

C18, C18-WP, HFC18-16, HFC18-30, RP-AQUA, C8, C30, PFP, Phenyl, C8-30, C8-30HT, C4-30, HILIC-Amide, HILIC-S, 2-EP and AI

SunShell

2 μm , 2.6 μm , 3.4 μm and 5 μm HPLC column



モノクローナル抗体分離用カラムSunShell C4-100



ChromaNik Technologies Inc.

SunShellはクロマニクテクノロジー社のコアシェル型充填カラムです

コアシェル粒子とは無孔性の核の表面に多孔質層が存在する粒子です



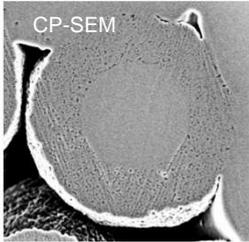
SUNSHELL

Superficially porous silica

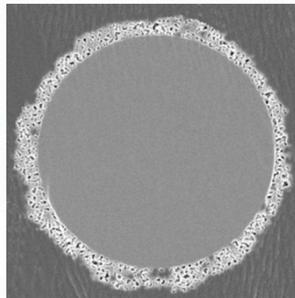
特長

- 1.2 μm , 1.6 μm , 3.0 μm と3.4 μm のコア（核）と0.4 μm , 0.5 μm , 0.2 μm と0.6 μm の多孔質層
- 2 μm は全多孔性Sub 2 μm より高い段数
- 2.6 μm は全多孔性Sub 2 μm や2 μm と同等な段数, 全多孔性3 μm と同等なカラム圧
- 5 μm は全多孔性3 μm と同等な段数, 全多孔性5 μm と同等なカラム圧
- 3.4 μm はタンパク質の高速分離用コアシェル充填剤
- C18 とC8などの逆相系固定相はSunniestと同じ世界唯一の高温表面処理
- 塩基性・酸性・金属配位性化合物もシャープなピーク形状
- 高い耐酸性・耐アルカリ性（C18は使用pH範囲pH1.5~pH10)
- ブリード（カラムからの溶出物）も少なくLC/MSに最適

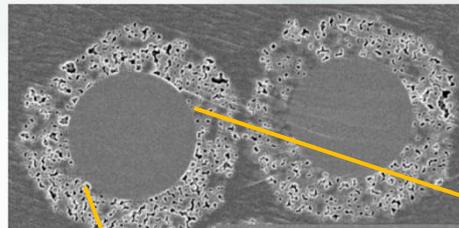




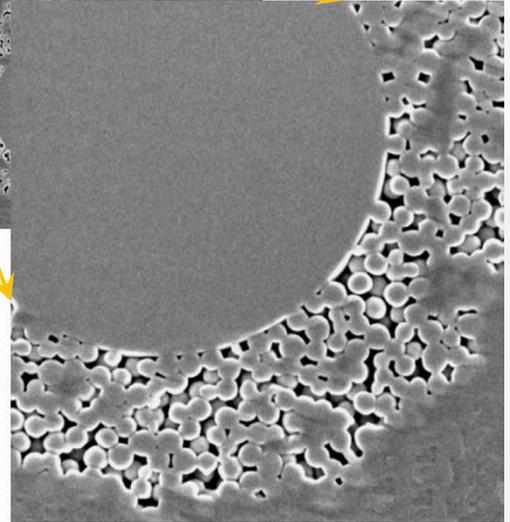
粒子径: 2.6 μm
細孔径: 16 nm



粒子径: 3.4 μm
細孔径: 30 nm

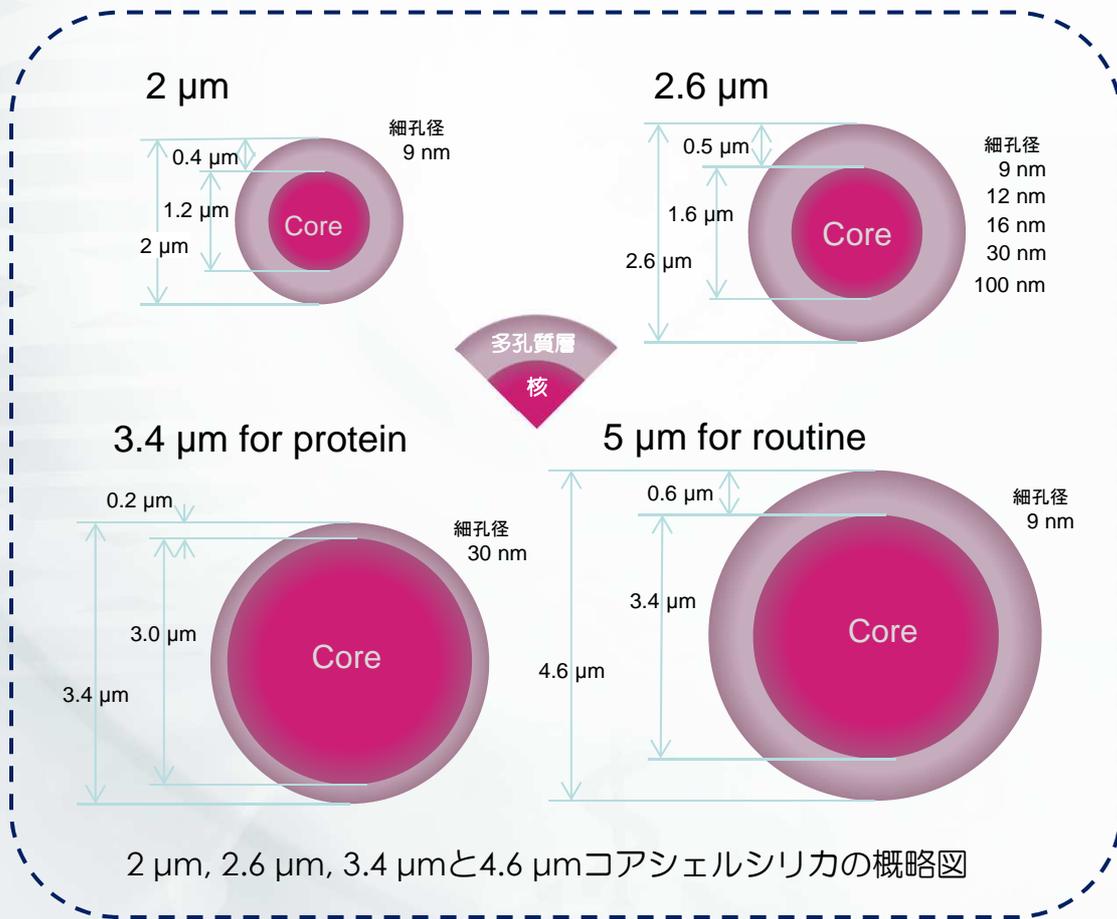


粒子径: 2.6 μm
細孔径: 100 nm



コアシェルシリカの電子顕微鏡写真

コアシェルシリカ粒子を樹脂包埋し、Arイオンミリングにより断面加工し、導通処理のためOs(オスミウム)蒸着して観察しました。コア(フューズドシリカ)とその周りの多孔質層が確認できます。



2 μm, 2.6 μm, 3.4 μmと4.6 μmコアシェルシリカの概略図

なぜ2.6 μmコアシェル粒子は

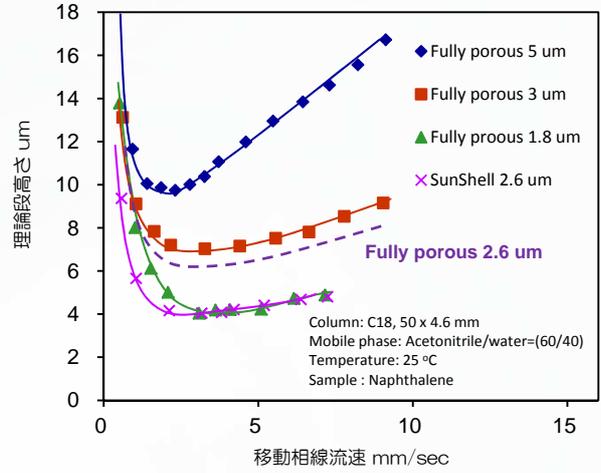
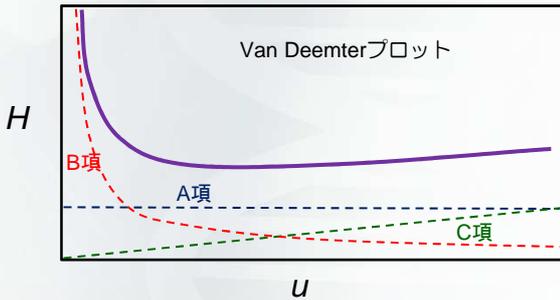
Sub 2 μmと同等な性能が出せるのか？



Van Deemterの式

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

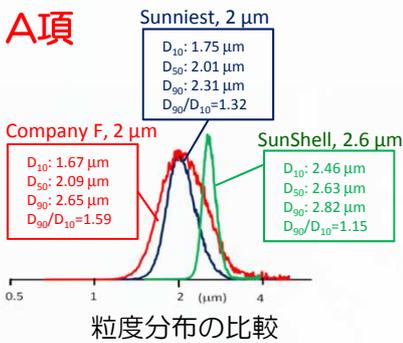
- A項：多流路拡散、渦巻き拡散：粒径をdp
- B項：カラム軸方向への拡散、アナライトの移動相中の拡散係数をDm
- C項：物質移動の項：固定相-移動相での物質移動、粒子内での拡散による物質移動に依存



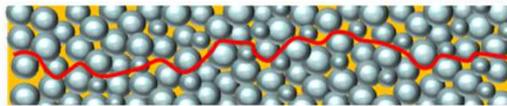
全多孔性とコアシェル充填剤の理論段高さの比較

上記の移動相線流速と理論段高さの図で示される様に、同じ粒子径であるにも関わらず、2.6 μmの全多孔性充填剤とコアシェル充填剤は大きく異なり、コアシェル充填剤は全多孔性充填剤と比べ、Van Deemterの式のA項、B項およびC項の全ての項の値が減少しています。つまり、コアシェル充填剤は表面多孔質構造のため、性能が大幅に向上します。

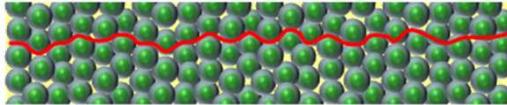
コアシェル構造によりVan Deemterの式の全ての項 (A項、B項、C項) が小さくなる !!



粒度分布の広い充填剤 (一般的な全多孔性シリカD₉₀/D₁₀=1.50)



粒度分布の狭い充填剤 (コアシェルシリカD₉₀/D₁₀=1.15)



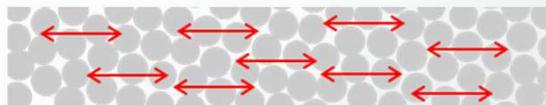
コアシェル型と全多孔性シリカカラム内の充填状態

コアシェル(SunShell)粒子のコア部のフーズドシリカは非常に狭い粒度分布で製造できるため、その後の多孔質層を付加した最終粒子も同様に粒度分布は狭くなります。コアシェルシリカは粒子がそろっているため、カラム内での粒子間の距離が狭く、流路拡散・渦巻き拡散が少なくなり、Van Deemterの式のA項が小さくなります。(実際にはA項のAdpの係数Aが小さくなります)

全多孔性粒子では溶質は粒子内粒子外に関係なく、拡散しますが、コアシェル(SunShell)粒子は無孔質のコアにより拡散が阻害されます。したがって、全多孔性粒子に比べコアシェル粒子は、カラム軸方向の溶質の拡散が小さくなります。その結果、Van Deemterの式のB項が小さくなります。つまりコアシェル粒子は流速が遅くなっても、段数の減少率が小さく、全多孔性粒子に比べ、使用流速範囲を広く取ることができます。

B項

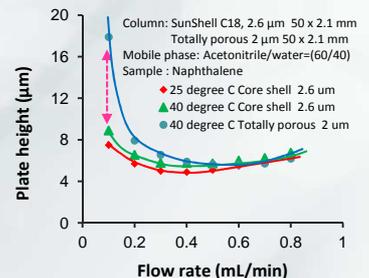
全多孔性粒子 溶質は細孔内も粒子外と同様に拡散する



コアシェル粒子 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



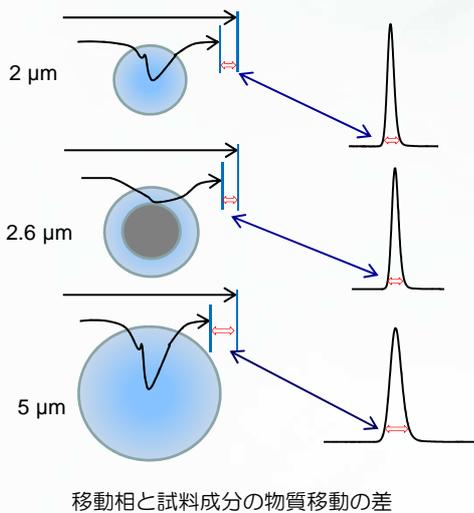
カラム軸方向への拡散の差



流速と理論段高さの関係



C項

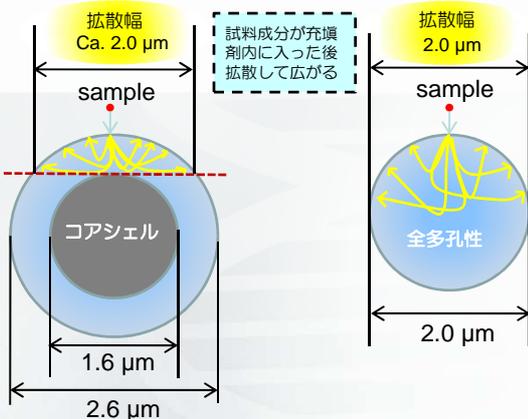


移動相と試料成分の物質移動の差

左図に示される様にコアシェル(SunShell)粒子は内部に核が存在しており、表面の多孔質層が薄いため、試料成分が粒子内に入り込み、再び出てくるときの拡散距離が短くなります。つまり粒子内での拡散による物質移動距離または物質移動時間が2.6 μmのコアシェル充填剤とサブ2 μmの全多孔性充填剤はほぼ等しくなります。

また、左下図に示される様に試料成分が粒子内に入り拡散により広がる拡散幅は物質移動時間と同様に2.6 μmのコアシェル充填剤とサブ2 μmの全多孔性充填剤はほぼ等しくなります。このような事からVan Deemterの式のC項が小さくなると考えられます。C項の値の減少は、流速を上げてても理論段高さは高くなり、理論段数が下がらないことを意味しています。また、充填剤の細孔径は粒子間の間隙に比べ1/50以下のサイズであるため、充填剤細孔内での移動相の移動速度は粒子間に比べ1/1000以下になり、細孔内では実質的には流れていないと言えます。

充填剤細孔内での溶質の拡散から考察すると

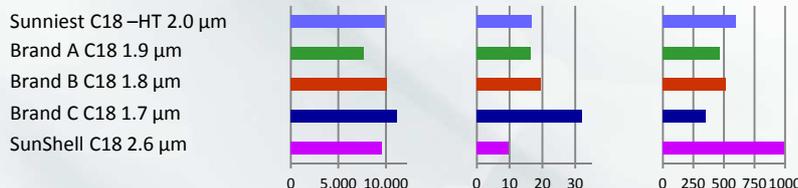


コアシェルシリカと全多孔性シリカの粒子内での拡散幅

カラム内の充填剤の隙間に流れる移動相の速度と充填剤の細孔内には流れる移動相速度は1000倍から10000倍の差があり、細孔内では移動相は実質流れていないと言えます。つまり、溶質は充填剤細孔内に入り込むとブラウン運動により拡散し細孔内を移動します。ブラウン運動による移動ですので、全ての方向に均一に広がると考えられます。したがって、2 μmの全多孔性充填剤は最大粒子径の2 μmの幅まで広がることとなります。左図に示されているようにコアシェル充填剤はコア(核)が存在するため、溶質の充填剤細孔内での広がりは2 μmの全多孔性充填剤とほぼ同じである様に見えます。例えば90%の確率での溶質の広がりは、2.6 μmのコアシェル充填剤と2 μmの全多孔性充填剤はほぼ同じであると考えられます。

単位圧力あたりの理論段数比較

	理論段数	カラム圧 (MPa)	理論段数/カラム圧
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

サブ2 μm C18カラムおよび2 μmのSunniest C18-HTとSunShell C18, 2.6 μmの理論段数とカラム圧を比較しました。理論段数は1.9 μm C18を除きほぼ同じでしたが、カラム圧は大きく異なりました。特に1.7 μm C18は高いカラム圧を示しました。SunShell C18はカラム圧が低いため、一定圧力下での理論段数の割合で比較した場合、SunShell C18はその値は非常に大きくなります。つまり、SunShell C18はある一定(例えば30 MPa)の圧力条件下では最も高い性能を有しております。

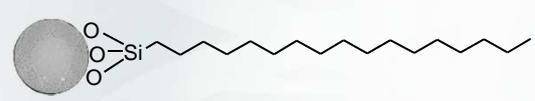


SUNSHELL

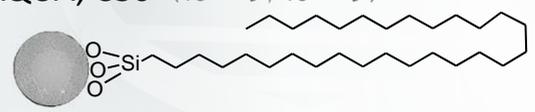
STATIONARY PHASE 固定相

逆相固定相

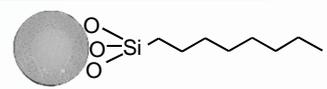
C18, C18-WP (7ページ, 16ページ, 20ページ)



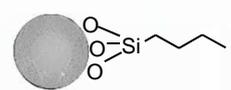
RP-AQUA, C30 (16ページ, 19ページ)



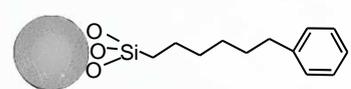
C8, C8-30, C8-30HT (16ページ, 20ページ, 21ページ)



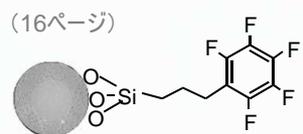
C4-30, C4-100 (20ページ, 21ページ)



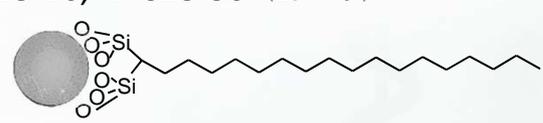
Pneryl (16ページ)



PFP (16ページ)



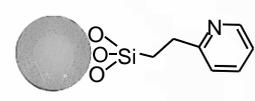
HFC18-16, HFC18-30 (20ページ)



*PFP以外の逆相固定相は高温条件下でのエンドキャッピング(Sunniest Endcapping)処理を施しております。

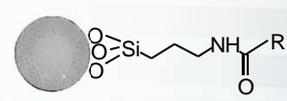
SFC用固定相

2EP (22ページ)

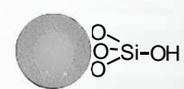


ヒリック固定相

HILIC-Amide (23ページ)



HILIC-S (23ページ)

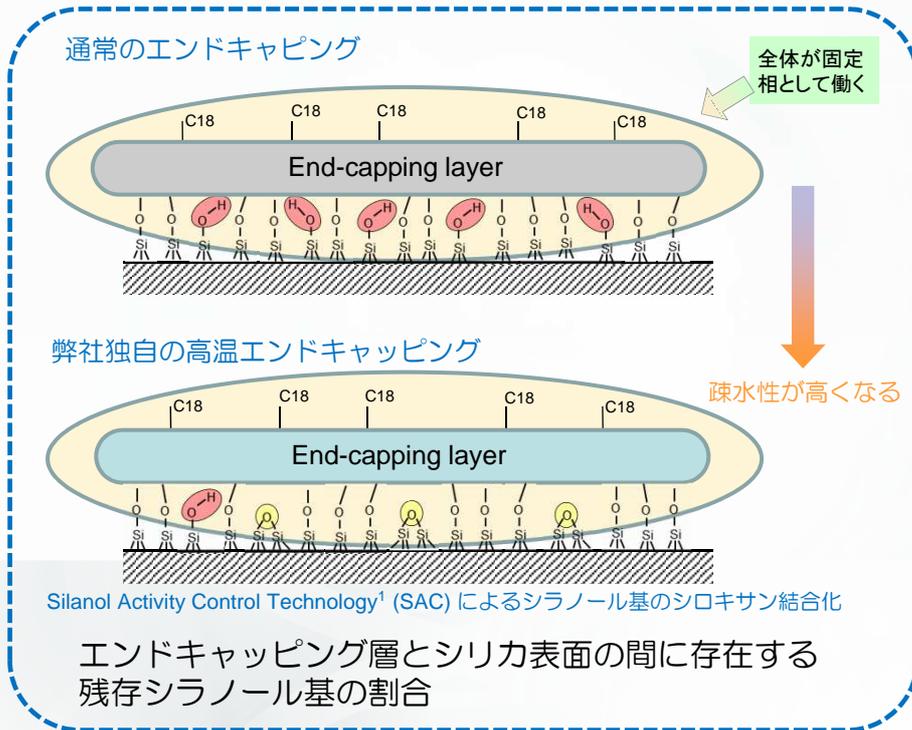


*SFC用およびヒリック固定相はエンドキャッピング処理は施しておりません。



新規概念によるエンドキャッピング 世界唯一

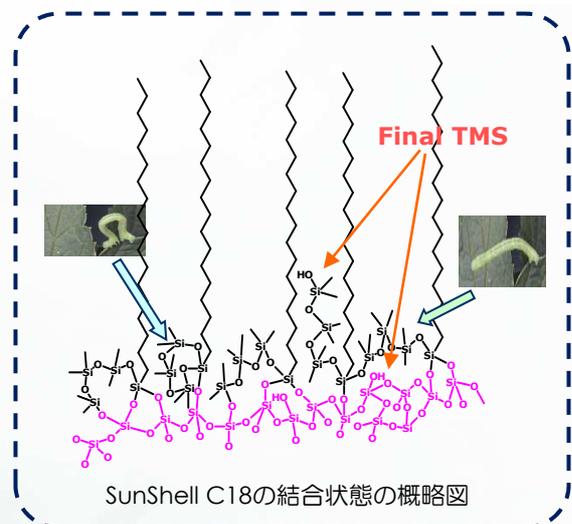
200°C以上の高温条件¹でエンドキャップ(Sunniest Endcapping)を行うことにより、シラノール基をシロキサン結合に変換することに成功しました。既存の最適なエンドキャッピングに比べても残存シラノール基割合が低くなっており、更に残存シラノール基が少ない分固定相全体としての疎水性も高くなっております。



エンドキャッピング層の合成方法

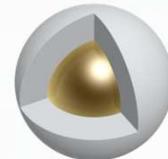
- 1) 新規エンドキャッピング試薬
<<ヘキサメチルトリシロキサン>>
- 2) 更にTMSによるダブルエンドキャッピング

*このエンドキャッピングテクニックをSunniest Endcappingとさせていただきます。



上記のエンドキャップとしてのヘキサメチルトリシロキサンは尺取虫のように形を変えられるため、いろんな位置のシラノール基と結合が可能になり、その結果残存シラノール基を少なくすることができます。

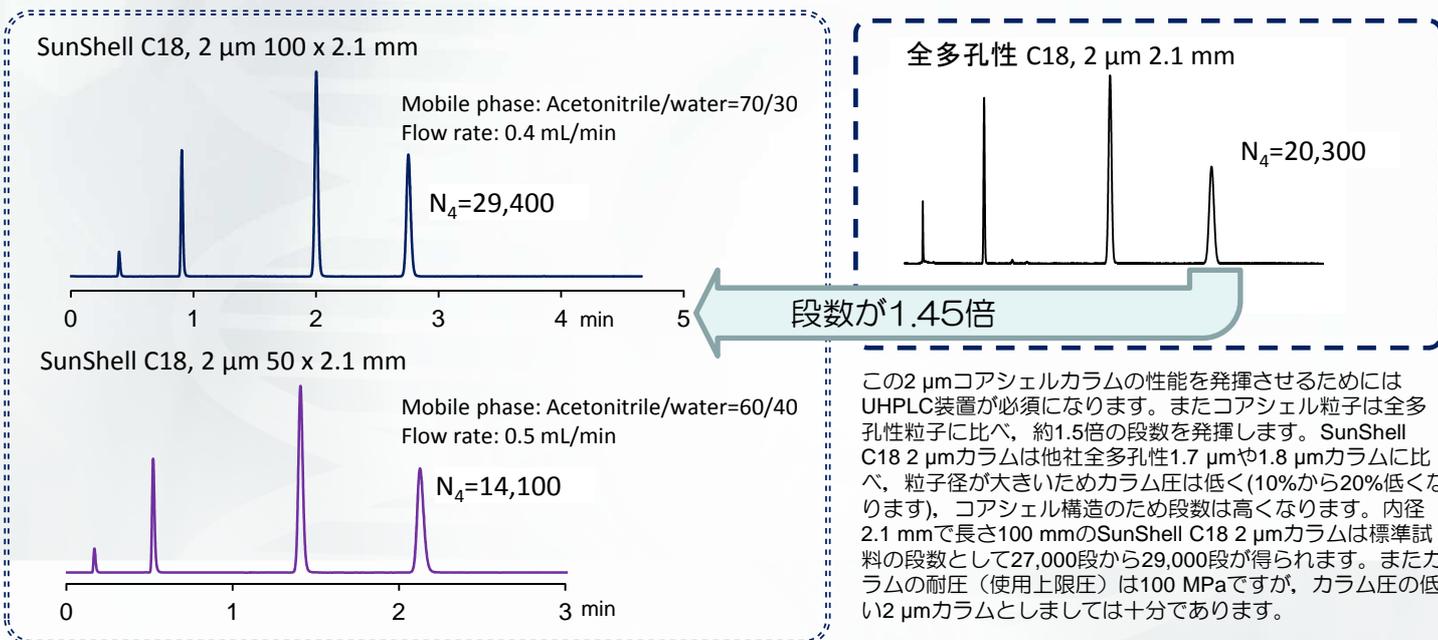
SunShell C18, 2 μm , 2.6 μm , 5 μm



SunShell C18の基本特性

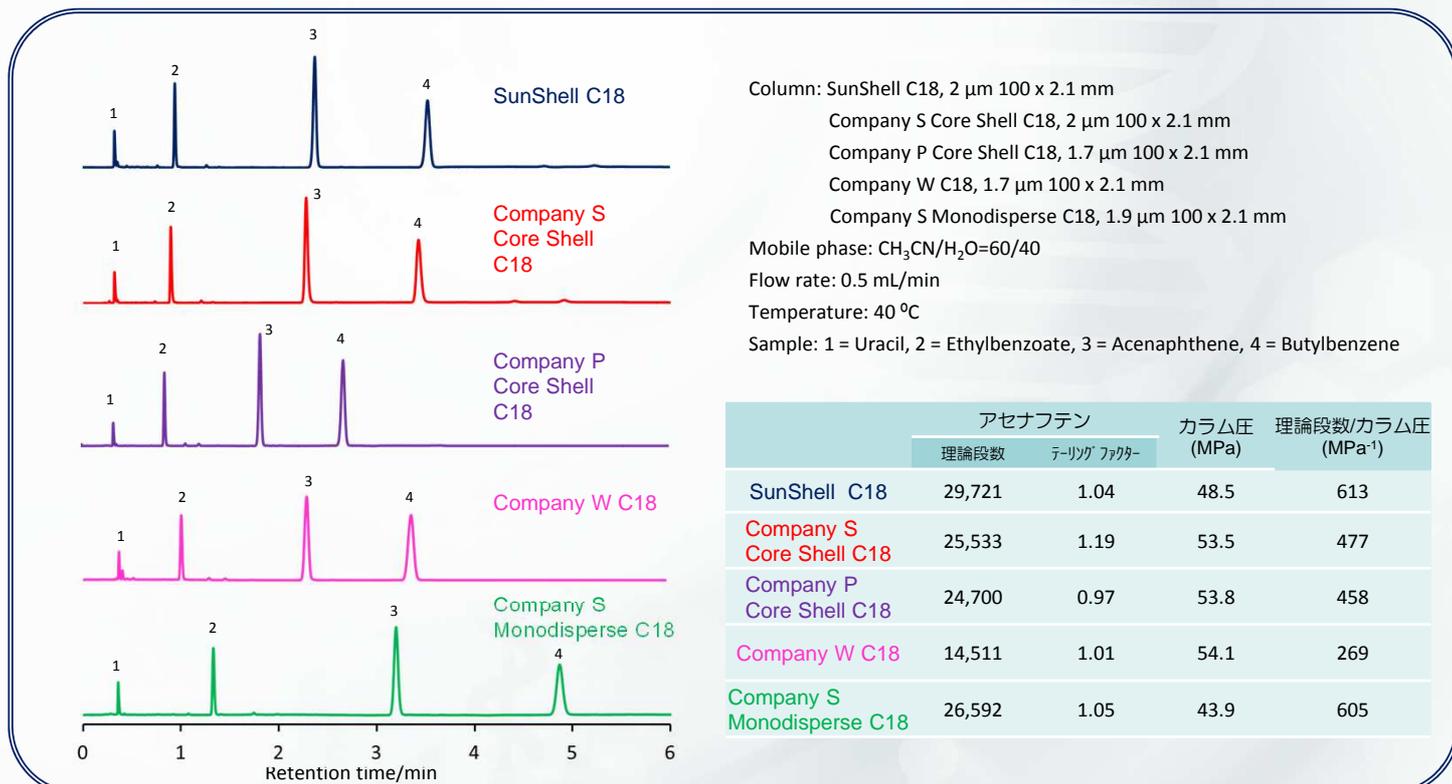
	コアシェルシリカ				結合相					
	粒子径 (μm)	コア径 (μm)	細孔径 (nm)	比表面積 (m^2/g)	炭素含有量 (%)	固定相	USP L 番号	エンドキャッピング	使用最高圧	使用pH範囲
SunShell C18	2.0	1.2	9	120	6.5	C18	L1	Sunniest endcapping	100 MPa or 14504 psi	1.5 - 10
SunShell C18	2.6	1.6	9	150	7	C18	L1	Sunniest endcapping	60 MPa or 8,570 psi	1.5 - 10
SunShell C18	4.6	3.4	9	90	5.5	C18	L1	Sunniest endcapping	50 MPa or 7,141psi	1.5 - 10

コアシェル粒子は全多孔性粒子に比べ1.4倍から1.5倍の性能を発揮！！



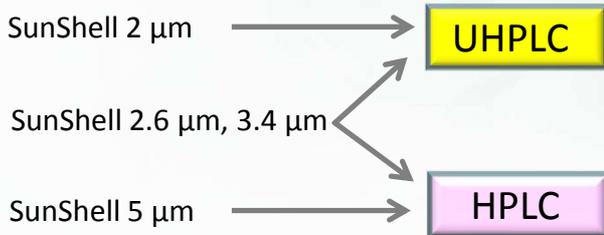
他社コアシェル2 μm および他社全多孔性単分散2 μm カラムとの段数比較

比較に用いたカラム: SunShell C18 2 μm , Ascentis Express C18 2 μm , Kinetex C18 1.7 μm , Acquity BEH C18 1.7 μm , Titan C18 1.9 μm



他社コアシェルタイプのC18と比較しました。同じ装置、同じ条件での比較ですが、SunShell C18は他社カラムより高い理論段数を示しました。

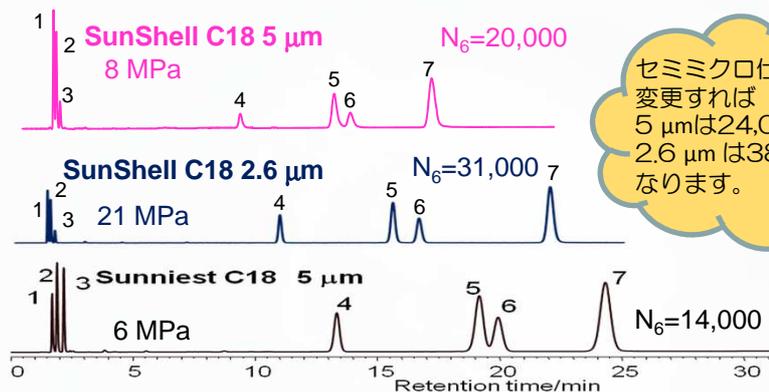
コアシェルカラムに必要なLC装置



2 μmのコアシェルカラムは段数も多く、シャープなピークでピーク容積も非常に小さくなります。またカラム圧も高くなりますので、装置内部の流路容積を最小になるように設計され、なおかつ耐圧の高いUHPLCが必須になります。2.6 μm や3.4 μm のコアシェルカラムはカラム圧が2 μm粒子の半分以下です。性能（段数）が80%前後に落ちることが問題にならないければ、十分HPLCで使用できます。しかし高速分離のため流速を上げたり、内径2.1 mmのカラムを用いる場合にはUHPLCをお勧めします。5 μmのコアシェルカラムはカラム圧が高くないので、HPLCで十分分析が可能です。



通常のHPLC装置を用いた比較



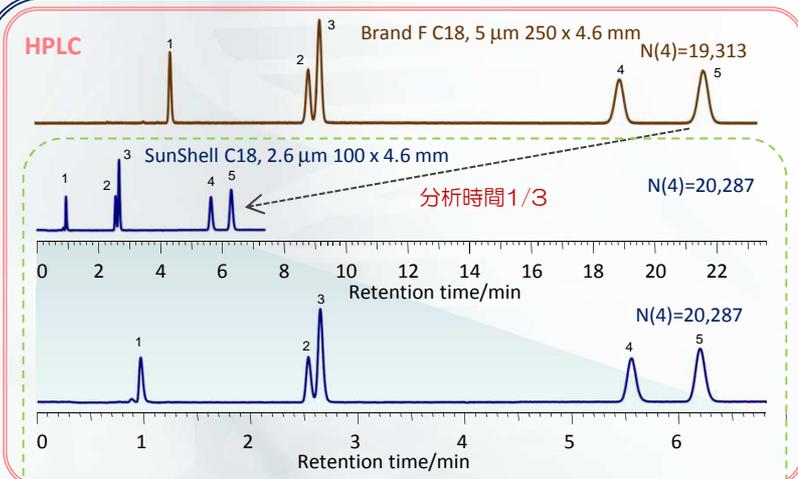
セミマイクロ仕様に変更すれば5 μmは24,000段に、2.6 μmは38,000段になります。

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

	全多孔性シリカ SunShell 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 SunShell C18, 5 μm	
比表面積	340 m ² /g		150 m ² /g		90 m ² /g	
充填重量(4.6x150mm)	1.5 g		2.7 g		3.2 g	
カラム1本当たりの表面積	510 m ² (100%)		405 m ² (79%)		288 m ² (56%)	
	保持時間(t _R)	保持係数(k)	保持時間(t _R)	保持係数(k)	保持時間(t _R)	保持係数(k)
1) ウラシル	1.70	0	1.34	0	1.30	0
6) アミルベンゼン	19.96	10.74	16.56	11.36	13.43	9.33
相対値アミルベンゼン	100%	100%	83%	106%	67%	87%

カラム内の充填剤表面積の値が保持時間とほぼ比例します。保持係数の比較では大きな差はありません。

全多孔性C18 5 μmカラムからSunShell C18 2.6 μmカラムへの移行



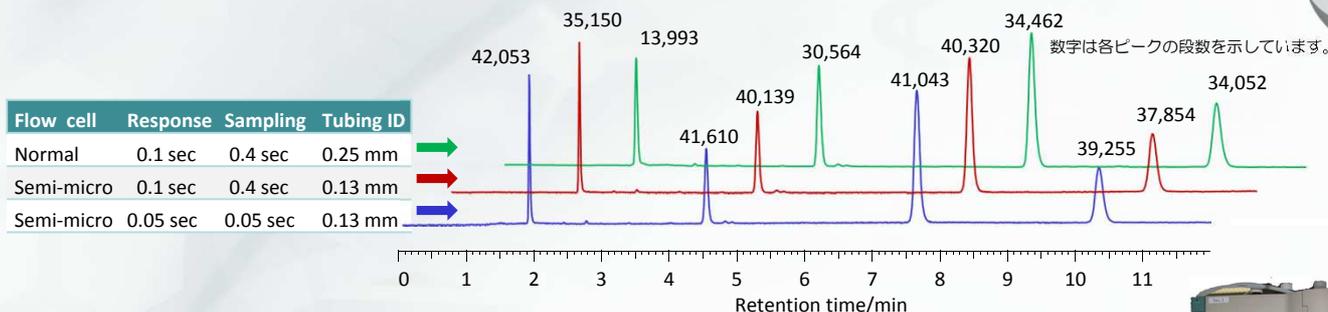
Column:
Brand F C18, 5 μm 250 x 4.6 mm
SunShell C18, 2.6 μm 100 x 4.6 mm
Mobile phase:
CH₃CN/20mM Phosphoric acid = 45/55
Flow rate: 1.0 mL/min,
1.8 mL/min at the lowest chromatogram
Temperature: 25 °C
Pressure: 9.5 MPa for Brand F C18 5 μm
13.4 MPa for SunShell C18 2.6 μm
Detection: UV@230 nm

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

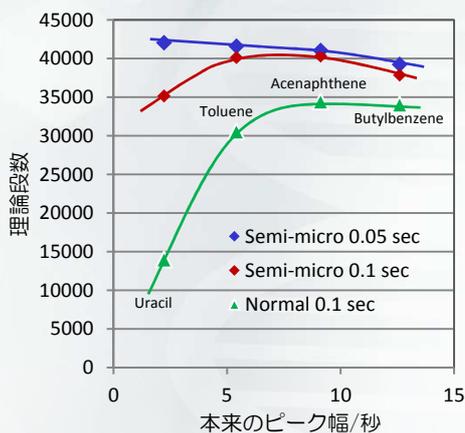
HPLC: Hitachi LaChrom ELITE (内径0.25mmの配管仕様)
UHPLC: Jasco X-LC

全多孔性C18, 5 μm 250 x 4.6 mmカラムを用いた分析は、カラムをSunShell C18の100 x 4.6 mmに交換するだけで、分析条件を変更することなく、同じ分離が達成できます。カラム長さが短くなっているため、分析時間および使用溶媒量は約1/3に削減できます。またUHPLCを用いれば、SunShellカラムはHPLCで達成される分離性能（理論段数, N）より2割程度向上し、本来コアシェル構造の粒子の持つ性能が100%発揮されます。

通常仕様とセミマイクロ仕様のHPLCの比較



Flow cell	Response	Sampling	Tubing ID
Normal	0.1 sec	0.4 sec	0.25 mm
Semi-micro	0.1 sec	0.4 sec	0.13 mm
Semi-micro	0.05 sec	0.05 sec	0.13 mm



ピーク幅と理論段数の関係

通常仕様とセミマイクロ仕様HPLCによるクロマトグラムの比較

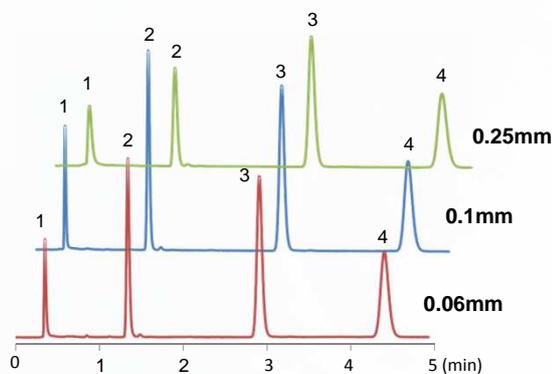
Column: SunShell C18, 5 μ m 250 x 4.6 mm
 Mobile phase: CH₃CN/H₂O= 70/30
 Flow rate: 1.0 mL/min
 Temperature: 40 °C
 Pressure: 6.7 MPa
 Detection: UV@250 nm
 Sample: 1 = Uracil
 2 = Toluene
 3 = Acenaphthene
 4 = Butylbenzene

HPLC: Hitachi LaChrom ELITE



HPLCでもフローセルの容量を小さくし、配管の内径を細くしたセミマイクロ仕様にてできれば、UHPLCに近い性能が出ます。さらに検出器の応答速度を0.05秒にすることにより、特にピーク幅の狭いピークほど理論段数はあがります。ピーク幅が2秒以上のピークはセミマイクロ仕様HPLCでもコアシェルカラムの性能を100%近く発揮させることができます。

配管内径の影響



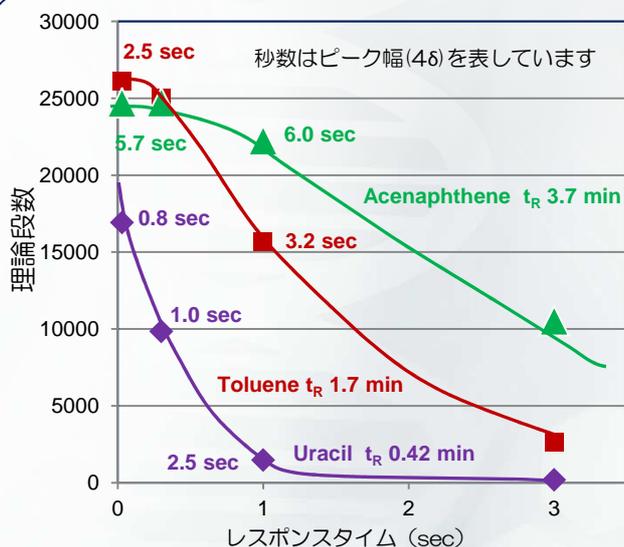
理論段数の平均値 (n=3)

配管内径	0.06mm	0.1mm	0.25mm
ピーク(1)	792	785	246
ピーク(2)	7790	7652	3535
ピーク(3)	10704	10345	7998
ピーク(4)	10113	9772	7689

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, from the column to the flow cell)
 Instrument: X-LC(JASCO) Response time: 0.01 sec

上記の論段数はカラムとフローセルの間の配管の内径を変えた場合の比較です。配管の内径が大きくなることにより、デッドボリュームが増加し、ピーク幅が拡大する原因になります。内径2.1 mmカラムでは配管内径を0.1 mm以下にすることをお勧めします。「通常仕様とセミマイクロ仕様のHPLCの比較」では5 μ m充填剤のカラムを用いておりましたが、内径2.1 mmカラムではさらにデッドボリュームの少ないUHPLCでの使用をお勧めします。

検出器のレスポンスタイムの影響



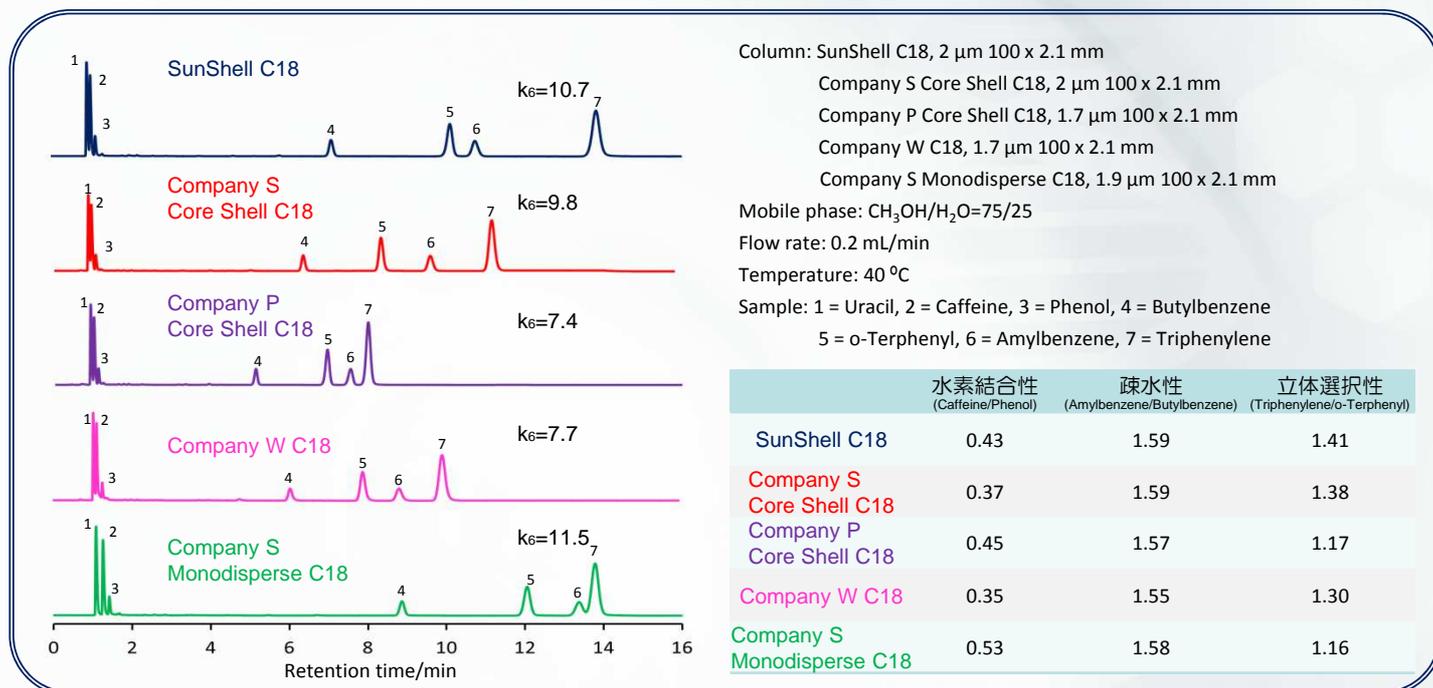
Column: SunShell C18, 2.6 μ m 100 x 4.6 mm
 Mobile phase: CH₃CN/H₂O=60/40
 Flow rate: 1.8 mL/min Temperature: Ambient
 Sample: Toluene Tube: i.d.0.1mm x 20 cm Peeksil
 Instrument: X-LC(JASCO)

検出器のレスポンスタイムも重要であり、ピーク幅(4 σ)が1秒以下(上記のウラシル)の場合には0.03秒以下のレスポンスタイムが必要になります。ピーク幅が6秒程度でも、レスポンスタイムは0.3秒以下が望ましいです。さらにインテグレータのサンプリングレートも同様であり、0.1秒以下の設定が望ましいです。

SunShell C18 2 μ m2 μ m コアシェルC18とsub 2 μ m カラムの比較

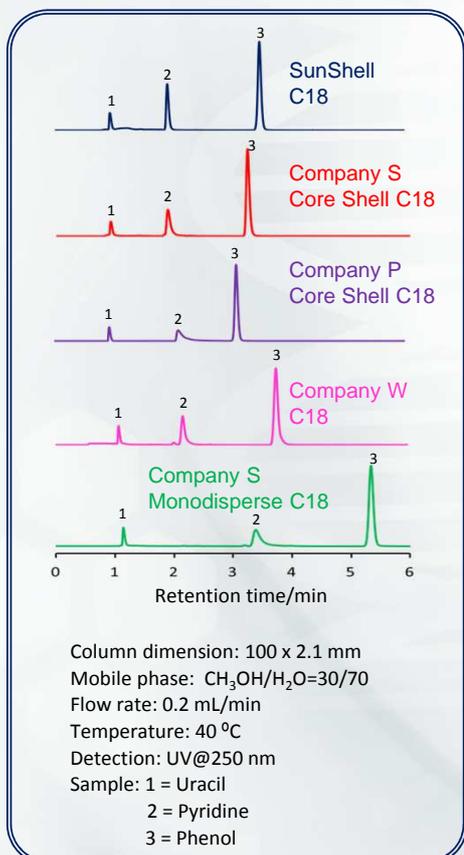
比較に用いたカラム: SunShell C18 2 μ m, Ascentis Express C18 2 μ m, Kinetex C18 1.7 μ m, Acquity BEH C18 1.7 μ m, Titan C18 1.9 μ m

標準試料の分離

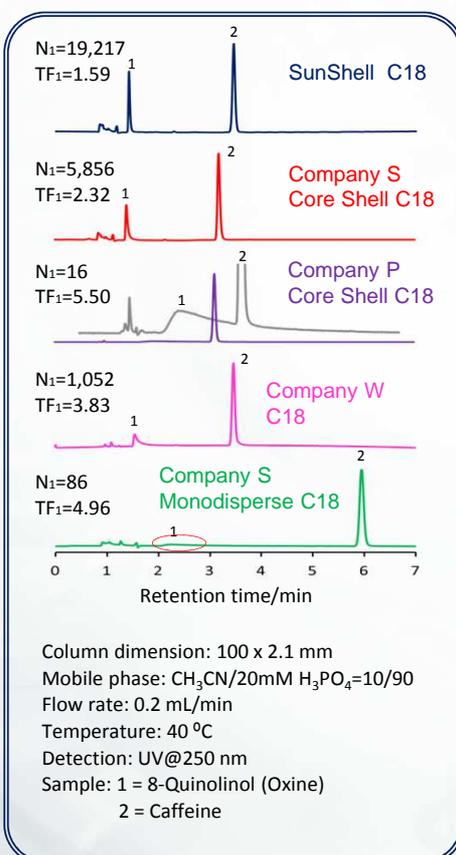


他社コアシェルタイプと単分散型のC18と比較しました。保持時間、水素結合性さらに立体選択性に差がみられました。SunShell C18は最も大きい立体選択性を示しました。これはC18の結合密度が高く、異性体などの分離に有利であることを示しております。

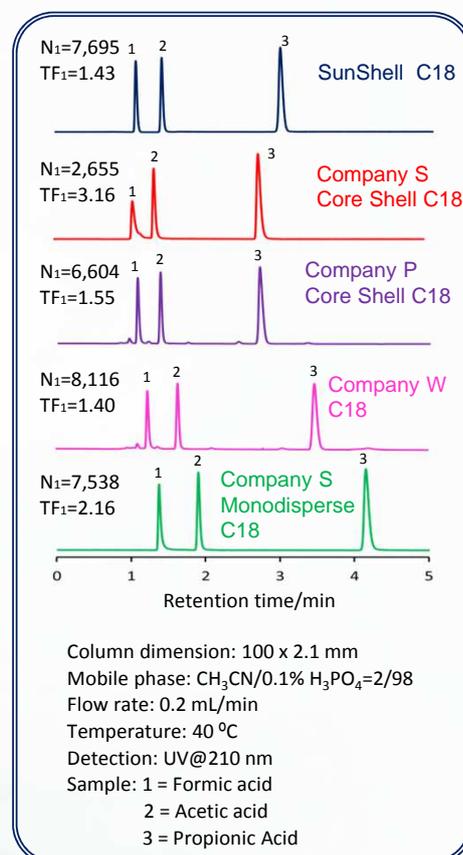
ピリジンのピーク比較



オキシンのピーク比較



ギ酸のピーク比較



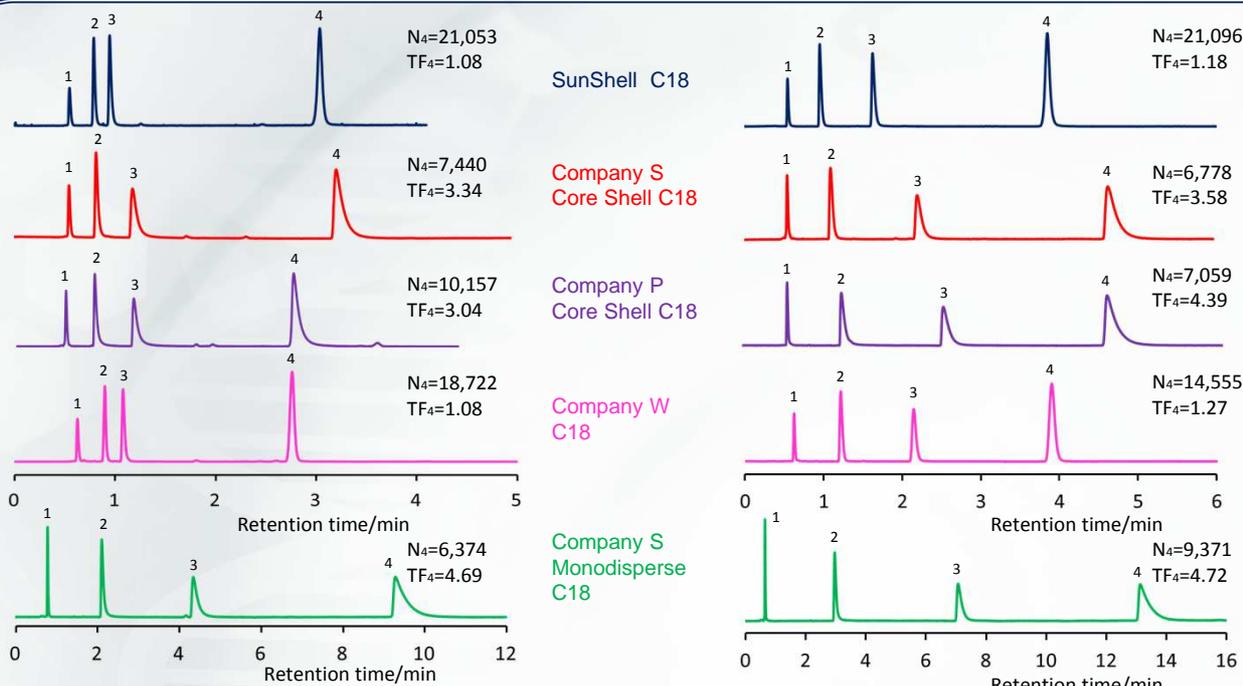
ピリジンは残存シラノール基によりテーリングが起こりやすい化合物です。SunShell C18以外のカラムはテーリングしており、シラノール基の影響が残っていると云えます。

8-キノリノール（オキシン）は金属配位性化合物で充填剤内に金属不純物が存在するとテーリングを示します。

酸性化合物はほとんどのC18カラムで問題なく溶出しますが、ギ酸はテーリングしやすい酸性化合物の代表です。

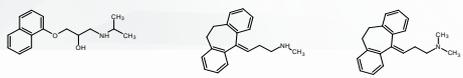
SunShell C18 2 μm

アミトリプチリンのピーク比較



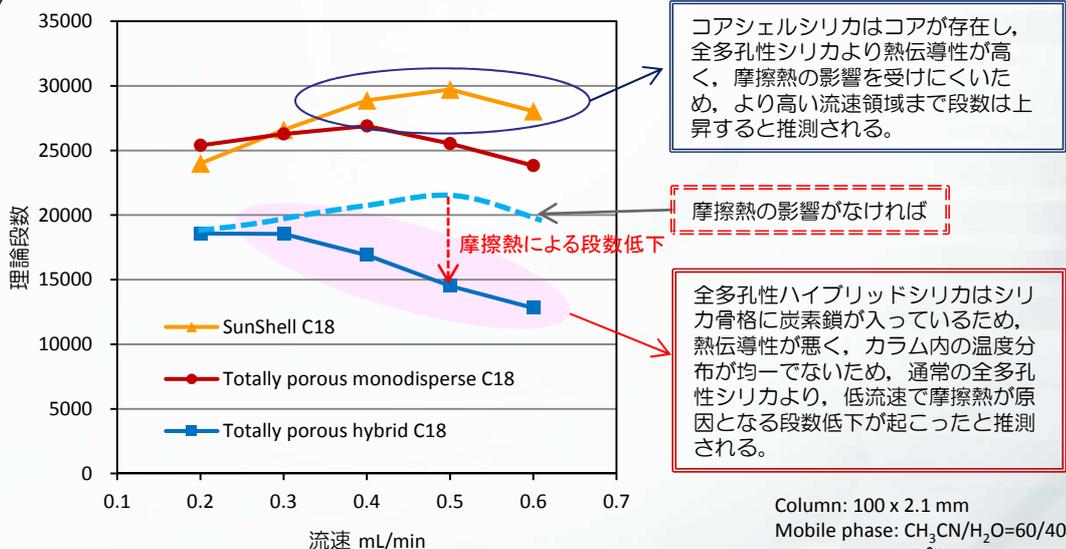
Column dimension: 100 x 2.1 mm
 Mobile phase: CH₃CN/20 mM Phosphate buffer pH 7.0=60/40
 Flow rate: 0.3 mL/min
 Temperature: 40 °C
 Detection: UV@250 nm
 Sample: 1 = Uracil, 2 = Propranolol, 3 = Nortriptyline, 4 = Amitriptyline

Column dimension: 100 x 2.1 mm
 Mobile phase: CH₃CN/10 mM ammonium acetate pH 6.8=40/60
 Flow rate: 0.3 mL/min
 Temperature: 40 °C
 Detection: UV@250 nm
 Sample: 1 = Uracil
 2 = Propranolol
 3 = Nortriptyline
 4 = Amitriptyline



塩基性化合物（アミトリプチリン）のテーリングはメタノール/緩衝液移動相よりもアセトニトリル/緩衝液移動相で起こりやすいため、アセトニトリルと 20 mMリン酸緩衝液および10 mM酢酸アンモニウム水溶液を移動相に用いて、他社コアシェルC18、全多孔性C18および単分散全多孔性C18との比較を行いました。

摩擦熱*による段数低下の比較



コアシェルシリカはコアが存在し、全多孔性シリカより熱伝導性が高く、摩擦熱の影響を受けにくいいため、より高い流速領域まで段数は上昇すると推測される。

摩擦熱の影響がなければ

全多孔性ハイブリッドシリカはシリカ骨格に炭素鎖が入っているため、熱伝導性が悪く、カラム内の温度分布が均でないため、通常の全多孔性シリカより、低流速で摩擦熱が原因となる段数低下が起こったと推測される。

Column: 100 x 2.1 mm
 Mobile phase: CH₃CN/H₂O=60/40
 Temperature: 40 °C
 Sample: Acenaphthene,

* Fabrice Gritti, Georges Guiochon, J. Chromatogr. A 1217 (2010) 5069.

A part of abstract
 This unexpected result is accounted for by the three times smaller heat conductivity of the BEH bed (BEH 0.25 W/m/K) than that of the Kinetex (core shell) bed (Kinetex 0.75 W/m/K).

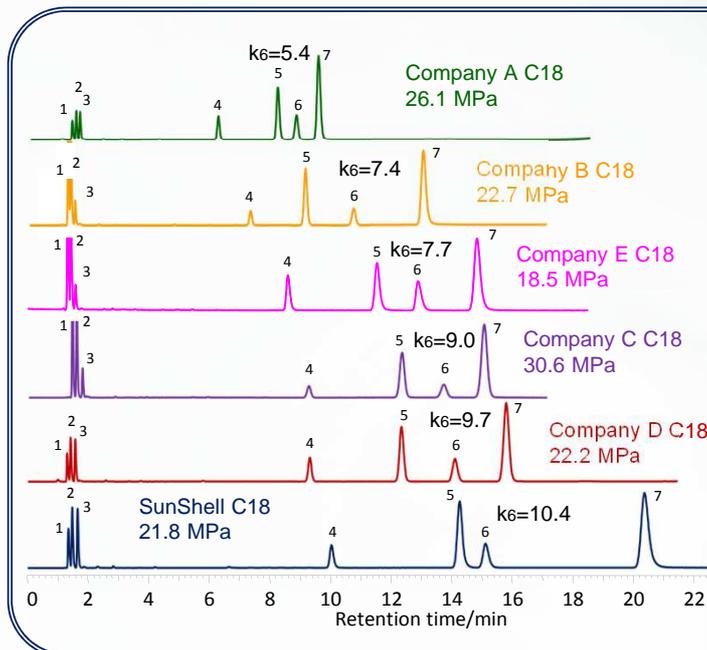
2 μm以下の微粒子充填カラムは、カラム圧が高くなるため、移動相が充填剤粒子間隙を通過する時の摩擦熱が問題になることがあります。充填剤自身の熱伝導性が高く、短時間に温度分布がカラム全体で均一になれば、問題になりませんが、ポリマーの性質を持つ充填剤はカラム内部に熱がこもりやすく、熱分布が不均一になるため、ピークが広がってしまい、段数低下が起こります。この摩擦熱はカラム圧が低ければ問題になりませんが、2 μm以下の微粒子充填カラムでは注意を払うことが重要になります。



2.6 μm コアシェルC18カラムの比較

- 比較に用いたカラム
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. Cortecs C18, 2.7 μm
 6. SunShell C18, 2.6 μm

標準試料の分離



Column: Company A C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm (26.1 MPa, 30,800 plate)
 Company B C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm (22.7 MPa, 31,600 plate)
 Company E C18, 2.7 μm 150 x 4.6 mm (18.5 MPa, 23,300 plate)
 Company C C18, 2.7 μm 150 x 4.6 mm (30.6 MPa, 30,200 plate)
 Company D 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

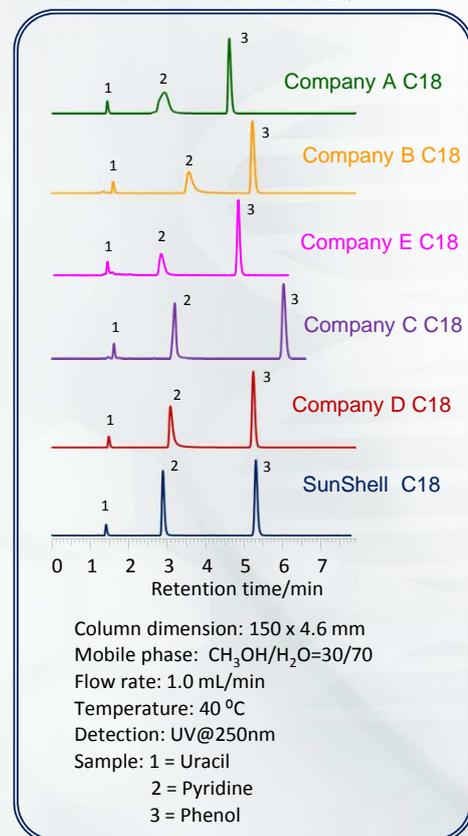
Sample: 1 = Uracil, 2 = Caffeine, 3 = Phenol, 4 = Butylbenzene

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 A C18	0.48	1.54	1.20
Company B C18	0.35	1.56	1.50
Company E C18	0.38	1.59	1.32
Company C C18	0.42	1.57	1.25
Company D C18	0.44	1.60	1.31
SunShell C18	0.39	1.60	1.46

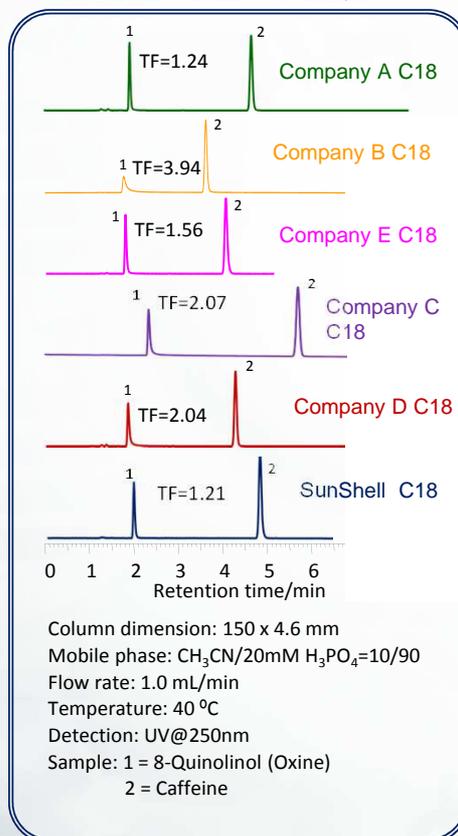
他社コアシェルタイプのC18と比較しました。同じ条件での比較ですが、保持に大きな差がみられ、SunShell C18は最も保持が大きく、A社C18の2倍の保持を示しました。カラム圧も表示しておりますが、SunShellに比べA社は20%、C社は40%高い圧力を示しました。E社はカラム圧が低く、段数も低い値となりました。これは2ページ後ろに記述されている粒子径の比較でも明らかのように、粒子径に大きな差があるためです。SunShell C18は立体選択性が高く、結合密度が高いことも保持が大きくなる要因であると言えます。さらに結合密度が高いと耐久性も高くなります。

ピリジンのピーク比較



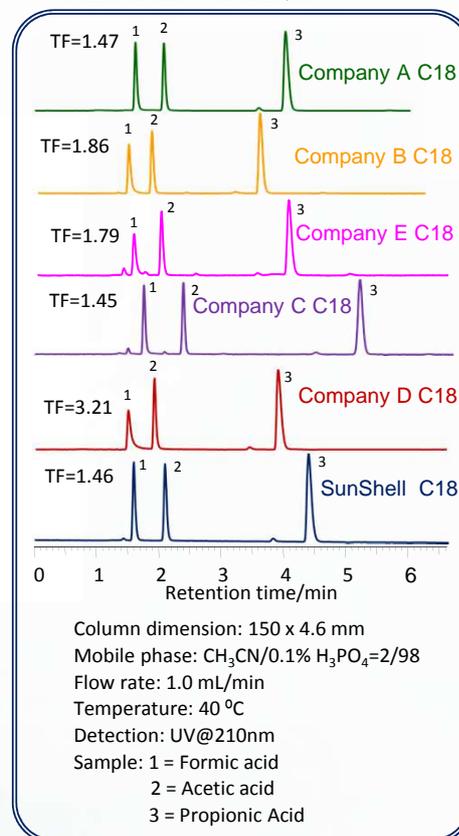
ピリジンは残存シラノール基によりテーリングが起こりやすい化合物です。新品のカラムでこの試験を最初に行っていますが、ピーク形状がおかしいA社C18は、新品でも固定相表面に酸が残っている可能性があります。

オキシンのピーク比較



8-キノリノール（オキシン）は金属配位性化合物で充填剤内に金属不純物が存在するとテーリングを示します。

ギ酸のピーク比較



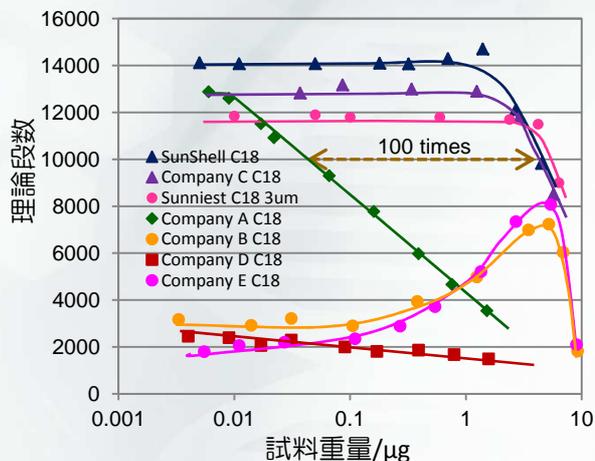
酸性化合物はほとんどのC18カラムで問題なく溶出しますが、ギ酸はテーリングしやすい酸性化合物の代表です。E, B, D社C18はギ酸がテーリングしています。

塩基性化合物(アミトリプチリン)の試料負荷量

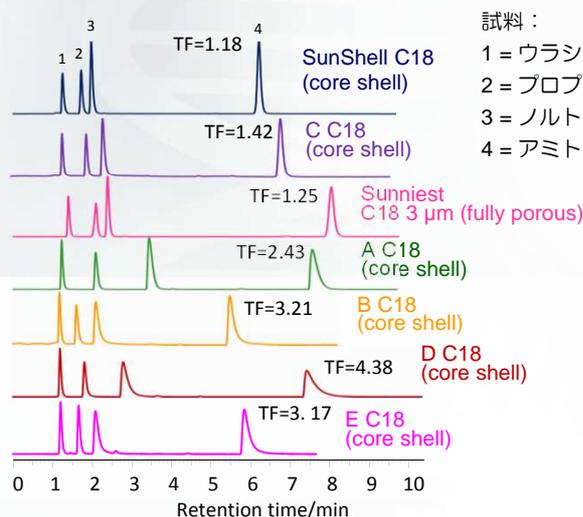
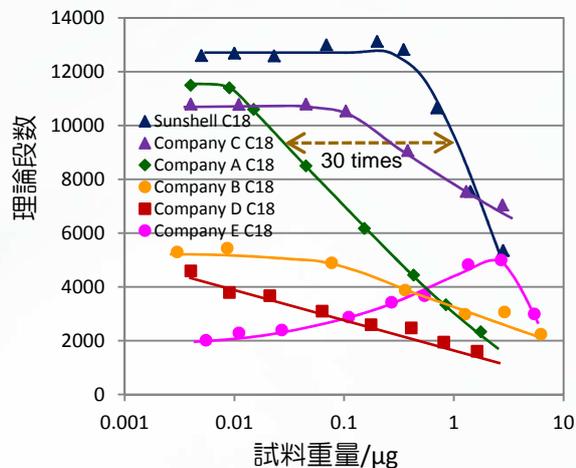
塩基性化合物(アミトリプチリン)の試料過負荷はメタノール/緩衝液移動相よりもアセトニトリル/緩衝液移動相で起こりやすいため、アセトニトリルと20 mMリン酢酸緩衝液、10 mM酢酸アンモニウム水溶液および0.1%干酸水溶液を移動相に用いて、他社コアシェルC18との比較を行いました。

共通条件 カラムサイズ: 150 x 4.6 mm, 流速: 1.0 mL/min, 温度: 40 °C

移動相: アセトニトリル/20 mMリン酢酸緩衝液pH7.0=(60:40)

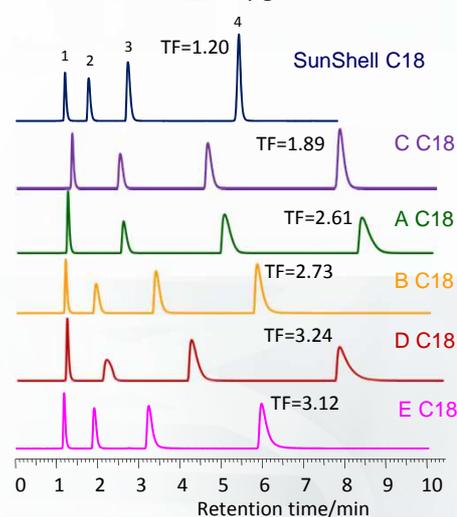


移動相: アセトニトリル/10 mM酢酸アンモニウムpH6.8=(40:60)



試料:

- 1 = ウラシル (0.07 μg)
- 2 = プロプラノロール (1.53 μg)
- 3 = ノルトリプチリン (0.32 μg)
- 4 = アミトリプチリン (0.32 μg)



理論段数はピークの高さの4.4%の位置でのピーク幅を用いて計算 (5σ法)
上図の理論段数はテーリングを含めた値になります。

比較した全てのC18はSunShell C18と同様にコアシェル粒子ですので、試験に用いた150 x 4.6 mmサイズのカラムではE社以外のカラムは240,000段/m前後の性能を有しております。この段数は中性化合物を用いた値であり、イオン性(特に塩基性)化合物は表面処理の優劣で大きく分離性能が異なり、段数が低いことが多いです。D社C18は試料量に関わらず、全般的に塩基性化合物はテーリングを示し、低い段数でした。A社C18は0.01 μg以下の試料注入量であれば高い性能が出ますが、0.01 μg以上で段数が低下し、試料負荷量を増やすことが難しいカラムです。SunShell C18は0.5 μg前後まで試料量を増やしても性能が低下せず、試料負荷量が高く、A社C18の7倍から100倍の試料量を注入できます。

物性値(炭素含有量, 比表面積, 細孔容積, 細孔径)の比較

カラム	炭素含有量(%)	比表面積 ^a (m ² /g)	細孔容積 ^a (mL)	細孔径 ^a (nm)
Company A C18	4.9 (12 effective) ^b	102 (200 effective) ^b	0.237	9.25 (10) ^b
Company B C18	8.8 (9) ^b	130 (130) ^b	0.273	8.39 (8) ^b
Company C C18	8.5 (8) ^b	135 (130) ^b	0.414	12.3 (12) ^b
Company D C18	8.0	133 (150) ^b	0.278	8.20 (9) ^b
Company E C18	7.3 (6.6) ^b	113	0.264	9.32
SunShell C18	7.3 (7) ^b	125 (150) ^b	0.261	8.34 (9) ^b

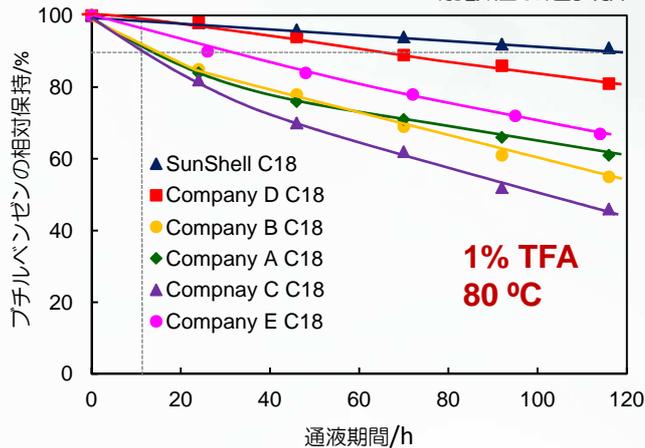


比較試験のため購入したカラムから取り出した充填剤を測定しました。Kinetex C18以外の充填剤は測定値とカタログ記載値は比較的近い値となりました。炭素含有量以外の測定値は、C18結合時の、またエンドキャッピング時の試薬中のケイ素原子が元のコアシェルシリカに結合した状態での測定値であるため、元のコアシェルシリカとは数パーセント異なる値になります。

a: カラム内の充填剤を拔出し、600°Cで8時間焼成したコアシェルシリカを測定しました。
b: カatalogなどに記載されている値

耐久性の評価

耐酸性加速試験



耐久性試験条件

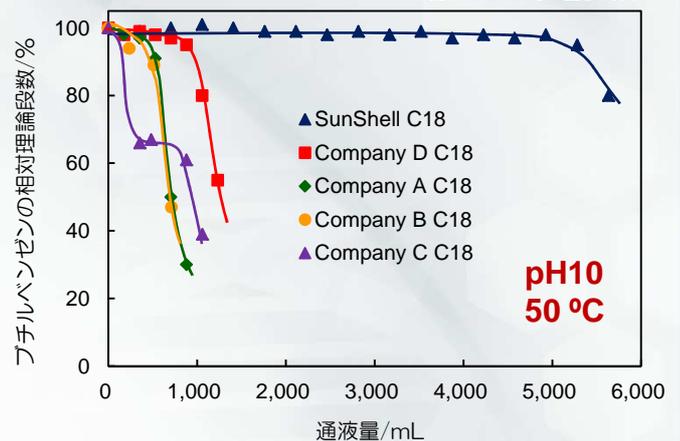
Column size: 50 x 2.1 mm
 Mobile phase: CH₃CN/1.0% TFA, pH1=10/90
 Flow rate: 0.4 mL/min
 Temperature: 80 °C

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 (t₀), 2 = Butylbenzene

1%トリフルオロ酢酸にアセトニトリルを10%混合した移動相をカラム温度80°Cで通液したときのカラムの劣化を比較しました。酸性条件下の劣化では、アルキル基が加水分解によりシリカ表面から脱離し、保持が減少します。p-チルベンゼンの保持はアルキル基の結合量にほぼ比例します。したがってp-チルベンゼンの保持の変化(減少率)を5種類のコアシェルC18で比較しました。C社コアシェルC18は最も酸性条件下で劣化が早く、相対保持が90%に下がる時間を比較すると、SunShell C18はA, BおよびC社コアシェルC18の10倍以上の耐久性が確認されました。

耐アルカリ性試験



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

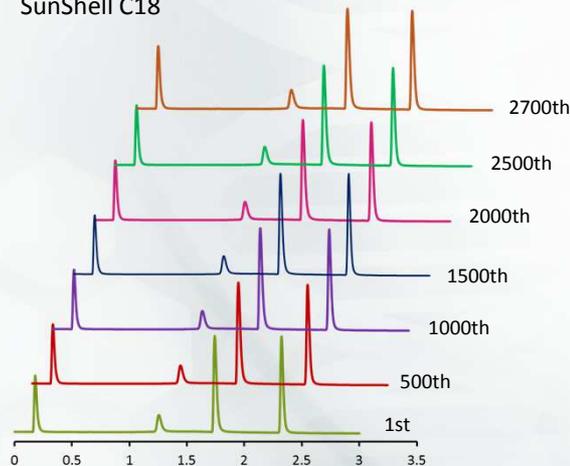
理論段数測定条件

Column Size: 50 x 2.1 mm
 Mobile phase: CH₃CN/H₂O=60/40
 Flow rate: 0.4 mL/min
 Temperature: 40 °C
 Sample: 1 = Butylbenzene

pHメーターのアルカリ性標準液の緩衝液として用いられ、高い緩衝能を有している四ホウ酸ナトリウムを用いpH10に設定しました。カラム温度は50°Cとし、メタノールを30%添加した移動相を通液しました。SunShell C18は移動相通液量5,000 mL程度の耐久性があり、保持指数(k)が14程度(分析時間約3分)までの試料を分析する場合には4,000検体の分析が可能です。A, B, CおよびD社C18は500 mLから1,000 mLの通液量で劣化しており、SunShell C18は他社C18の5倍から10倍の耐久性を示しました。さらにカラム温度を10°C下げると劣化速度は約1/3倍になるため、50°Cで4,000検体の耐久性は、40°Cでは12,000検体の耐久性等しくなります。また、他社の耐久性試験ではカラム温度をambientと表示した室温での試験が多く見受けられます。室温を25°Cと設定しているのであれば、50°Cでは、カラム温度が室温の時と比べ、16倍早く劣化することになります。

アルカリ性条件(pH 9.5)での連続分析

SunShell C18



Column: SunShell C18, 2.6 μm 50 x 2.1 mm
 Mobile phase: A) 10 mM Ammonium bicarbonate pH 9.5
 B) Acetonitrile

Gradient program:

Time (min)	0	1	3	3.1	5
%B	30	90	90	30	30

Flow rate: 0.5 mL/min

Temperature: 40 °C

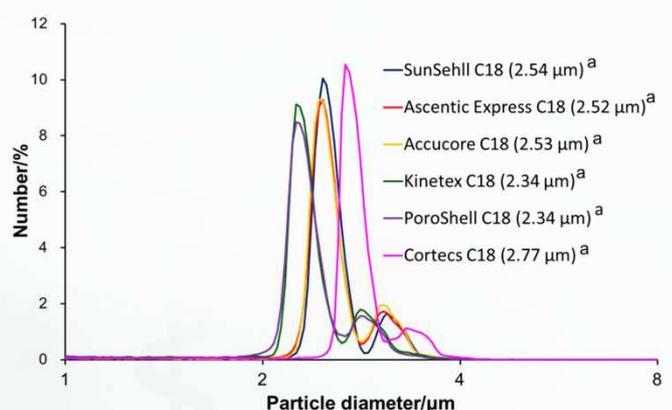
Detection: UV@250 nm

Sample: 1=Uracil, 2=Propranolol, 3= Nortriptyline, 4=Amitriptyline

比較に用いたカラム

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. Cortecs C18, 2.7 μm
6. SunShell C18, 2.6 μm

粒子径の比較



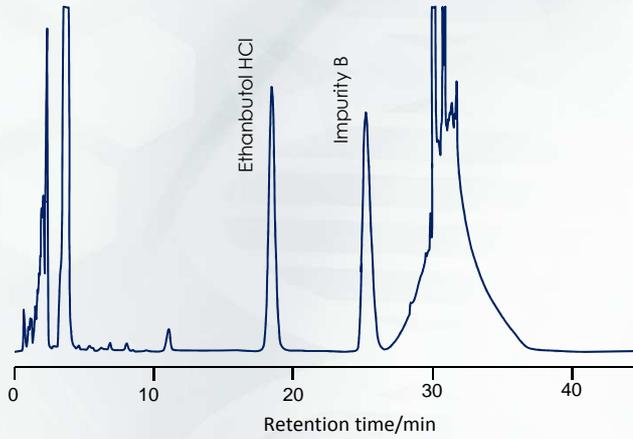
a: 中位径

*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。

SunShell

エタンブトール

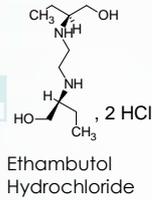
Ethambutol Hydrochloride



Column: SunShell C18, 2.6 μ m 100 x 4.6 mm
 Mobile phase: A) Methanol/water (50/50 V/V)
 B) Methanol

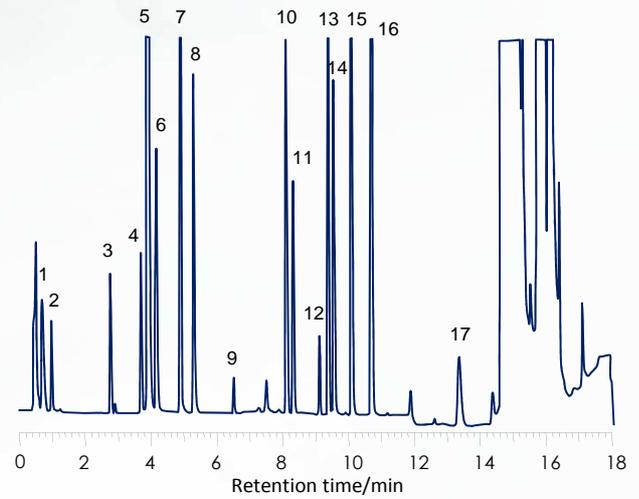
Time (min)	0	30	35	37	38
%B	29	29	100	100	29

Flow rate: 1.0 mL/min
 Temperature: 40 $^{\circ}$ C
 Detection: UV 215 nm
 Injection volume: 10 μ L



OPAとFMOC誘導体化アミノ酸の分離

Amino Acids derivatized with OPA and FMOC



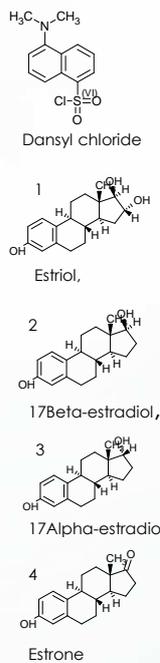
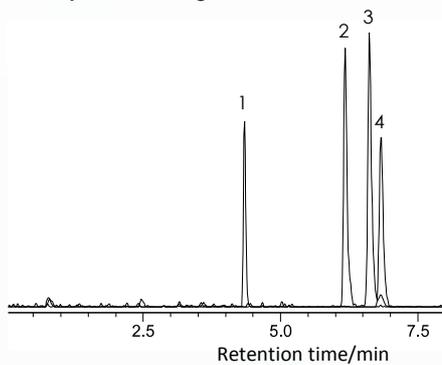
Column: SunShell C18 2.6 μ m, 150 x 2.1 mm
 Mobile phase: A) 10mM Na_2PO_4 + 10mM $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ + 0.5mM NaN_3 (pH7.8)
 B) Acetonitrile/Methanol/Water (45/45/10 %V)

Time (min)	0	0.4	12.8	13.8
%B	5	5	50	100

Flow rate: 0.61 mL/min
 Temperature: 40 $^{\circ}$ C
 Detection: UV@338 nm
 Sample: 1=Aspartic acid, 2=Glutamic acid, 3=Serine, 4=Histidine, 5=Glycine, 6=Threonine, 7=Arginine, 8=Alanine, 9=Tyrosine, 10=Valine, 11=Methionine, 12=Tryptophan, 13=Pheylalanine, 14=Isoleucine, 15=Leucine, 16=Lysine, 17=Proline

ダンシル化エストロゲン（女性ホルモン）の分離

Dansylated estrogen hormones



Column: SunShell C18 2.6 μ m, 100 x 2.1 mm
 Mobile phase:

A) H_2O with 0.1% formic acid.
 B) CH_3CN with 0.1% formic acid.

Gradient program:

0 - 0.5 min: 10% B
 0.51 - 3.0 min: 10 - 72% B
 3.01 - 6.0 min: 72% B
 6.01 - 7.0 min: 72 - 100% B
 7.01 - 10.0 min: 100% B

Flow rate: 0.45 mL/min.
 Temperature: 40 $^{\circ}$ C

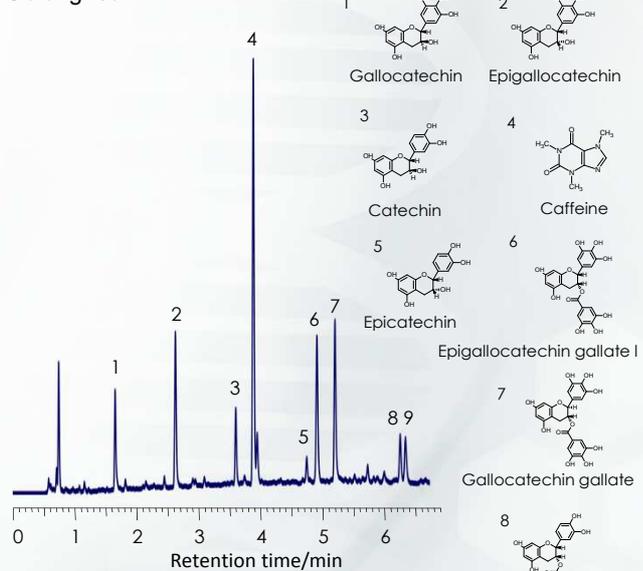
Detection: MS(sim), m/z, 522.20, 506.20, 504.20

Samples: 1. Dansylated estriol, 2. Dansylated 17beta-estradiol, 3. Dansylated 17alpha-estradiol, 4. Dansylated estrone

Courtesy of Department of Chemistry & Biochemistry, The University of Texas at Arlington

ウーロン茶の分離

Oolong tea



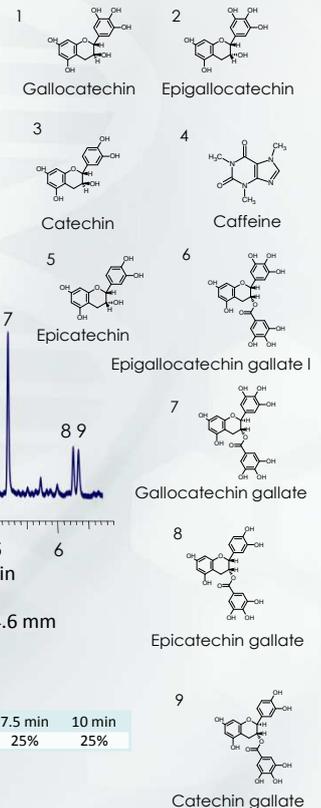
Column: SunShell C18 2.6 μ m, 75 x 4.6 mm

Mobile phase:
 A) 0.1% Phosphoric acid
 B) CH_3CN

Gradient program

Time	0 min	7.5 min	10 min
%B	2%	25%	25%

Flow rate: 1.0 mL/min,
 Temperature: 25 $^{\circ}$ C
 Detection: UV@250 nm
 Sample: Oolong tea



SunShell C18-WP, RP-AQUA, C8, Phenyl, PFP, 2.6 μm

(ペンタフルオロフェニル)

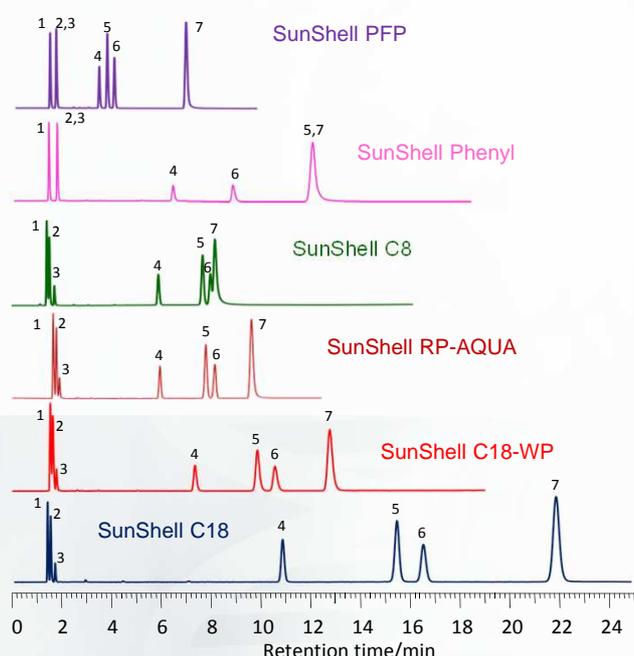


SunShell の基本特性

	コアシェルシリカ				結合相						
	粒子径 (μm)	コア径 (μm)	細孔径 (nm)	比表面積 (m^2/g)	炭素含有量 (%)	固定相	USP L 番号	エンドキャッピング	使用最高圧	使用pH範囲	
SunShell C18	2.6	1.6	9	150	7	C18	L1	Sunniest endcapping	60 MPa	1.5 - 10	
SunShell C18-WP	2.6	1.6	16	90	5	C18	L1	Sunniest endcapping	60 MPa	1.5 - 10	
SunShell RP-AQUA	2.6	1.6	16	90	4	C28	L62	Sunniest endcapping	60 MPa	2 - 8 ^a	
SunShell C8	2.6	1.6	9	150	4.5	C8	L7	Sunniest endcapping	60 MPa	1.5 - 9	
SunShell Phenyl	2.6	1.6	9	150	5	Phenylhexyl	L11	Sunniest endcapping	60 MPa	1.5 - 9	
SunShell PFP	2.6	1.6	9	150	4.5	Pentafluorophenyl	L43	TMS endcapping	60 MPa	2 - 8	

a: 有機溶媒0%の緩衝液のみの移動相を使用した場合のpH範囲

標準試料の分離

Column: SunShell C18, C18-WP, RP-AQUA, C8, Phenyl, PFP, 2.6 μm

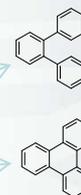
150 x 4.6 mm

Mobile phase: $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}=75/25$

Flow rate: 1.0 mL/min

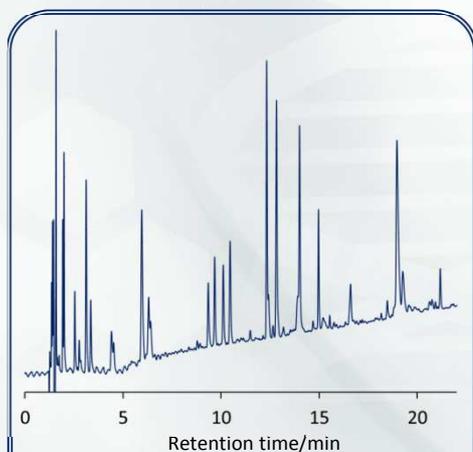
Temperature: 40 $^\circ\text{C}$

Sample: 1 = Uracil
 2 = Caffeine
 3 = Phenol
 4 = Butylbenzene
 5 = o-Terphenyl
 6 = Amylbenzene
 7 = Triphenylene



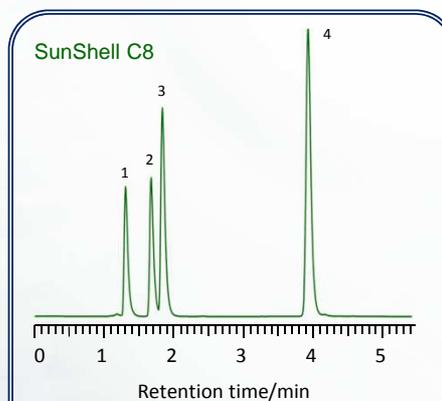
	水素結合性 (Caffeine/Phenol)	疎水性 (Amylbenzene/Butylbenzene)	立体選択性 (Triphenylene/o-Terphenyl)
PFP	1.00	1.31	2.38
Phenyl	1.00	1.48	1.01
C8	0.32	1.46	1.08
RP-AQUA	0.52	1.52	1.30
C18-WP	0.40	1.55	1.35
SunShell C18	0.39	1.60	1.46

C18-WPによるペプチドの分離



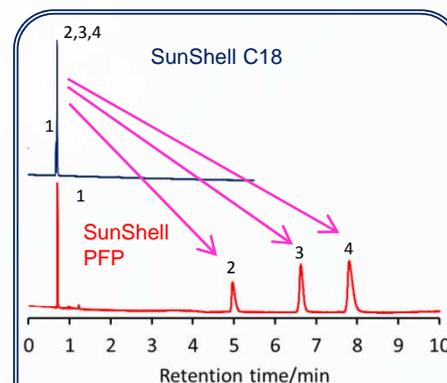
Column: SunShell C18-WP, 2.6 μm (16 nm) 150 x 4.6 mm
 Mobile phase: A) 0.1% TFA in Acetonitrile/water(10:90)
 B) 0.1% TFA in Acetonitrile
 Gradient program: %B 5% - 50% in 40 min
 Flow rate: 1.0 mL/min, Temperature: 25 $^\circ\text{C}$,
 Detection: UV@210 nm,
 Sample: Tryptic digest of Lysozyme

C8によるアミトリプチリンの分離



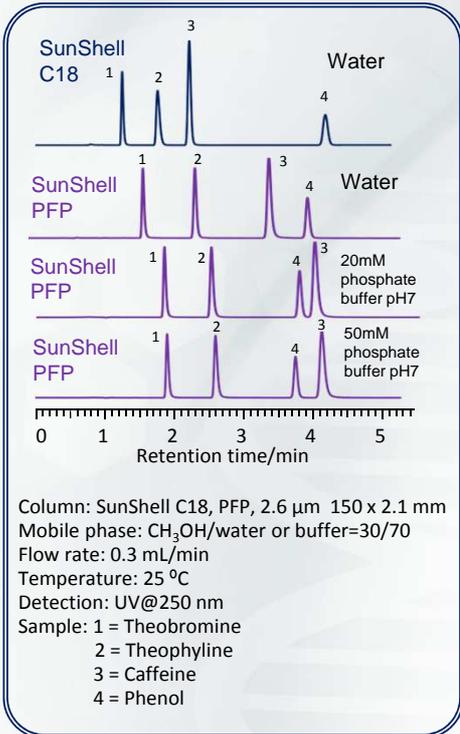
Column: SunShell C8, 2.6 μm 150 x 4.6 mm
 Mobile phase:
 $\text{CH}_3\text{CN}/20$ mM phosphate buffer H7.0=60/40
 Flow rate: 1.0 mL/min
 Temperature: 40 $^\circ\text{C}$
 Detection: UV@250 nm
 Sample: 1 = Uracil, 2 = Propranolol,
 3 = Nortriptyline, 4 = Amitriptyline

塩基性化合物の保持比較



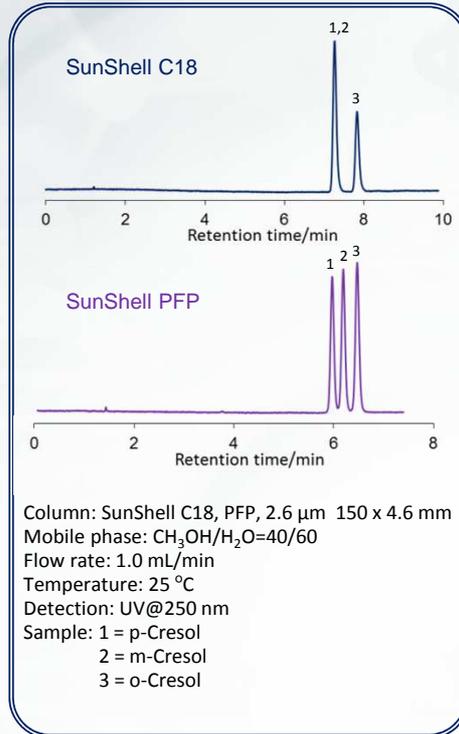
Column: SunShell C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm
 SunShell PFP, 2.6 μm 150 x 4.6 mm
 Mobile phase:
 $\text{CH}_3\text{CN}/10$ mM phosphate buffer pH7.0=80/20
 Flow rate: 1.8 mL/min
 Temperature: 25 $^\circ\text{C}$
 Sample: 1 = Uracil, 2 = Propranolol,
 3 = Nortriptyline, 4 = Amitriptyline

キサンチン類の分離比較



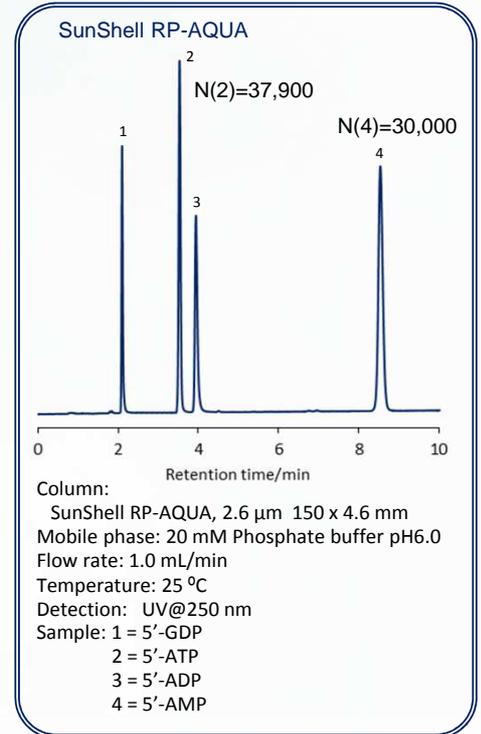
SunShell PFPはC18に比べ極性の高いカフェインを強く保持します。また塩濃度の調節で分離を変えることができます。

クレゾール異性体の分離比較



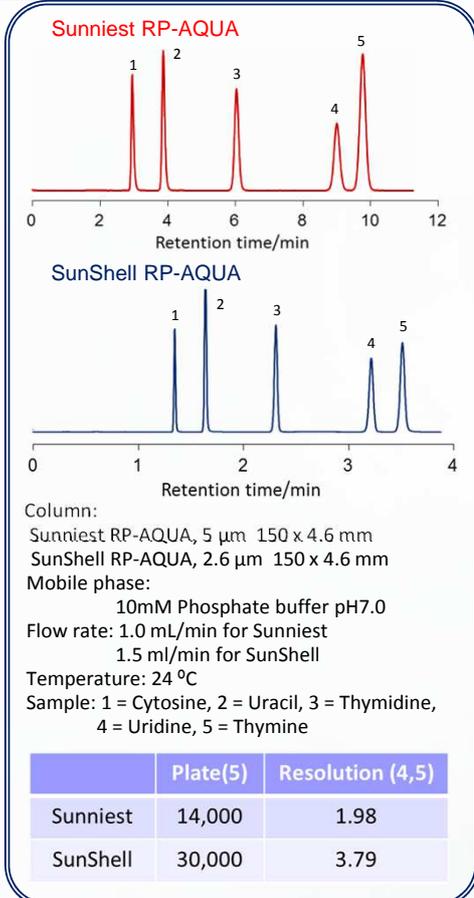
SunShell PFPは異性体の分離についてもC18と異なる分離パターンを示します。

ヌクレオチドの分離



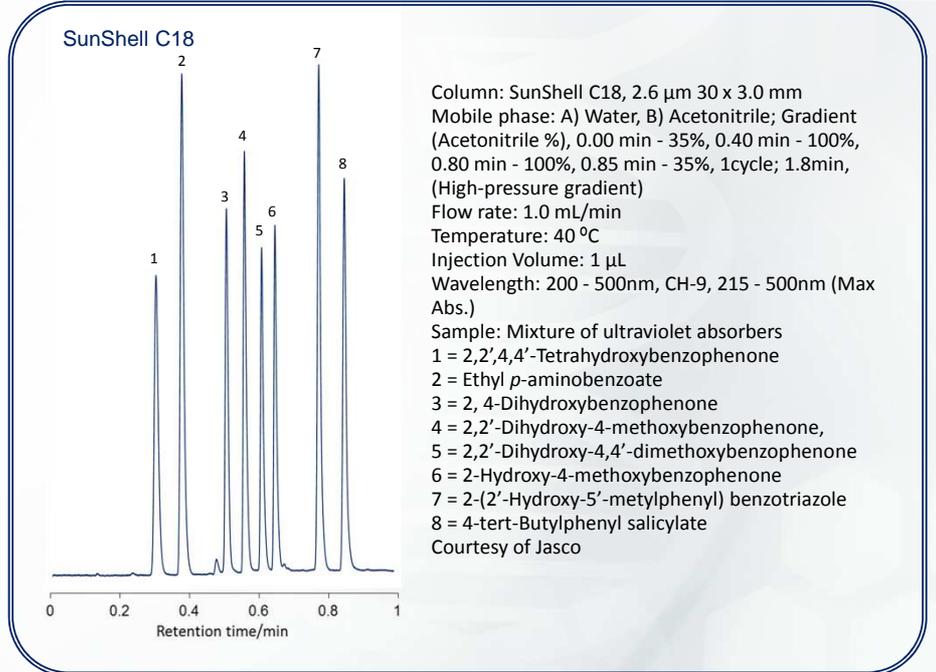
SunShell RP-AQUAはUHPLCを用いるとATPの段数は37,000段を超えます。

核酸塩基の分離比較



SunShell RP-AQUAは全多孔性のSunniest RP-AQUAの半分ですが、段数が高いため、分離度は2倍になります。

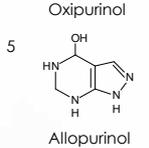
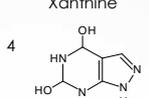
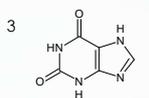
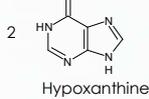
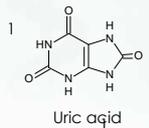
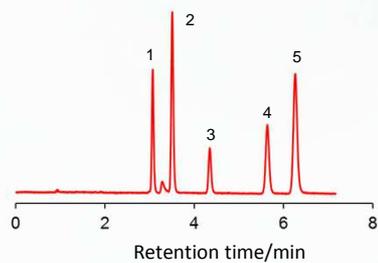
SunShell C18による高速分離



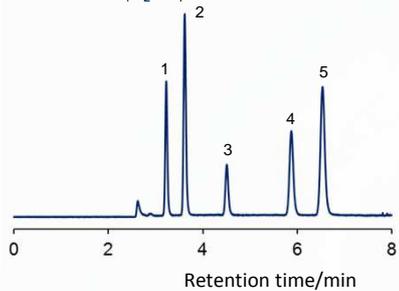
SunShellコアシェルカラムでも、サブ2 μ mカラムと同様な高速分離が可能です。上図に示されているベンゾフェノン類の分離では、1分間に8成分を分離しており、3番、4番、5番および6番のピーク幅が1秒以内で溶出しています。

プリン体類似物質の分離

10 mM ammonium acetate (pH 4.7)



50 mM NH₄H₂PO₄

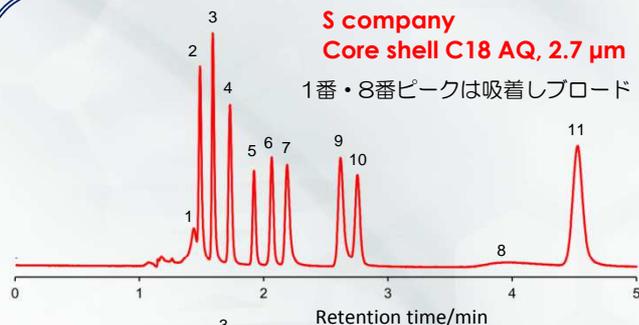


Column: SunShell RP-AQUA, 2.6 μm 100 x 4.6 mm
Mobile phase: 50 mM NH₄H₂PO₄ or 10 mM ammonium acetate (pH 4.7)
Flow rate: 1.0 mL/min
Temperature: Ambient
Detection: UV@250 nm
Sample: 1 = Uric acid, 2 = Hypoxanthine, 3 = Xanthine, 4 = Oxipurinol, 5 = Allopurinol

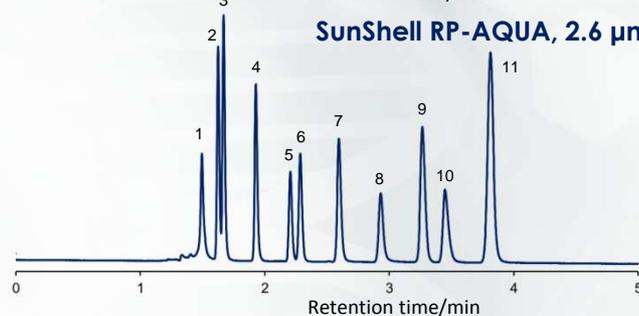
有機酸の分離

S company
Core shell C18 AQ, 2.7 μm

1番・8番ピークは吸着しブロード

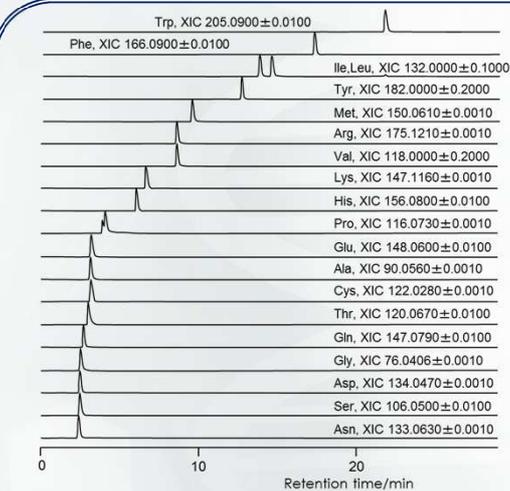


SunShell RP-AQUA, 2.6 μm

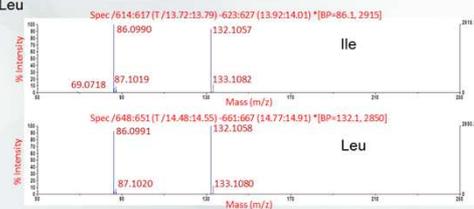


Column dimension: 150 x 4.6 mm
Mobile phase: 0.1% H₃PO₄
Flow rate: 1.0 mL/min
Temperature: 40 °C
Detection: UV@210 nm
Sample:
1 = Oxalic acid, 2 = Tartaric acid, 3 = Formic acid, 4 = Malic acid,
5 = Lactic acid, 6 = Acetic acid, 7 = Diglycolic acid, 8 = Maleic acid,
9 = Citric acid, 10 = Succinic acid, 11 = Fumaric acid.

アミノ酸の分離 (LC/MS)



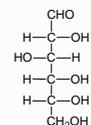
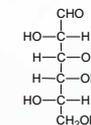
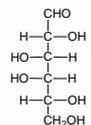
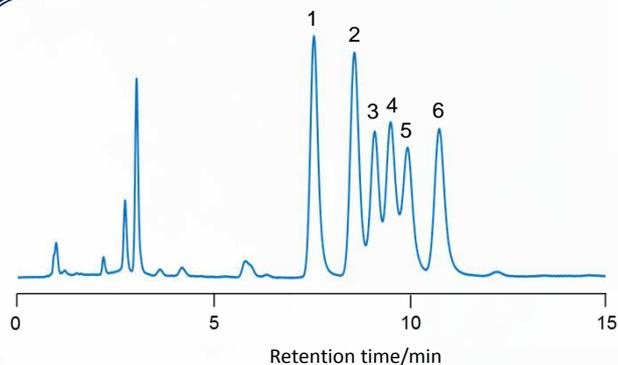
Mass spectra of Ile and Leu



Column: SunShell RP-AQUA, 2.6 μm, 150 x 2.1 mm
Mobile phase: A) 5 mM HFBA, B) 5 mM HFBA in CH₃CN / H₂O (9/1)
%B 0% to 20% in 20 min (HFBA: Heptafluorobutyric acid)
Flow rate: 0.2 mL / min
Temperature: 40 °C
Detection: MS (NanoFrontier LD) ESI Positive,
Extracted ion chromatogram (EIC)

データ提供: 横浜国立大学 金子竹男先生 横浜国立大学機器分析評価センター

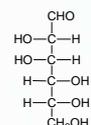
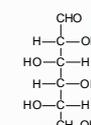
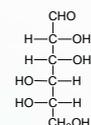
トリプトファン誘導体化単糖の分離



1 D-Galactose

2 L-Galactose

3 D-Glucose



4 L-Mannose

5 L-Glucose

6 D-Mannose

Column: SunShell RP-AQUA, 2.6 μm 100 x 4.6 mm
Mobile phase: 5 mM Phosphate and 25 mM tetraborate (pH 9.6)
Flow rate: 1.0 mL/min
Temperature: 20 °C
Detection: UV@220 nm
Sample: Monosaccharides derivatized with L-Tryptphan

データ提供: 東海大学 小玉修嗣先生

SunShell C30, 2.6 μm

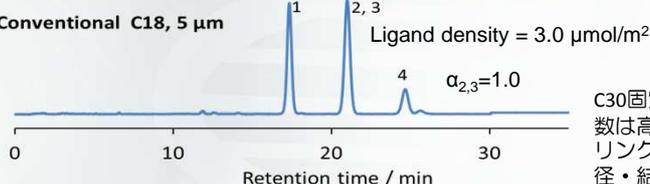


長鎖アルキル基カラム

SunShell C30の物性値

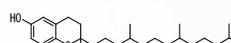
	コアシェルシリカ				結合相					
	粒子径 (μm)	コア径 (μm)	細孔径 (nm)	比表面積 (m^2/g)	固定相	炭素含有量(%)	USP L 番号	エンドキャッピング	使用最高圧	使用pH範囲
SunShell C30	2.6	1.6	12	95	C30	7	L62	TMS endcapping	60 MPa or 8,570 psi	1.5 - 9

C30カラムの問題点

Company A C30, 5 μm Company B C30, 5 μm Conventional C18, 5 μm 

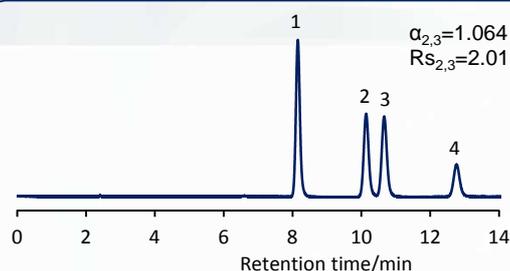
Column dimension: 250 x 4.6 mm
 Mobile phase: methanol/water = 97/3
 Flow rate: 1.0 mL/min
 Temperature: 30 °C
 Detection: UV@295 nm

Sample,

1 = δ -tocopherol2 = γ -tocopherol3 = β -tocopherol4 = α -tocopherol

C30固定相はC30の結合密度が高いほど、構造異性体の γ 、 β -トコフェロールの分離係数は高くなりますが、結合密度が高すぎるとカラム段数は低くなり、しかもテーリングするようになり、分離度は低下してしまいます。SunShell C30は最適な細孔径・結合密度で作られているため、テーリングのない段数の高い分離が可能です。

ビタミンE (トコフェロール) の分離例

Column: SunShell C30, 2.6 μm 150 x 3.0 mm

Mobile phase: Methanol/water = 97/3

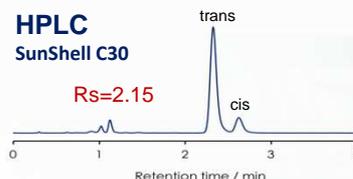
Flow rate: 0.43 mL/min

Temperature: 25 °C

Detection: UV@295 nm

Sample: 1 = δ -tocopherol, 2 = γ -tocopherol, 3 = β -tocopherol, 4 = α -tocopherol

ビタミンK1異性体の高速分離例

HPLC
SunShell C30

HPLC condition

Column: SunShell C30, 2.6 μm 50 x 3.0 mm

Mobile phase: Methanol

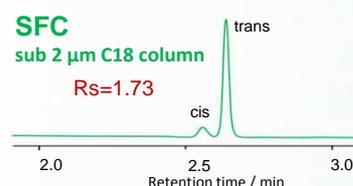
Flow rate: 0.80 mL/min

Temperature: 15 °C

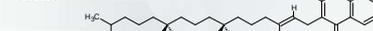
Detection: UV@250 nm

Sample: Vitamin K1 isomers (trans and cis).

SFC

sub 2 μm C18 column

trans



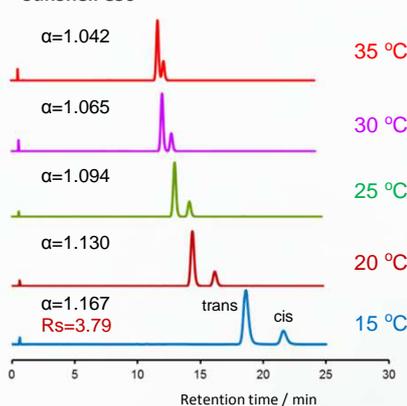
cis



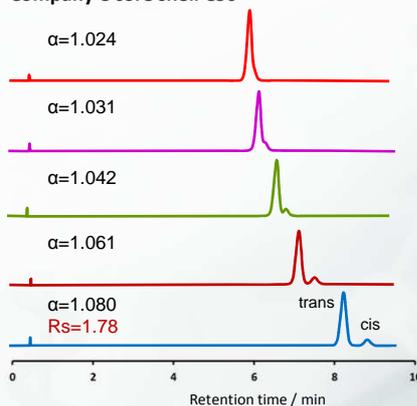
3分で異性体の高速分離が可能です。サブ2 μm C18カラムのSFC分離でも同様に高速分離可能ですが、分離度はHPLCの方が勝っています。

ビタミンK1の異性体 (シス・トランス) 分離比較

SunShell C30



Company C core shell C30

Column: SunShell C30, 2.6 μm 100 x 2.1 mmCompany C core shell C30, 2.6 μm 100 x 2.1 mm

Mobile phase: methanol/water = 96/4

Flow rate: 0.35 mL/min

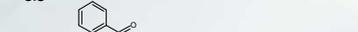
Detection: UV@250 nm

Sample: vitamin K1 isomers (trans and cis).

trans



cis



ビタミンK1の異性体の分離はカラム温度が低いほど分離度が高くなりました。また他社のコアシェルC30カラムと比較した結果、SunShell C30は保持時間が長いだけではなく、分離係数(α)が大きく、15°Cでの分離度(Rs)は約2倍になりました。短いカラムを用いれば3分以内の高速分離も可能であり、SunShell C30は精密分離から高速分離まで対応しております。

SunShell 2.6 μm C18-WP, HFC18-16, HFC18-30, C8-30, C8-30HT, C4-30, C4-100



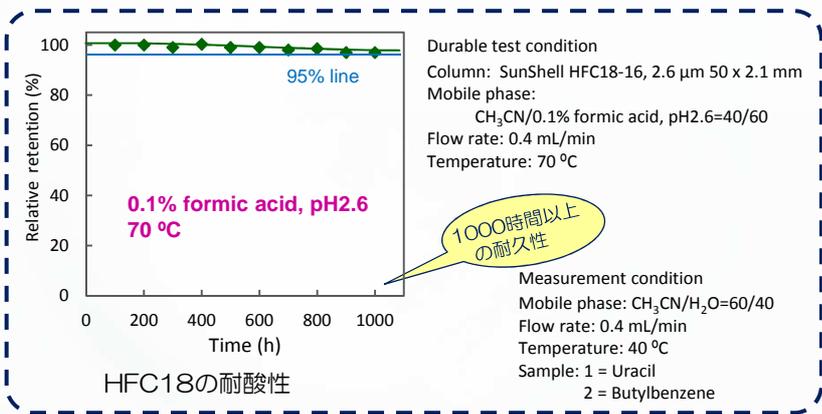
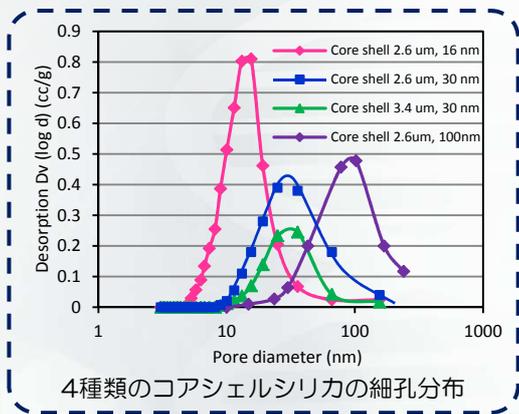
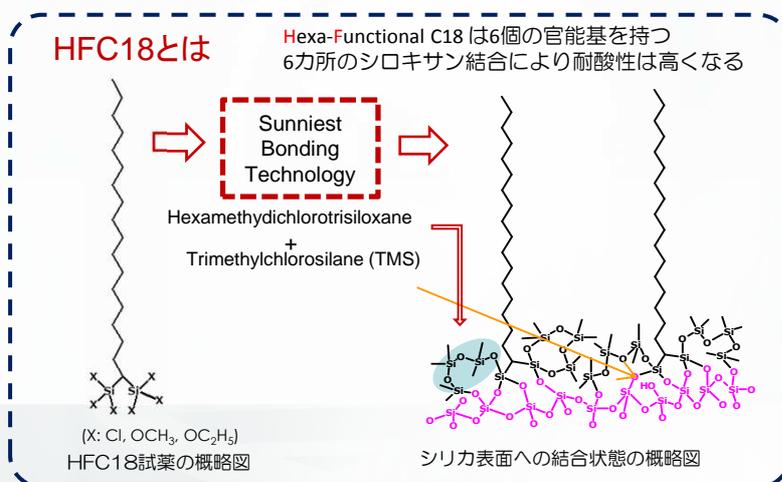
ペプチド・タンパク質分離用カラム

SunShell の物性値

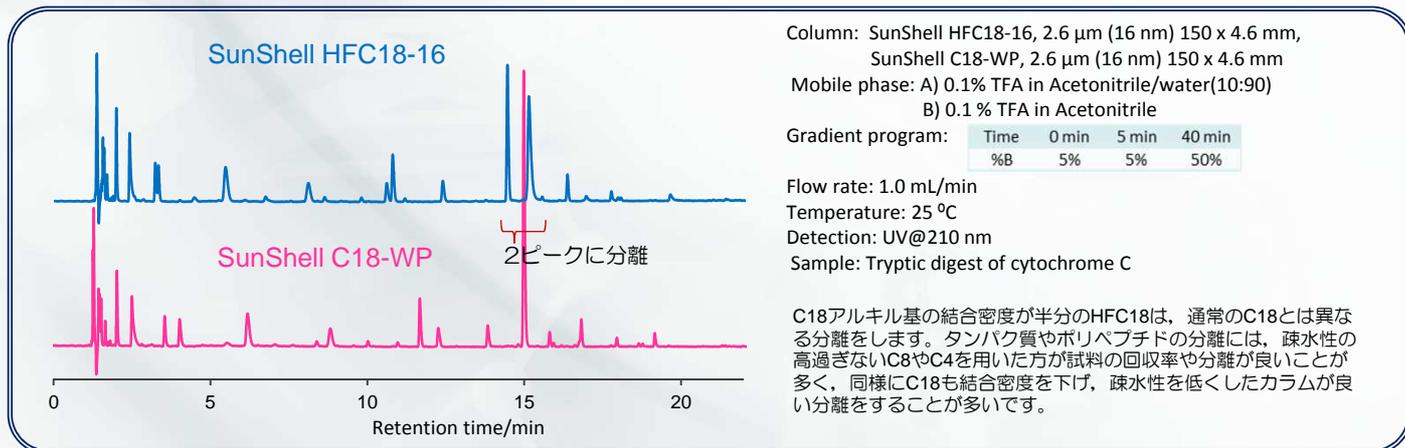
	コアシェルシリカ				結合相					
	粒子径 (μm)	コア径 (μm)	細孔径 (nm)	比表面積 (m ² /g)	固定相	炭素含有量 (%)	結合密度 (μmol/m ²)	エンドキャッピング	使用最高圧	使用pH範囲
SunShell C18-WP	2.6	1.6	16	90	C18	5	2.5	Sunniest endcapping	60 MPa or 8,570 psi	1.5 - 10
SunShell HFC18-16	2.6	1.6	16	90	C18	2.5	1.2	Sunniest endcapping	60 MPa or 8,570 psi	1.5 - 9
SunShell HFC18-30	2.6	1.6	30	40	C18	1.3	1.2	Sunniest endcapping	60 MPa ^a or 8,570 psi ^a	1.5 - 9
SunShell C8-30	2.6	1.6	30	40	C8	1.2	2.5	Sunniest endcapping	60 MPa ^a or 8,570 psi ^a	1.5 - 9
SunShell C8-30HT	3.4	3.0	30	15	C8	0.5	2.5	Sunniest endcapping	60 MPa ^a or 8,570 psi ^a	1.5 - 9
SunShell C4-30	2.6	1.6	30	40	C4	0.9	3	Sunniest endcapping	60 MPa ^a or 8,570 psi ^a	1.5 - 8
SunShell C4-100	2.6	1.6	100	22	C4	0.6	3	Sunniest endcapping	60 MPa or 8,570 psi	1.5 - 8

*HFC18は二つのケイ素原子がシリカ表面に結合するため、C18の結合密度は半分となります。

a: 内径4.6 mmのカラムの耐圧は50 MPa, 7141 psi



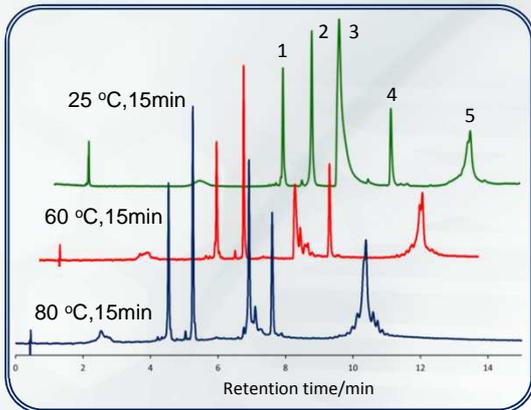
ペプチドの分離



SunShell 2.6 μm C8-30, C8-30HT, C4-30, C4-100

ペプチド・タンパク質分離用カラム

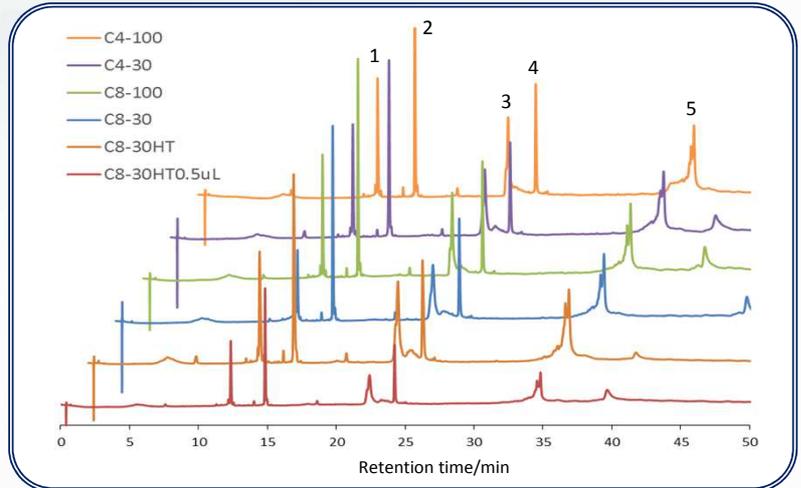
カラム温度の比較



Column: SunShell C8-30, 2.6 μm (30 nm) 100 x 2.1 mm
 Mobile phase: A) 0.1% TFA in water
 B) 0.08 % TFA in acetonitrile
 Gradient program: Time 0 min 15 min
 %B 20% 65%
 Flow rate: 0.5 mL/min,
 Temperature: 25 °C 60 °C or 80 °C
 Detection: UV@215 nm,
 Sample: 1 = Cytochrome C, 2 = Lysozyme, 3 = BSA,
 4 = Myoglobin, 5 = Ovalbumin

タンパク質のような高分子は拡散係数が低いため、室温では分離不十分でも、カラム温度を上げることにより改善できます。25°Cではテーリングのピークに見えるBSAは、80°Cではいくつものピークが出現してきます。

標準タンパク質によるSunshellカラムの比較



Column dimension: 100 x 2.1 mm,
 Mobile phase: A) 0.1% TFA in water, B) 0.1 % TFA in Acetonitrile
 Gradient program: Time 0 min 60 min
 %B 20% 65%
 Flow rate: 0.5 mL/min, Temperature: 80 °C, Detection: UV@215 nm, Injection volume: 1.0 μL
 Sample: 1 = Cytochrome C, 2 = Lysozyme, 3 = BSA, 4 = Myoglobin, 5 = Ovalbumin,
 UHPLC instrument: HITACHI Chromaster

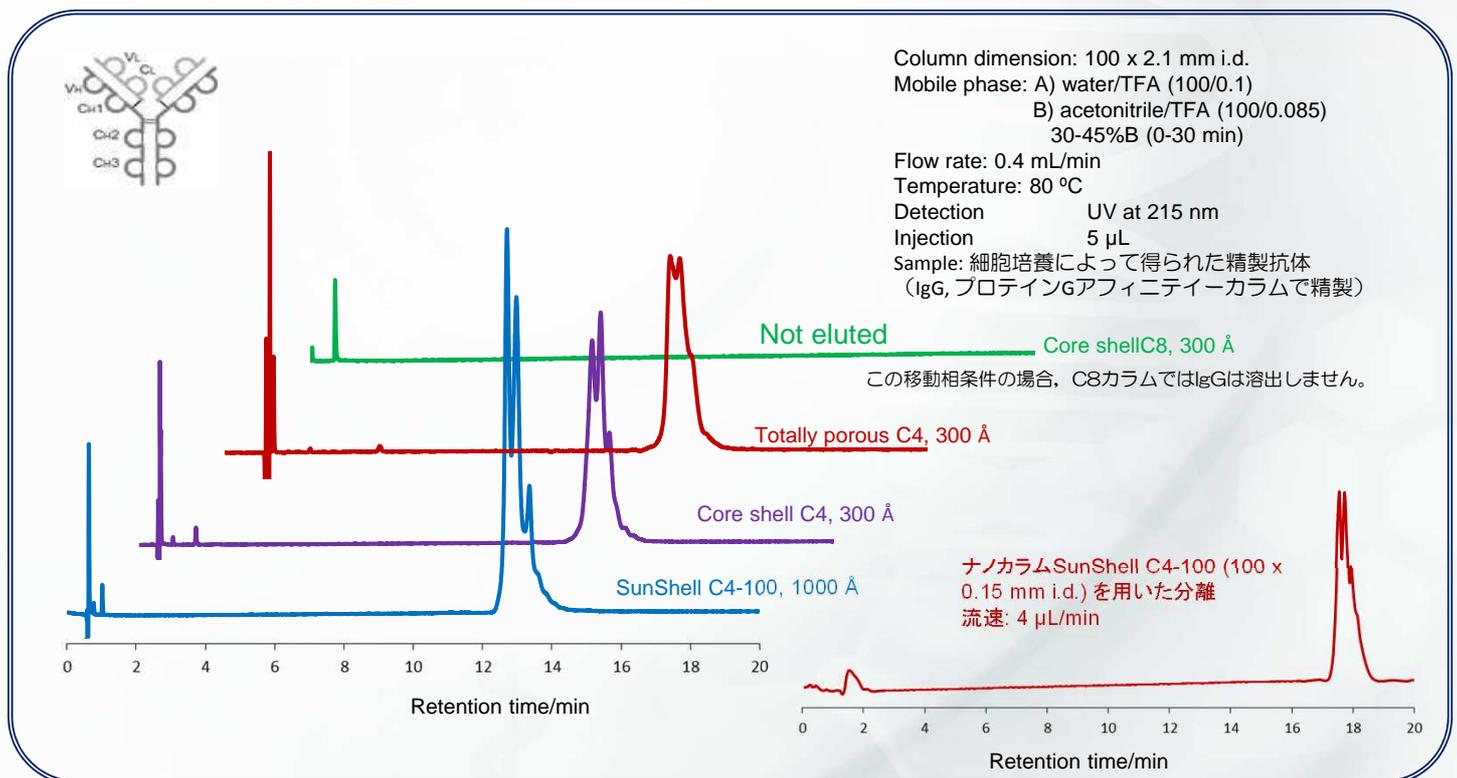
ピーク幅(W0.5, min)の比較

	C4-100	C4-30	C8-100	C8-30	C8-30HT	C8-30HT 0.5uL	試料濃度
Cytochrome C	0.167	0.177	0.160	0.155	0.212	0.144	0.050%
Lysozyme	0.164	0.180	0.153	0.166	0.196	0.145	0.050%
BSA	0.308	0.410	0.276	0.514	0.422	0.330	0.100%
Myoglobin	0.197	0.221	0.180	0.199	0.238	0.176	0.050%
Ovalbumin	0.391	0.889	0.247	0.428	0.184	0.176	0.050%

上記表からピーク幅を比較しますと、C4-30やC8-30よりも1000Åの細孔径を有するC4-100の方がシャープなピークが得られております。表面多孔質層の薄い(0.2 μm) C8-30HTは比表面積が小さいため、試料負荷量が多くなく、上記分離例からも分かるように、注入量を少なくすると最もシャープなピークが得られました。



モノクローナル抗体の分離



Column dimension: 100 x 2.1 mm i.d.
 Mobile phase: A) water/TFA (100/0.1)
 B) acetonitrile/TFA (100/0.085)
 30-45%B (0-30 min)
 Flow rate: 0.4 mL/min
 Temperature: 80 °C
 Detection UV at 215 nm
 Injection 5 μL
 Sample: 細胞培養によって得られた精製抗体
 (IgG, プロテインGアフィニティーカラムで精製)

Not eluted

Core shell C8, 300 Å

この移動相条件の場合、C8カラムではIgGは溶出しません。

Totally porous C4, 300 Å

Core shell C4, 300 Å

SunShell C4-100, 1000 Å

ナノカラムSunShell C4-100 (100 x 0.15 mm i.d.)を用いた分離
 流速: 4 μL/min

モノクローナル抗体のような大きなタンパク質については、30 nm (300 Å)の細孔では十分な大きさと言えます、細孔分布の大きい領域でしか相互作用しませんが、100 nm (1000 Å)の細孔は細孔分布のほとんどの領域で相互作用ができるため、たとえ充填剤の比表面積が30 nmの細孔の充填剤より小さくても、100 nmの細孔の充填剤の方が試料負荷量は多くなります。また内径0.15 mmのナノカラムを用いても同様に分離できました。

SunShell 2-EP, 2.6 μm



SFC対応コアシェルカラム

2.6 μm コアシェルカラムはサブ2 μm カラムと同等な段数で、カラム圧が1/2以下であるため、SFCに用いた場合カラムin/out間の圧力差が小さく、CO₂流体の密度差も小さくなるため、分離への悪影響が少なくなります。また同じ圧力ではカラム長を長くできるため2倍以上の段数で使用可能です。

SunShell 2-EP HPLCカラムの物性値

	コアシェルシリカ				結合相					
	粒子径 (μm)	コア径 (μm)	細孔径 (nm)	比表面積 (m^2/g)	固定相	結合基	炭素含有量 (%)	エンドキャッピング	使用pH範囲	使用最高圧
SunShell 2-EP	2.6	1.6	9	150	2-EP	2-Ethylpyridine	2.5	no	2 - 7.5	60 MPa or 8,570 psi

SunShell 2-EPとサブ2 μm 粒子2-EPカラムの比較

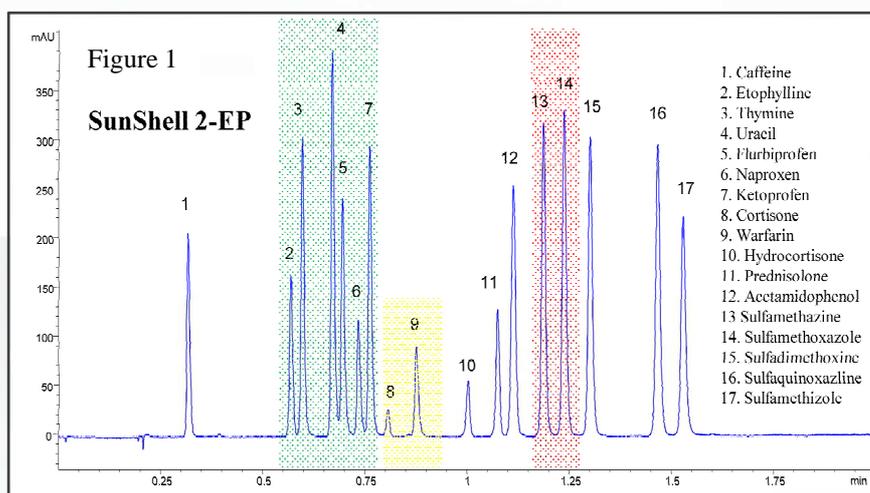


Figure 1: Chromatogram of the separation for the 17-component mix using the Sun Shell 2-EP 150 x 3.0 mm column. A methanol gradient of < 2 minutes was used on the Agilent 1260 Infinity SFC system. SFC conditions: flow rate: 4.0mL/min; outlet pressure 160 bar; column temperature 55°C. Gradient program: 5.0-7.5% in 0.20 min, then 7.5-20% in 1.3 min and held at 20% for 0.2 min.

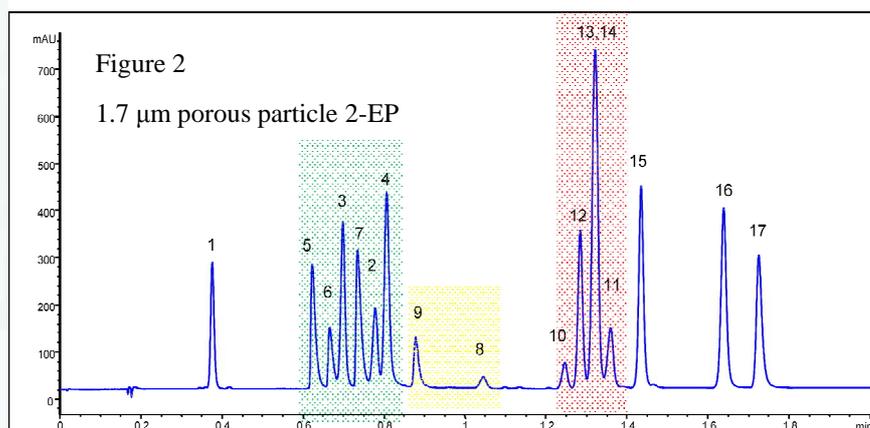
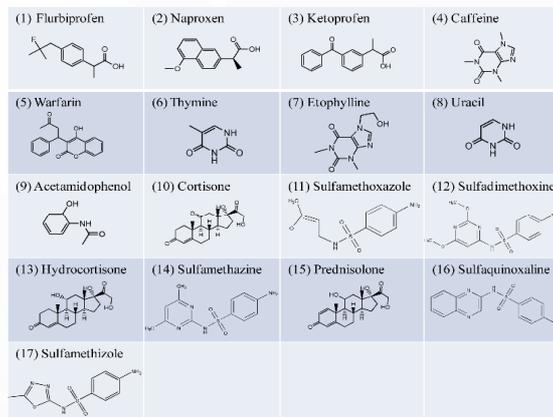


Figure 2: Chromatogram of the separation for the 17-component mix using 1.7 μm porous particle 2-EP 100 x 3.0 mm column. 16 of the 17 components were resolved. A methanol gradient of < 2 minutes was used on the Agilent 1260 Infinity SFC system. SFC conditions: flow rate 3.5 mL/min; outlet pressure 160 bar; and column temperature 70°C. Gradient program: 5.0-12.5% in 1.0 min, 12.5% for 0.25 min, then 12.5-20% in 0.75 min.



Courtesy of Pfizer Inc.

★上記SFCの分離条件はカラム出口以降のアウトレット圧を160 barに固定しています。システムの最高圧は約400 barであるため、これらの圧力条件に当てはまるようにカラム長さや移動相流速を調節しなければなりません。SunShell 2-EP 2.6 μm カラムは他社1.7 μm カラムに比べ、1/3のカラム圧しかかかりませんので、カラムを長くすることができ、さらに流速も上げることができます。このようにコアシェルカラムはSFCの分析条件を決定する際の自由度が高くなり、分離の向上が期待されます。上記の分離比較ではSunShell 2-EPはピーク幅が狭く分離度も高く、13番と14番のピークも完全分離しています。

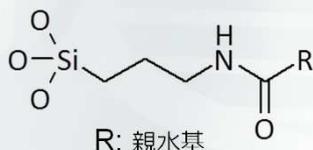
SunShell HILIC-Amide, HILIC-S, 2.6 μm

親水性相互作用クロマトグラフィー(ヒリック)用カラム

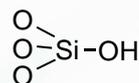
SunShell HILIC-Amide, HILIC-Sの基本特性

	コアシェルシリカ				結合相					
	粒子径 (μm)	コア径 (μm)	細孔径 (nm)	比表面積 (m^2/g)	炭素含有量 (%)	固定相	エンドキャッピング	使用pH範囲	USP L番号	使用最高圧
SunShell HILIC-Amide	2.6	1.6	9	150	3	Amide	no	2 - 8	L68	60 MPa or 8,570 psi
SunShell HILIC-S	2.6	1.6	9	150	0	Bare silica	no	1 - 5	L3	60 MPa or 8,570 psi

HILIC-Amideの固定相



HILIC-Sの固定相



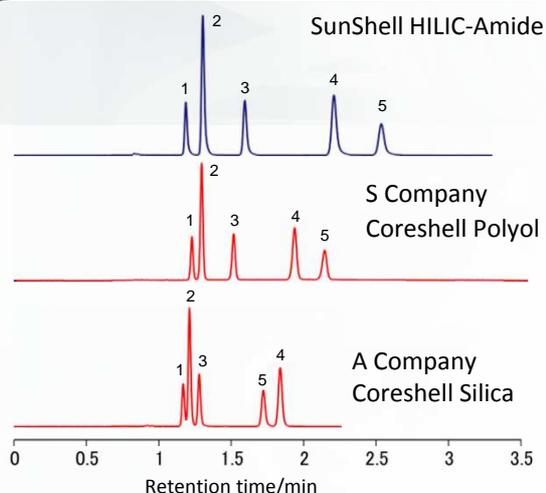
未修飾シリカ



<<LC/MSIにはSunShell HILIC-Sをお薦めいたします>>

★SunShell HILIC-Amideの固定相は親水基をアミド結合しております。アミドと親水基の相乗効果により、それぞれ単独のときよりも高い親水性の固定相となり、ヒリックモードでの保持がより大きくなります。コアシェル粒子による高効率化(高理論段数)はカラム長さを短くすることができ、薄い多孔質層による速い平衡化は流速を上げることができるため、平衡化に時間のかかるヒリック分離での高速化が実現できます。

核酸塩基の分離：他社コアシェルカラムとの比較



Column:

SunShell HILIC-Amide, 2.6 μm 100 x 4.6 mm,

Coreshell polyol, 2.7 μm 100 x 4.6 mm,

Core shell Silica, 2.7 μm 100 x 4.6 mm

Mobile phase:

Acetonitrile/20 mM ammonium acetate(pH4.7) = 8/2

Flow rate: 1.0 mL/min

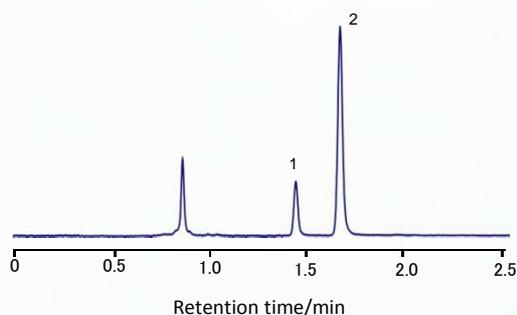
Temperature: 40 °C

Detection: UV@250 nm

Sample: 1 = Thymine, 2 = Uracil, 3 = Uridine, 4 = Cytosine, 5 = Cytidine

★SunShell HILIC-Amideは、他社コアシェルポリオールカラムと比べ、シチジンの保持は約30%大きくなっています。コアシェルシリカカラムとの比較ではさらに大きな差があります。

メラミンとシアヌル酸の分離



Column: SunShell HILIC-Amide, 2.6 μm 100 x 4.6 mm

Mobile phase:

Acetonitrile/5 mM phosphate Buffer (pH6.9) = 75/25

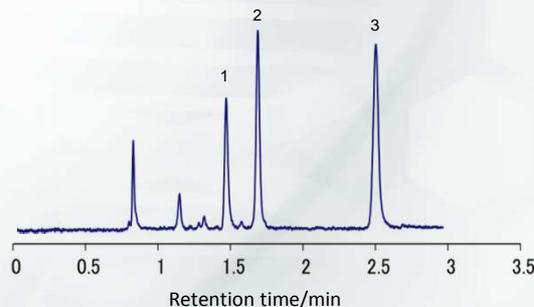
Flow rate: 1.0 mL/min

Temperature: 40 °C

Detection: UV@220 nm,

Sample: 1 = Cyanuric acid, 2 = Melamine

水溶性ビタミンの分離



Column: SunShell HILIC-Amide, 2.6 μm 100 x 4.6 mm

Mobile phase:

Acetonitrile/25 mM phosphate buffer (pH2.5) = 8/2

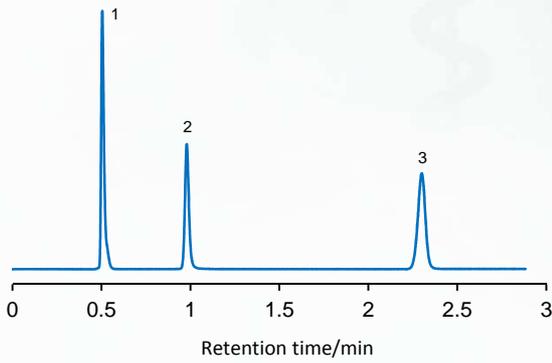
Flow rate: 1.0 mL/min

Temperature: 40 °C

Detection: UV@250 nm,

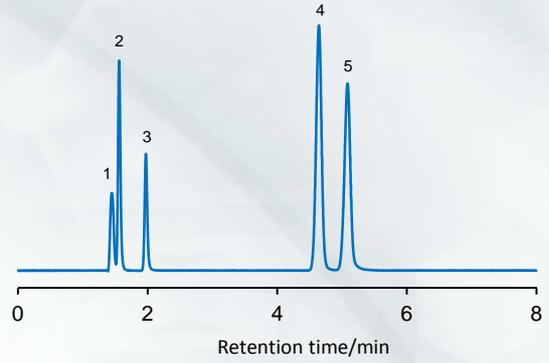
Sample: 1 = Nicotinic acid, 2 = Ascorbic acid, 3 = Pyridoxine

核酸塩基の分離



Column: SunShell HILIC-S, 2.6 μ m 100 x 2.1 mm
 Mobile phase: 100 mM ammonium acetate (pH3.0) /acetonitrile = 1/9
 Flow rate: 0.4 mL/min
 Temperature: 40 $^{\circ}$ C
 Detection: UV@250 nm
 Sample: 1 = Acenaphthene, 2 = Uridine, 3 = Cytosine

核酸塩基の分離

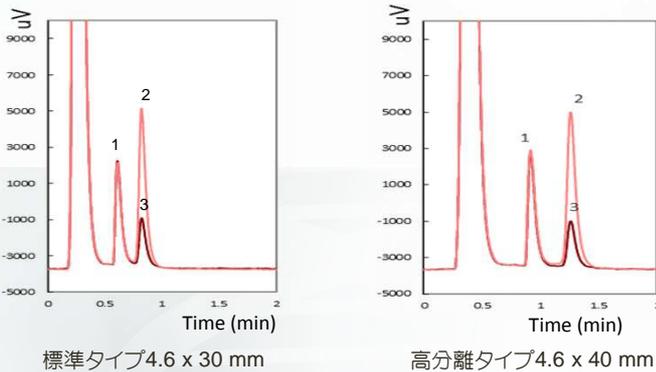


Column: SunShell HILIC-S, 2.6 μ m 100 x 2.1 mm
 Mobile phase: 100 mM ammonium acetate (pH3.0) /acetonitrile = 1/9
 Flow rate: 0.2 mL/min
 Temperature: 40 $^{\circ}$ C
 Detection: UV@250 nm
 Sample: 1 = Thymine, 2 = Uracil, 3 = Uridine, 4 = Cytosine, 5 = Cytidine

SunShell AI (エーエル)

微量アルミニウム測定専用カラム

★13ppbアルミニウム標準品の測定例 オキシンをういたキレート錯体として測定



Column: SunShell AI, 2.6 μ m 30 x 4.6 mm
 SunShell AI, 2.6 μ m 40 x 4.6 mm
 Mobile phase: 2-Propanol/buffer (pH7) = 30/70
 Flow rate: 1.5 mL/min (Standard type)
 1.2 mL/min (High resolution type)
 Column Temperature: 25 $^{\circ}$ C
 Pressure: 19.3 MPa (Standard type)
 20.4 MPa (High resolution type)
 Fluorescence detection:
 EX= 370 nm, Em= 504 nm
 Injection volume: 20 μ L
 Instrument: HPLC with 0.13 mm i.d. tubing from injector to detector.
 1: Oxine peak
 2: 13ppb Aluminum standard solution
 3: Blank (pure water)
 Resolution of peak number 1 and 2
 2.00 (Standard type)
 2.71 (High resolution type)

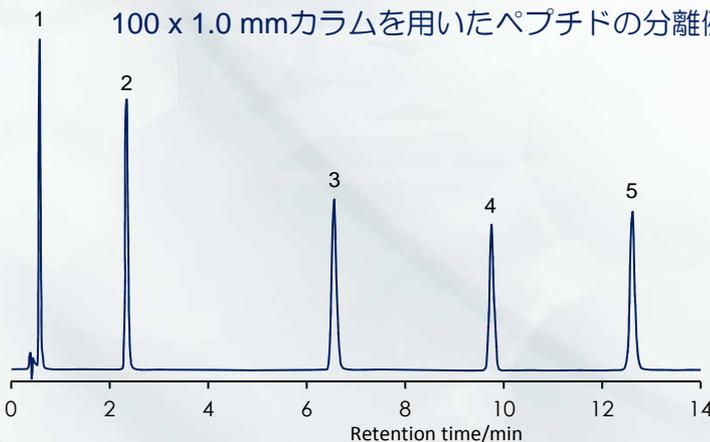
「医薬品研究【(財)日本公定書協会】Pharmaceutical Regulatory Science 35, 565-580 (2004).」に記載の測定方法に準拠しております

SunShell AI, 2.6 μ m	サイズ: 4.6 x 30 mm	型番: CA6431	¥130,000
	サイズ: 4.6 x 40 mm	型番: CA64B1	¥130,000

内径1.0 mmコアシェルカラム

SunShell C18とSunShell RP-AQUAは内径1.0mmのカラムがご利用いただけます。カラムサイズは価格表をご参照ください

100 x 1.0 mmカラムを用いたペプチドの分離例



Column: SunShell RP-AQUA, 2.6 μ m 100 x 1.0 mm
 Mobile phase: A) 0.1 % trifluoroacetic acid (TFA) in water
 B) 0.08 % trifluoroacetic acid (TFA) in acetonitrile
 %B 10% to 30% in 25 min
 Flow rate: 0.15 mL/min
 Temperature: 60 $^{\circ}$ C
 Detection: UV@214 nm
 Sample: 1 = Gly-Tyr, 2 = Val-Tyr-Val, 3 = Met enkephalin,
 4 = Leu enkephalin, 5 = Angiotensin II
 (HPLC peptide standard mixture by Sigma-Aldrich)

SunShell RP Guard C18 Filter



(C18結合カートリッジフィルター型ガードカラム)

ガードカラムとして使用するフィルターであり、全ての逆相カラムに用いることができます

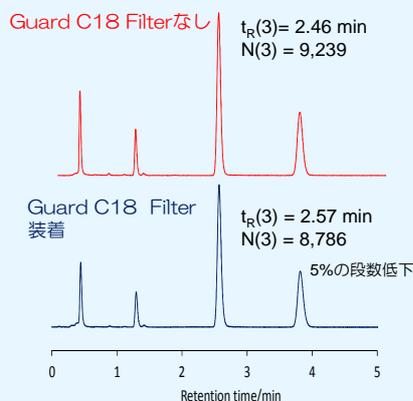
特長

- ☆均一な細孔径を持つモノリス型ガラスフィルター（直径4 mm、厚さ4 mm）にC18を結合
- ☆夾雑物の捕捉によるカラム圧の上昇防止やC18結合相による吸着物の除去など、種々の逆相カラムのガードカラムとして利用可能
- ☆カートリッジ式で交換が容易
- ☆ホルダーを含めローデッドポリリューム仕様（2.1 x 50 mmカラムで5%の段数低下、4.6 x 150 mmカラムで1%の段数低下）
- ☆内径2.1 mm～4.6 mmカラムに使用可能
- ☆SunShell RP Guard C18 Filterの圧力損失は1 mL/minで約0.1 MPa、またGuard C18 Filter 本体の耐圧は60 MPa
- ☆SunShell以外の逆相カラムにも汎用的に使用可能
- ☆アミトリプチリンのような塩基性化合物もテーリングのないシャープなピーク形状



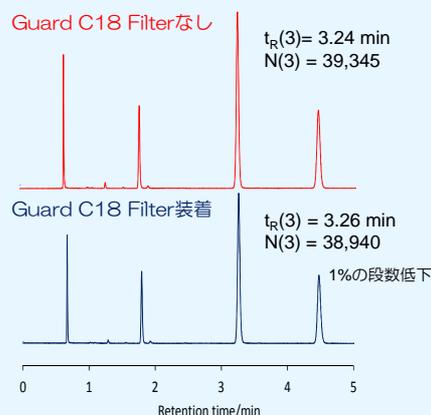
SunShell RP Guard C18 Filterの装着前後の比較

SunShell C18, 2.6 μm 50 x 2.1 mm



Mobile phase:
 CH₃CN/H₂O=60/40 for 2.1 mm i.d.
 CH₃CN/H₂O=70/30 for 4.6 mm i.d.
 Flow rate:
 0.3 mL/min for 2.1 mm i.d.
 1.8 mL/min for 4.6 mm i.d.
 Temperature: 25 °C
 Detection: UV@250 nm
 Sample: 1 = Uracil
 2 = Toluene
 3 = Acenaphthene
 4 = Butylbenzene

SunShell C18, 2.6 μm 150 x 4.6 mm



SunShell RP Guard C18 Filter 本体・部品の価格

品名	内容	型番	価格	
SunShell RP Guard Filterスターターキット	SUSホルダー 1個 C18フィルター 1個 配管(チューブ1本, オシネジ2個, フェラル2個) 1セット	CBGAKN	¥20,000	
SunShell RP Guard Filter 交換用C18フィルター	交換用C18フィルター 5個入り	CBGAAC	¥20,000	
SunShell RP Guard Filter Holder	SUSホルダー 1個	CBGAAH	¥12,000	
接続キット	SUS チューブ外径1/16", 内径0.13mm, 長さ50mm 1本 SUSオシネジ 2個 PEEKフェラル 2個	PCO50K	¥5,600	
PEEKフェラル	外径1/16"用フェラル 10個入り 上記オシネジと組み合わせて62MPa(9,000psi)の耐圧性能	PF192X	¥6,000	

※上記価格には消費税は含まれておりません。上記価格表は2018年7月現在の国内販売価格です。

SunShell の価格表 (1)

	内径(mm)	1.0		2.1		3.0		4.6		USP category
		型番	価格	型番	価格	型番	価格	型番	価格	
SunShell C18, 2 μm	長さ(mm)									
	50	-----	-----	CB1941	¥80,000	-----	-----	-----	-----	
	100	-----	-----	CB1961	¥85,000	-----	-----	-----	-----	
SunShell C18, 2.6 μm	150	-----	-----	CB1971	¥93,000	-----	-----	-----	-----	
	30	-----	-----	CB6931	¥65,000	CB6331	¥65,000	CB6431	¥65,000	L1
	50	CB6141	¥66,000	CB6941	¥66,000	CB6341	¥66,000	CB6441	¥66,000	
	75	-----	-----	CB6951	¥71,000	CB6351	¥71,000	CB6451	¥71,000	
	100	CB6161	¥79,000	CB6961	¥79,000	CB6361	¥79,000	CB6461	¥79,000	
	150	CB6171	¥84,000	CB6971	¥84,000	CB6371	¥84,000	CB6471	¥84,000	
250	-----	-----	-----	-----	CB6381	¥110,000	CB6481	¥110,000		
SunShell C18, 5 μm	150	-----	-----	-----	-----	CB3371	¥58,800	CB3471	¥58,800	
	250	-----	-----	-----	-----	CB3381	¥77,000	CB3481	¥77,000	
SunShell C8, 2.6 μm	30	-----	-----	CC6931	¥65,000	CC6331	¥65,000	CC6431	¥65,000	L7
	50	-----	-----	CC6941	¥66,000	CC6341	¥66,000	CC6441	¥66,000	
	75	-----	-----	CC6951	¥71,000	CC6351	¥71,000	CC6451	¥71,000	
	100	-----	-----	CC6961	¥79,000	CC6361	¥79,000	CC6461	¥79,000	
	150	-----	-----	CC6971	¥84,000	CC6371	¥84,000	CC6471	¥84,000	
SunShell PFP, 2.6 μm	30	-----	-----	CF6931	¥65,000	CF6331	¥65,000	CF6431	¥65,000	L43
	50	-----	-----	CF6941	¥66,000	CF6341	¥66,000	CF6441	¥66,000	
	75	-----	-----	CF6951	¥71,000	CF6351	¥71,000	CF6451	¥71,000	
	100	-----	-----	CF6961	¥79,000	CF6361	¥79,000	CF6461	¥79,000	
	150	-----	-----	CF6971	¥84,000	CF6371	¥84,000	CF6471	¥84,000	
SunShell C18-WP, 2.6 μm	30	-----	-----	CW6931	¥65,000	CW6331	¥65,000	CW6431	¥65,000	L1
	50	-----	-----	CW6941	¥66,000	CW6341	¥66,000	CW6441	¥66,000	
	75	-----	-----	CW6951	¥71,000	CW6351	¥71,000	CW6451	¥71,000	
	100	-----	-----	CW6961	¥79,000	CW6361	¥79,000	CW6461	¥79,000	
	150	-----	-----	CW6971	¥84,000	CW6371	¥84,000	CW6471	¥84,000	
SunShell RP-AQUA, 2.6 μm	30	-----	-----	CR6931	¥65,000	CR6331	¥65,000	CR6431	¥65,000	Equivalent to L62
	50	CR6141	¥66,000	CR6941	¥66,000	CR6341	¥66,000	CR6441	¥66,000	
	75	-----	-----	CR6951	¥71,000	CR6351	¥71,000	CR6451	¥71,000	
	100	CR6161	¥79,000	CR6961	¥79,000	CR6361	¥79,000	CR6461	¥79,000	
	150	CR6171	¥84,000	CR6971	¥84,000	CR6371	¥84,000	CR6471	¥84,000	
SunShell Phenyl, 2.6 μm	30	-----	-----	CP6931	¥65,000	CP6331	¥65,000	CP6431	¥65,000	L11
	50	-----	-----	CP6941	¥66,000	CP6341	¥66,000	CP6441	¥66,000	
	75	-----	-----	CP6951	¥71,000	CP6351	¥71,000	CP6451	¥71,000	
	100	-----	-----	CP6961	¥79,000	CP6361	¥79,000	CP6461	¥79,000	
	150	-----	-----	CP6971	¥84,000	CP6371	¥84,000	CP6471	¥84,000	
SunShell C30, 2.6 μm	30	-----	-----	CT6931	¥65,000	CT6331	¥65,000	CT6431	¥65,000	L62
	50	-----	-----	CT6941	¥66,000	CT6341	¥66,000	CT6441	¥66,000	
	75	-----	-----	CT6951	¥71,000	CT6351	¥71,000	CT6451	¥71,000	
	100	-----	-----	CT6961	¥79,000	CT6361	¥79,000	CT6461	¥79,000	
	150	-----	-----	CT6971	¥84,000	CT6371	¥84,000	CT6471	¥84,000	
SunShell 2-EP, 2.6 μm	30	-----	-----	CE6931	¥65,000	CE6331	¥65,000	CE6431	¥65,000	
	50	-----	-----	CE6941	¥66,000	CE6341	¥66,000	CE6441	¥66,000	
	75	-----	-----	CE6951	¥71,000	CE6351	¥71,000	CE6451	¥71,000	
	100	-----	-----	CE6961	¥79,000	CE6361	¥79,000	CE6461	¥79,000	
	150	-----	-----	CE6971	¥84,000	CE6371	¥84,000	CE6471	¥84,000	
SunShell HILIC-Amide, 2.6 μm	30	-----	-----	CH6931	¥65,000	CH6331	¥65,000	CH6431	¥65,000	L68
	50	-----	-----	CH6941	¥66,000	CH6341	¥66,000	CH6441	¥66,000	
	75	-----	-----	CH6951	¥71,000	CH6351	¥71,000	CH6451	¥71,000	
	100	-----	-----	CH6961	¥79,000	CH6361	¥79,000	CH6461	¥79,000	
	150	-----	-----	CH6971	¥84,000	CH6371	¥84,000	CH6471	¥84,000	
SunShell HILIC-S, 2.6 μm	50	-----	-----	CU6941	¥66,000	-----	-----	-----	-----	L3
	100	-----	-----	CU6961	¥79,000	-----	-----	-----	-----	
	150	-----	-----	CU6971	¥84,000	-----	-----	-----	-----	

※上記価格には消費税は含まれておりません。上記価格表は2018年7月現在の国内販売価格です。
 ※外観および仕様は改良のため、予告なく変更する場合がございますのでご了承ください。

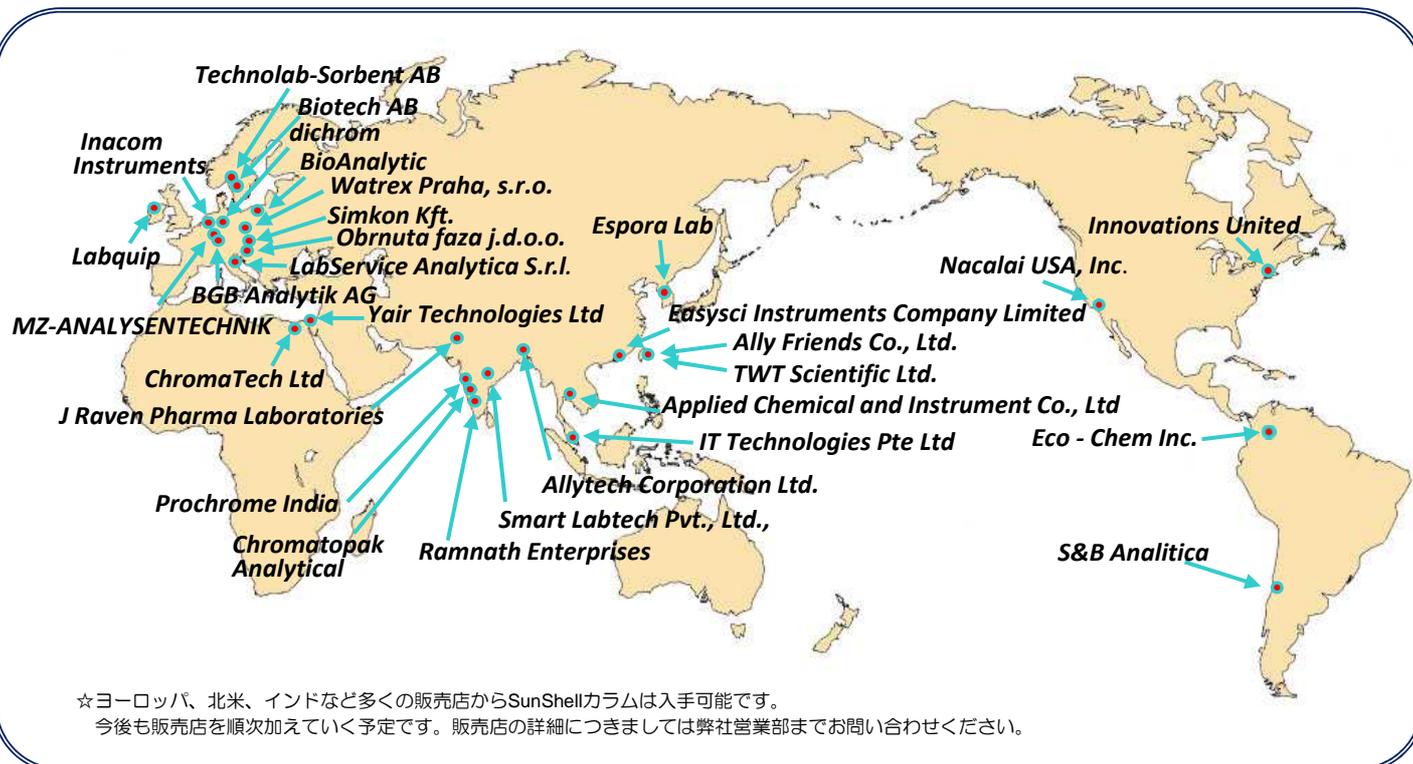
★より多くの方にご利用いただくため、SunShell C18カラムのデモンストレーションを行っております。
 ご使用可能でしたら、現品のご購入をお願いいたします。

SunShell の価格表 (2)

	内径(mm)	1.0		2.1		3.0		4.6		USP category
	長さ(mm)	型番	価格	型番	価格	型番	価格	型番	価格	
SunShell HFC18-16, 2.6 μm	50	-----	-----	CG6941	¥66,000	CG6341	¥66,000	CG6441	¥66,000	L1
	100	-----	-----	CG6961	¥79,000	CG6361	¥79,000	CG6461	¥79,000	
	150	-----	-----	CG6971	¥84,000	CG6371	¥84,000	CG6471	¥84,000	
SunShell HFC18-30, 2.6 μm	50	-----	-----	C46941	¥66,000	C46341	¥66,000	C46441	¥66,000	L1
	100	-----	-----	C46961	¥79,000	C46361	¥79,000	C46461	¥79,000	
	150	-----	-----	C46971	¥84,000	C46371	¥84,000	C46471	¥84,000	
SunShell C8-30, 2.6 μm	50	-----	-----	C36941	¥66,000	C36341	¥66,000	C36441	¥66,000	L7
	100	-----	-----	C36961	¥79,000	C36361	¥79,000	C36461	¥79,000	
	150	-----	-----	C36971	¥84,000	C36371	¥84,000	C36471	¥84,000	
SunShell C8-30HT, 3.4 μm	50	-----	-----	C56941	¥68,000	-----	-----	-----	-----	L7
	100	-----	-----	C56961	¥81,000	-----	-----	-----	-----	
	150	-----	-----	C56971	¥86,000	-----	-----	-----	-----	
SunShell C4-30, 2.6 μm	50	-----	-----	C26941	¥66,000	C26341	¥66,000	C26441	¥66,000	L26
	100	-----	-----	C26961	¥79,000	C26361	¥79,000	C26461	¥79,000	
	150	-----	-----	C26971	¥84,000	C26371	¥84,000	C26471	¥84,000	
SunShell C4-100, 2.6 μm	50	-----	-----	C66941	¥70,000	-----	-----	-----	-----	L26
	100	-----	-----	C66961	¥83,000	-----	-----	-----	-----	
	150	-----	-----	C66971	¥88,000	-----	-----	-----	-----	

※上記価格には消費税は含まれておりません。上記価格表は2018年7月現在の国内販売価格です。
 ※外観および仕様は改良のため、予告なく変更する場合がございますのでご了承願います。

*クロマニクテクノロジーズの海外販売網



開発・製造・発売元

株式会社 クロマニクテクノロジーズ

大阪本社 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
 E-mail: info@chromanik.co.jp URL: http://chromanik.co.jp

首都圏オフィス
 〒252-0331 神奈川県相模原市南区大野台1-8-31-601
 TEL: 042-851-3497
 携帯: 080-8863-4741