



# 耐アルカリ性を実現する新たな エンドキャッピングとその効果

クロマニックテクノロジーズ

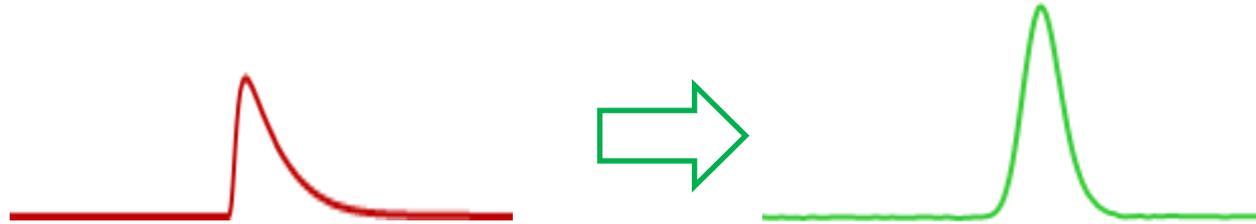
塚本友康 長江徳和

Email: [info@chromanik.co.jp](mailto:info@chromanik.co.jp)

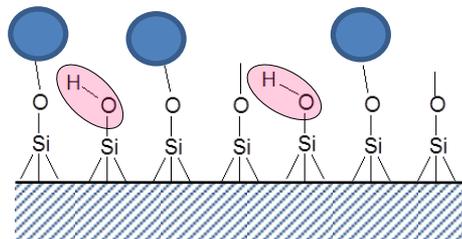
<http://chromanik.co.jp>



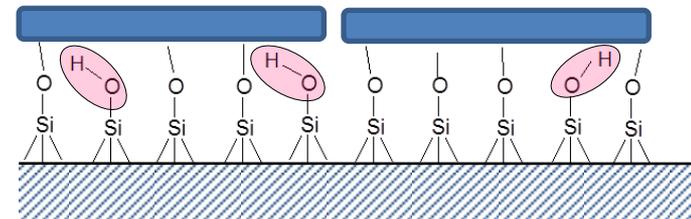
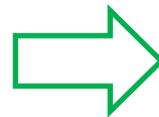
# エンドキャッピング



塩基性化合物のピーク形状の改善



ピンポイントな  
エンドキャッピング



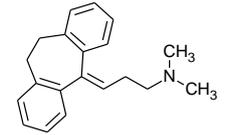
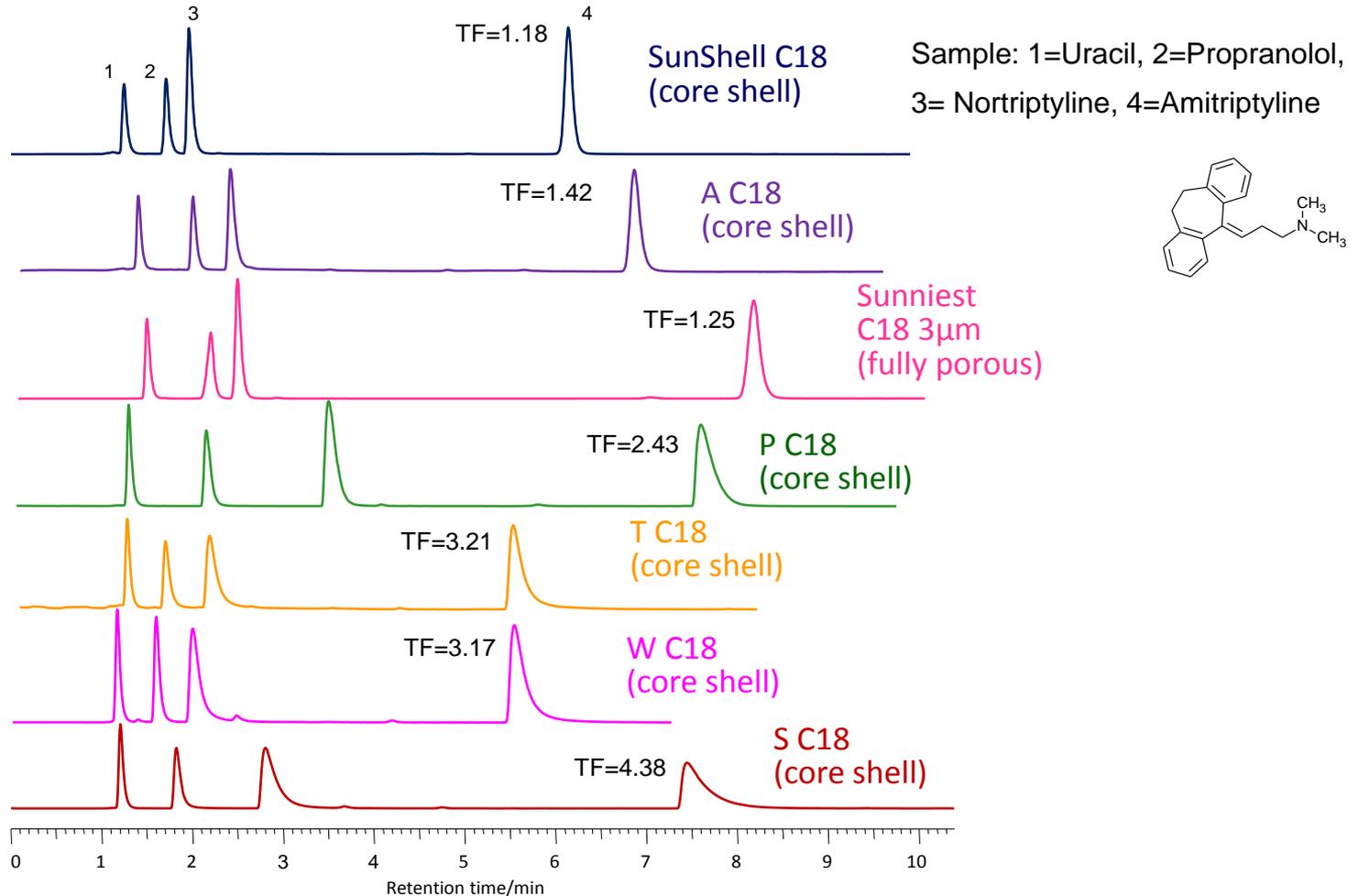
表面を覆うような  
エンドキャッピング

## 手法

TMS化、マルチステージタイプ、  
ポリメリックエンドキャッピング  
高温気相エンドキャッピング  
**Sunniest** エンドキャッピング

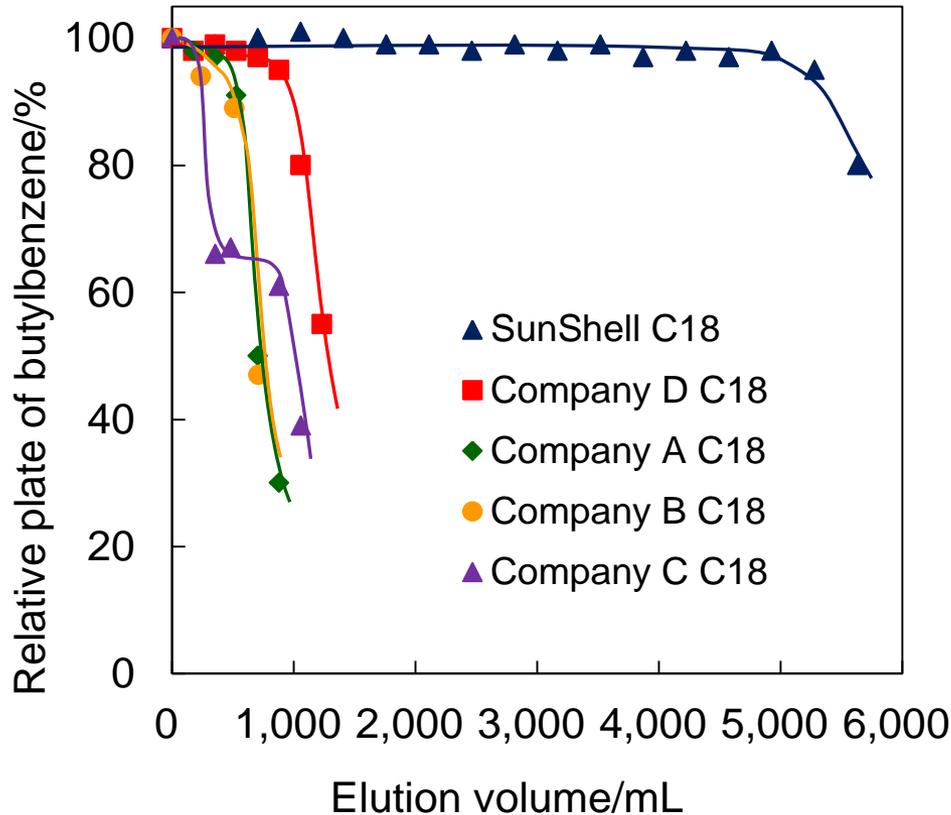


# 塩基性化合物のピーク形状



Mobile phase: Acetonitrile/**20mM phosphate buffer pH7.0**=(60:40)  
 Column dimension: 150 x 4.6 mm, Flow rate: 1.0 mL/min, Temp.: 40°C

# アルカリ性条件での耐久性



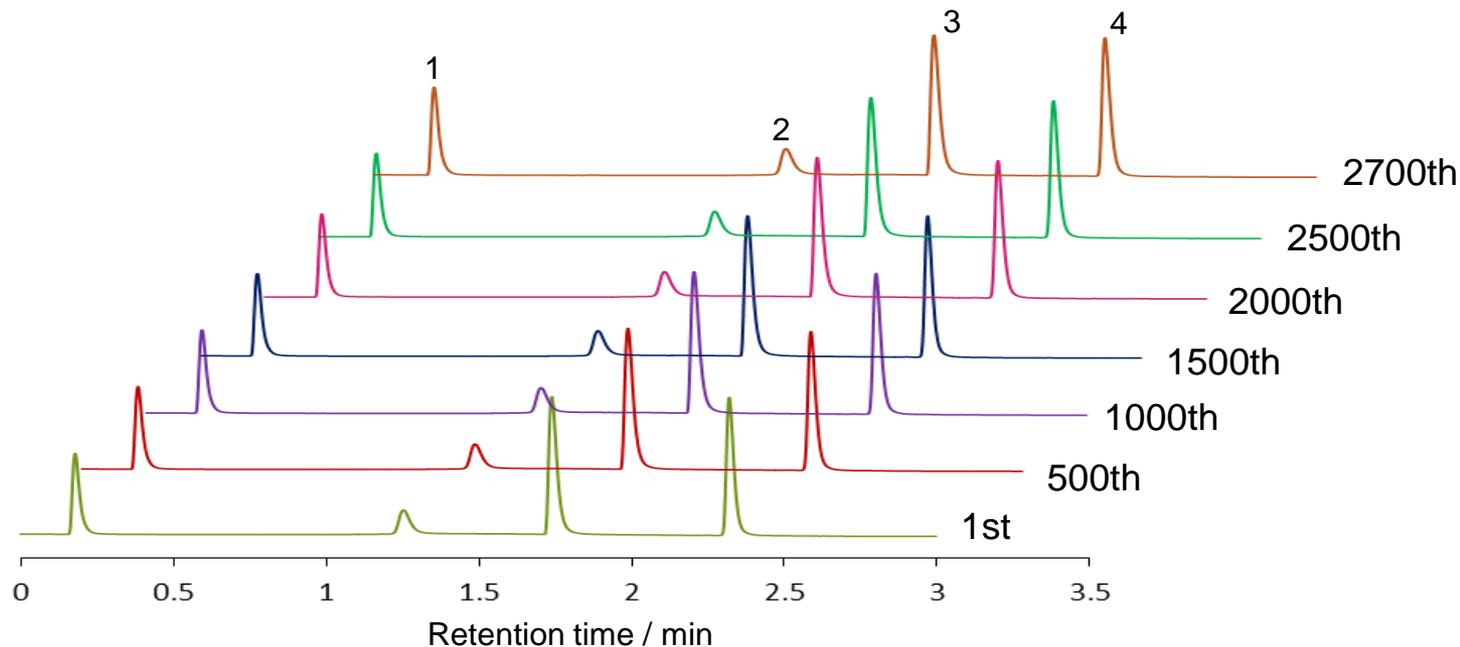
Durable test condition  
 Column size: 50 x 2.1 mm  
 Mobile phase:  
 CH<sub>3</sub>OH/20mM Sodium borate/10mM NaOH=30/21/49 (pH10)  
 Flow rate: 0.4 mL/min  
 Temperature: 50 °C

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  $\mu\text{m}$  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

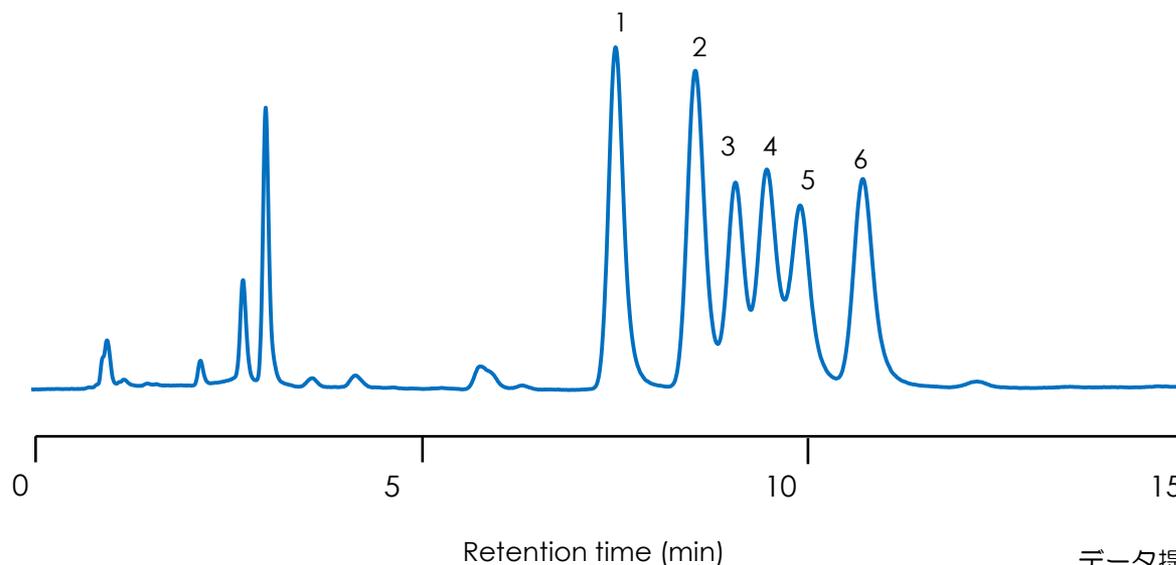
Sample: 1=Uracil, 2=Propranolol, 3= Nortriptyline, 4=Amitriptyline

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。





# 単糖の分離



データ提供：東海大学 小玉修嗣先生

Column: SunShell RP-AQUA, 2.6um 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-Tryptophan

1 D-Galactose, 2 L-Galactose, 3 D-Glucose 4, L-Mannose, 5 L-Glucose, 6 L-Mannose

# 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

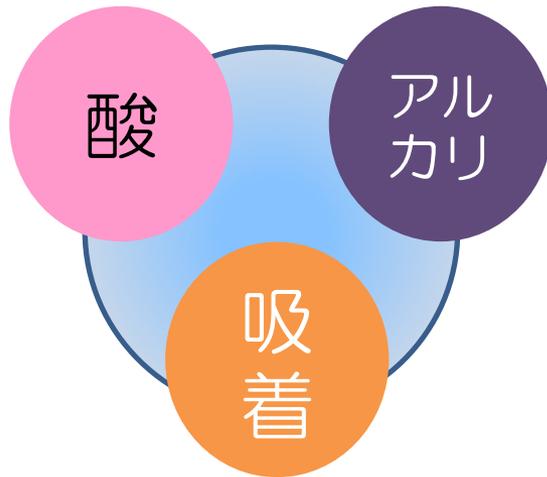


耐久性を向上させる方法を検討



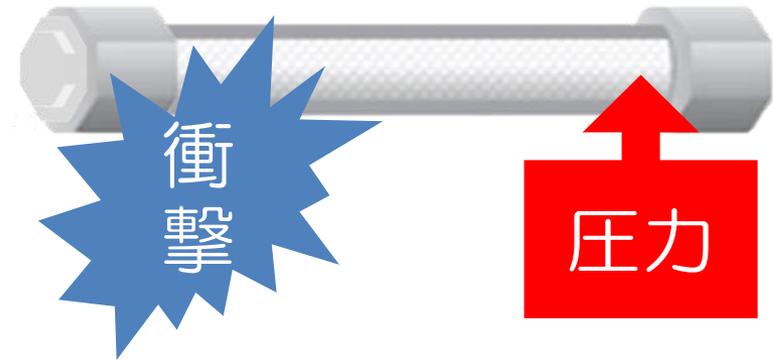
# カラム劣化

## 充填剤の劣化



- 酸やアルカリによる加水分解
- 物質の吸着

## 充填状態の変化



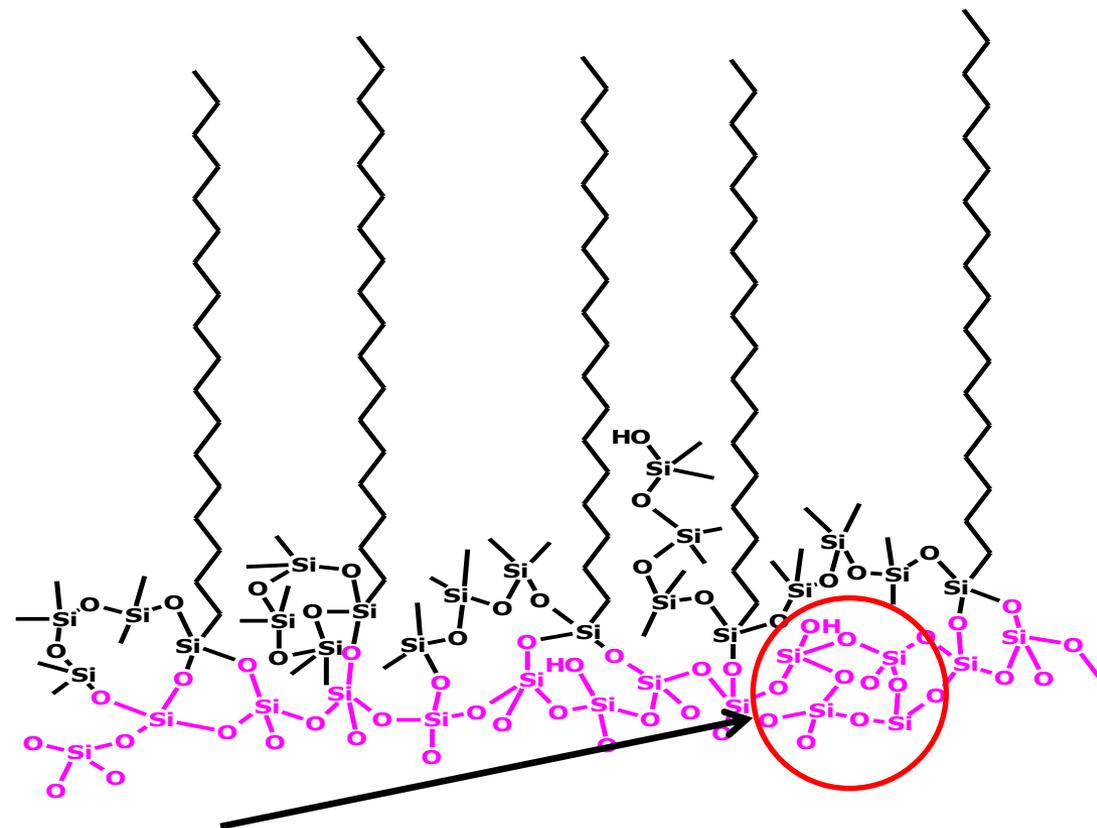
- 衝撃や圧力による充填ベッドの崩れ



段数の低下、ピーク形状の悪化、保持時間の変化



# アルカリ性移動相による劣化



アルカリ性下における劣化はシリカに対する加水分解



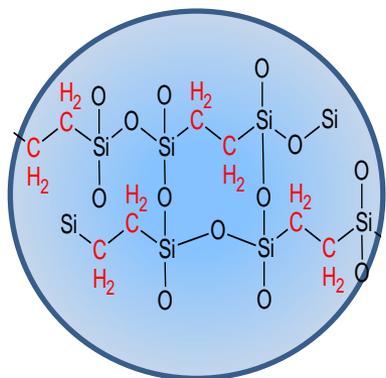
結果としてシリカが溶け出す。

理論段数の低下、ピークの広がり

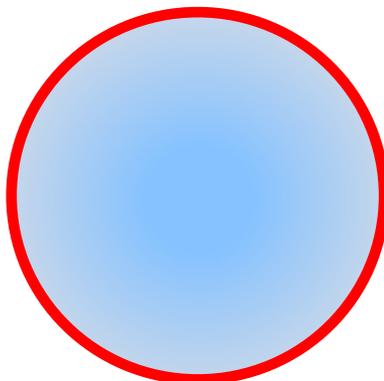


# 耐アルカリ性を高めるための手段

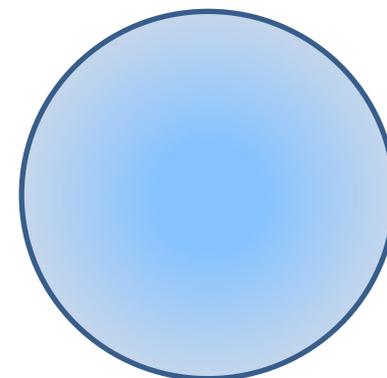
ハイブリッド基材



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

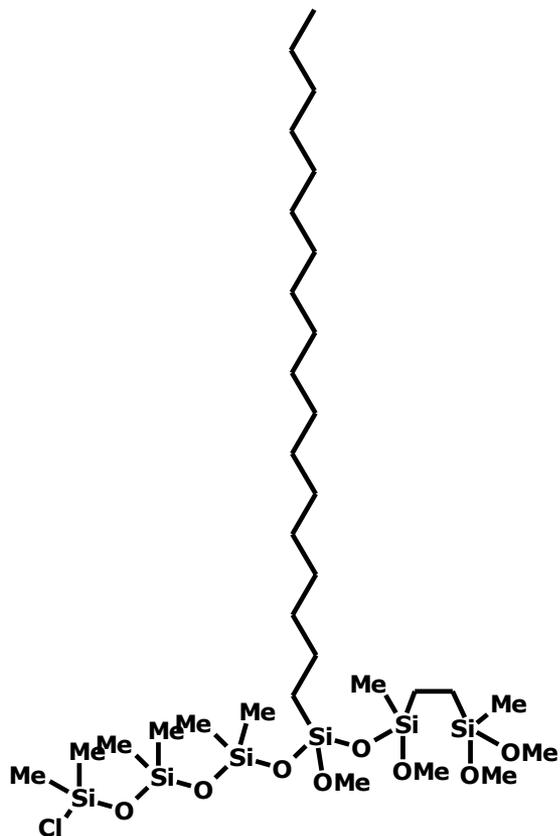
エンドキャッピングをさらに高効率に



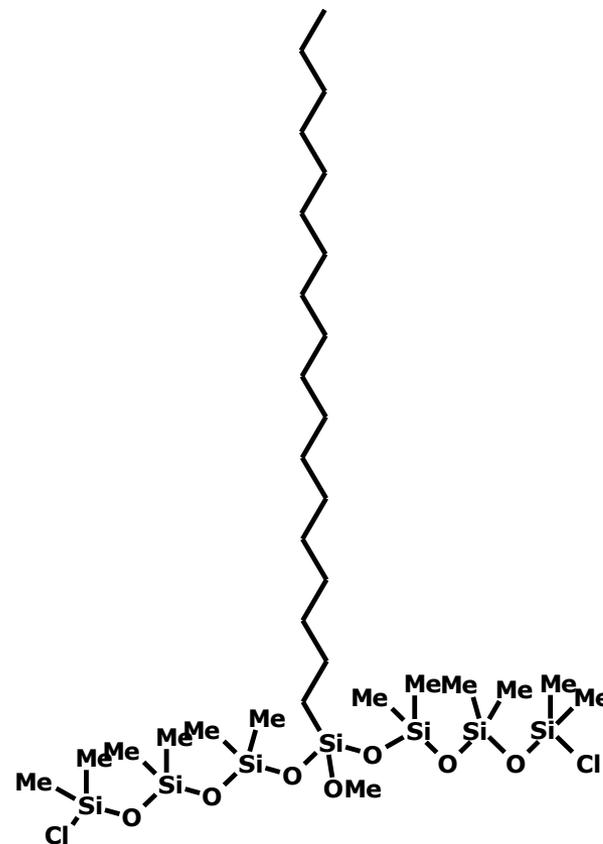
高い耐アルカリ性カラムの製造可能



# 新規シリル化剤



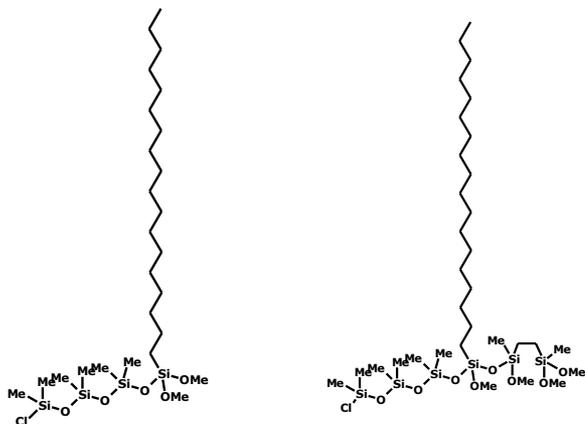
C18 reagent B



C18 reagent C



# シリカへの結合

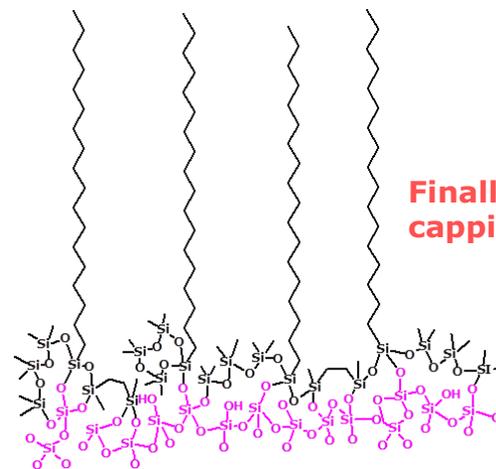


Mixture of reagent A and B

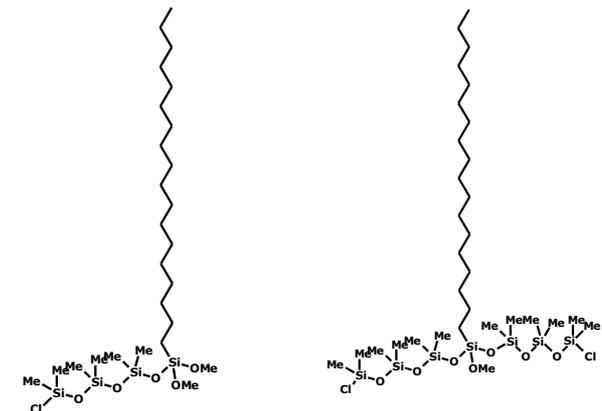
AとBの混合比率  
(2:1) (1:1) (1:2)

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

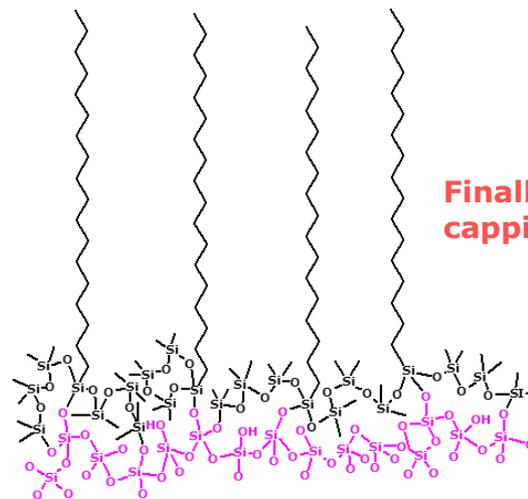


Mixture of reagent A and C

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

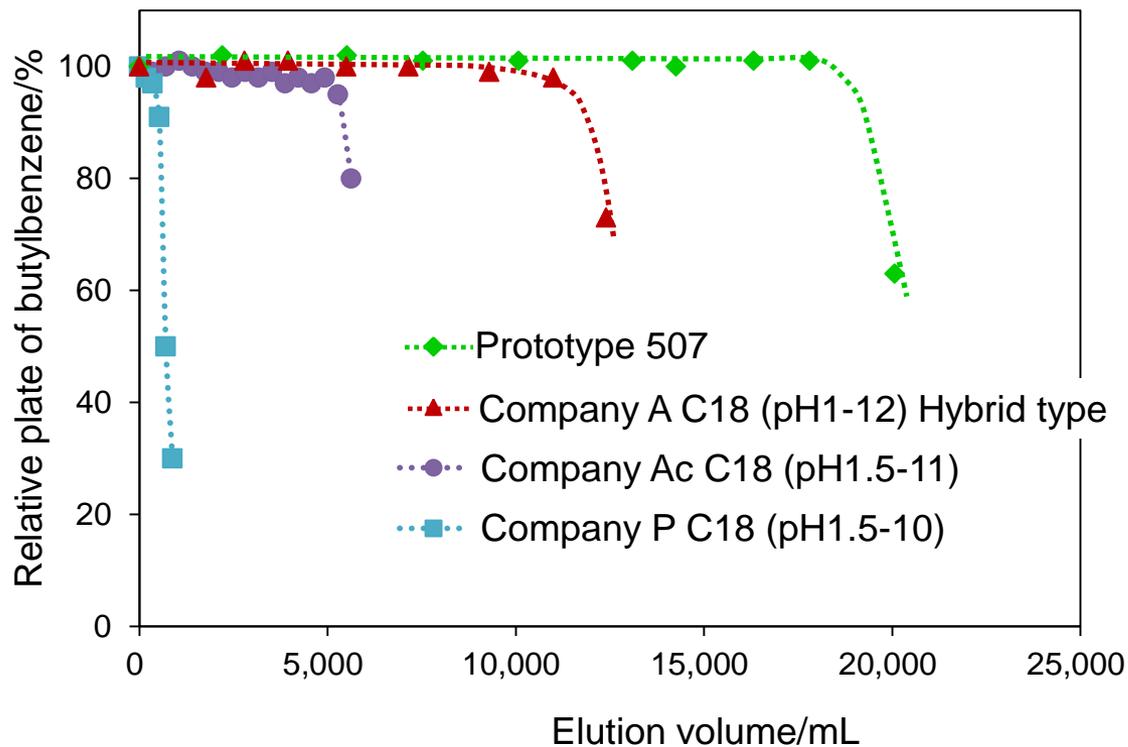
試薬B,Cを使用した方法では  
限界がある



新たな方法を使用した結果  
耐久性が向上した



# pH10, 50°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/20mM Sodium borate/10mM NaOH=30/21/49 (pH10)

Flow rate: 0.4 mL/min

Temperature: 50 °C

## Measurement condition

Column dimension: 50 x 2.1 mm

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

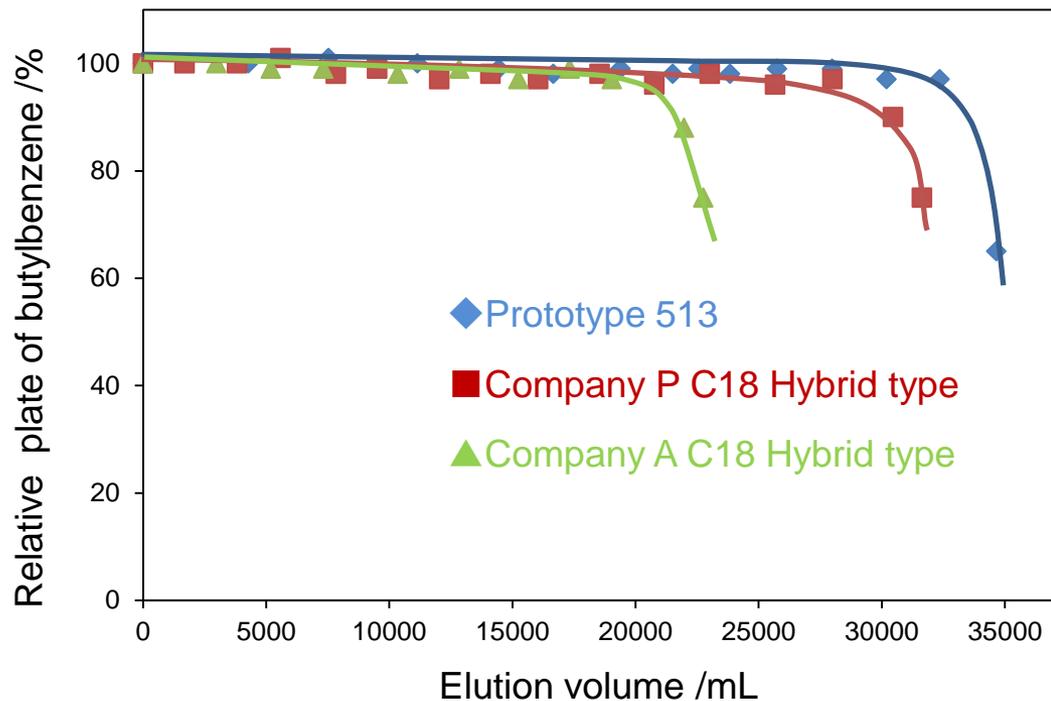
Flow rate: 0.4 mL/min

Temperature: 40 °C

Sample: 1 = Butylbenzene



# 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

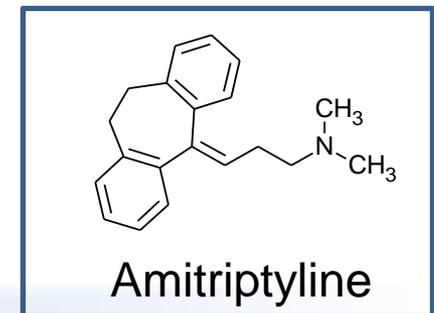
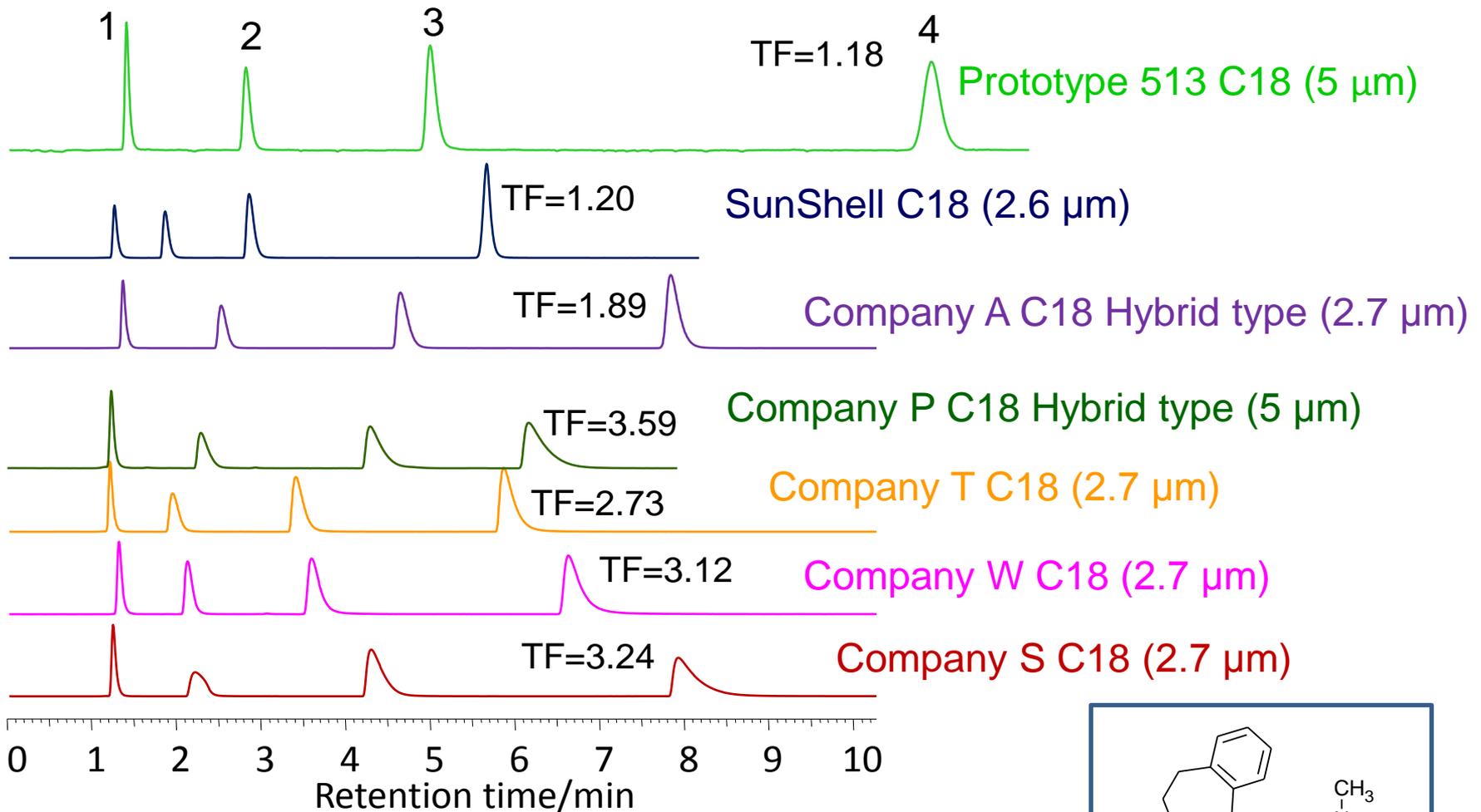
Flow rate: 0.2 mL/min

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

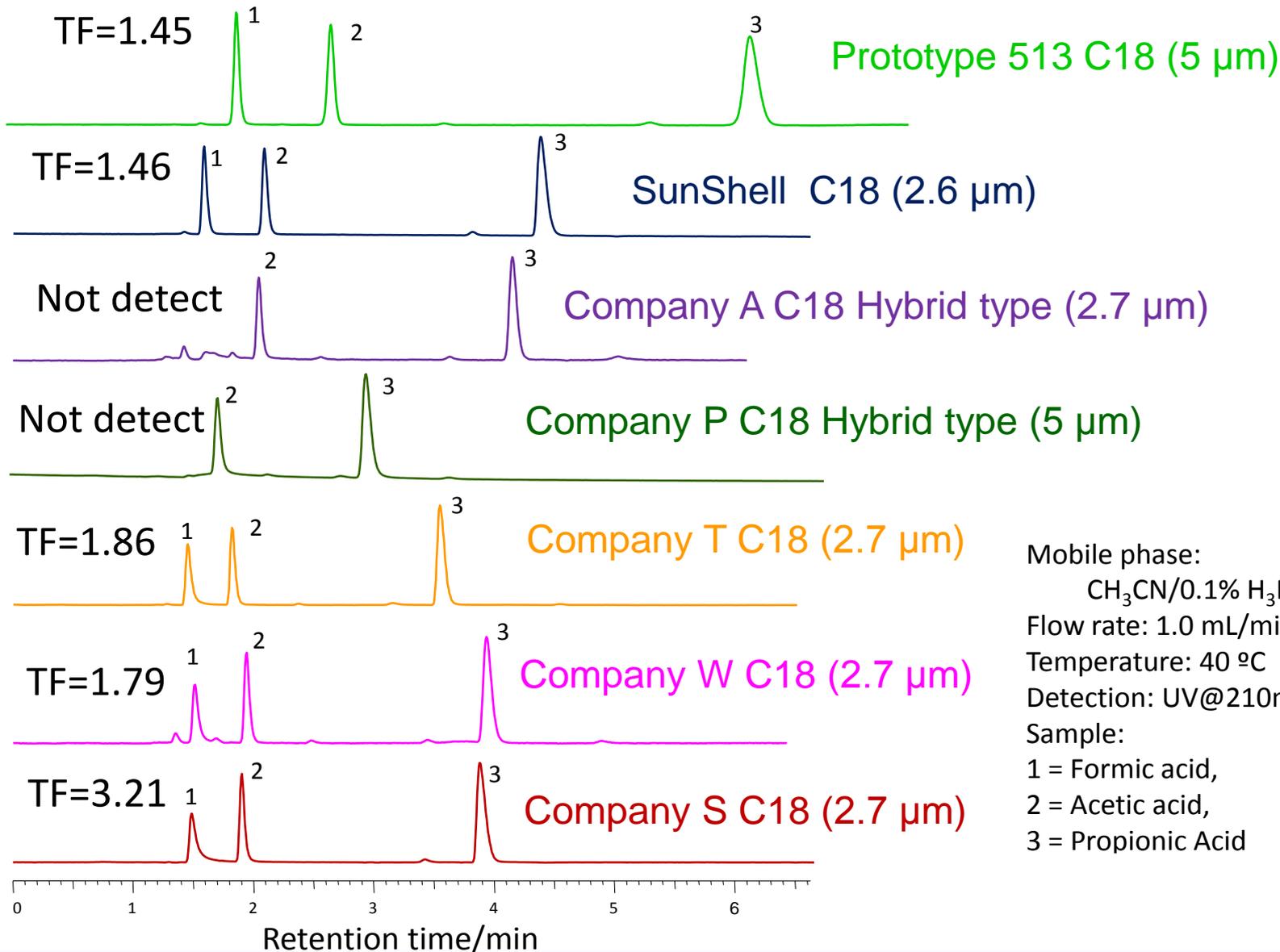


Mobile phase: Acetonitrile/10mM ammonium acetate pH6.8=(40:60)  
 Column dimension: 150 x 4.6 mm, Flow rate: 1.0 mL/min, Temp.: 40°C

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



# ギ酸ピークの比較



Mobile phase:  
CH<sub>3</sub>CN/0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>=2/98  
Flow rate: 1.0 mL/min  
Temperature: 40 °C  
Detection: UV@210nm  
Sample:  
1 = Formic acid,  
2 = Acetic acid,  
3 = Propionic Acid

高耐久性C18新発売

HPLC column

*SunArmor*

サンアーマー SunArmor

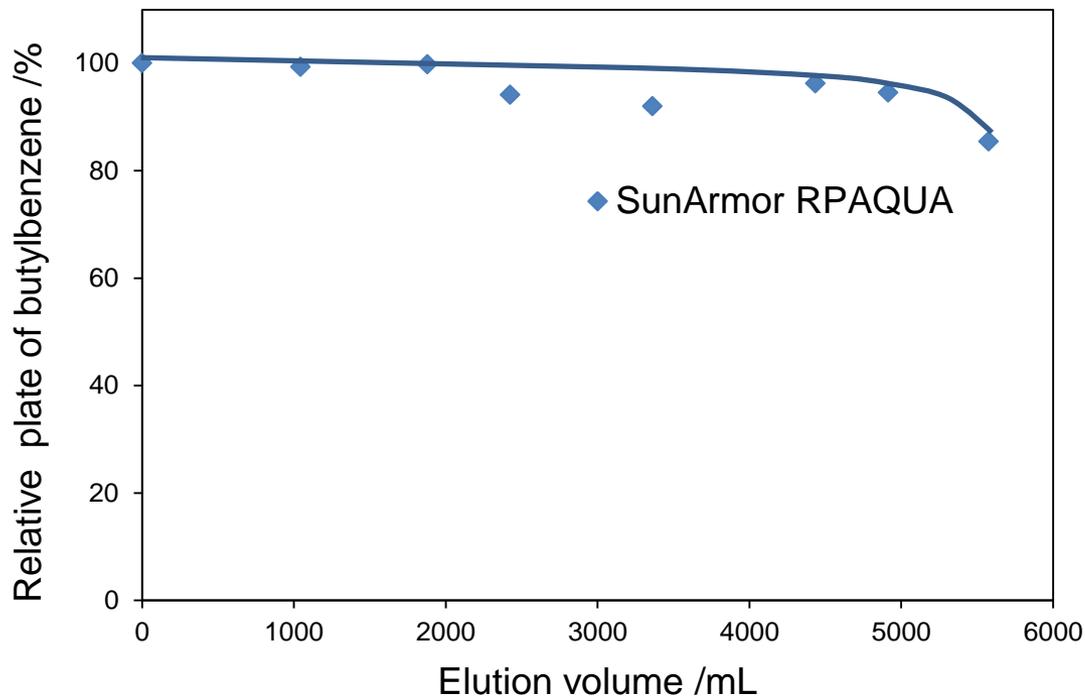


ChromaNik Technologies Inc.





# 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

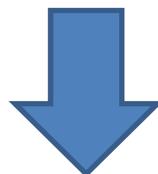


耐久性が高いカラムだから



さまざまな分析条件で使っても大丈夫！！

と聞いていませんか？



使い方に次第ではカラムの**寿命**を

縮めます





# 注意すべき条件

- 酸性移動相→アルカリ性移動相



十分なカラム  
寿命

短い **酸性条件での使用履歴有** ム

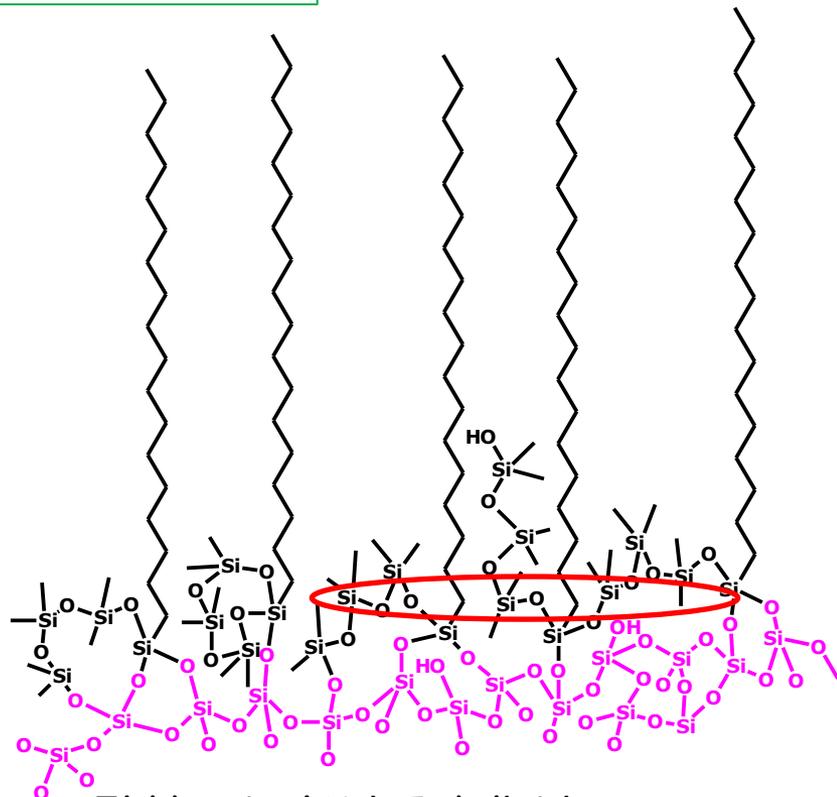
同じカラム、同じバッチにもかかわらずカラムの耐久性に差が・・・

**カラムの使用履歴の違いが原因**



# 劣化の仕方の違い

## 酸での劣化

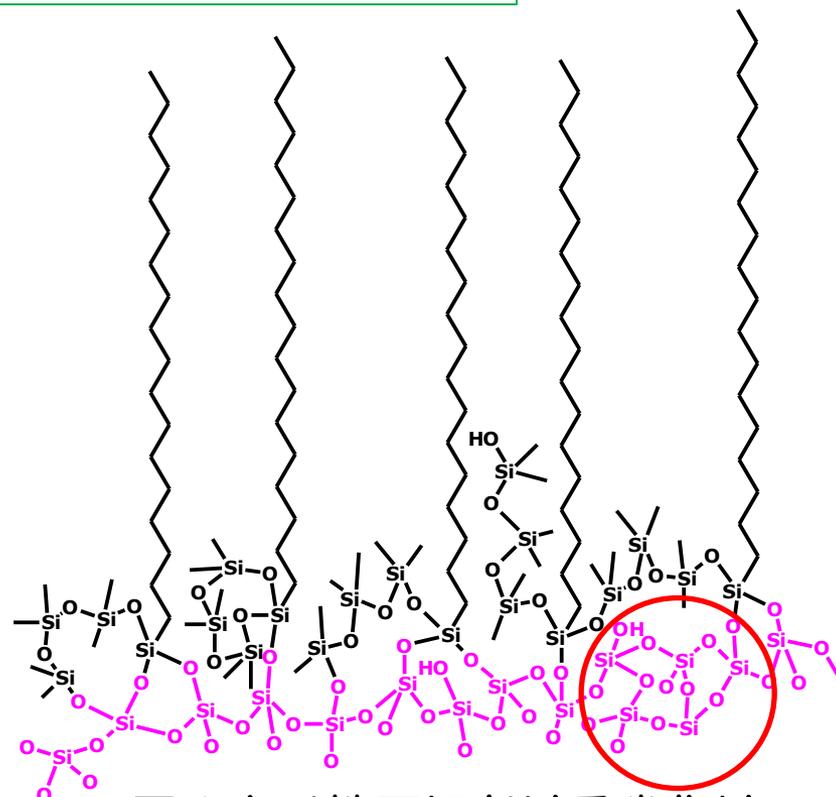


酸性下における劣化は  
C18の結合部に対する加水分解



C18基やエンドキャップの脱離

## アルカリでの劣化



アルカリ性下における劣化は  
シリカに対する加水分解



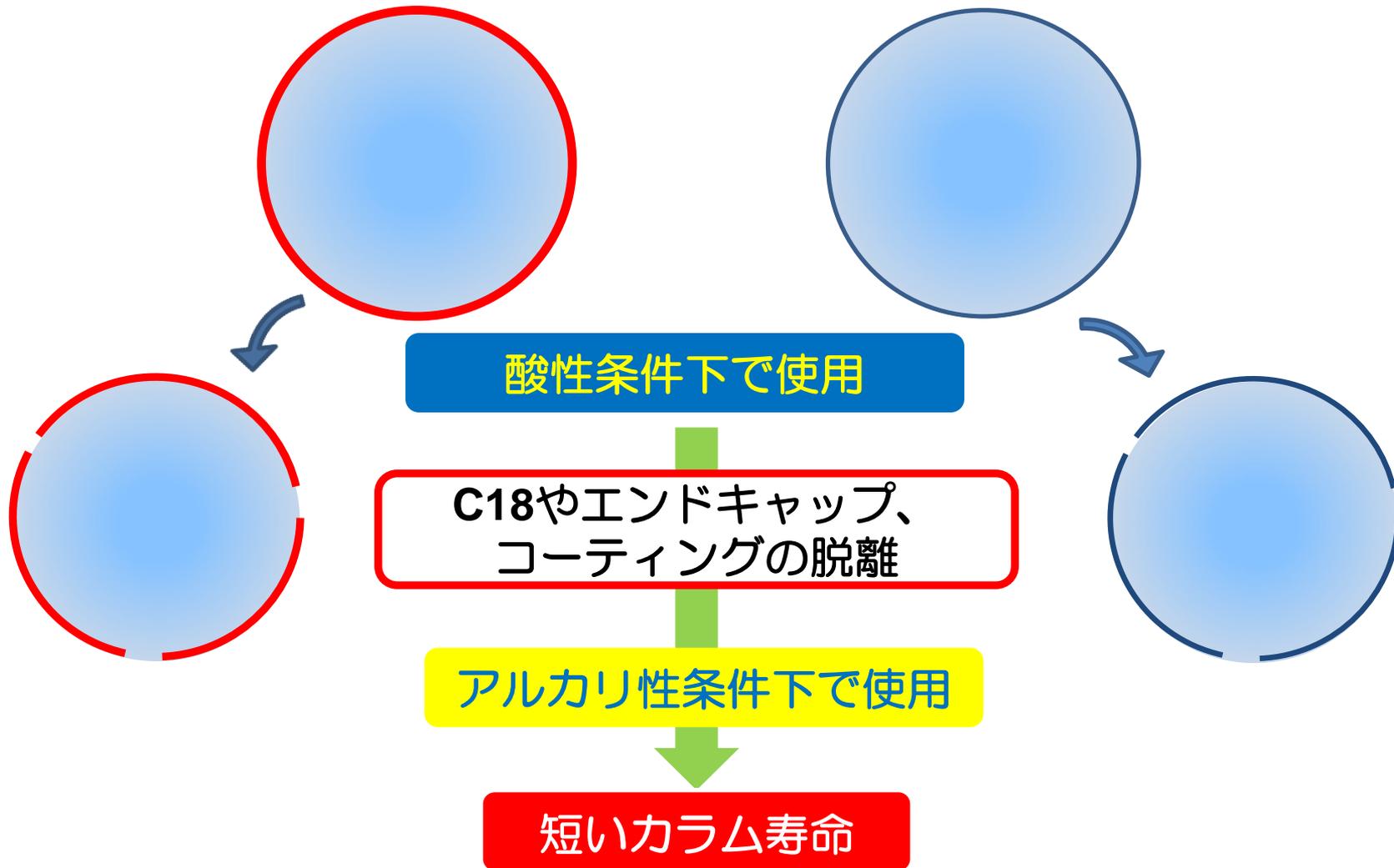
シリカの溶解



# 酸性条件からアルカリ性条件に変更すると

コーティング

エンドキャッピング



# カラムを長く使うために・・・

酸、アルカリ性移動相で使用

カラムを洗浄

毎回洗浄するのは・・・



酸、アルカリ性移動相で使用

カラムを低温で保存

※温度が下がることで溶解度が低下し、塩が析出する可能性があるため塩濃度が高い移動相では注意が必要

使用する塩の種類を変える

使用する塩によっても劣化の仕方が変わる。  
特にリン酸系のバッファは劣化が早いと言われている

# 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。
- 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。
- カラムを長く使うためには、条件によっては専用カラムとして使う必要がある



HPLC  
column

# SunArmor C18

サンアーマー SunArmor C18

使用pH範囲：pH 2～pH 12

新製品発売キャンペーンセール  
30%OFF  
期間：2016/4/1～2016/7/31



UHPLC カラム

# 待望の

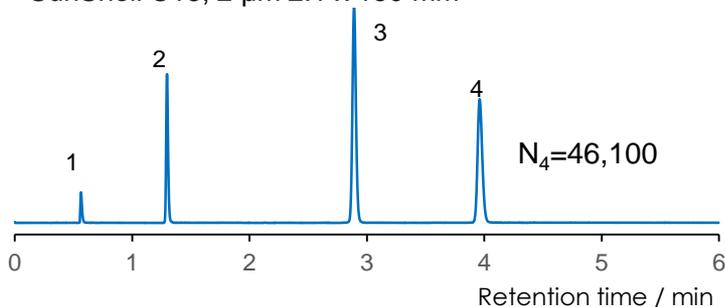
# SunShell C18 2 $\mu$ m

新製品発売キャンペーンセール  
30%OFF

期間: 2016/4/1 ~ 2016/7/31

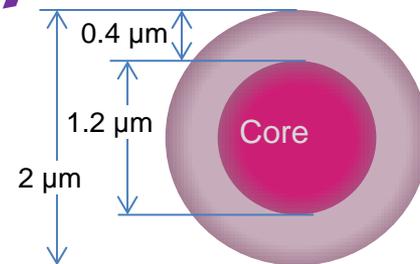
なんと! 307,000 N/m

SunShell C18, 2  $\mu$ m 2.1 x 150 mm



Mobile phase: Acetonitrile/water=70/30  
Flow rate: 0.4 mL/min  
Pressure: 64 MPa  
Temperature: 25 °C

Sample: 1 = Uracil  
2 = Ethylbenzoate  
3 = Acenaphthene  
4 = Butylbenzene



Pore size: 9 nm  
Surface area: 120 m<sup>2</sup>/g  
Carbon loading: 6.5% (C18)

クロマニクテクノロジーズ