



# 28AB-am299

## 高耐アルカリ性を有する 逆相シリカカラムの開発と評価

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>



# 求められる耐久性



公定法において、高pHの移動相を使用する分析方法が採用



シリカカラムに耐久性が求められる

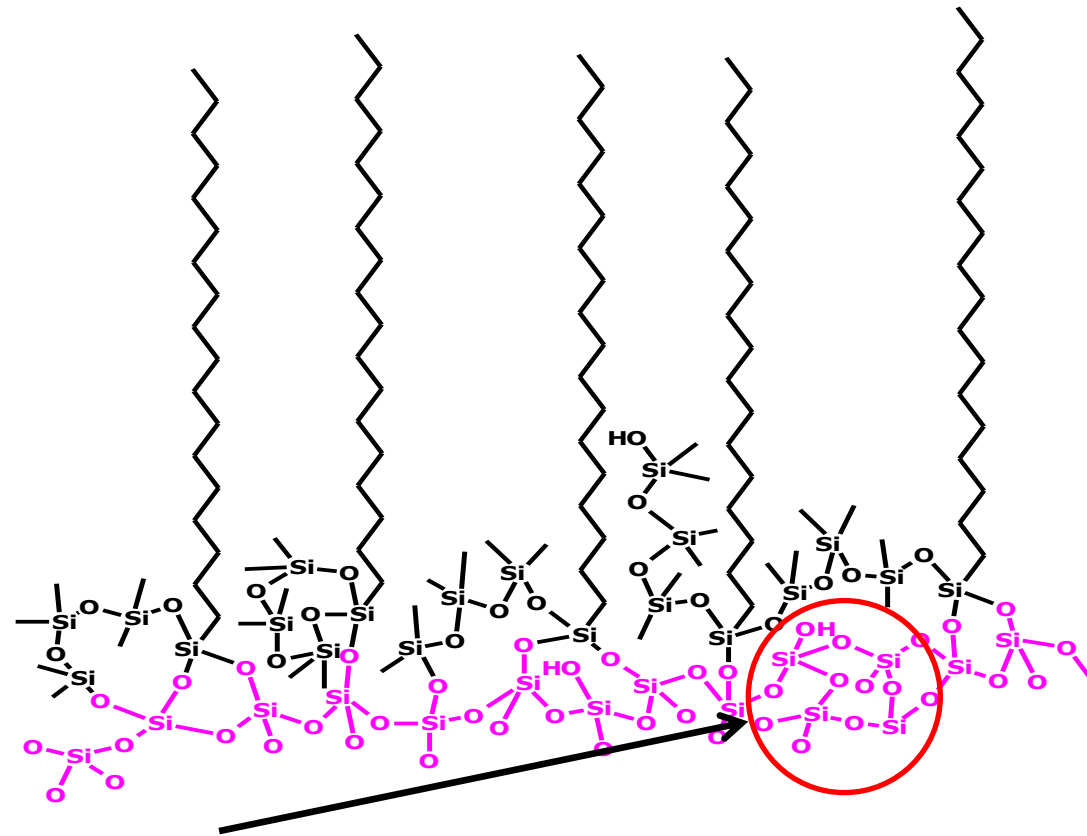


シリカカラムはアルカリ性移動相への  
耐久性は低い



耐久性を向上させる方法を検討

# アルカリ性移動相による劣化



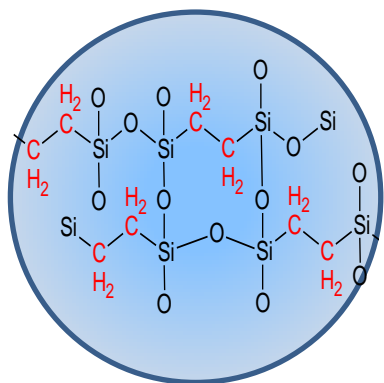
塩基性下における劣化は シリカに対する加水分解 → 結果としてシリカが 溶け出す。

理論段数の低下、ピークの広がり

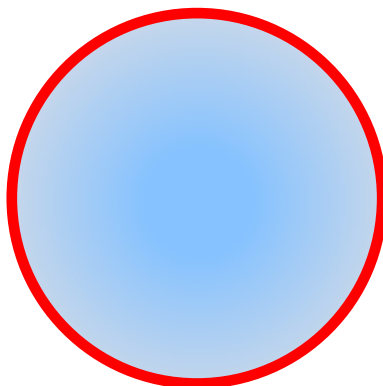


# 耐アルカリ性を高めるための手段

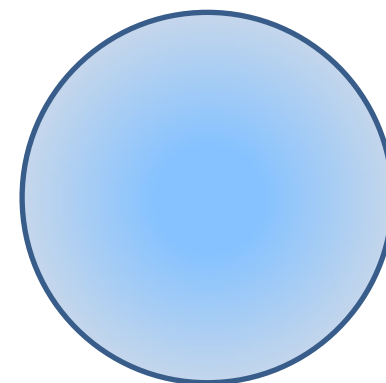
ハイブリッド基材



コーティング



エンドキャッピング



溶け難くする



接触を減らす

エンドキャッピングをさらに高効率に



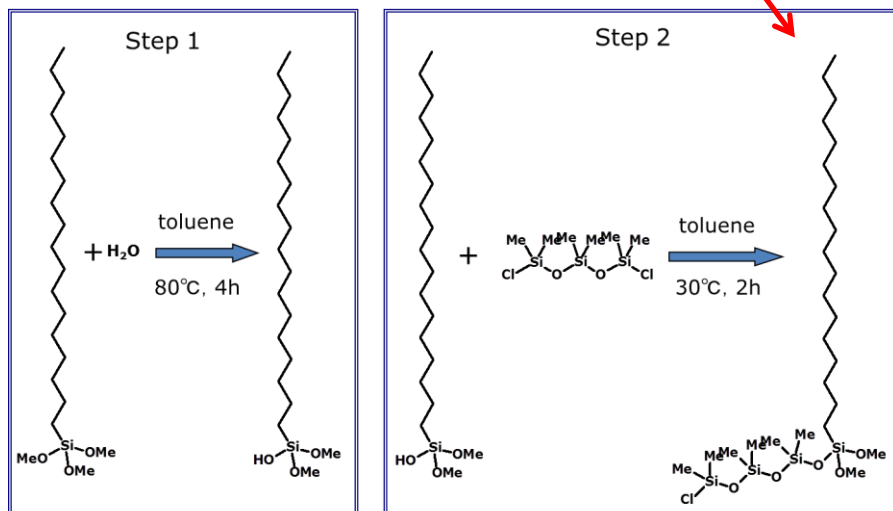
高い耐アルカリ性カラムの製造可能



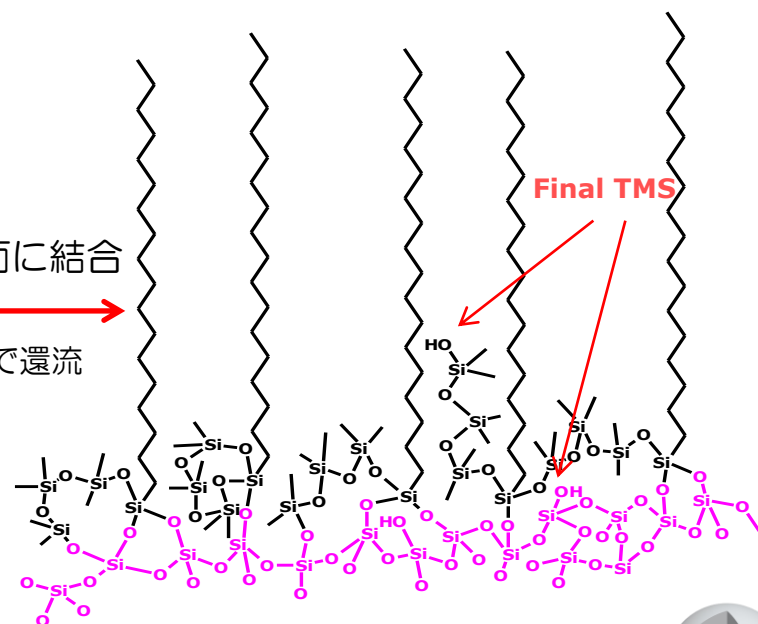
# 従来の技術

## サニエスト結合（エンドキャッピング）技術

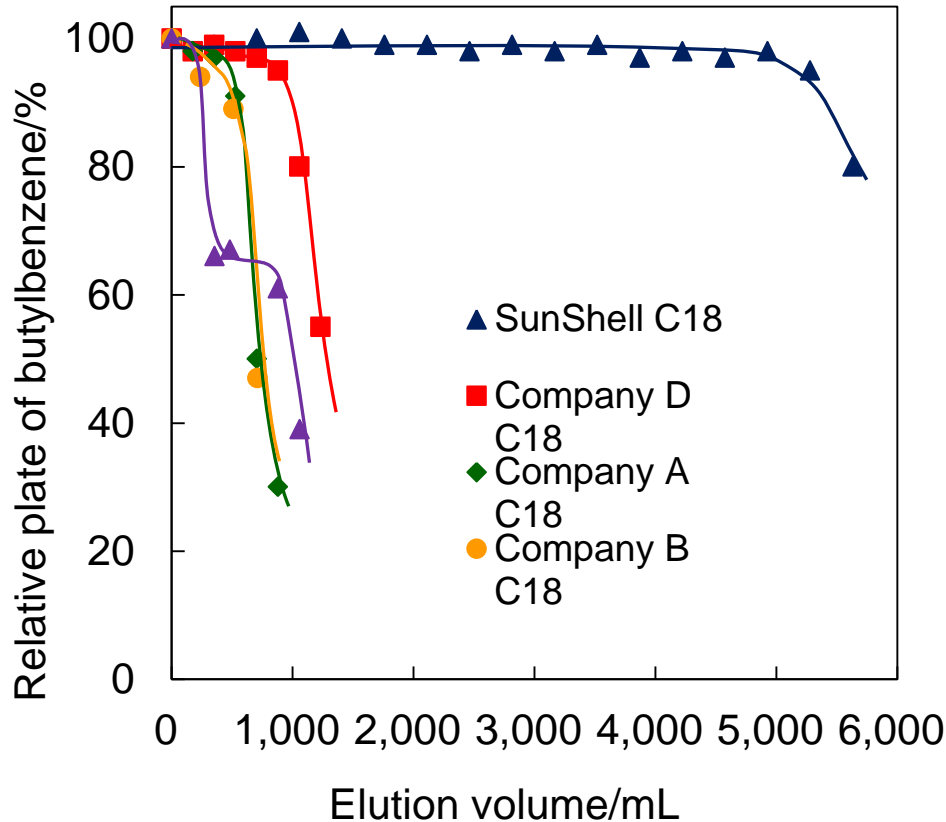
Hexamethyloctadecyltetrasilane (C18 reagent A)の合成



シリカ表面に結合  
トルエン中で還流



# アルカリ性条件での耐久性



Durable test condition  
 Column size: 50 x 2.1 mm  
 Mobile phase:  
 CH<sub>3</sub>OH/20mM Sodium borate/10mM NaOH=30/21/49 (pH10)  
 Flow rate: 0.4 mL/min  
 Temperature: 50 °C

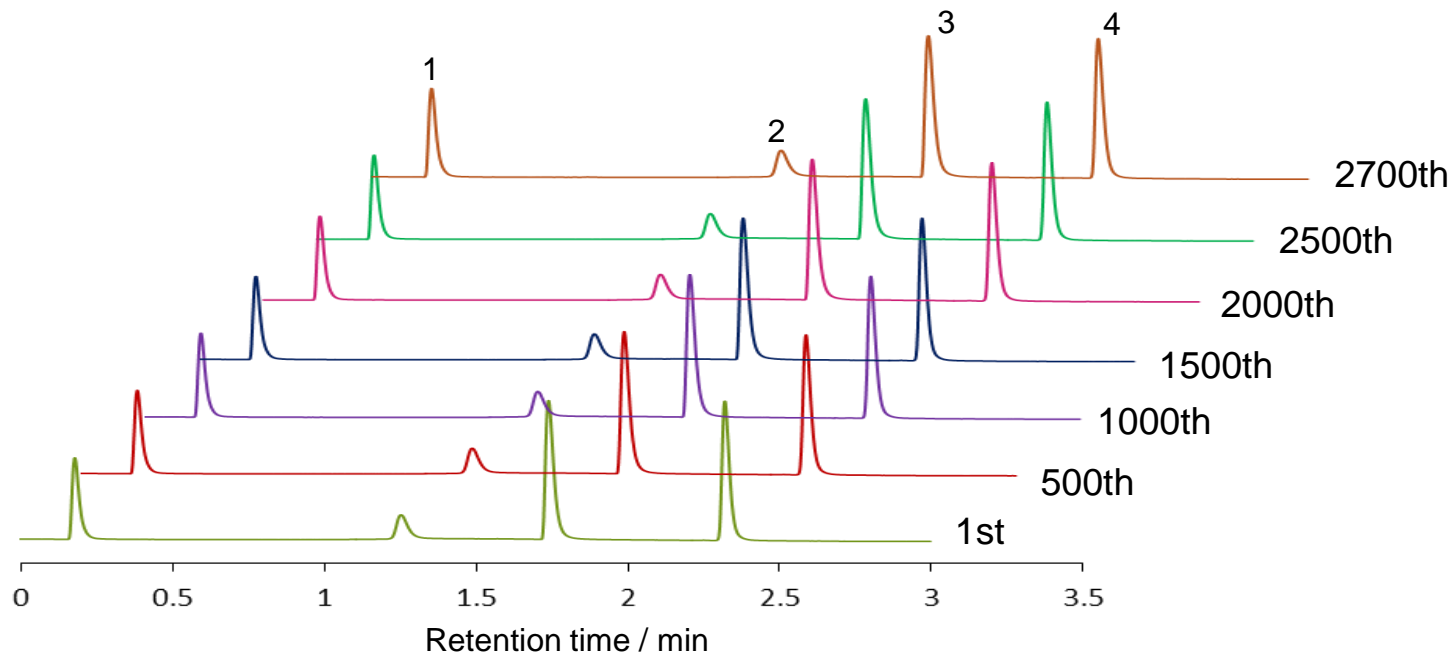
Measurement condition  
 Column size: 50 x 2.1 mm  
 Mobile phase: CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O=70/30  
 Flow rate: 0.4 mL/min  
 Temperature: 40 °C  
 Sample: 1 = Butylbenzene

従来の方法でも、他の方法と比較すると耐アルカリ性は高くなる

エンドキャッピングのみでも高耐アルカリ性の  
 実現できる!?



# SunShell C18カラムを用いた アルカリ性条件(pH 9.5)での連続分析



Column: SunShell C18, 2.6  $\mu$ m 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

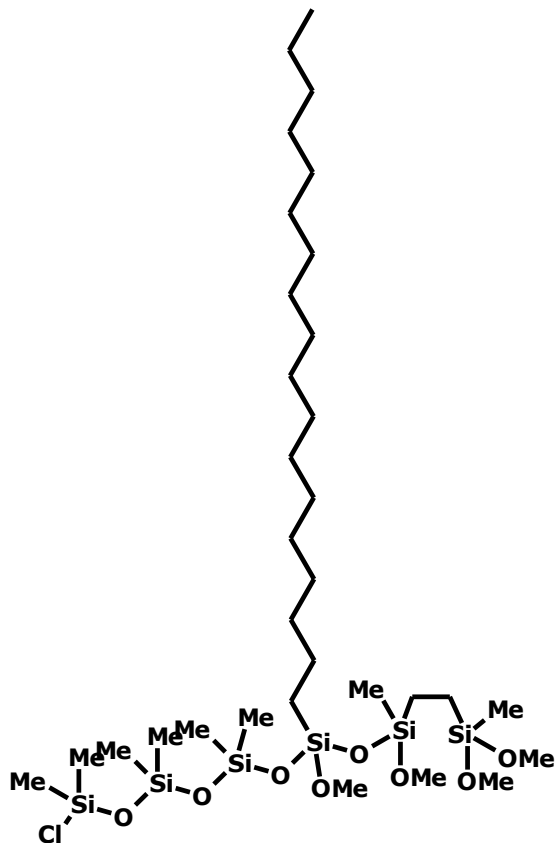
Detection: UV@250nm

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

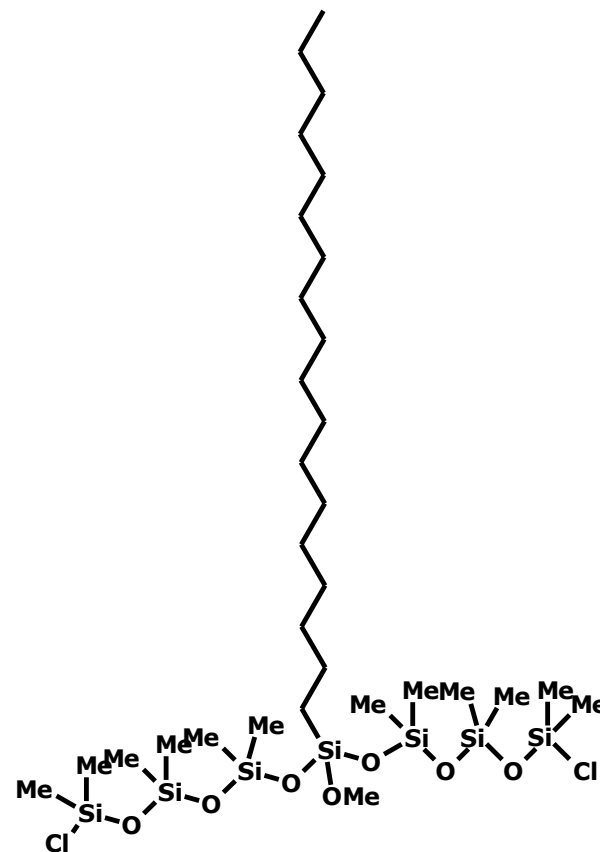
pH 9.5 のアルカリ性条件下でも  
2500回以上の分析が可能です。



# 新規シリル化剤



C18 reagent B



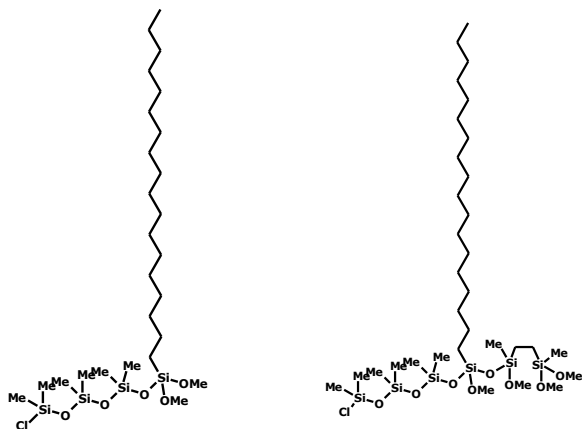
C18 reagent C







# シリカへの結合

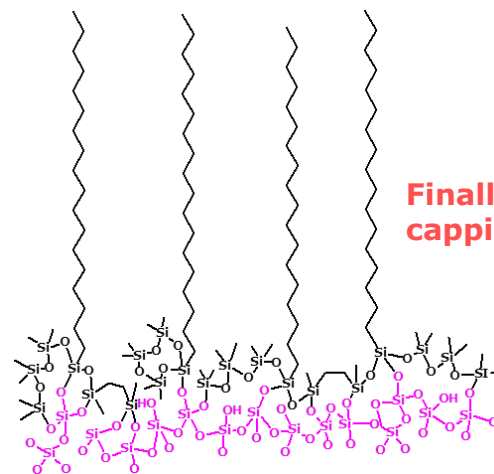


Mixture of reagent A and B

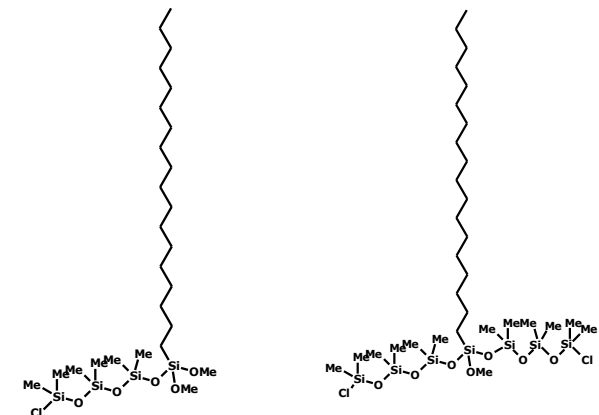
AとBの混合比率  
(2:1) (1:1) (1:2)

トルエン中で還流

シリカゲル  
5  $\mu\text{m}$ , 340  $\text{m}^2/\text{g}$



Finally end-capping TMS

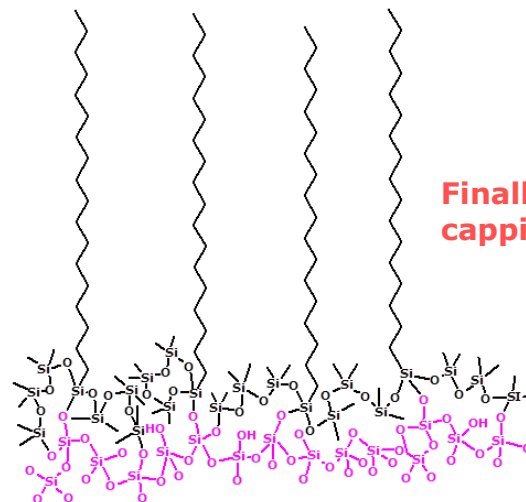


Mixture of reagent A and C

AとCの混合比率  
(2:1) (1:1) (1:2)

トルエン中で還流

シリカゲル  
5  $\mu\text{m}$ , 340  $\text{m}^2/\text{g}$



Finally end-capping TMS



# 耐アルカリ性評価

	試薬比率	炭素含有量	通液時間	カラムの凹み量	段数(相対値)
従来 C18	A	15.6%	14 時間	1.3 mm	90%
Prototype 501	A:B=2:1	15.8%	34 時間	2.7 mm	83%
Prototype 502	A:B=1:1	16.1%	34 時間	2.2 mm	90%
Prototype 504	A:B=1:2	14.7%	34 時間	4.3 mm	62%
Prototype 505	A:C=2:1	15.7%	34 時間	3.0 mm	85%
Prototype 507	A:C=1:1	16.3%	34 時間	2.0 mm	91%
Prototype 508	A:C=1:2	14.9%	20 時間	3.3 mm	82%
Prototype 513	A:D=1:1	16.3%	50 時間	1.0 mm	92%

## アルカリ性移動相の通液

Column dimension: 150 x 4.6 mm

Mobile phase:

CH<sub>3</sub>OH/50mM Sodium phosphate buffer 10 / 90 (pH11.5)

Flow rate: 1 mL/min, Temperature: 40 °C

## カラム性能の確認 (凹み量)

Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=70/30

Flow rate: 1 mL/min

Temperature: 40 °C

Sample: 1 = Butylbenzene

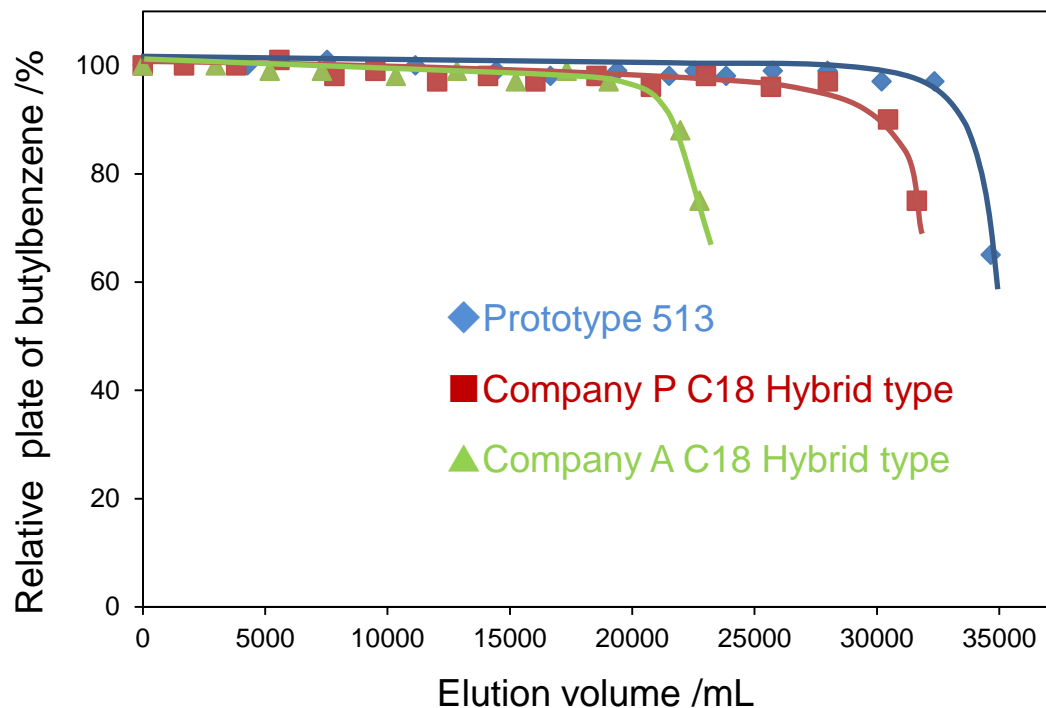
試薬B,Cを使用した方法では  
限界がある



新たな方法を使用した結果  
耐久性が向上した



# pH10.5, 60°Cでの安定性評価



## Durable test condition

Column dimension: 50 x 2.1 mm

Mobile phase:

CH<sub>3</sub>OH/10mM Ammonium bicarbonate (pH 10.5)=30/70

Flow rate: 0.8 mL/min

Temperature: 60 °C

## Measurement condition

Column dimension: 50 x 2.1 mm

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

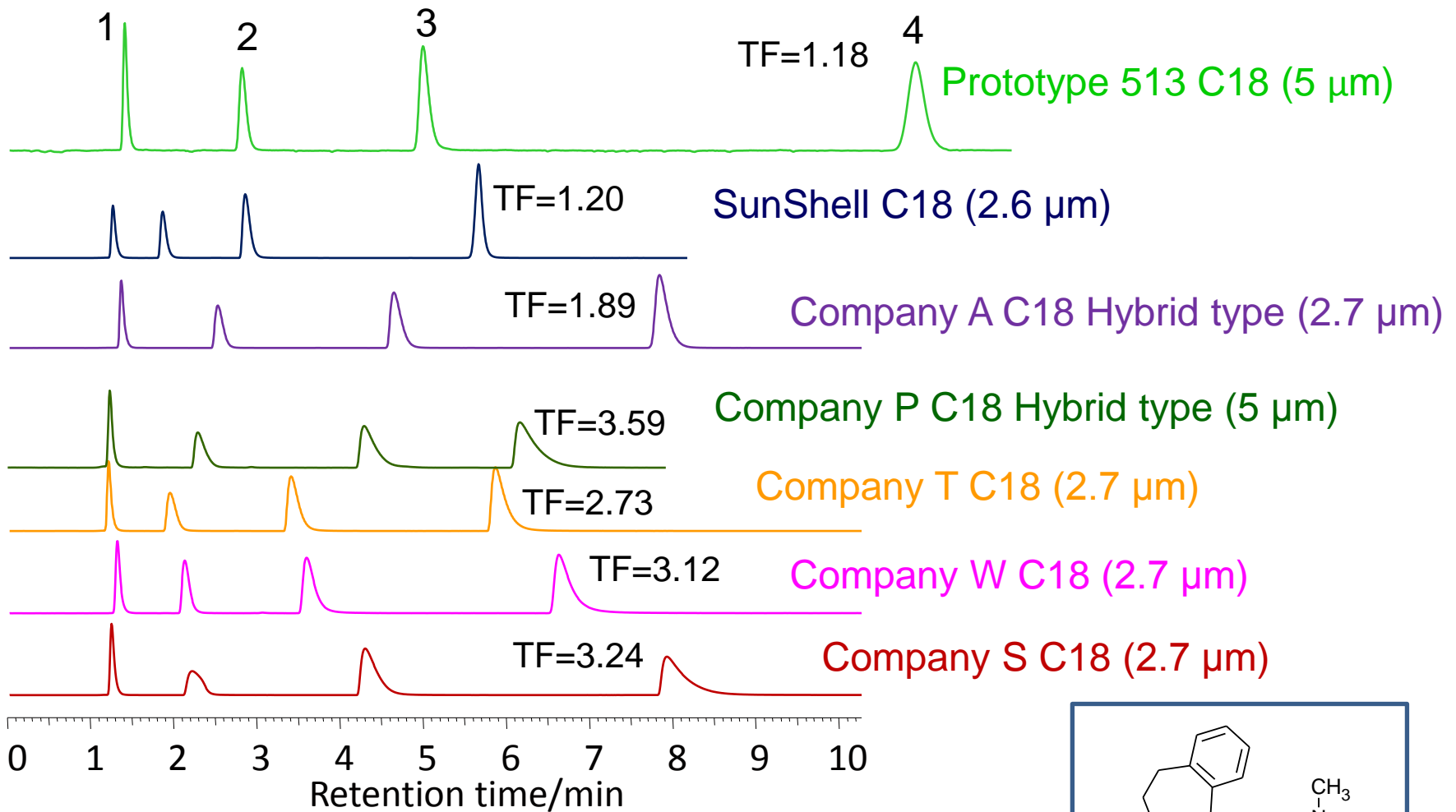
Flow rate: 0.2 mL/min

Temperature: 40 °C

Sample: 1 = Butylbenzene

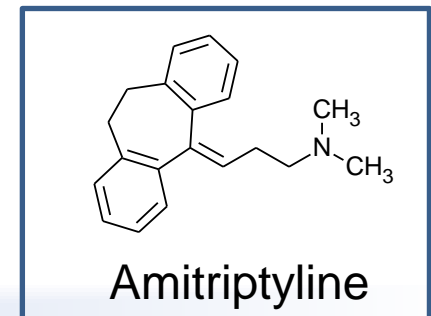
他社ハイブリッドタイプのカラムと比較しても  
それ以上の耐久性を示した

# 塩基性化合物アミトリプチリンの比較



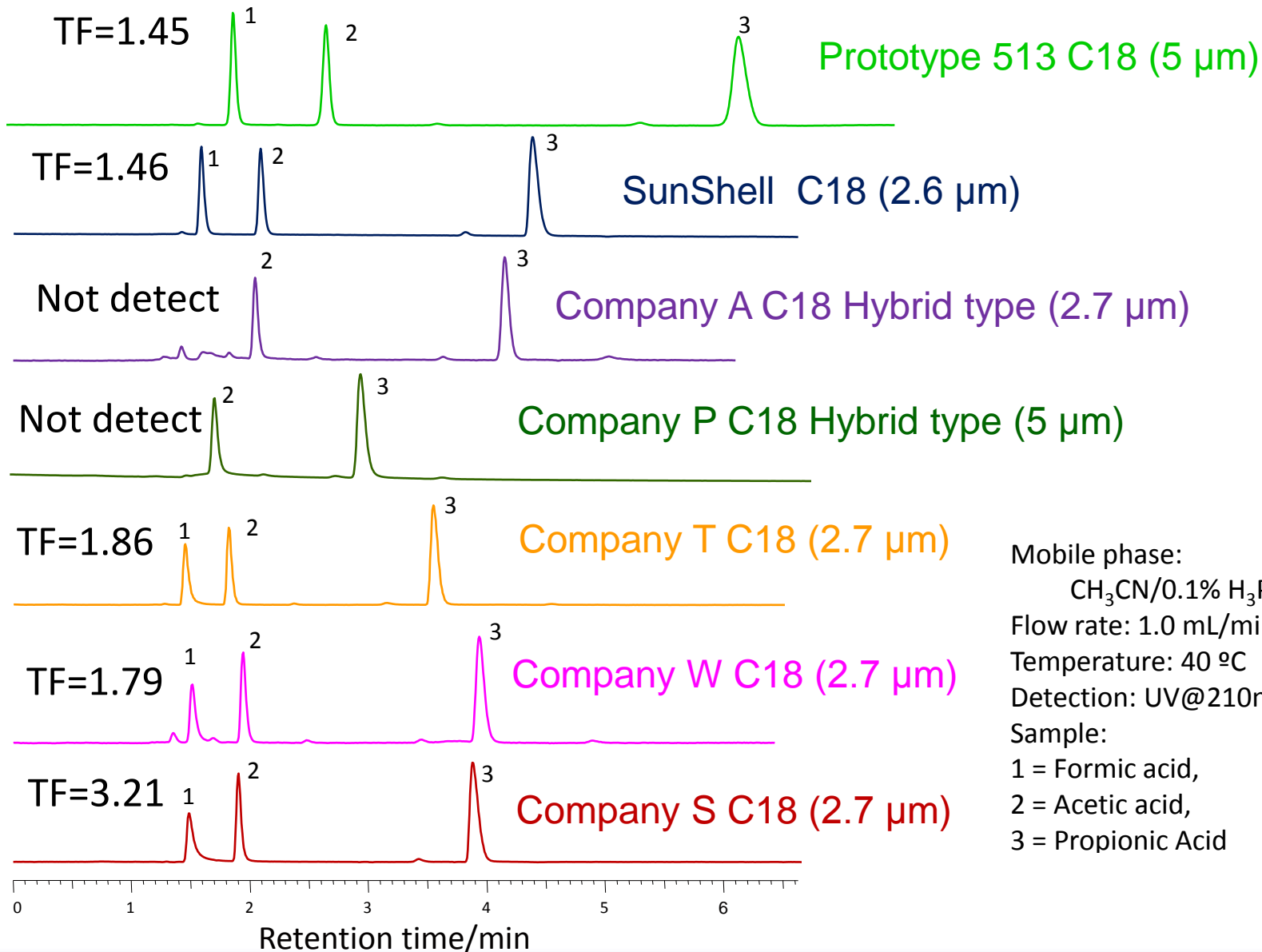
Mobile phase: Acetonitrile/10mM ammonium acetate pH6.8=(40:60)  
 Column dimension: 150 x 4.6 mm, Flow rate: 1.0 mL/min, Temp.: 40°C

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





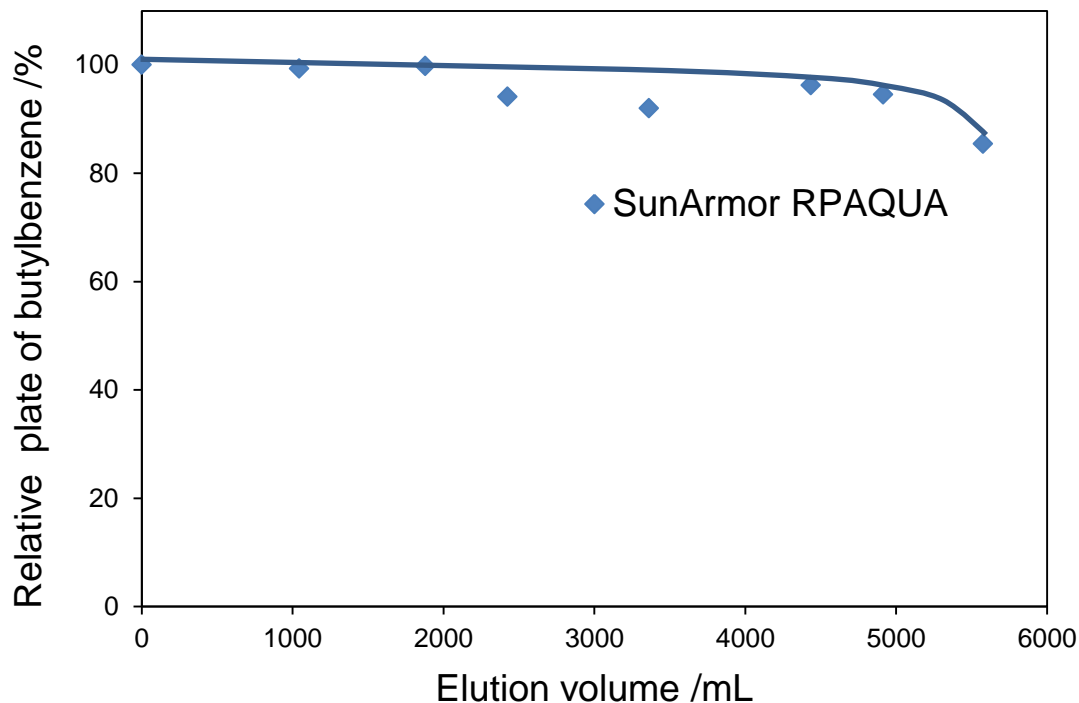
# ギ酸ピークの比較



Mobile phase:  
 $\text{CH}_3\text{CN}/0.1\% \text{H}_3\text{PO}_4=2/98$   
Flow rate: 1.0 mL/min  
Temperature: 40  $^\circ\text{C}$   
Detection: UV@210nm  
Sample:  
1 = Formic acid,  
2 = Acetic acid,  
3 = Propionic Acid



# SunArmor RPAQUAの耐久性



## Durable test condition

Column dimension: 50 x 2.1 mm

Mobile phase:

10mM Ammonium bicarbonate(pH 10)

Flow rate: 0.2 mL/min

Temperature: 40 °C

## Measurement condition

Column dimension: 50 x 2.1 mm

Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=70/30

Flow rate: 0.2 mL/min

Temperature: 40 °C

Sample: acenaphthene

有機溶媒を用いないpH10の移動相でも高い耐アルカリ性

# まとめ

- 他社ハイブリッドタイプとの比較から、作成したカラムは十分な耐久性を示した
- 作成したカラムでは酸性、塩基性物質共に良好なピーク形状が得られた。
- 一方で多社ハイブリッド型カラムではテーリングや吸着が観察された。
- エンドキャッピング技術を応用することでアルカリ性条件下での耐久性を向上させることが可能であった。