



耐久性を向上させる エンドキャッピング法の 順相カラムへの応用

クロマニックテクノロジーズ
○塚本友康 小島瞬 長江徳和

Email: info@chromanik.co.jp

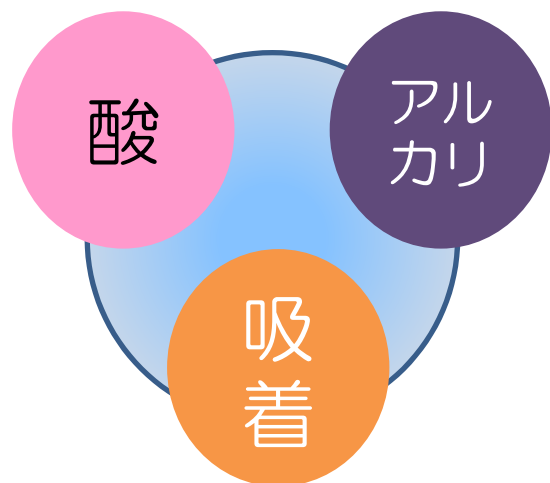
<http://chromanik.co.jp>





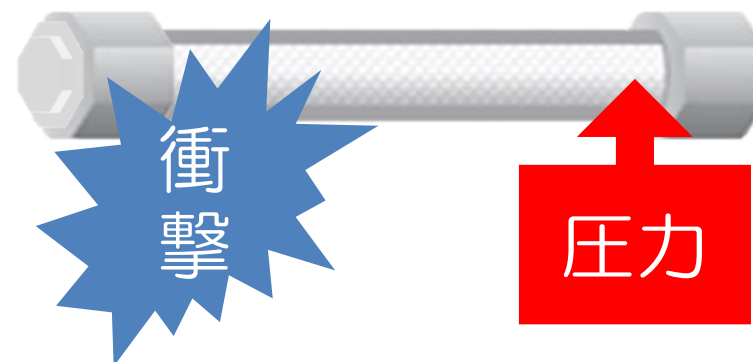
カラム劣化

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

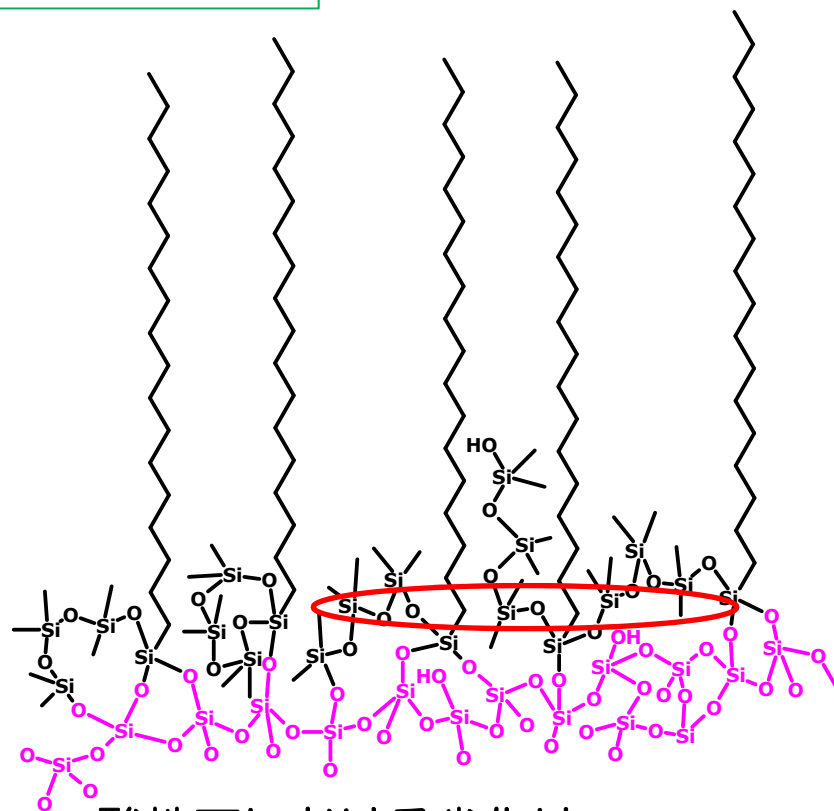


段数の低下、ピーク形状の悪化、保持時間の変化



劣化の仕方の違い

酸での劣化

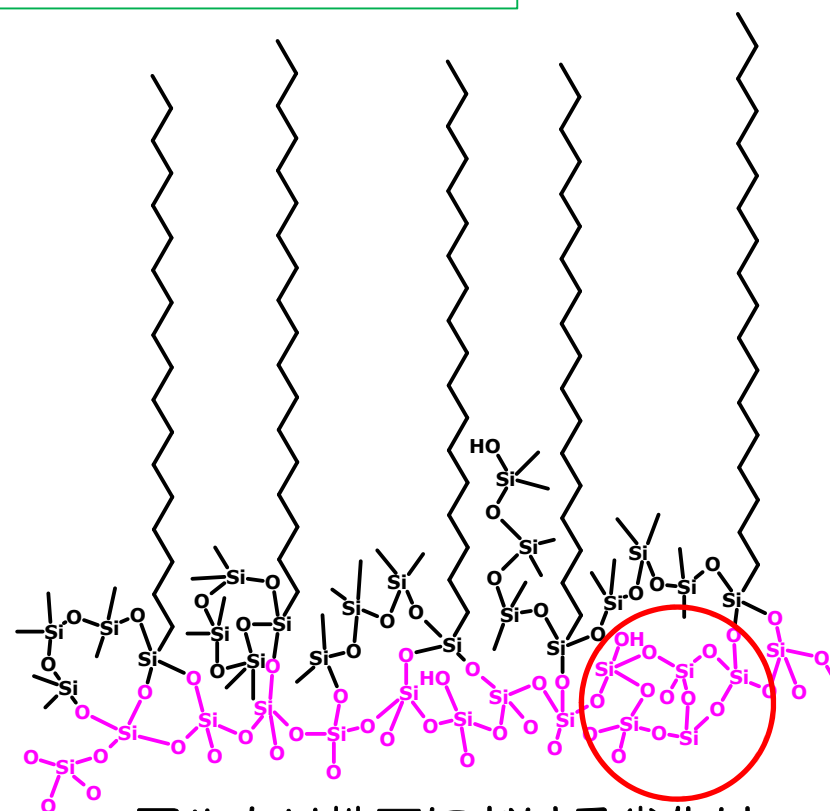


酸性下における劣化は
C18の結合部に対する加水分解



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

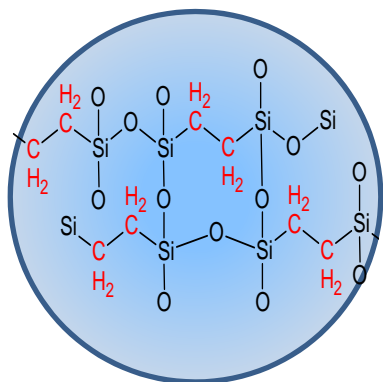


シリカの溶解

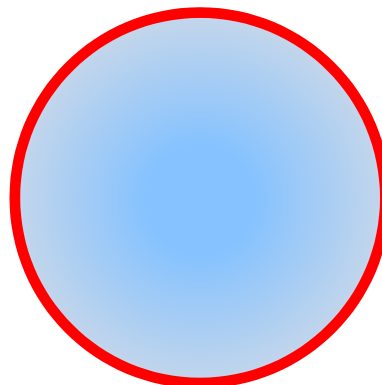


耐アルカリ性を高めるための手段

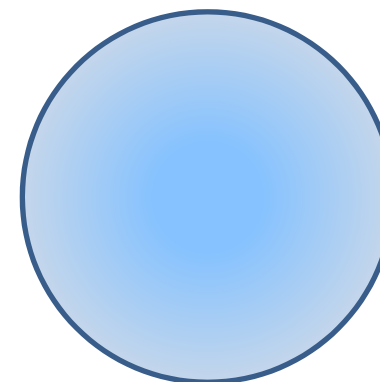
ハイブリッド基材



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



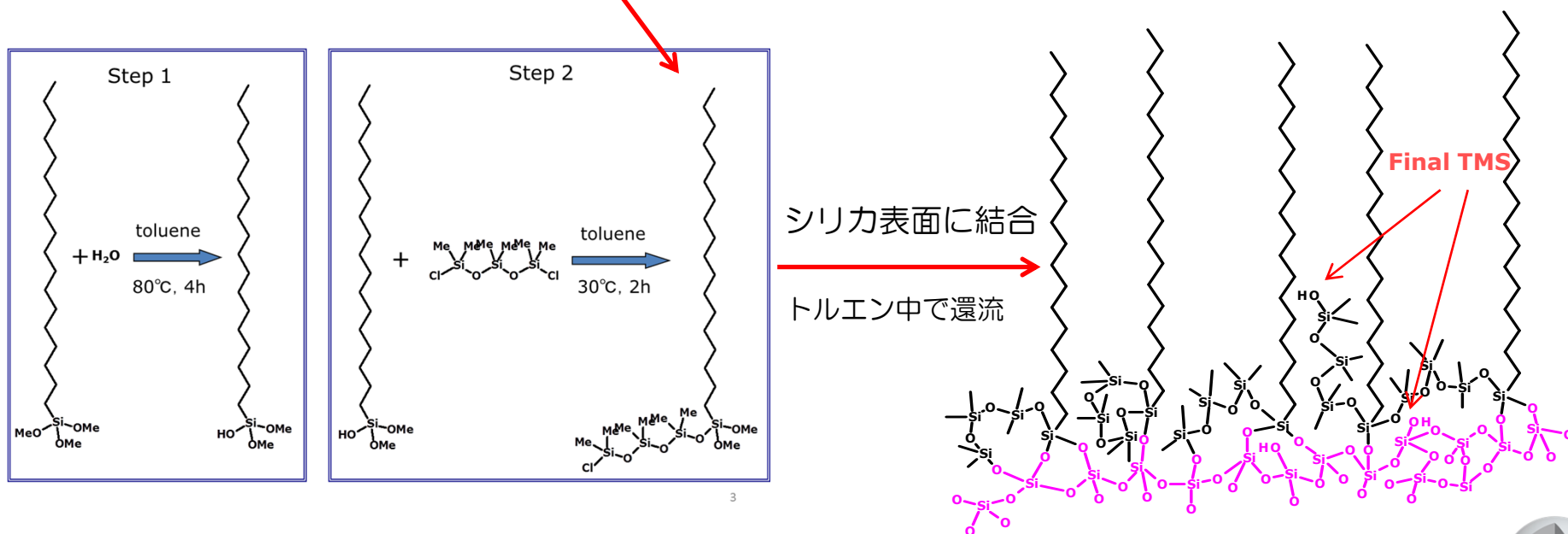
高い耐アルカリ性カラムの製造可能



弊社の技術

サニエスト結合（エンドキャッピング）技術

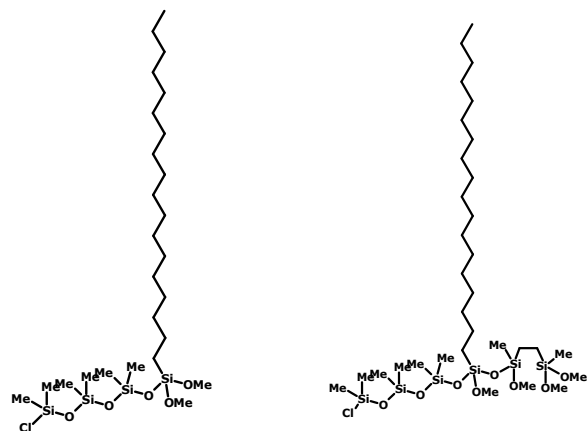
Hexamethyloctadecyltetrasilane (C18 reagent A)の合成



3



シリカへの結合

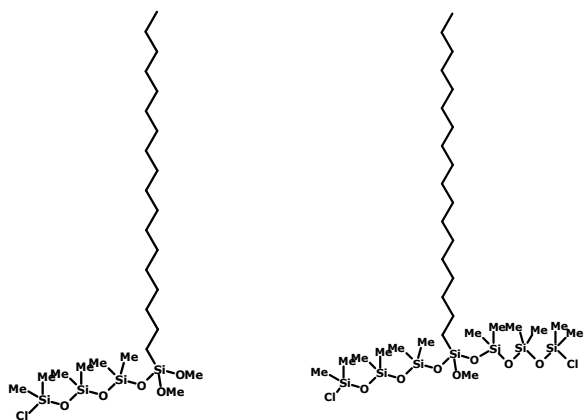
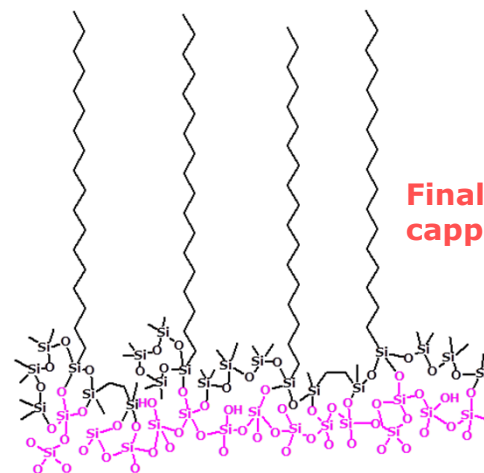


Mixture of reagent A and B

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 μm , 340 m^2/g

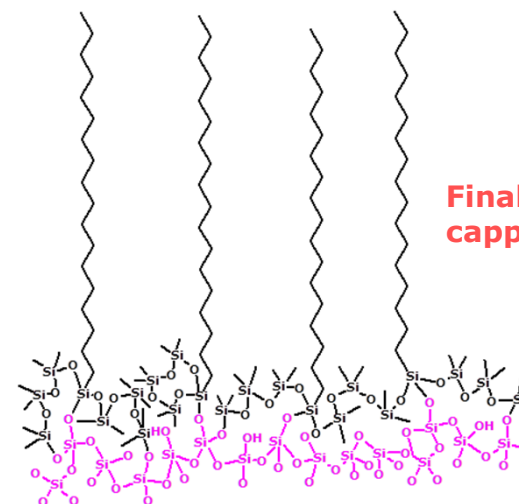


Mixture of reagent A and C

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 μm , 340 m^2/g





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:

CH₃OH/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: CH₃CN/H₂O=70/30

Flow rate: 1 mL/min

Temperature: 40 °C

Sample: 1 = Butylbenzene

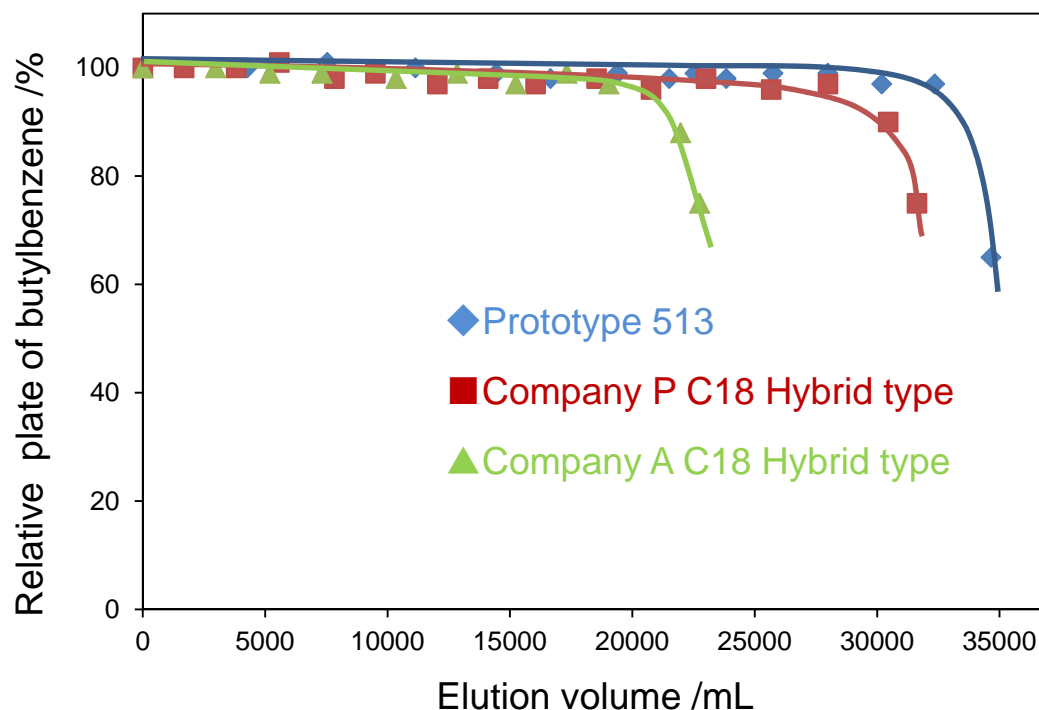
試薬B,Cを使用した方法では
限界がある



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:

CH₃OH/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: CH₃CN/H₂O=60/40

Flow rate: 0.2 mL/min

Temperature: 40 °C

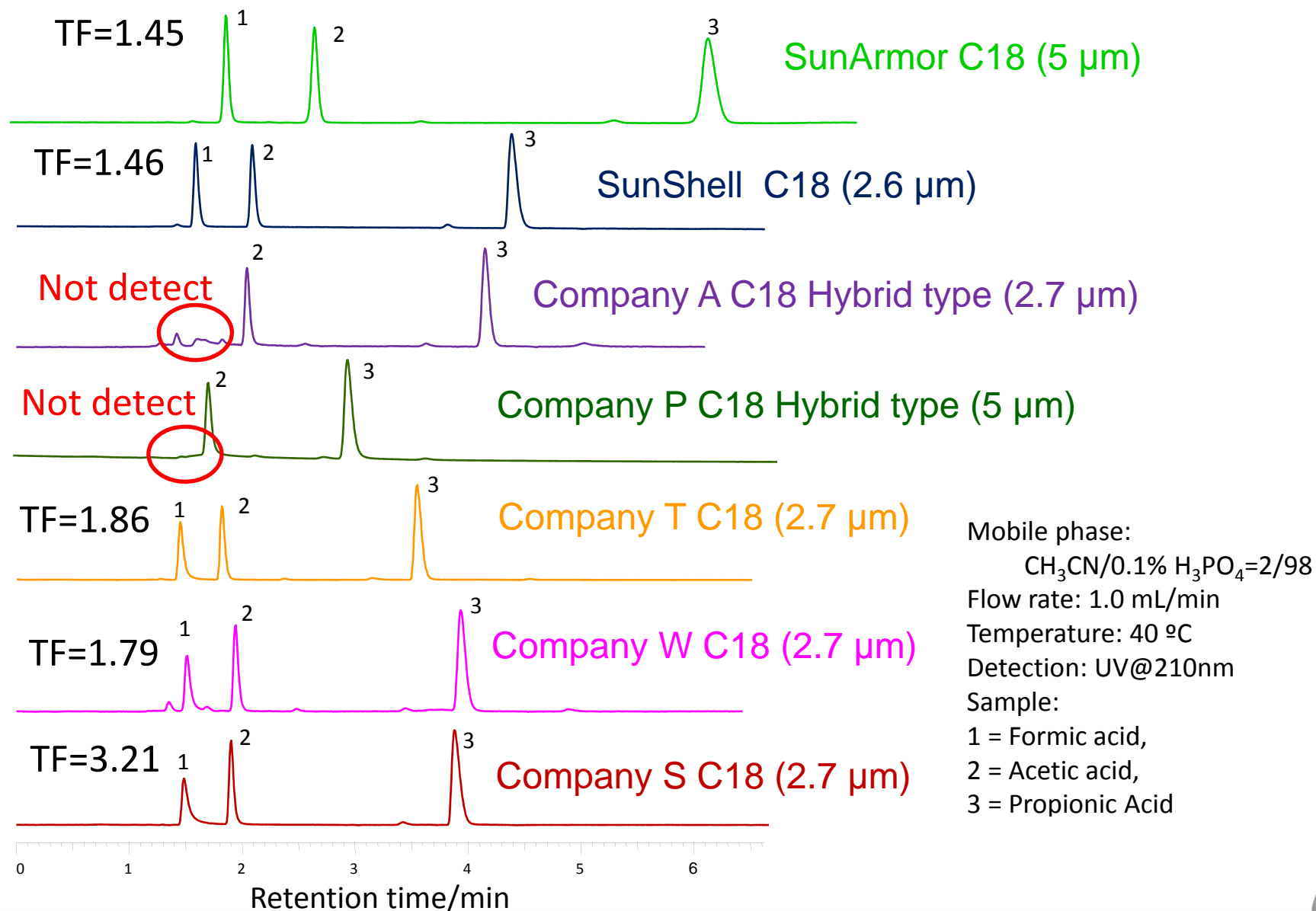
Sample: 1 = Butylbenzene

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



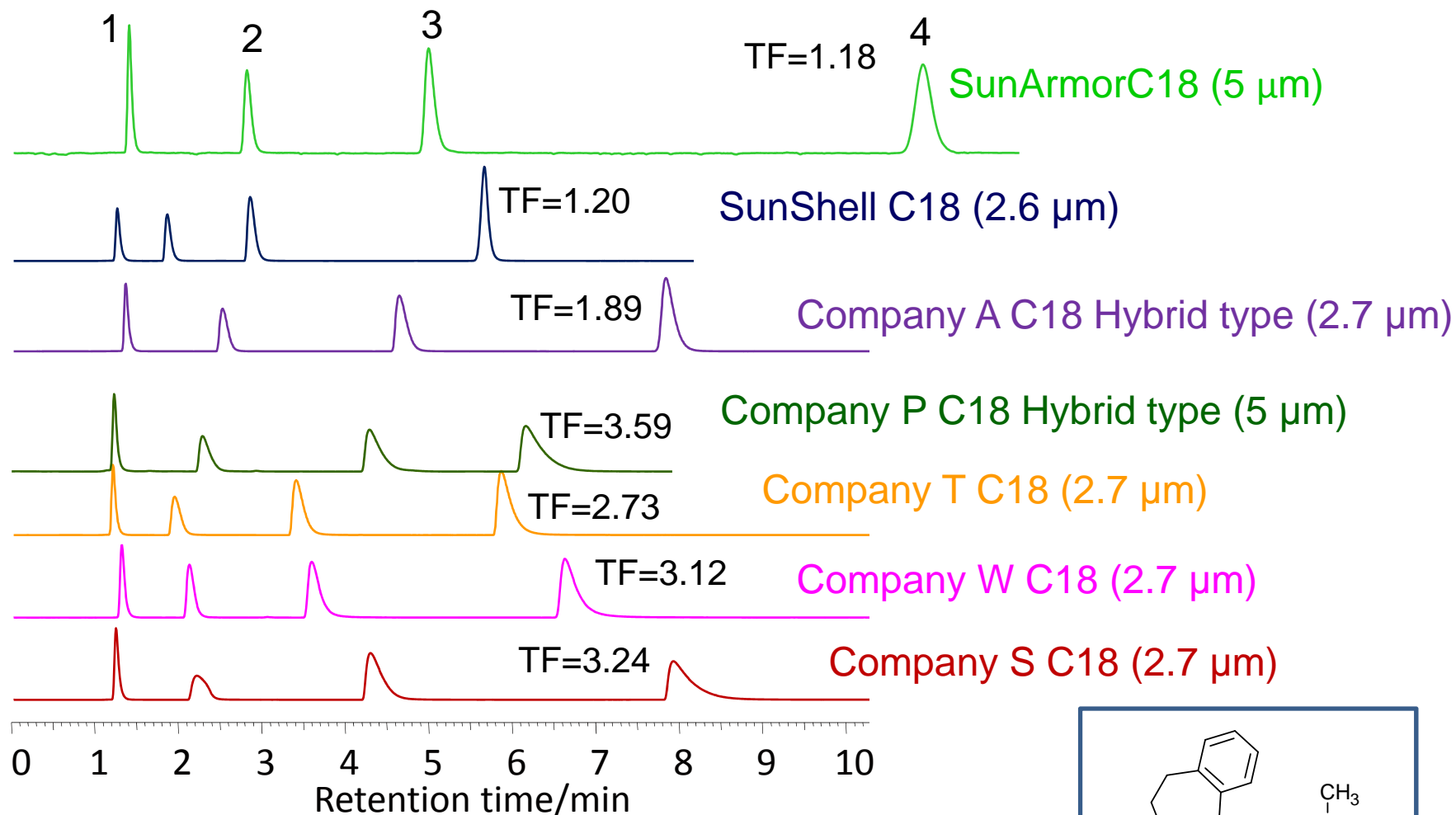


ギ酸ピークの比較



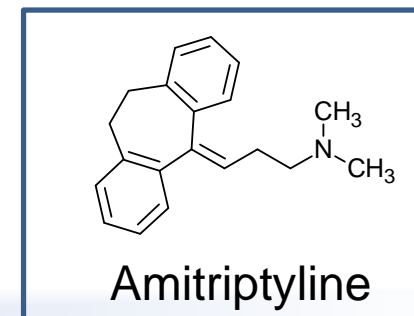


塩基性化合物アミトリプチリンの比較



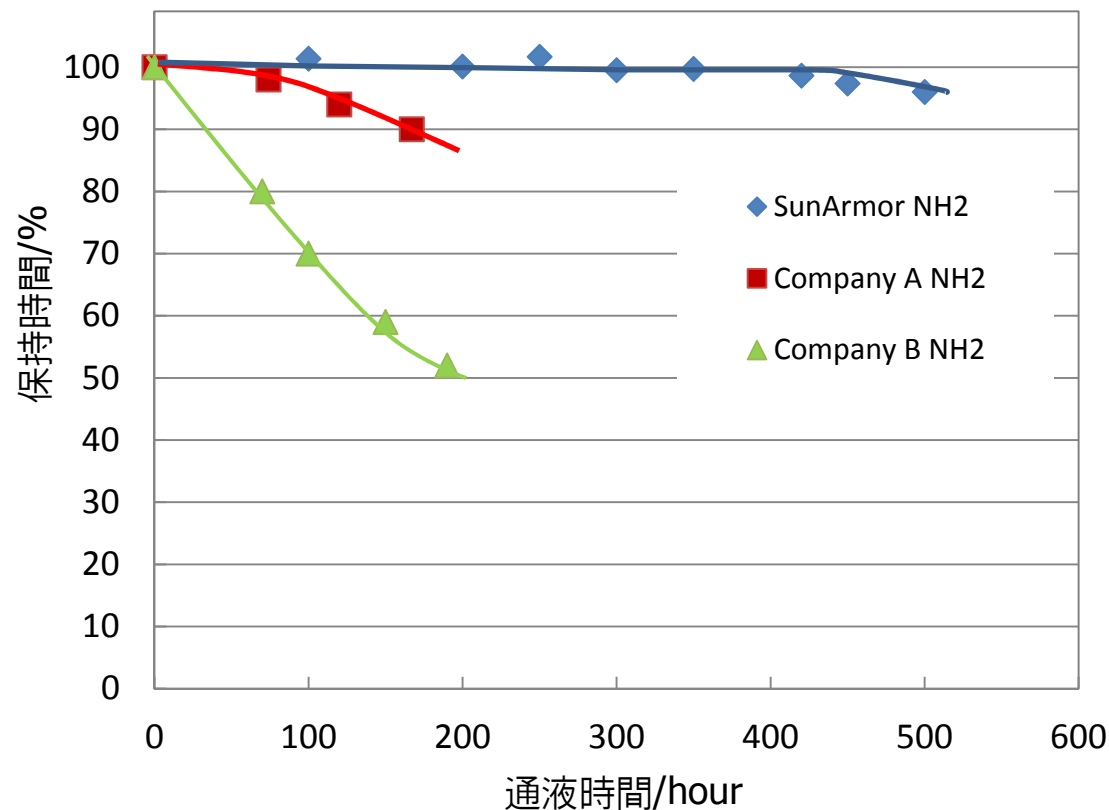
Mobile phase: Acetonitrile/10mM ammonium acetate pH6.8=(40:60)
Column dimension: 150 x 4.6 mm, Flow rate: 1.0 mL/min, Temp.: 40°C

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





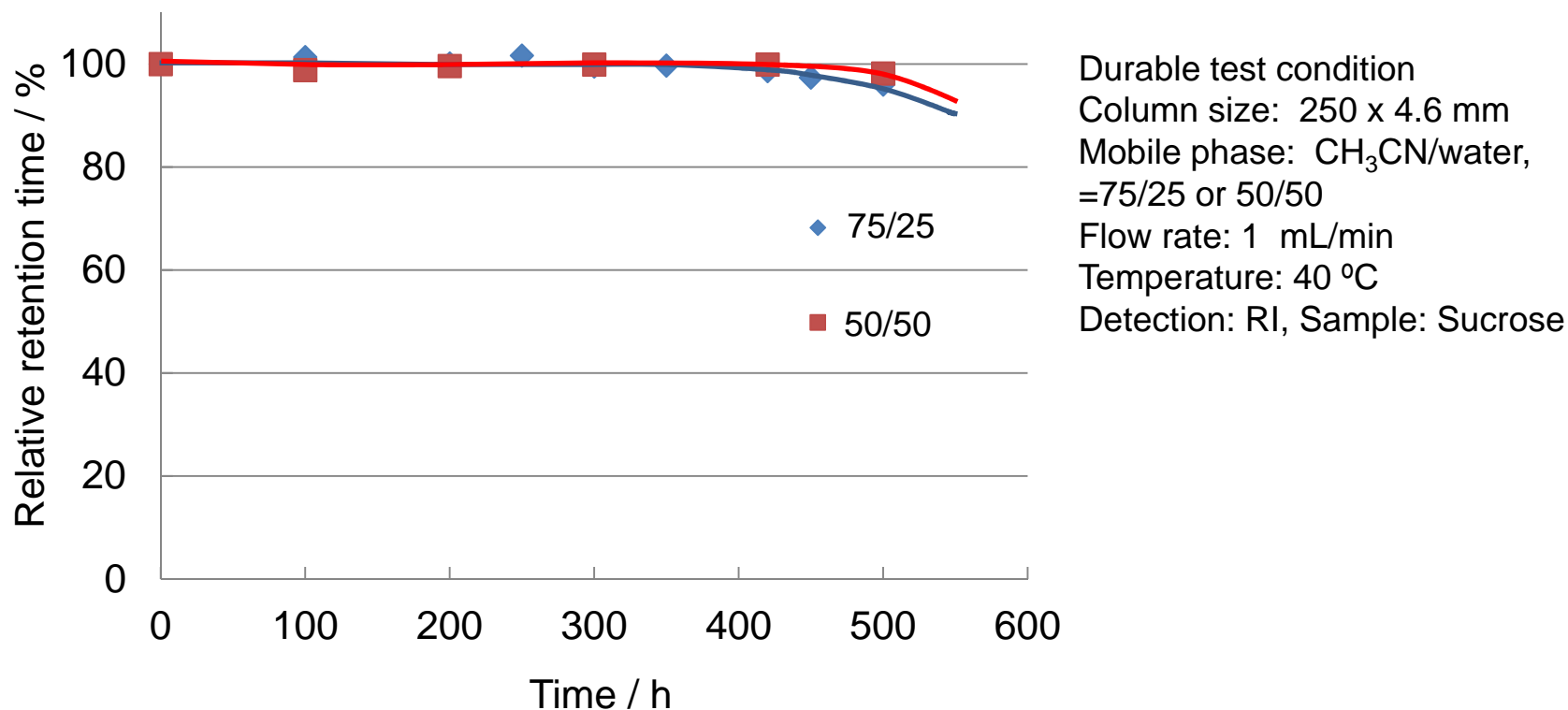
NH₂カラムの耐久性比較



Durable test condition
Column size: 250 x 4.6 mm
Mobile phase: CH₃CN/water,
=75/25
Flow rate: 1 mL/min
Temperature: 40 °C
Detection: RI, Sample: Sucrose

一般的なアミノプロピルカラムの**3倍以上**
の耐久性を実現

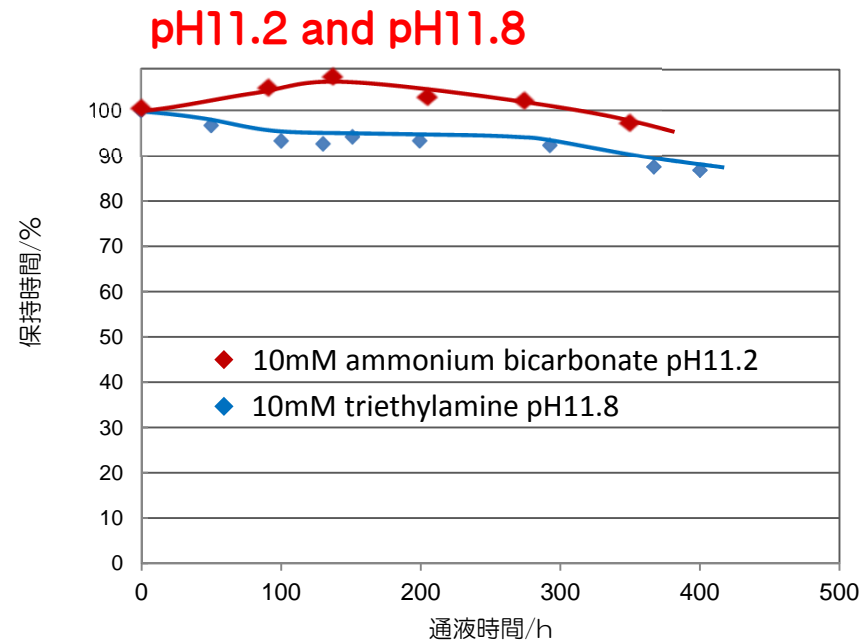
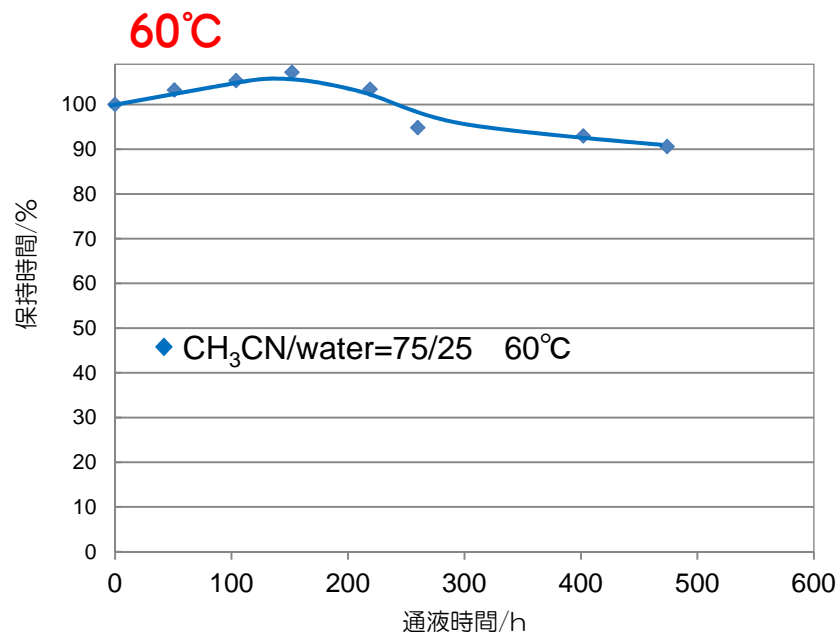
SunArmorNH₂の耐久性



移動相中の水の割合が増えても耐久性を維持



SunArmorNH₂の耐久性2



Measurement condition
Column size: 250 x 4.6 mm
Mobile phase: CH₃CN/water=75/25
Flow rate: 1 mL/min, Temperature: 40 °C
Detection: RI, Sample: Sucrose

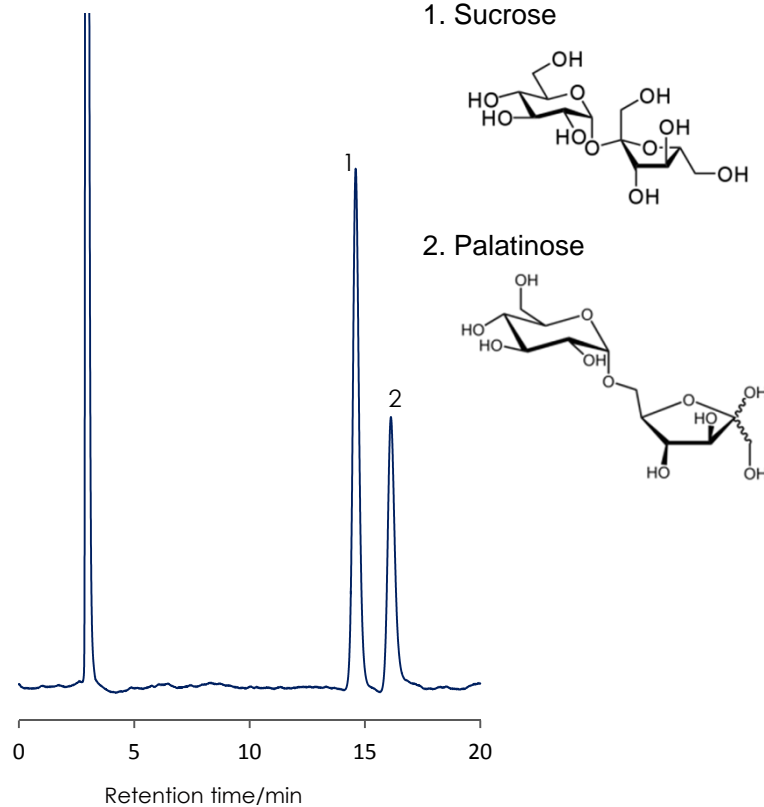
耐熱性、耐アルカリ性ともに高い
耐久性を実現



アプリケーション

糖の分離に！

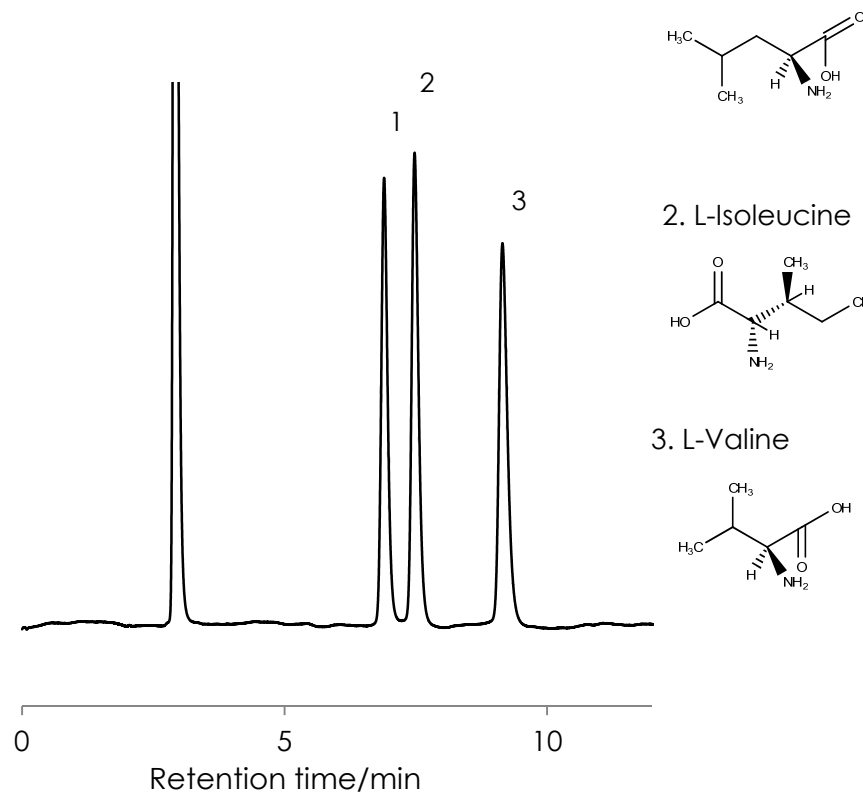
スクロースとパラチノースの分離



Column: SunArmor NH₂, 5 μm 250 x 4.6 mm
Mobile phase:
Acetonitrile/50 mM ammonium acetate=75/25
Flow rate: 1.0 mL/min
Temperature: 40 °C
Detection: RI

アミノ酸の分離に！

分岐鎖アミノ酸の分離



Column: SunArmor NH₂, 5 μm 250 x 4.6 mm
Mobile phase:
Acetonitrile:10mM ammonium acetate=70:30
Flow rate: 1.0 mL/min
Temperature: 40 °C
Detection: RI



まとめ

- 他社ハイブリッドタイプとの比較から、エンドキャッピングのみでも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。
- 順相カラムに耐アルカリ性エンドキャッピング技術を応用することで、耐久性を改善することが可能であった。