deemter の式の A 項に関わる考察として、Daneyko らは興味深い発表[4]をしている。彼らは粒度分布の狭いモデルと広いモデルについて、充填状態の密度を変えた場合のエディー拡散をコンピューターでシミュレーションした。その結果、エディー拡散値は粒度分布の広狭にはほとんど影響されず、高い充填密度で密な充填状態では小さく、また充填密度が低く粗い充填状態では大きくなった。つまり、粒度分布幅に関わらず、コンピューター上で、ある一定の充填密度の充填状態を作り出せば、エディー拡散はほぼ同じ値になることを示している。しかしながら実際にはコアシェル型粒子のような粒度分布の狭い粒子は密な充填が可能であるが、従来のある程度の分布幅を持つ全多孔性粒子はコアシェル型粒子ほど密な充填ができない。換言すれば、溶液に充填剤を分散させ、高圧で送液してカラム本体に充填する場合には、大きな粒子同士の隙間に小さい粒子が都合良く入ることは希であり、現実のカラム充填はコンピューターシミュレーションのようにはできないと推察される。したがってコアシェル型粒子は全多孔性粒子に比べエディー拡散は小さくなり、Van Deemter の式の A 項は小さくなる。

さらに粒子径 1.7μm のコアシェル型 C18 と全多孔性 C18 の高流速分析時の摩擦熱の影響を Gritti らが以下の様に報告[5]している。粒子径 1.7μm の C18 充填剤を充填した内径 2.1 mm、長さ 150 mm カラムに 1.1 mL/min の流速で、アセトニトリル・水の移動相を通液すると、摩擦熱の影響でカラム管表面の温度が上昇し、カラムの入口の温度に比べ、入口から流れ方向に 50 mm 離れた場所では最高 8℃ の差が確認された。また、カラム内部の温度分布として、中心部が最も高く放射線状に温度は下がる。中心部とカラム管壁部の温度差が大きいほど、それぞれの部位での移動相の移動速度が大きく異なり、ピークは広がって、理論段高さは高くなってしまふ。無孔性のフューズドシリカは多孔性シリカより熱伝導性が高いため、この中心部からの放射線状の温度差は、フューズドシリカの核を有するコアシェル型 C18 の方が全多孔性 C18 よりも小さくなる。したがって、上記のように粒子径が小さい全多孔性 C18 の場合には、線流速がある程度大きくなると、摩擦熱の影響で急激に理論段高さが上昇するが、コアシェル型 C18 は線流速が大きくなっても、全多孔性 C18 のような急激な理論段高さの上昇は認められなかった。高速分離を目指す場合にはこのような極端な分離条件になることも珍しいことではなく、コアシェル型 C18 の優位点として挙げられる。

Figure 5 にはサブ 2 μm の全多孔性 C18 と 2.7 μm のコア

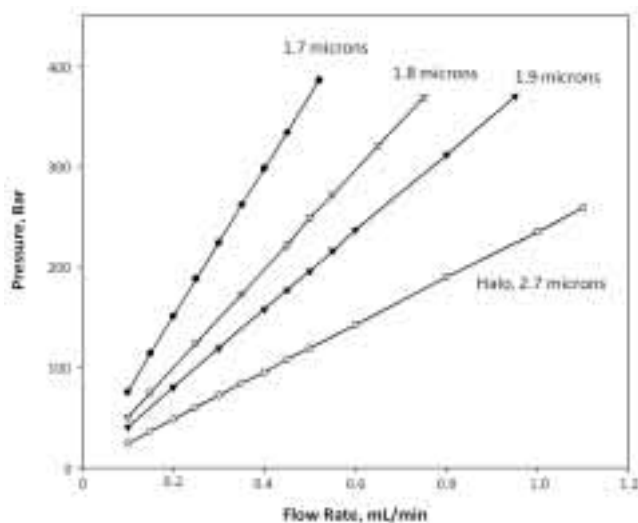


Figure 5. Back pressure plots for high-speed columns. Columns: 50×2.1 mm, C18. Mobile Phase: 70% ACN, 30% Water. Temperature: 24°C. Instrument: Agilent 1100. (Courtesy of AMT.)

シェル型 C18 (Halo) のカラム背圧の比較を示す。理論的にカラム背圧は粒子径の 2 乗に反比例するが、充填剤の粒度分布や充填密度によりカラム背圧は影響を受ける。Figure 5 に示されているように、ほぼ理論通りに粒子径が小さいほどカラム背圧は高くなっており、2.7 μm コアシェル型粒子は 1.7 μm の約 1/3、1.8 μm 粒子の約 1/2 のカラム背圧であった。

このような結果から、コアシェル型充填剤はその構造や狭い粒子径分布により、同じ粒子径の全多孔性充填剤の 1.5 倍の性能を発揮し、カラム背圧は 1/2 から 1/3 しかかからないことが確認された。

4. コアシェル型充填剤の試料負荷量

コアシェル型充填剤は内部に細孔のない核が存在しており、この核は体積分率として 20% から 40% 程度である。この核自体は分離場として寄与しないと考えられるため、全多孔

性充填剤と比較し、コアシェル型充填剤は分離場が 20% から 40% 少なくなり、試料の溶出時間や試料負荷量が減少すると考えられる。Table 1 に全多孔性充填剤とコアシェル型充填剤の保持時間、保持指数を示す。全多孔性充填剤の Sunniest C18 (クロマニックテクノロジーズ社製) と SunShell C18 (クロマニックテクノロジーズ社製) は同じ表面処理を施した C18 充填剤であり、両充填剤はシリカ基剤の違いのみを反映している。また Kinetex C18 (Phenomenex 社製) の値も参考値として表示した。全多孔性シリカ (Sunniest C18) の比表面積は 340 m^2/g であるのに対し、コアシェル型シリカ (SunShell C18) は 150 m^2/g であり、大きな差があるが、コアシェル型充填剤は見かけの比重が高く、同じサイズのカラムへの充填重量は全多孔性充填剤の約 1.8 倍であるので、同じサイズのカラム内の充填剤表面積の比較として 150 m^2/g ではなく、その 1.8 倍の 270 m^2/g として比較すべきである。全多孔性充填剤の比表面積 340 m^2/g とコアシェル型充填剤の換算比表面積 270 m^2/g は約 20% の差があり、この差がほぼ保持時間の差となっている。しかし、コアシェル型充填剤は細孔のない核を内包しており、細孔容積も小さくなっているため、 t_0 であるウラシルの溶出時間は短くなり、移動相の線流速が速くなっている。保持指数で比較すると両者はほぼ同じであり、同じ線流速になるように流速を調節すれば、保持時間を含めた分離は、全多孔性充填剤の Sunniest C18 とコアシェル型充填剤の SunShell C18 は同じであると言える。また同じコアシェル型充填剤である Kinetex C18 が保持時間および保持指数とも SunShell C18 の半分程度であったのは、コアシェル型シリカ基剤そのものの差、および C18 固定相の表面処理の差によるものと考えられる。トリフェニレンと *o*-ターフェニルの分離係数 (保持指数の比) は充填剤の立体選択性のパラメーターとして使用されることが多く、この立体選択性が高いほど C18 側鎖の結合密度が高い [6] と言われている。Kinetex C18 は、この分離係数が低いことから C18 側鎖の結合密度が低く、保持時間が短いと推察される。

中性化合物の試料負荷量は保持時間に依存する割合が大き

Table 1. Comparison of retention time and retention factor.

	Totally porous silica C18 Sunniest C18, 5 μm		Core shell silica C18 SunShell C18, 2.6 μm		Core shell silica C18 Kinetex C18, 2.6 μm	
Specific surface area	340 m^2/g		150 m^2/g		Effective 200 m^2/g	
	Retention time (min)	Retention factor	Retention time (min)	Retention factor	Retention time (min)	Retention factor
Uracil	1.70	0	1.35	0	1.36	0
Caffeine	1.90	0.12	1.47	0.09	1.49	0.10
Phenol	2.17	0.28	1.65	0.22	1.61	0.18
Butylbenzene	13.35	6.85	10.01	6.41	6.19	3.55
<i>o</i> -Terphenyl	19.19	10.29	14.24	9.55	8.15	4.99
Amylbenzene	19.96	10.74	15.09	10.18	8.75	5.43
Triphenylene	24.35	13.32	20.33	14.06	9.44	5.94

Column dimension: 150×4.6 mm i.d. Mobile phase: Methanol/water = 75/25. Flow rate: 1.0 mL/min. Temperature: 40°C.

く、コアシェル型充填剤の SunShell C18は全多孔性充填剤の Sunniest C18の20%減の試料負荷量であると推測されるが、この差は試料負荷量上限で分離することの少ない分析目的では大きな欠点にはならないと考えられる。Figure 6に全多孔性充填剤とコアシェル型充填剤の試料負荷量を示す。試料は残存シラノール基の影響を受けやすい塩基性化合物のアミトリプチリンを、また移動相はアセトニトリル/20mM リン酸緩衝液 (pH 7) = 60/40を用いた。同じ表面処理を施した全多孔性 Sunniest C18とコアシェル型 SunShell C18の試料負荷量の差は20%程度であった。これは先に述べた様に、それぞれのカラム内に充填された充填剤の表面積の差の20%が試料負荷量の差となったと推察される。Brand K core shell C18と SunShell C18は両者ともコアシェル型充填剤であるが、10,000段での試料負荷量はそれぞれ0.03 μ gと3 μ gであり、100倍の差が認められた。Table 1に示されている様に、両充填剤の保持時間は2倍程度の差があるため、中性化合物は2倍程度の試料負荷量の差があると考えられるが、アミトリプチリンのような塩基性化合物は充填剤基材または表面処理方法で大きな試料負荷量差が出ると推察される。これはコアシェル型充填剤に限ったことではなく、全多孔性充填剤でも同様であり、エンドキャッピングを含めた表面処理の状態により塩基性化合物の溶出挙動は大きく変わることは良く知られている。コアシェル型シリカの多孔質層は現在2種類の構造が知られている。核の回りの多孔質層を一度の処理で合成するモノレイヤー構造[2]と、半導体の製造で知られているレイヤーバイレイヤー法を用い、厚さ50nmの多孔質層を多

数回重ね合わせたマルチレイヤー構造[7]がある。SunShell C18は前者のモノレイヤー多孔質層構造であり、Brand K core shell C18は後者のマルチレイヤー多孔質層構造である。後者のマルチレイヤー多孔質層の厚みが0.5 μ mの場合には10回の多孔質層の積み重ねになる。電子顕微鏡写真でこれらの多孔質層を比較すると、モノレイヤー構造は均一な状態であるのに対し、マルチレイヤー構造は年輪のように濃淡が観察され、多数回の表面処理が確認された。確定的なことは言えないが、ある条件下においてマルチレイヤー多孔質層では、最も外側の多孔質層のみが分離に寄与していると仮定すると、SunShell C18と Brand K core shell C18のアミトリプチリンの試料負荷量の100倍の差は必ずしも大きすぎるとは言えず、分離に寄与する多孔質層の厚みの差も試料負荷量に与える大きな要因であると推察される。また、Brand A core shell C18は試料負荷量が0.01 μ gから2 μ gまで理論段数は2,000段前後であり、試料負荷量に関わらず、アミトリプチリンピークはひどくテーリングした。この Brand A core shell C18には塩基性化合物のテーリングの原因となる残存シラノール基が多く存在していると推察される。Figure 7にはコアシェル型 C18カラムと全多孔性 C18カラムを用いたウラシル、プロプラノロール、ノルトリプチリンおよびアミトリプチリンの分離を示す。アミトリプチリンの注入量は0.32 μ gであり、Sun-

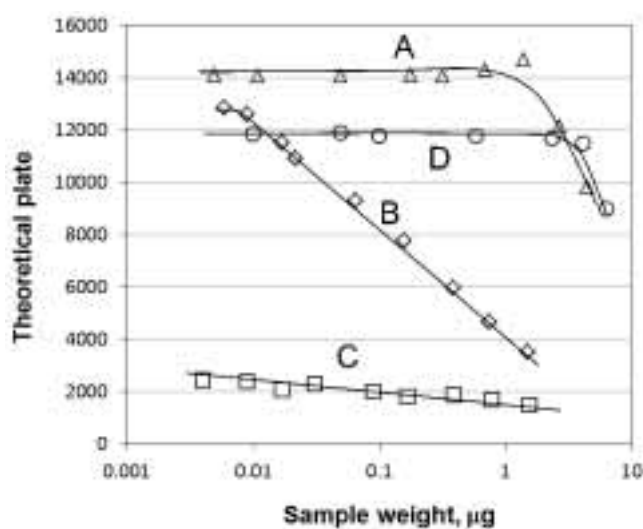


Figure 6. Loading capacity of amitriptyline.

Column: A) SunShell C18 2.6 μ m (150 $\times$ 4.6 mm i.d.), B) Brand K core shell C18 2.6 μ m (150 $\times$ 4.6 mm i.d.), C) Brand A core shell C18 2.7 μ m (150 $\times$ 4.6 mm i.d.), D) Totally porous Sunniest C18 3 μ m (150 $\times$ 4.6 mm i.d.). Mobile phase: Acetonitrile/20mM phosphate buffer pH7.0 = 60/40. Flow rate: 1.0 mL/min. Temperature: 40°C.

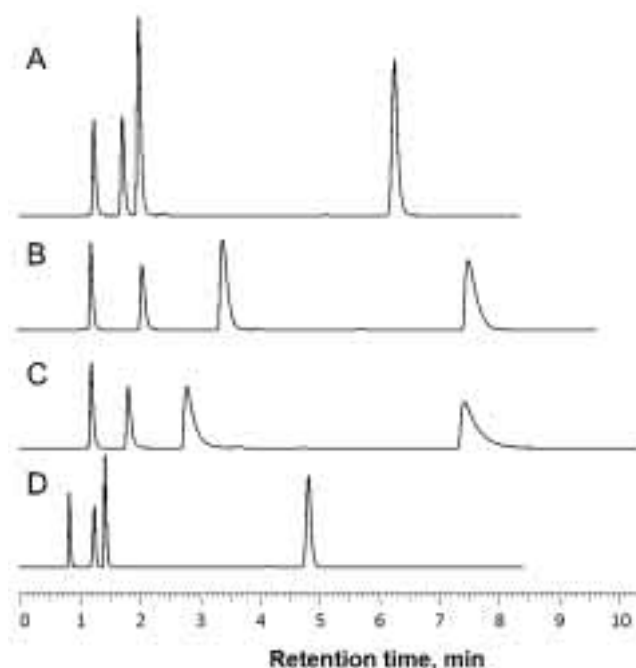


Figure 7. Separation of basic compounds.

Column: A) SunShell C18 2.6 μ m (150 $\times$ 4.6 mm i.d.), B) Brand K core shell C18 2.6 μ m (150 $\times$ 4.6 mm i.d.), C) Brand A core shell C18 2.7 μ m (150 $\times$ 4.6 mm i.d.), D) Totally porous Sunniest C18 3 μ m (150 $\times$ 4.6 mm i.d.). Mobile phase: Acetonitrile/20mM phosphate buffer pH7.0 = 60/40. Flow rate: 1.0 mL/min. Temperature: 40°C. Detection: UV@250 nm. Sample: 1 = Uracil, 2 = Propranolol, 3 = Nortriptyline, 4 = Amitriptyline.

Shell C18と Sunniest C18ではアミトリプチリンピークは試料過負荷になっておらず、シャープなピーク形状である。しかし Brand K core shell C18は試料過負荷になっており、アミトリプチリンピークはテーリングしている。Brand A core shell C18は試料負荷量が0.01 μ g から大きなテーリングを示し、理論段数も2,000段前後で低いため、試料過負荷の状態であるかないかは判別できない。

5. 全多孔性5 μ m カラムとコアシェル型2.6 μ m カラムの比較

2.6 μ m のコアシェル型 C18カラムは長さ100mm、内径4.6 mm のサイズで、UHPLC を用いると約24,000段の性能が発揮される。しかし UHPLC に比べ配管などのデッドボリュームが大きく、検出器のデータ取り込み間隔も20Hz 程度で UHPLC ほど短くない HPLC を用いると約20,000段に性能が下がる。つまり、2.6 μ m のコアシェル型 C18カラムは UPLC を用いれば、100%の性能が発揮され、全多孔性 Sub-2 μ m C18 と同等な段数であるが、HPLC を用いると80%の性能に留まることになる。Figure 8 には5 μ m の全多孔性 C18カラムと2.6 μ m のコアシェル型 C18カラムの解熱沈痛剤のイソクラティック溶離例を示す。カラムサイズは理論段数が同じ程度になるように、5 μ m の全多孔性 C18カラム (ACE C18、5 μ m) は長さ250mm、内径4.6mm と2.6 μ m のコアシェル型 C18カラム (SunShell C18、2.6 μ m) は長さ100mm、内径4.6 mm を使用した。分析条件は両カラムとも全く同じである。

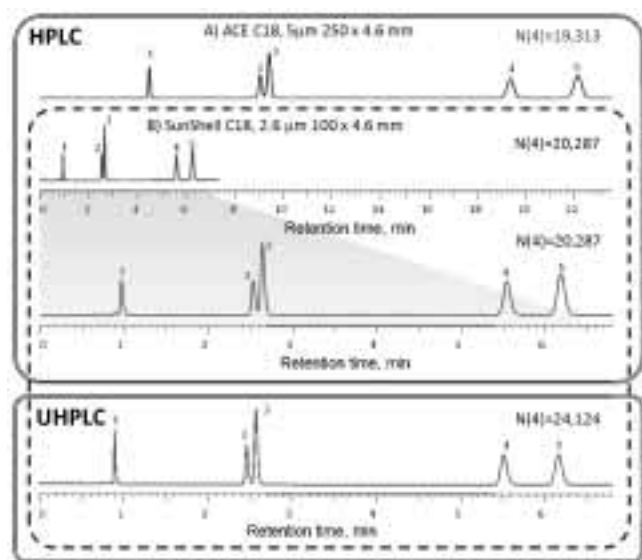


Figure 8. Separation of analgesics.

Column: A) ACE C18, 5 μ m 250 $\times$ 4.6 mm.i.d., B) SunShell C18, 2.6 μ m 100 $\times$ 4.6 mm.i.d.. Mobile phase: CH₃CN/20mM Phosphoric acid = 45/55. Flow rate: 1.0 mL/min. Temperature: 25°C. Pressure: 9.5 MPa for ACE C18 5 μ m, 13.4 MPa for SunShell C18 2.6 μ m. Detection: UV@230 nm. Sample: 1 = Benzylamine, 2 = Ketoprofen, 3 = Naproxen, 4 = Indomethacin, 5 = Ibuprofen. IC instrument: HPLC; Hitachi LaChrom ELITE, UHPLC; Jasco X-LC.

HPLC を用いた場合、インドメタシンの理論段数はそれぞれ 19,313段と20,287段と同程度であり、両カラムでほぼ同じ分離が得られた。コアシェル型 C18カラムはカラム長が短いことから、分析時間は5 μ m の全多孔性 C18カラムの1/3となった。つまり、一般的な5 μ m の全多孔性 C18カラムを使用したルーチン分析を、HPLC 装置や分離条件を変更することなく、カラムのみをコアシェル型 C18にすることにより、3倍の高速分離が達成された。この場合1分前後に溶出するピークはピーク容量が少なく、HPLC のデッドボリュームの影響が無視できなく、ピークが広がることを考慮しなければならない。2.6 μ m のコアシェル型 C18カラムを HPLC から UHPLC に変更するとインドメタシンの理論段数は24,124段となり、HPLC を用いた場合よりも20%高い値となった。これはこのカラムの持つ性能が100%発揮された結果である。さらにコアシェル型 C18カラムは Figure 3 の Van Deemter のプロットで示されているように、全多孔性 Sub-2 μ m C18 よりも移動相の線流速の低い領域 (1.5mm/s) でも理論段高さが大きく増加していない。したがって、5 μ m の全多孔性 C18の内径4.6mm のカラムで多用される1.0mL/min の流速 (線流速: 約1.5mm/s) では、全多孔性 Sub-2 μ m C18は理論段高さが高くなって段数が低下してしまうが、コアシェル型 C18カラムは理論段高さに大きな差がなく、段数が大きく下がることがない。つまり、分離条件を変更することなく一般的な5 μ m の全多孔性 C18カラムから移行する場合も、コアシェル型 C18カラムは全多孔性 Sub-2 μ m C18カラムよりも優れている。

6. コアシェル型 C18カラムの高速分離

Figure 9 にコアシェル型 C18カラム (SunShell C18、2.6 μ m) を用いた高速分離を示す。内径3.0mm、長さ30mm のカラムを用いて、グラジエント溶離を行った。8本のピークが1分以内に分離しており、それぞれのピークは1秒足らずのピーク幅で溶出している。全多孔性 Sub-2 μ m C18カラムの高速分離はよく知られているが、2.6 μ m のコアシェル型 C18カラムでも同様に高速分離が達成されることが示された。

7. まとめ

コアシェル型充填剤は核とその周りの表面多孔質層の構造および狭い粒子径分布から全多孔性充填剤の1.5倍程度の理論段数を発揮することができる。つまり2.7 μ m コアシェル型充填剤はサブ2 μ m 全多孔性充填剤と同じ性能であるが、カラム背圧はサブ2 μ m 全多孔性充填剤の1/2から1/3しかかからない。近年高分離ハイスループット分析用に100MPa 以上の耐圧性能を有する UHPLC およびサブ2 μ m 充填カラムが注目を集め、研究分野で利用され始めているが、コアシェル型充填剤充填カラムを用いれば、高価な超高压対応の送液ポンプは必要なく、耐圧50MPa 程度の従来の HPLC ポンプ

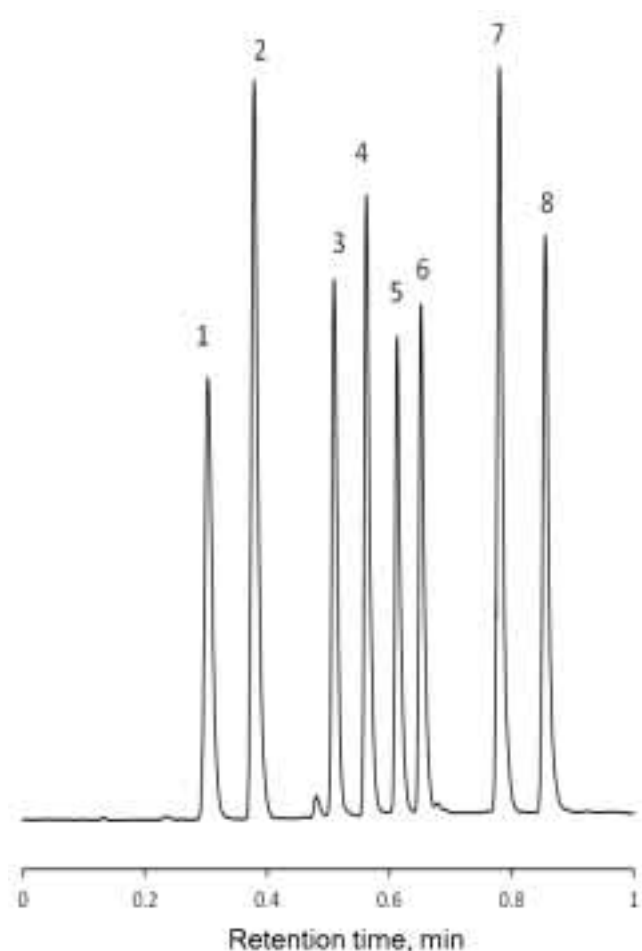


Figure 9. High-throughput separation

Column: SunShell C18 30×3.0 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%, 1cycle; 1.8min, (High-pressure gradient). Flow rate: 1.0 mL/min. Temperature: 40°C. Injection Volume: 1μL. Wavelength: 200–500nm, 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.

で十分である。また品質管理などで多用されている 5 μm 粒子カラムを用いたルーチン分析分野でも、カラム長の短い 2.6 μm のコアシェル型充填剤充填カラムに変更するだけで現在使用の HPLC でハイスループット分析が可能となる。

8. 謝辞

本稿の執筆にあたり、コアシェル型充填剤関連資料および高速分離データを提供していただいた Advanced Materials Technology の Mr Timothy Langlois と Dr Joseph DeStefano、日本分光株式会社の坊之下雅夫氏に感謝いたします。

9. 参考文献

- [1] Kirkland, J. J.; Truszkowski, F. A.; Dilks, C. H.; Engel, G. S. *J. Chromatogr. A* **2000**, 890, 3–13.
- [2] Kirkland, J. J.; Langlois, T. J.; DeStefano, J. J. *Am. Lab.* **2007**, 39, 18–21.
- [3] Gritti, F.; Cavazzini, A.; Marchetti, N.; Guiochon, G. *J. Chromatogr. A* **2007**, 1157, 289–303.
- [4] Daneyko, A.; Holtzel, A.; Khirevich, S.; Tallarek, U. *Anal. Chem.* **2011**, 83, 3903–3910.
- [5] Gritti, F.; Guiochon, G., *J. Chromatogr. A* **2010**, 1217, 5069–5083.
- [6] Kimata, K.; Iwaguchi, K.; Onishi, S.; Jinno, K.; Eksteen, .; Hosoya, K.; Araki, M.; Tanaka, N. *J. Chromatogr. Sci.* **1989**, 27, 721–728.
- [7] Omamoghoa, J. O.; Hanrahanb, J. P.; Tobinb, J.; Glennona, J.D. *J. Chromatogr. A* **2011**, 1218, 1942–1953.