



JAIS 2015

カラムを長く使うには？最高峰の エンドキャッピングがもたらす 驚きの効果とは

クロマニックテクノロジーズ

塚本友康 長江徳和

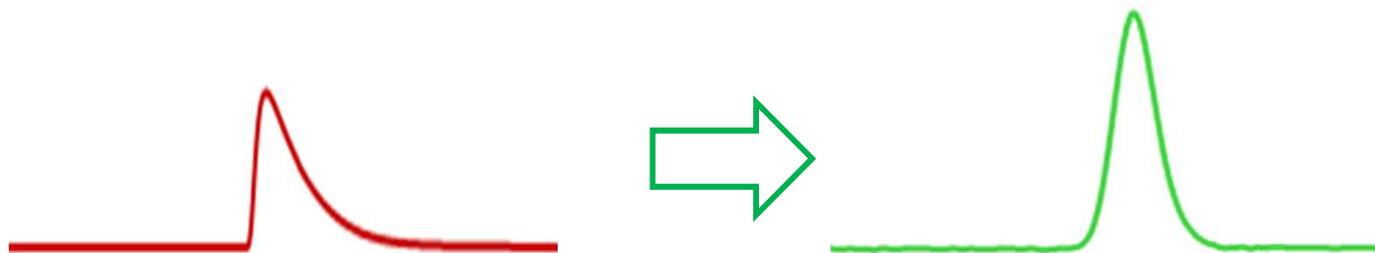
Email: info@chromanik.co.jp

<http://chromanik.co.jp>

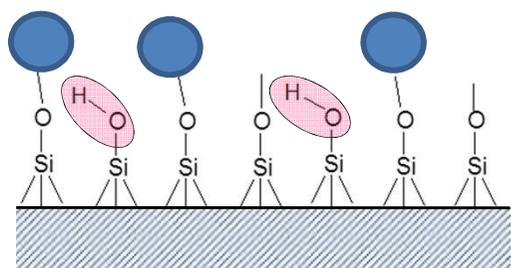




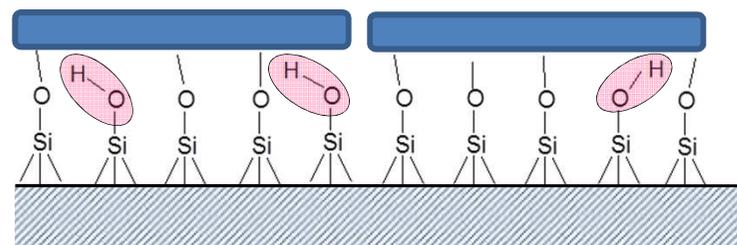
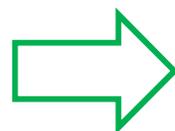
エンドキャッピング



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

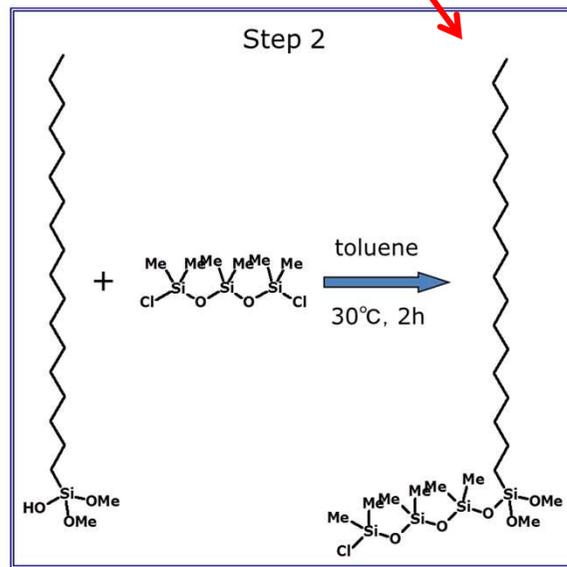
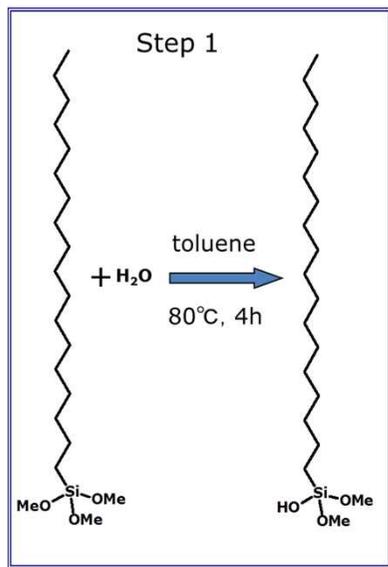
TMS化、マルチステージタイプ、
ポリメリックエンドキャッピング
高温気相エンドキャッピング
Sunniest エンドキャッピング



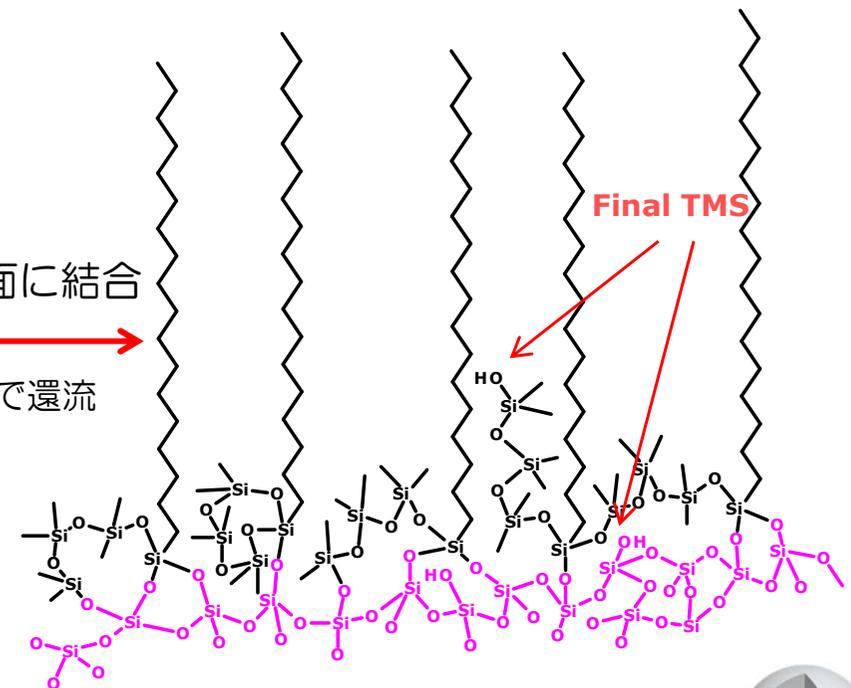
弊社の技術

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

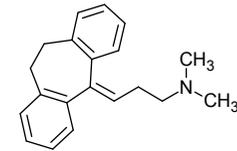
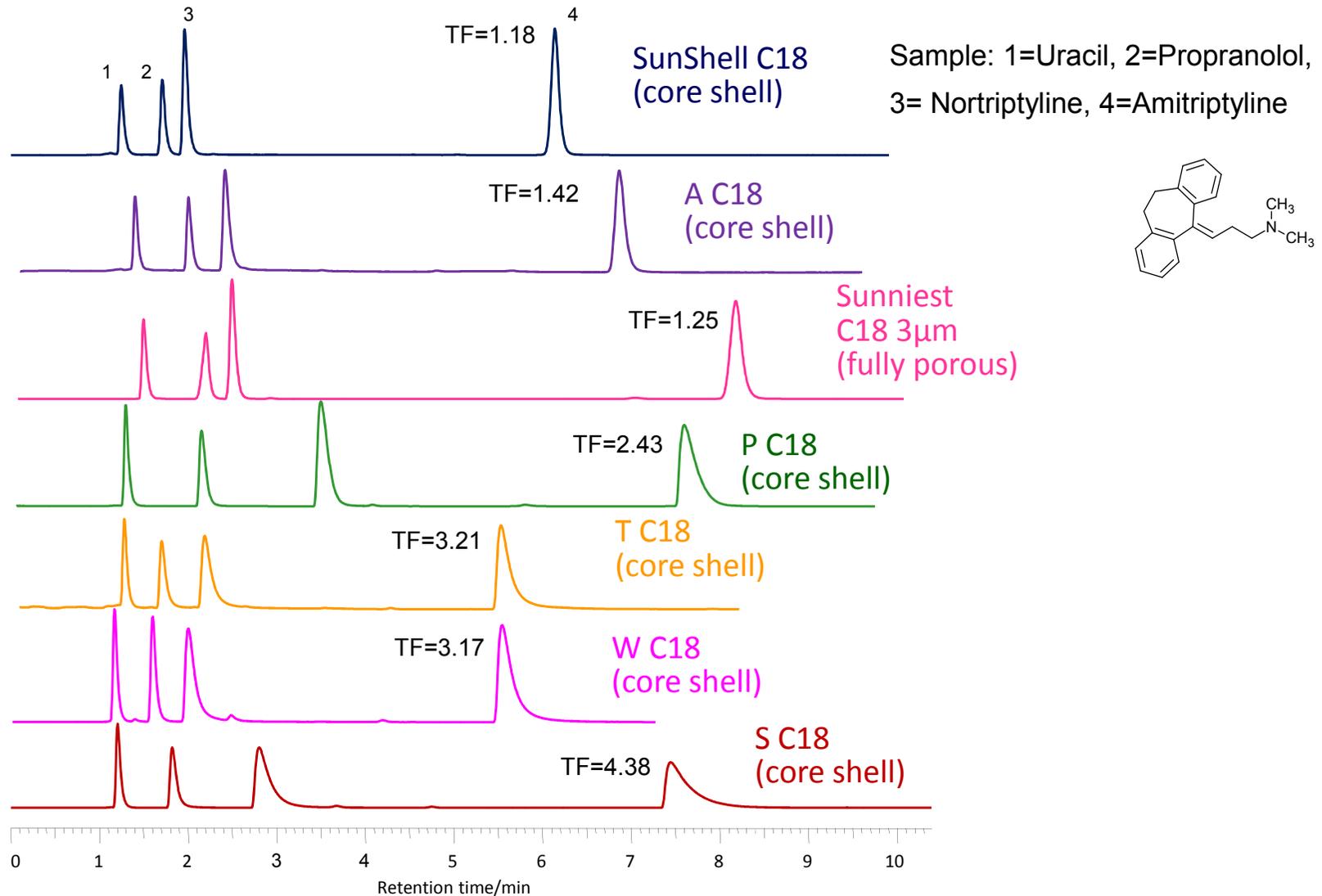


シリカ表面に結合
トルエン中で還流





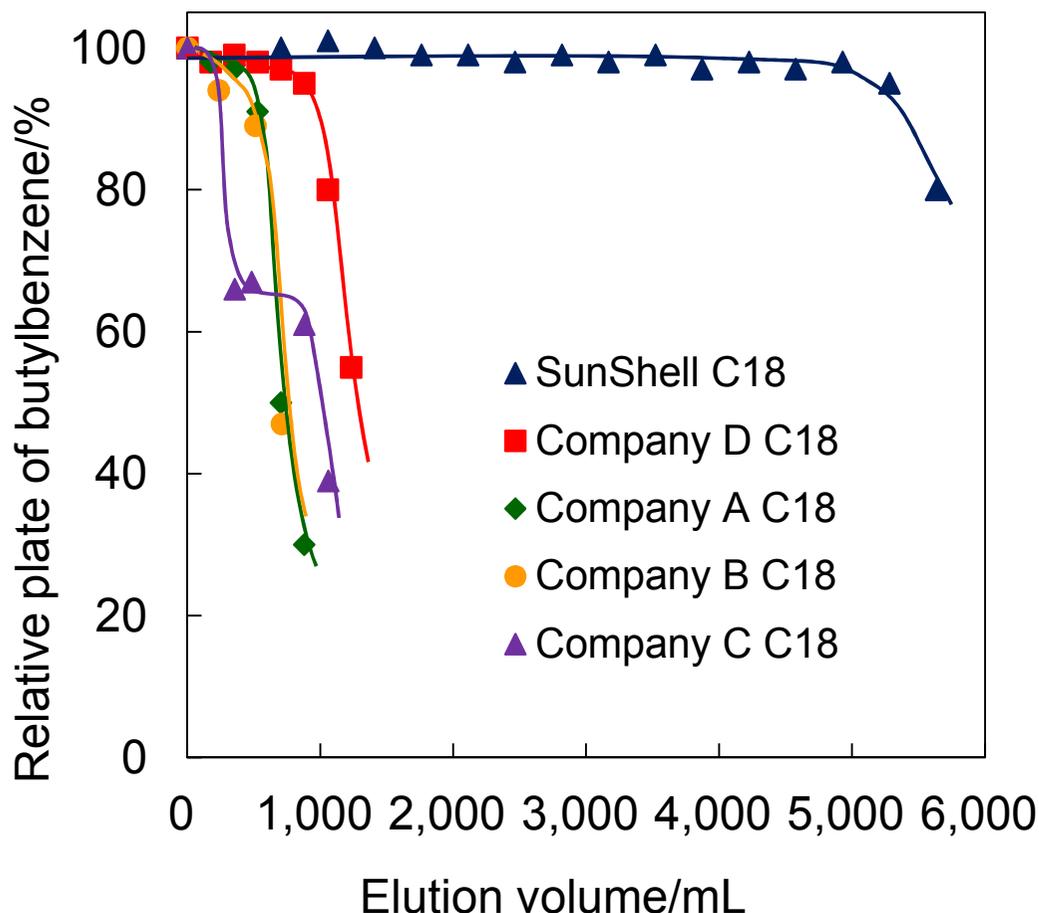
塩基性化合物のピーク形状



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:

CH₃OH/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: CH₃OH/H₂O=70/30

Flow rate: 0.4 mL/min

Temperature: 40 °C

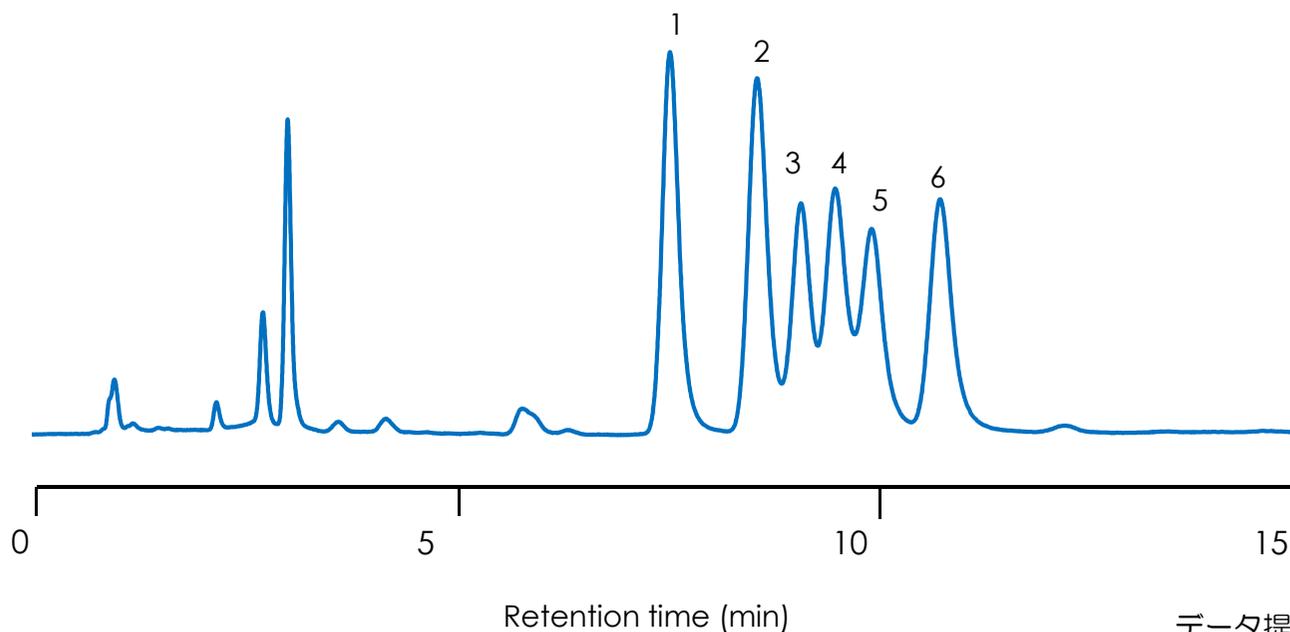
Sample: 1 = Butylbenzene

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! ?



単糖の分離



データ提供：東海大学 小玉修嗣先生

Column: SunShell RP-AQUA, 2.6 μ m 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

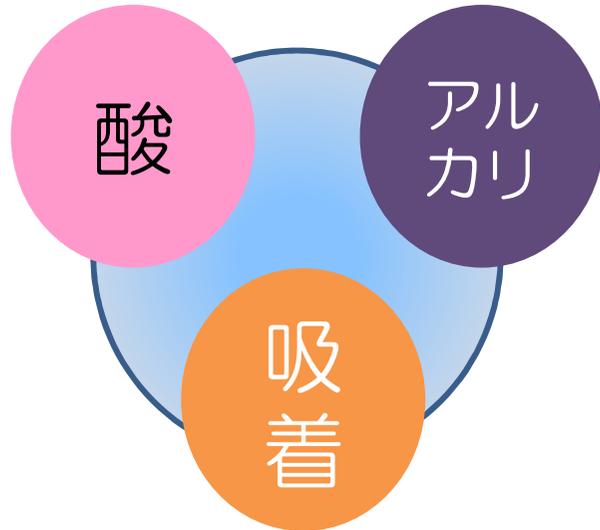


耐久性を向上させる方法を検討



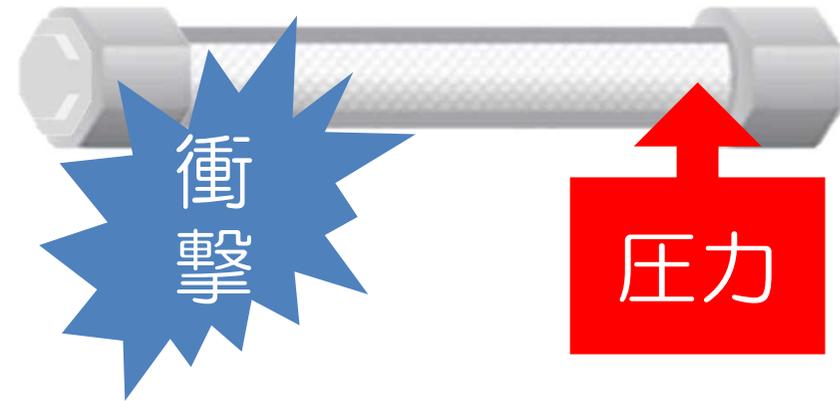
カラム劣化

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。

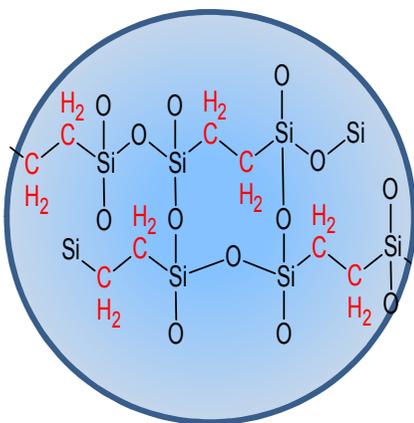
理論段数の低下、ピークの広がり





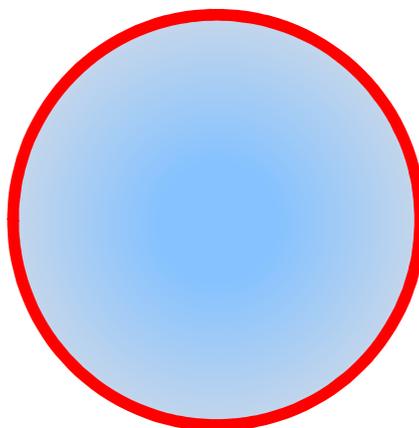
耐アルカリ性を高めるための手段

ハイブリッド基材

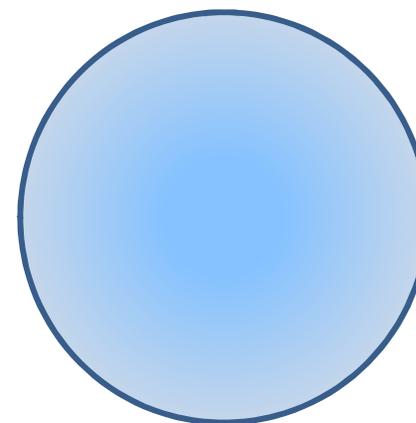


溶け難くする

コーティング



エンドキャッピング



接触を減らす



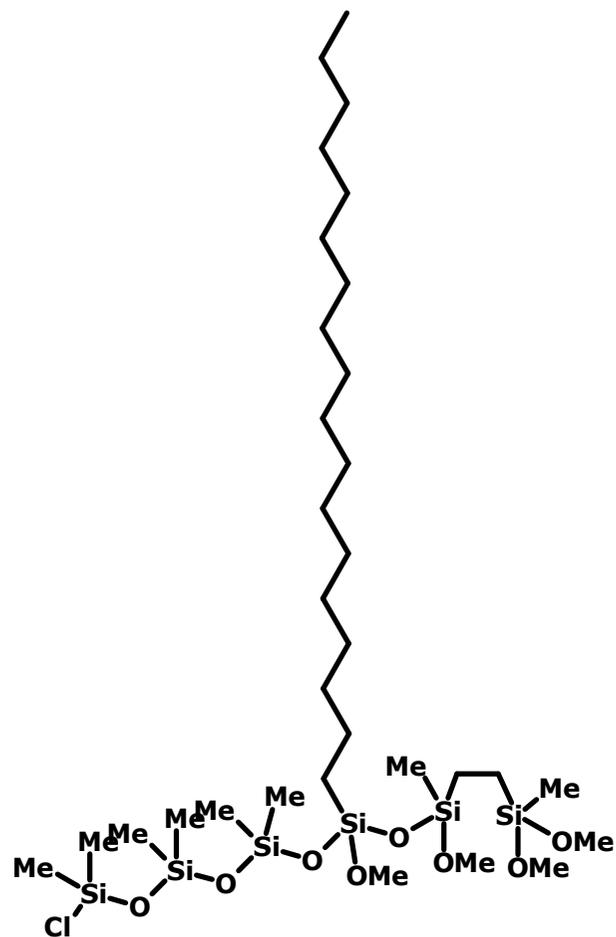
エンドキャッピングをさらに高効率に



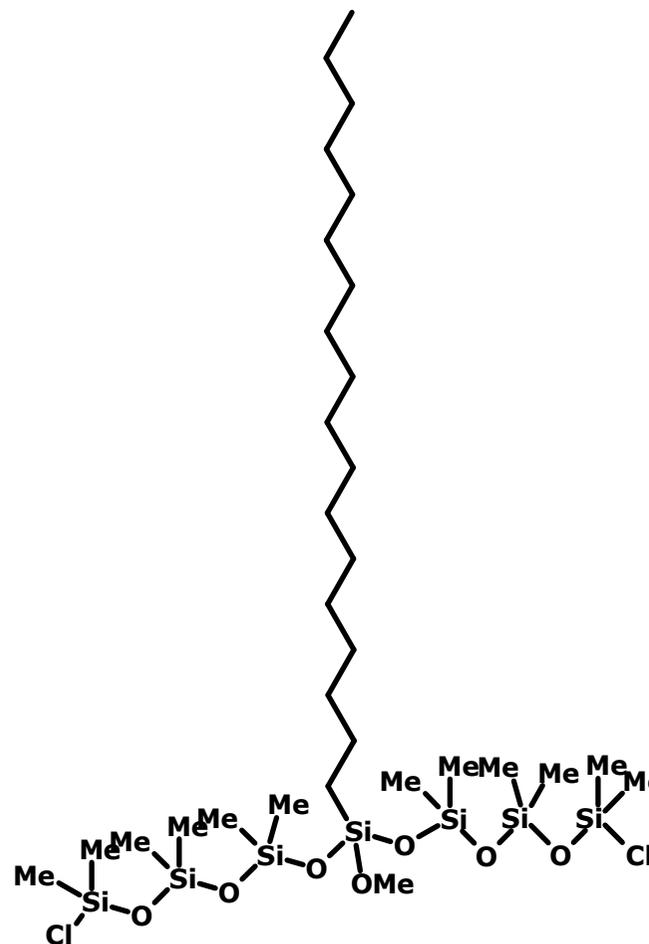
高い耐アルカリ性カラムの製造可能



新規シリル化剤



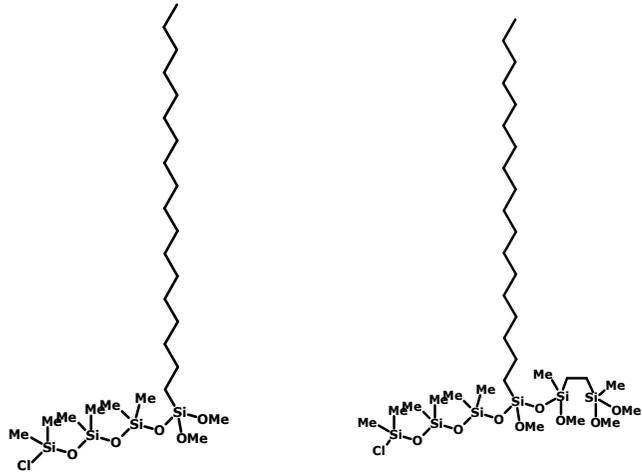
C18 reagent B



C18 reagent C



シリカへの結合

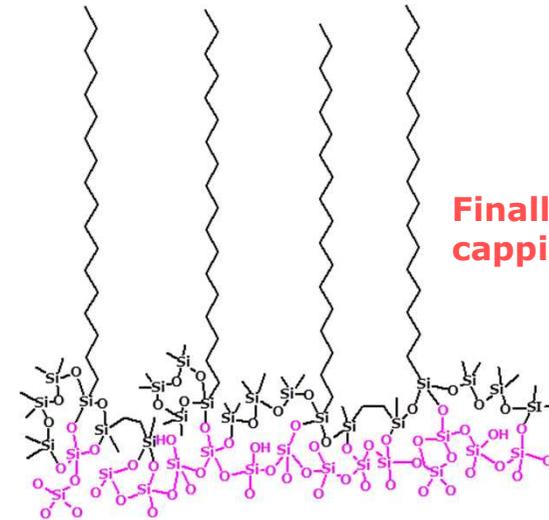


Mixture of reagent A and B

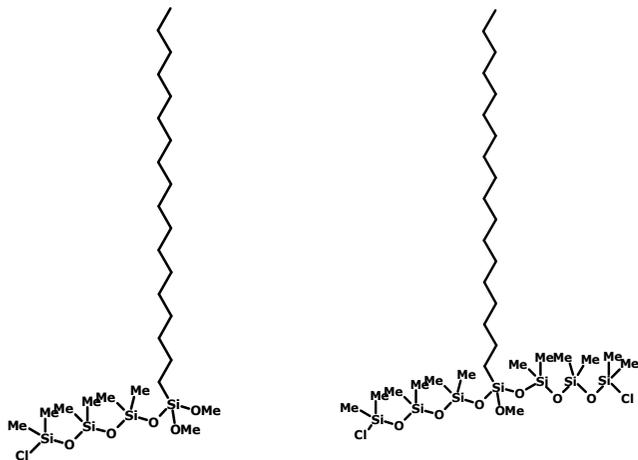
AとBの混合比率
(2:1) (1:1) (1:2)

トルエン中で還流

シリカゲル
5 μm , 340 m^2/g



Finally end-capping TMS

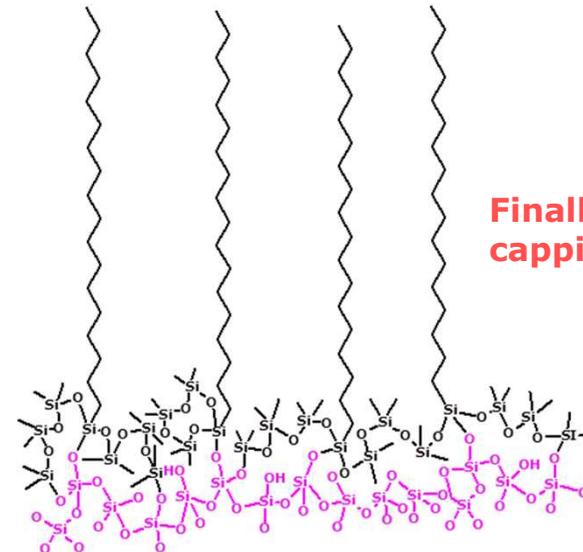


Mixture of reagent A and C

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 μm , 340 m^2/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:

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

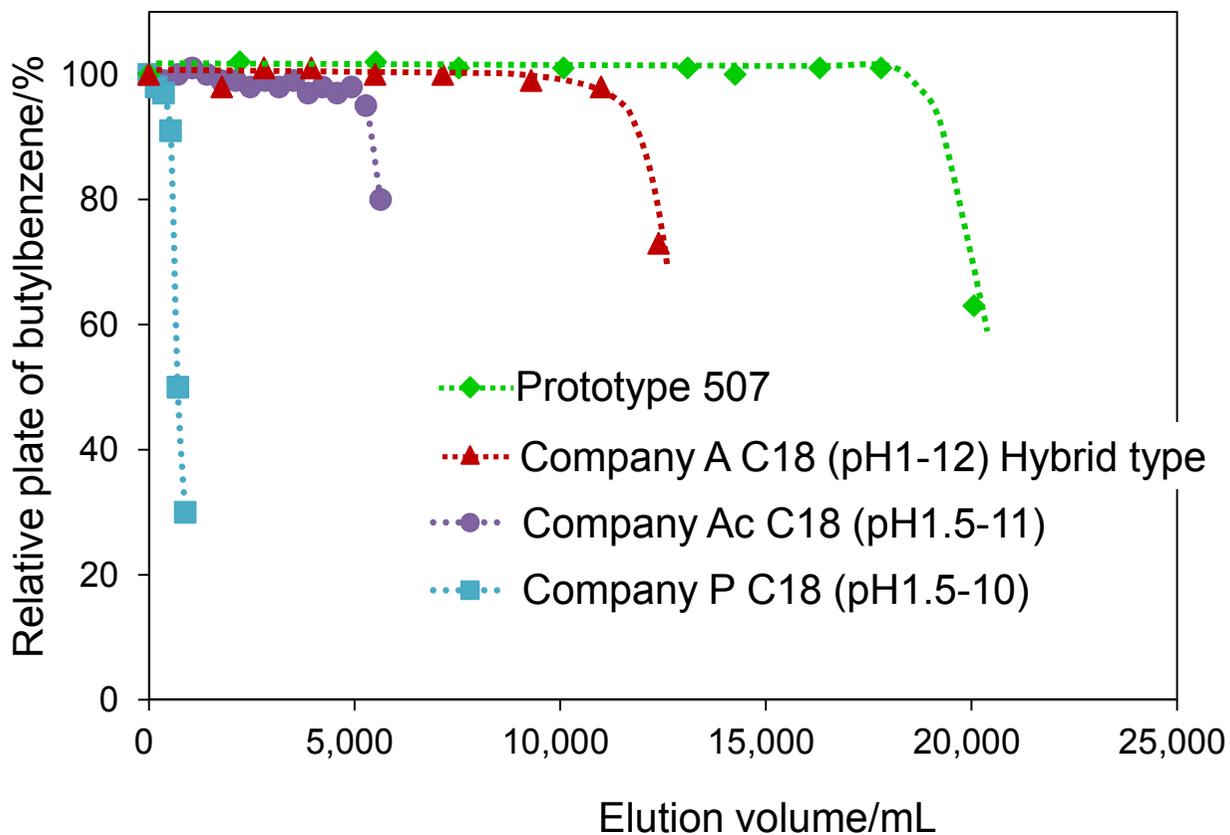
試薬B,Cを使用した方法では
限界がある



新たな方法を使用した結果
耐久性が向上した



pH10, 50°Cでの安定性評価



Durable test condition

Column dimension: 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

Measurement condition

Column dimension: 50 x 2.1 mm

Mobile phase: CH₃CN/H₂O=60/40

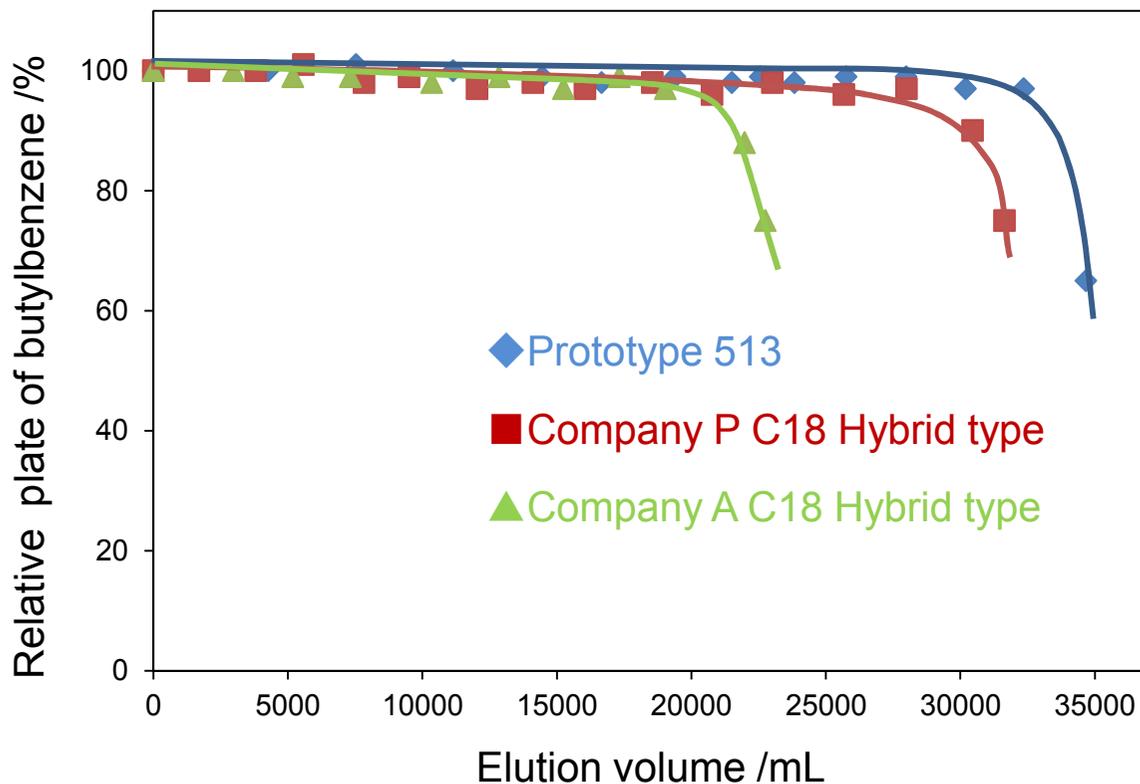
Flow rate: 0.4 mL/min

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:

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

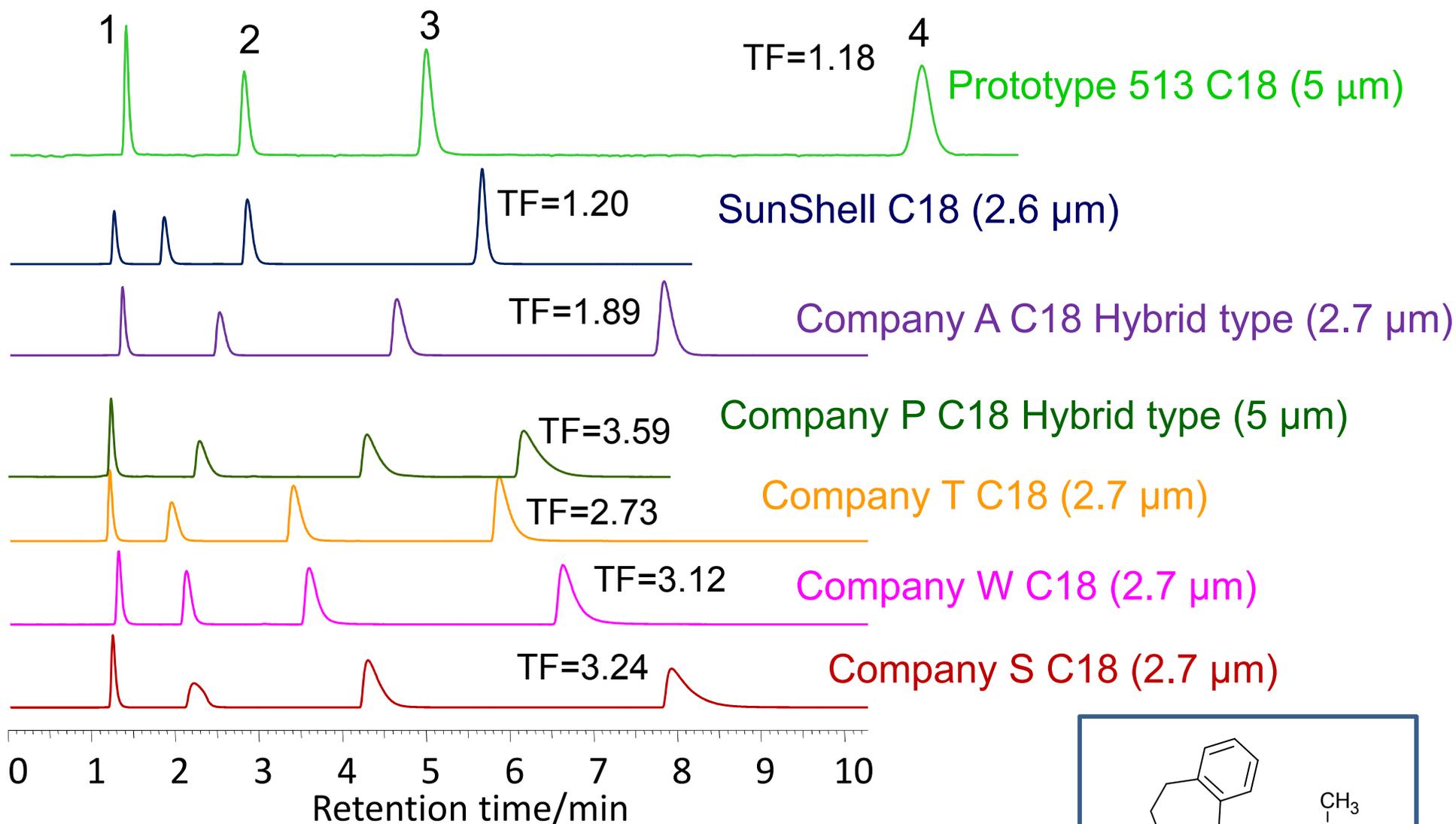
Temperature: 40 °C

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

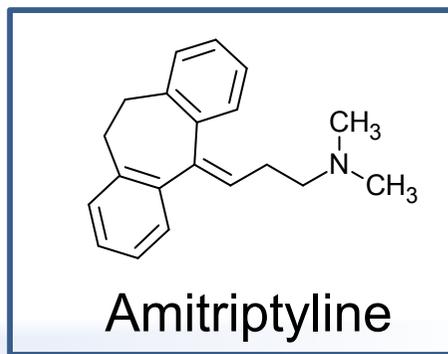


塩基性化合物アミトリプチリンの比較



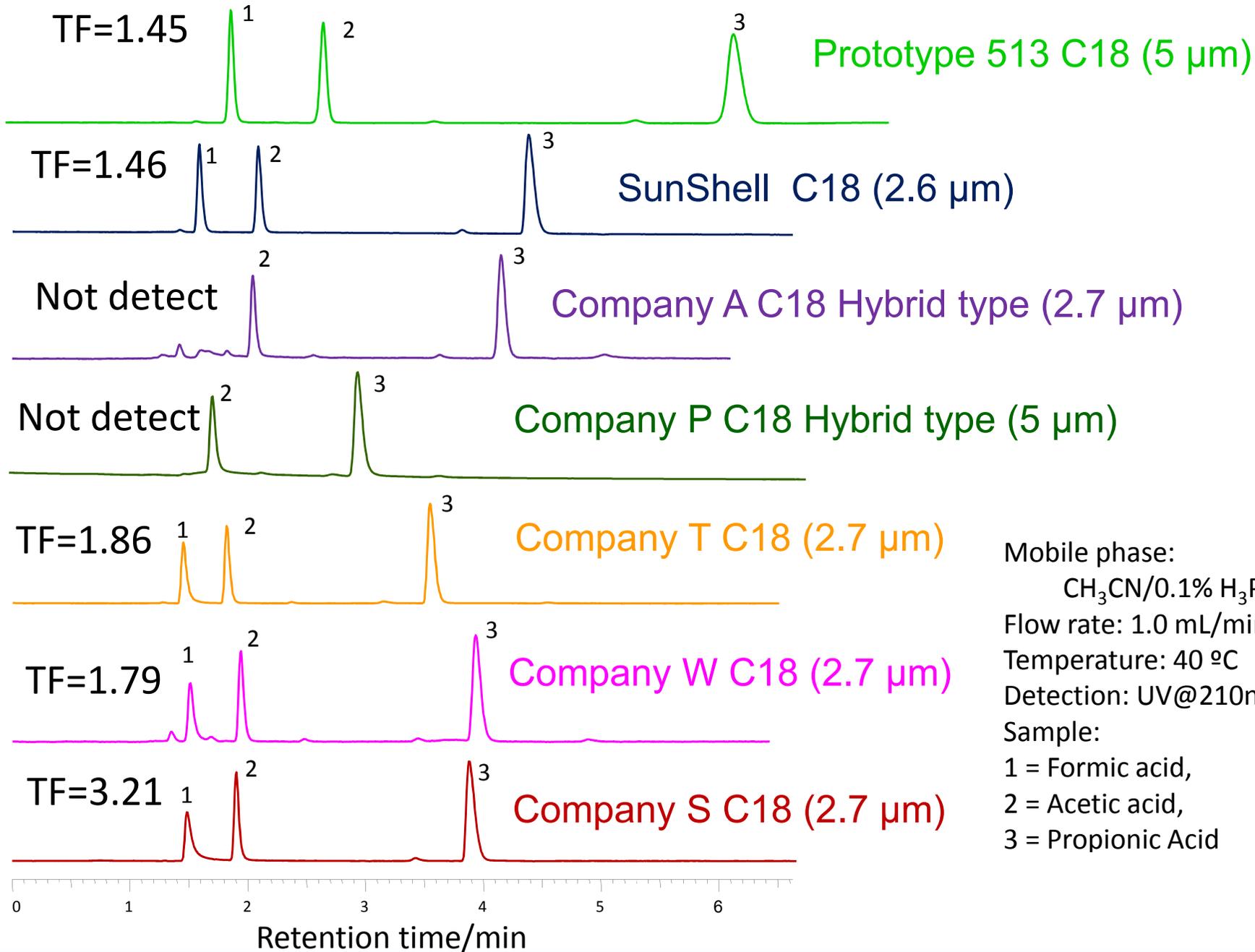
Mobile phase: Acetonitrile/10mM ammonium acetate pH6.8=(40:60)
Column dimension: 150 x 4.6 mm, Flow rate: 1.0 mL/min, Temp.: 40°C

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





ギ酸ピークの比較



高耐久性C18新発売

HPLC column

SunArmor

サンアーマー SunArmor

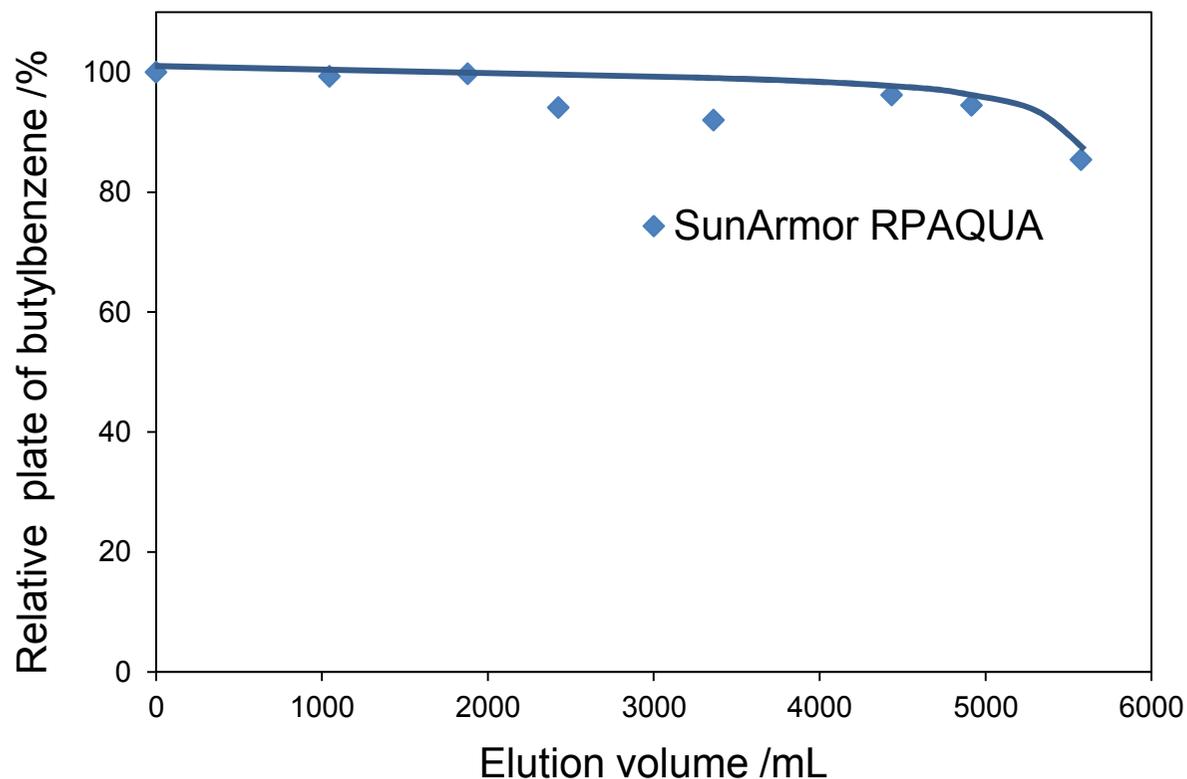


ChromaNik Technologies Inc.





SunArmor RPAQUAの耐久性



Durable test condition

Column dimension: 50 x 2.1 mm

Mobile phase:

10mM Ammonium bicarbonate(pH 10.5)

Flow rate: 0.2 mL/min

Temperature: 40 °C

Measurement condition

Column dimension: 50 x 2.1 mm

Mobile phase: CH₃CN/H₂O=70/30

Flow rate: 0.2 mL/min

Temperature: 40 °C

Sample: acenaphthene

有機溶媒を用いないpH10.5の移動相でも
高い耐アルカリ性

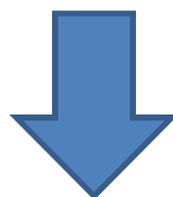


耐久性が高いカラムだから



さまざまな分析条件で使っても大丈夫！！

とっていませんか？



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



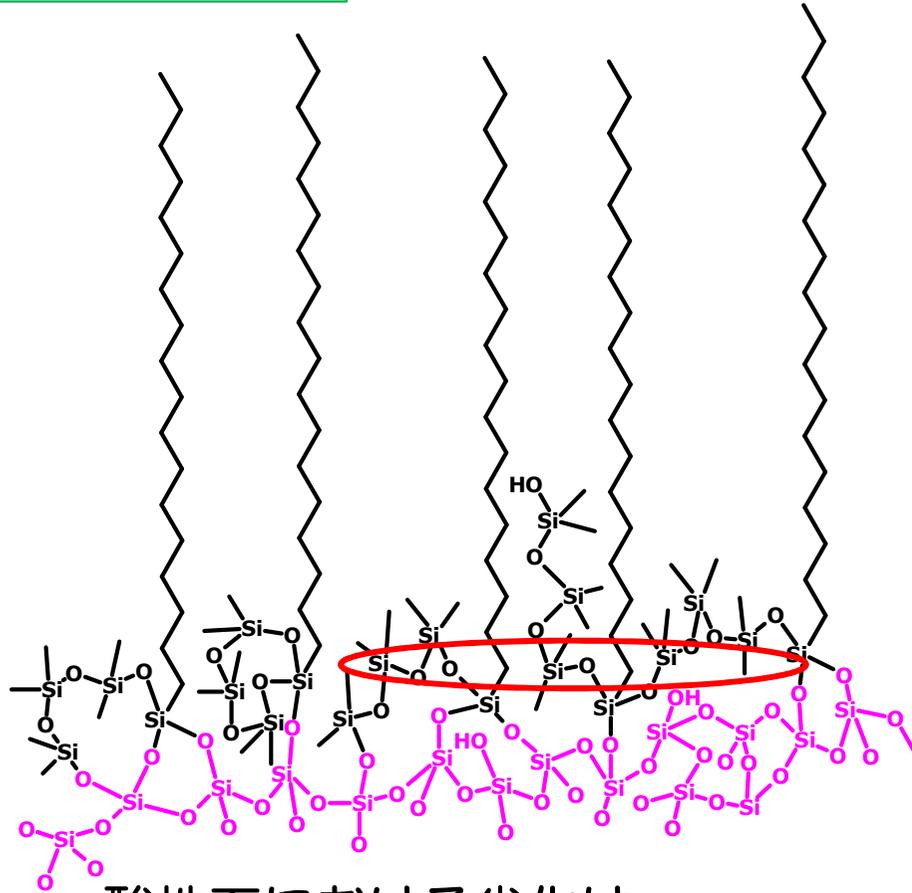
同じカラム、同じバッチにもかかわらずカラムの耐久性に差が・・・

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

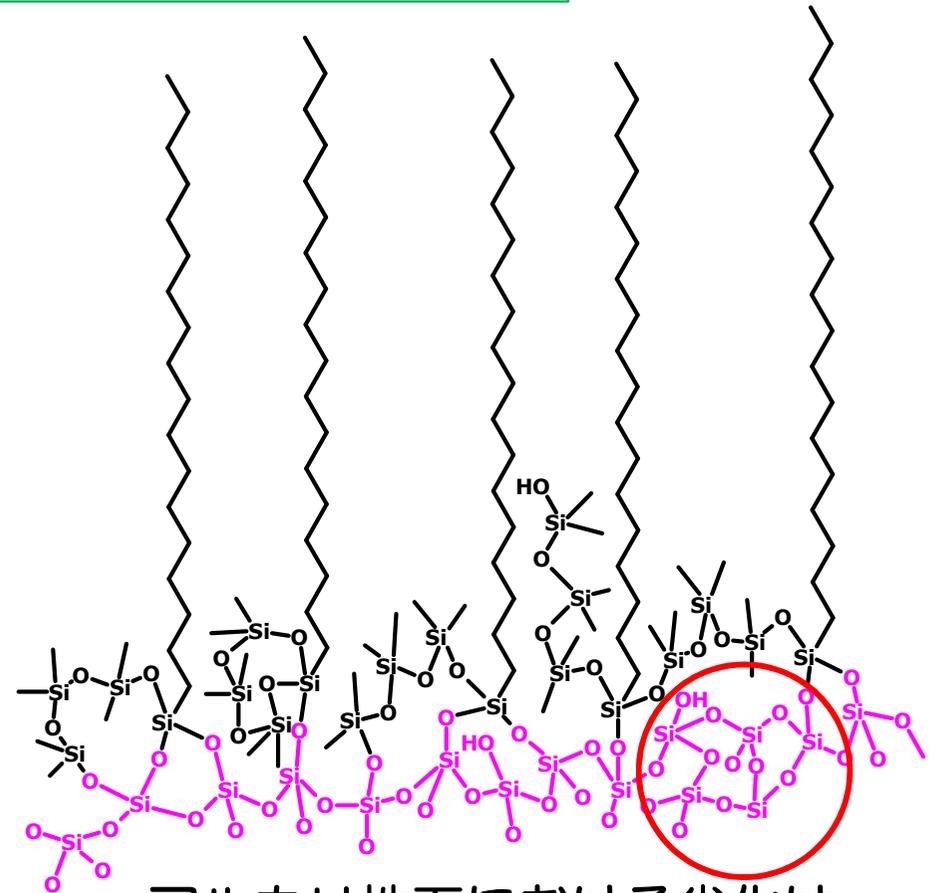


酸性下における劣化は
C18の結合部に対する加水分解



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



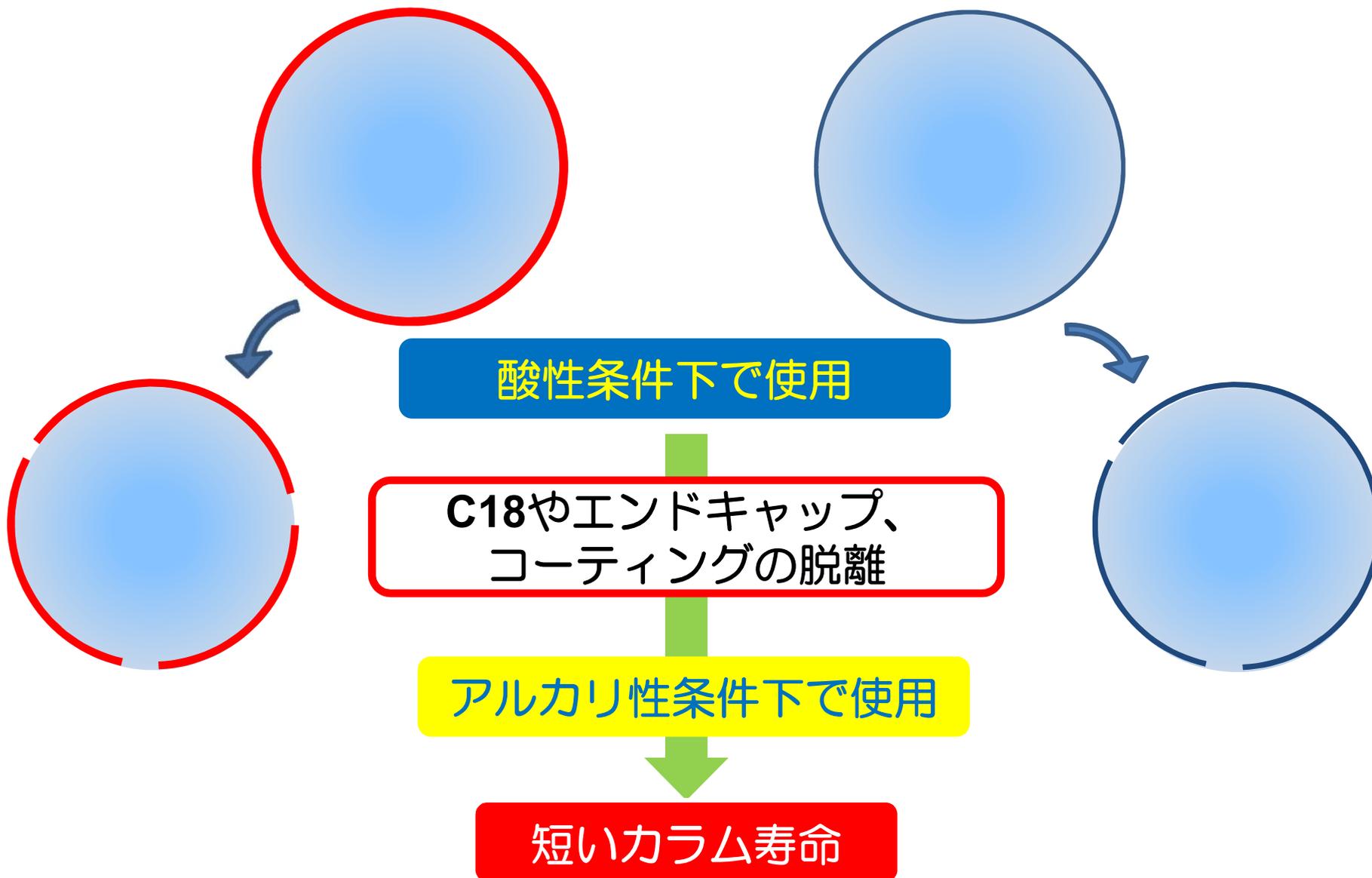
シリカの溶解



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

SunShell

Core Shell Particle

クロマニクオープン10周年キャンペーン第2弾

SunShell C18, 5 μ m

50% 引きセール

期間: 2015/4/1 ~ 2016/3/31

SunShell C18 5 μ m, 4.6x250mm
 移動相: アセトニトリル/水=7/3
 流速: 1.0mL/min
 カラム圧: 6.7 MPa

理論段数: 40,000段以上

5 μ mのカラム圧で3 μ mの性能を発揮!

全多孔性C18と同等な価格! 是非お試しください!!

| | 内径(mm) | 3.0 | | | 4.6 | | |
|-------------------------|--------|--------|----------|---------|----------|----------|---------|
| | | 長さ(mm) | 型番 | 価格 | キャンペーン価格 | 型番 | 価格 |
| SunShell C18, 5 μ m | 150 | CB3371 | ¥84,000 | ¥42,000 | CB3471 | ¥84,000 | ¥42,000 |
| | 250 | CB3381 | ¥110,000 | ¥55,000 | CB3481 | ¥110,000 | ¥55,000 |



好評！Sunniest C18に分取用として

7 μ m, 10 μ m粒子が仲間入り

Sunniest C18 7 μ m, 10 μ m

分析・分取カラムセット

および分取カラム

50%offキャンペーンセール

期間2015/9/1~2016/2/29



| 型番 | カラム | 価格 | キャンペーン価格 |
|--------|---|---------------------|----------|
| EB788S | Sunniest C18, 7 μ m 20 x 250 mm and 4.6 x 250 mmセット | ¥301,500 | ¥150,750 |
| EB7881 | Sunniest C18, 7 μ m 20 x 250 mm | ¥280,000 | ¥140,000 |
| EB7481 | Sunniest C18, 7 μ m 4.6 x 250 mm | ¥55,000 | ----- |
| EB888S | Sunniest C18, 10 μ m 20 x 250 mm and 4.6 x 250 mmセット | ¥261,000 | ¥130,500 |
| EB8881 | Sunniest C18, 10 μ m 20 x 250 mm | ¥240,000 | ¥120,000 |
| EB8481 | Sunniest C18, 10 μ m 4.6 x 250 mm | ¥50,000 | ----- |