



C18カラムのエンドキャッピングは ここまで進化した！耐久性を実現する 技術とその性能

クロマニックテクノロジーズ
塚本友康 小島瞬 長江徳和

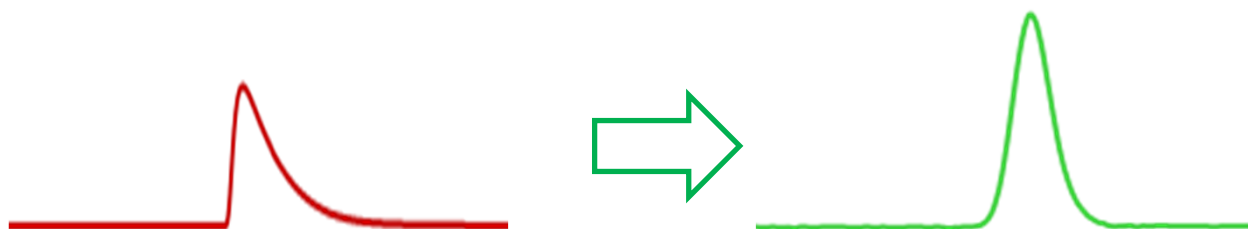
Email: info@chromanik.co.jp

<http://chromanik.co.jp>

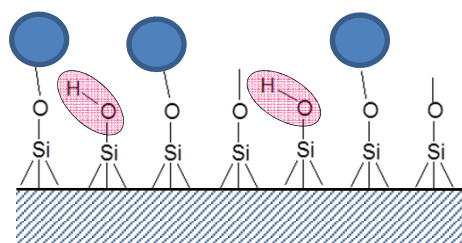




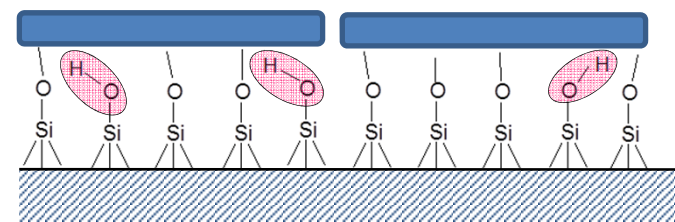
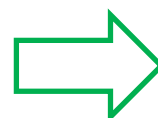
エンドキャッピング



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



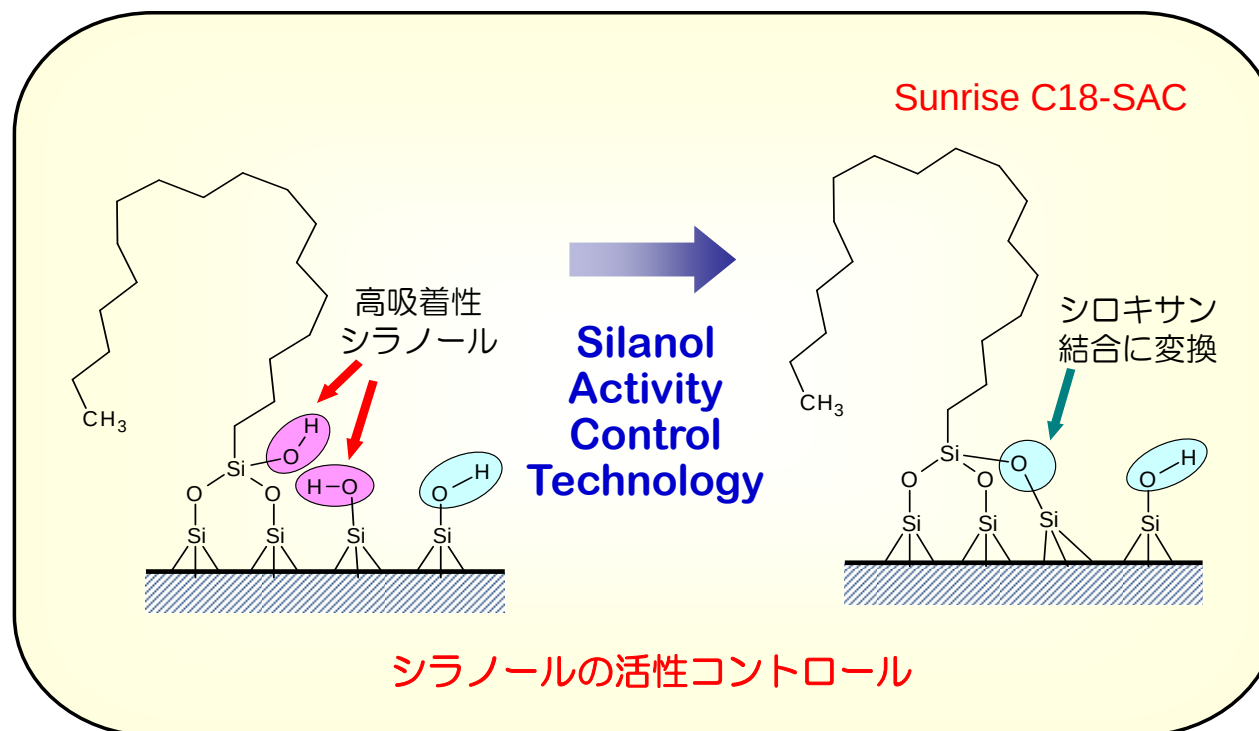
表面を覆うような
エンドキャッピング

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
シラノールアクティビティコントロール



シラノールアクティビティコントロール



シリカは結晶構造ではなくアモルファス

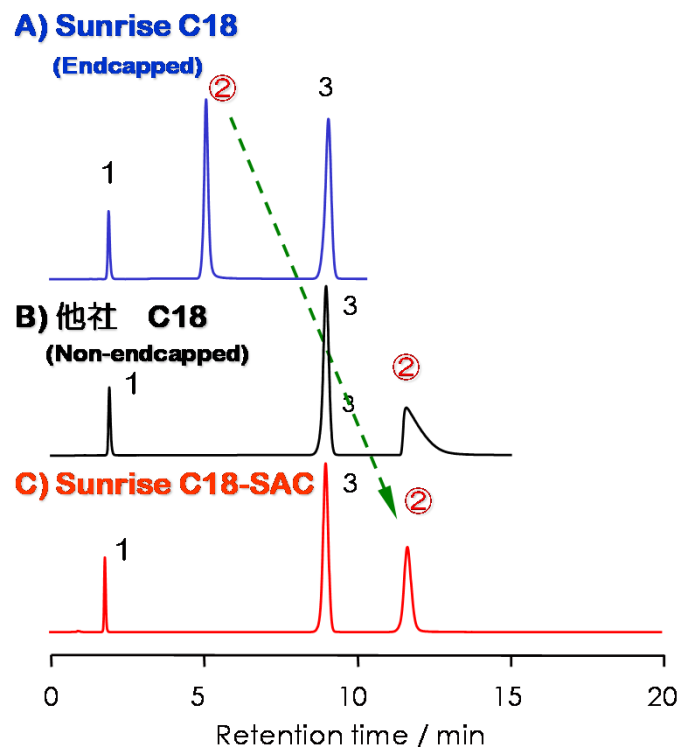


条件次第では原子を動かすことができる



シラノールによる分離の変化

■ ピリジンの溶出順とピーク形状の比較

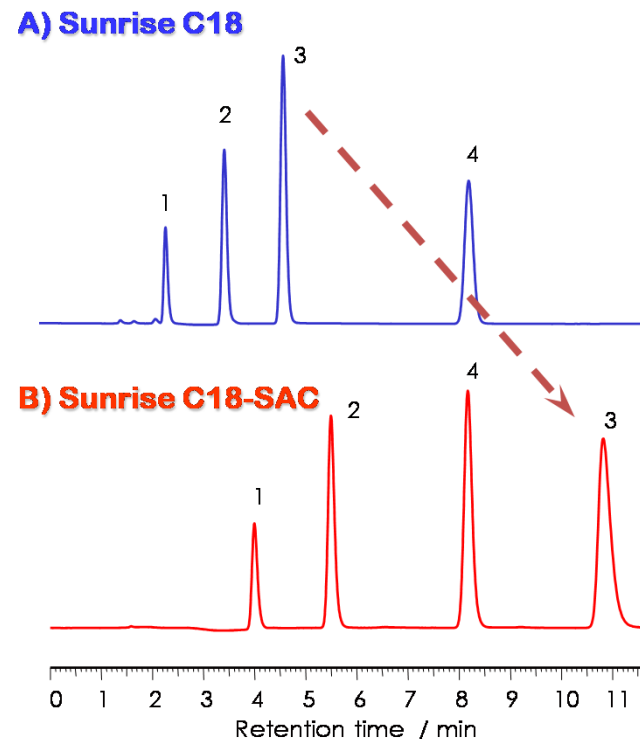


Column size: 4.6 X 150mm

Mobile phase: CH₃OH/H₂O = 30:70

Sample: 1 = Uracil, ② = Pyridine, 3 = Phenol

■ カフェインの保持の比較



Column size: 4.6x150 mm

Mobile phase:

CH₃OH/20mM Phosphate buffer pH4.5 = 30:70

Flow rate: 1.0 mL/min, Temperature: 40 °C

Sample: 1 = Theobromine, 2 = Theophylline

3 = Caffeine, 4 = Phenol





塩基性化合物の選択性の比較

A) Sunrise C18



Column size: 4.6x150 mm

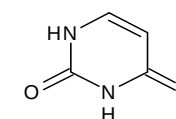
Mobile phase:

CH₃CN/20mM Phosphate buffer pH3.0 or pH4.5 = 50:50

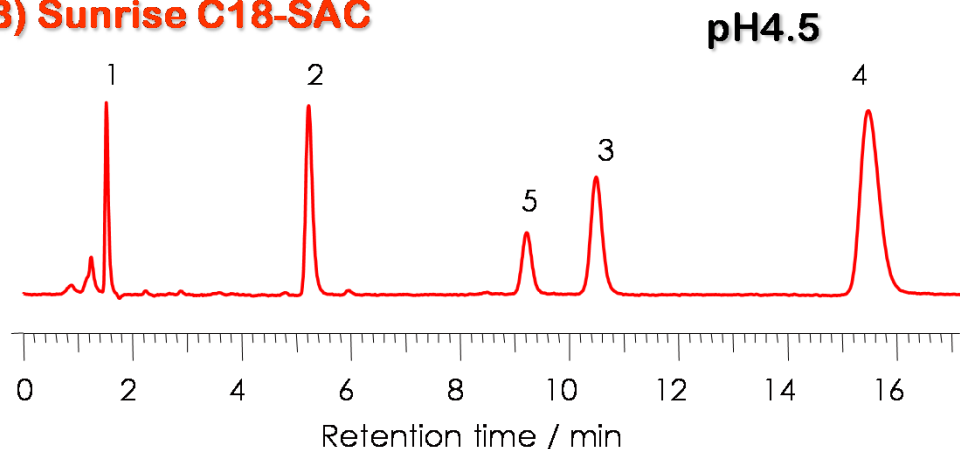
Flow rate: 1.0 mL/min

Temperature: 40 °C

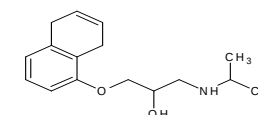
Sample: 1 = Uracil



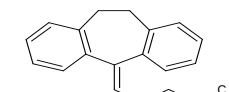
B) Sunrise C18-SAC



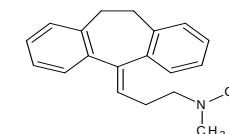
2 = Propranolol



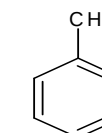
3 = Nortriptyline



4 = Amitriptyline



5 = Toluene

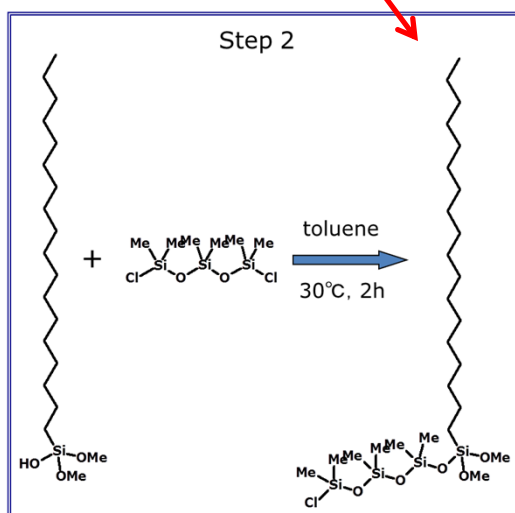
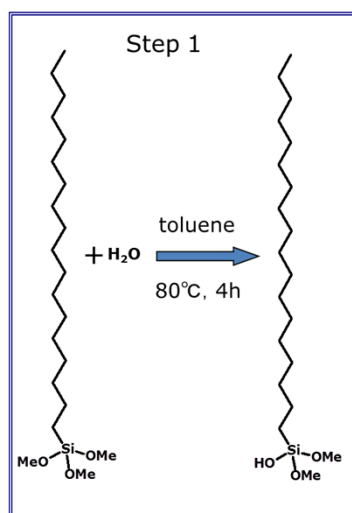




弊社の技術

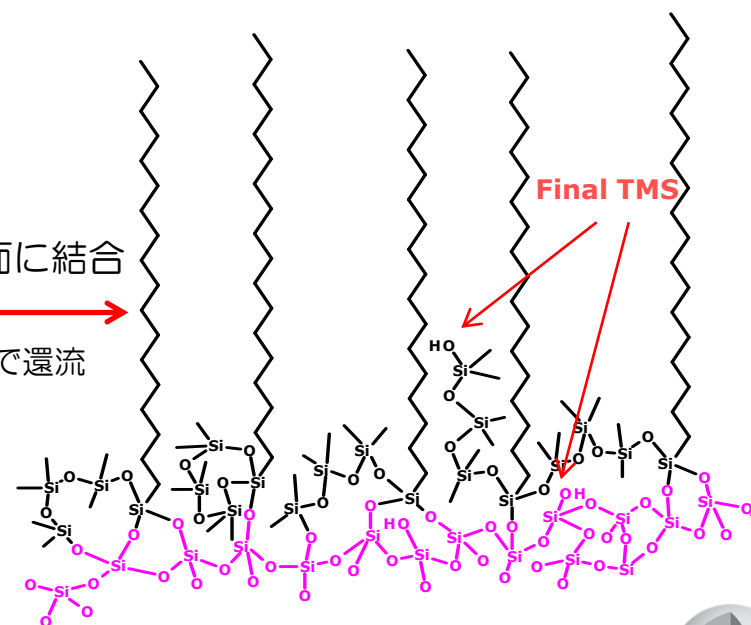
サニエスト結合（エンドキャッピング）技術

Hexamethyloctadecyltetrasilane (C18 reagent A)の合成



3

シリカ表面に結合
トルエン中で還流







Sunniestインドキャッピングの効果

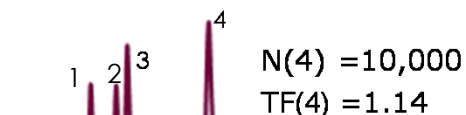
Sunniest C18



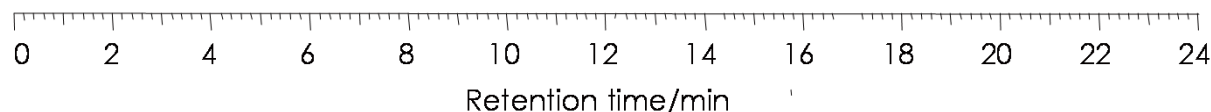
Sunniest RP-AQUA



Sunniest C8



Sunniest PhE



Column size: 4.6 x 150 mm

Particle size: 5 μ m

Mobile phase:

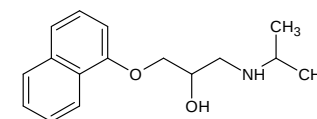
CH₃CN/20mM Phosphate buffer pH7.0 = 60/40

Flow rate: 1.0 mL/min

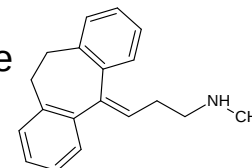
Temperature: 40 °C or 22 °C

Sample: 1 = Uracil

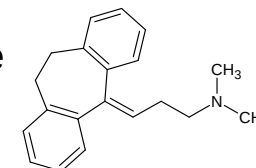
2 = Propranolol



3 = Nortriptyline

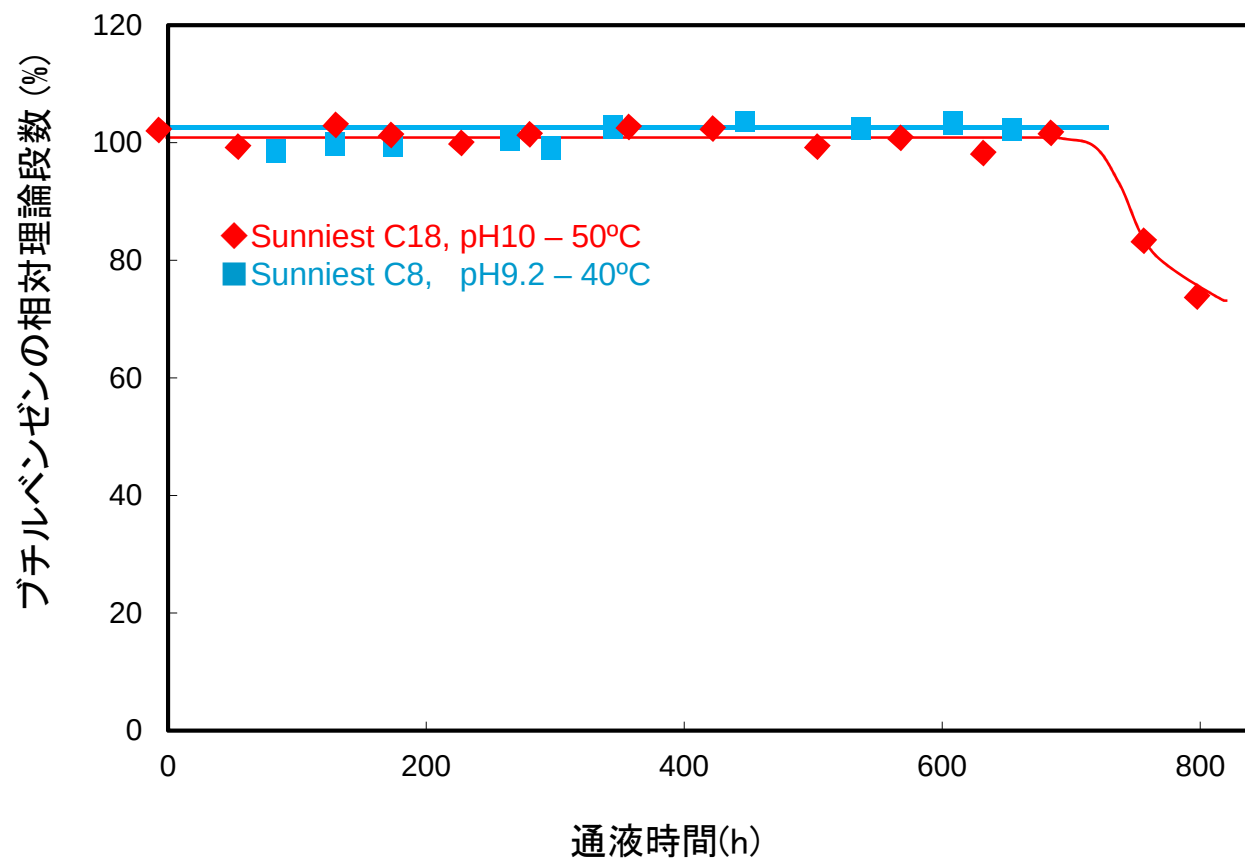


4 = Amitriptyline





耐アルカリ性試験



Column: Sunniest C18, C8, 5 μ m 4.6 x 150 mm

Mobile phase:

C18: CH₃OH/20mM Sodium borate/10mM NaOH=30/21/49 (pH10)

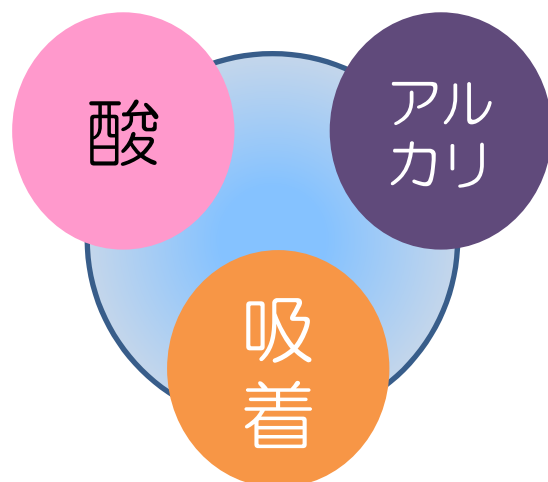
C8: CH₃OH/20mM Sodium borate (pH9.2) =30/70

Flow rate: 1.0 mL/min, Temperature: C18 - 50 °C, C8 - 40 °C



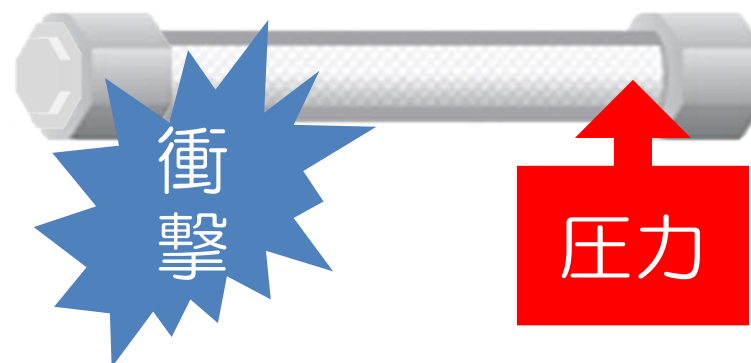
カラム劣化

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

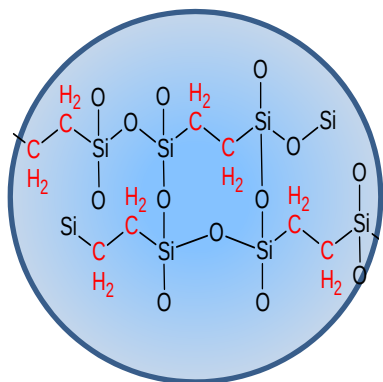


段数の低下、ピーク形状の悪化、保持時間の変化

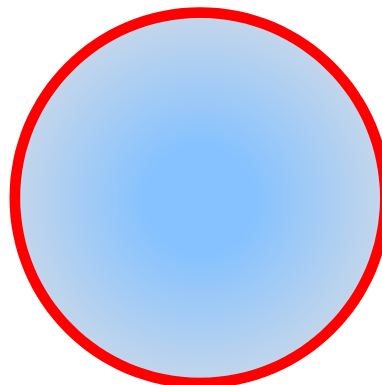


耐アルカリ性を高めるための手段

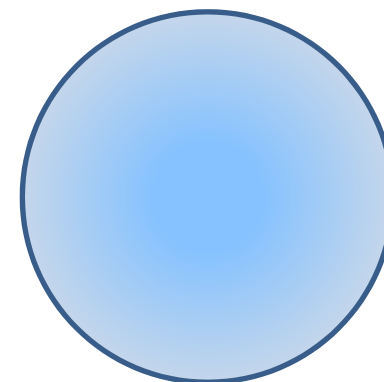
ハイブリッド基材



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

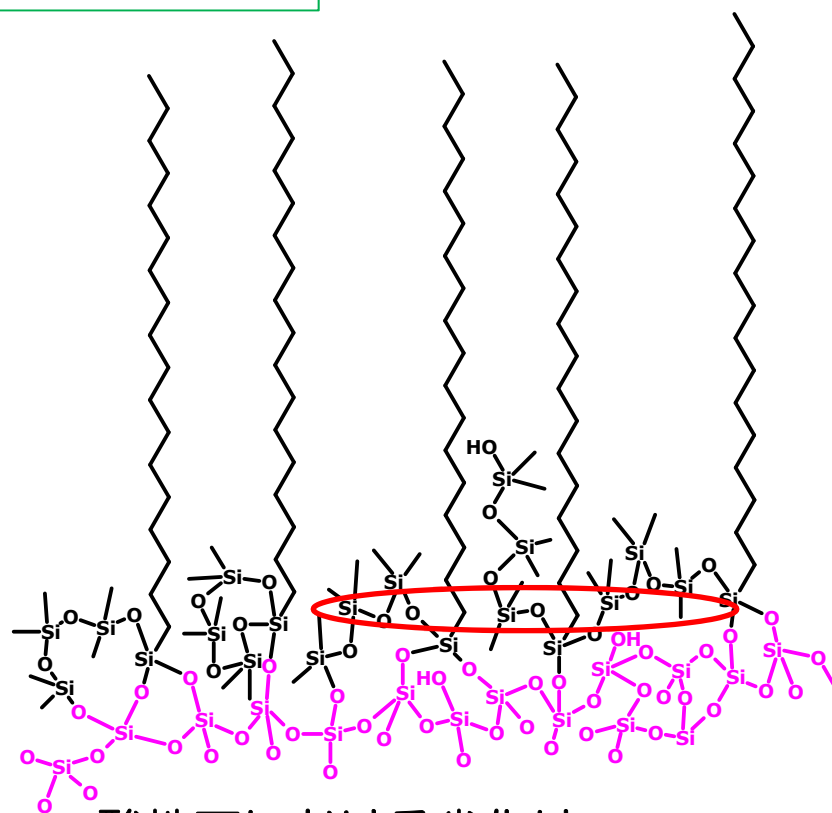


高い耐アルカリ性カラムの製造可能



劣化の仕方の違い

酸での劣化

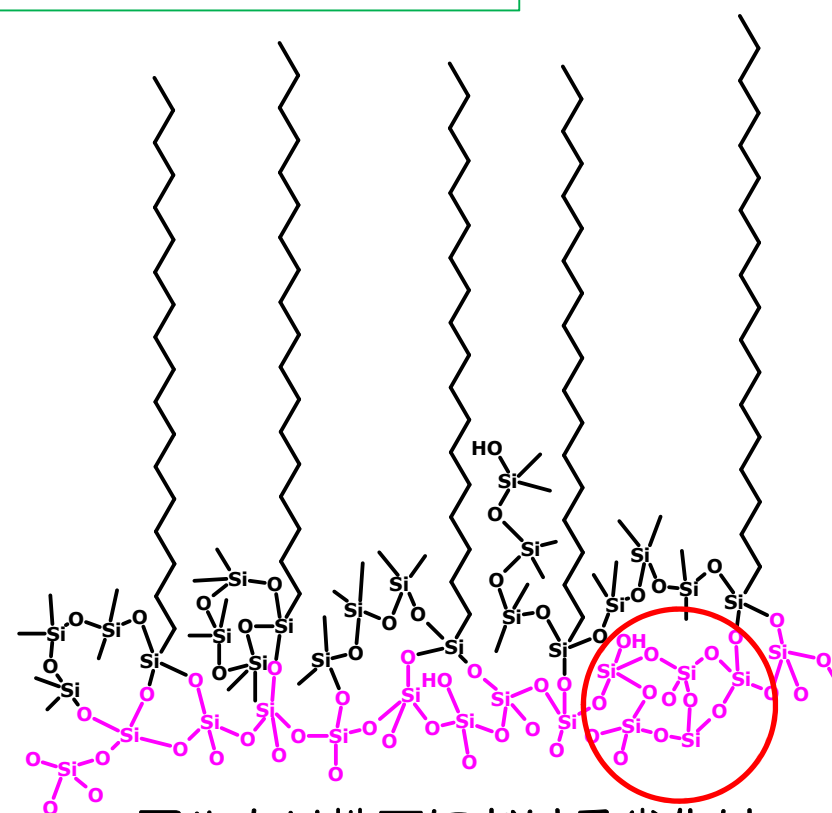


酸性下における劣化は
C18の結合部に対する加水分解



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



アルカリ性移動相による劣化

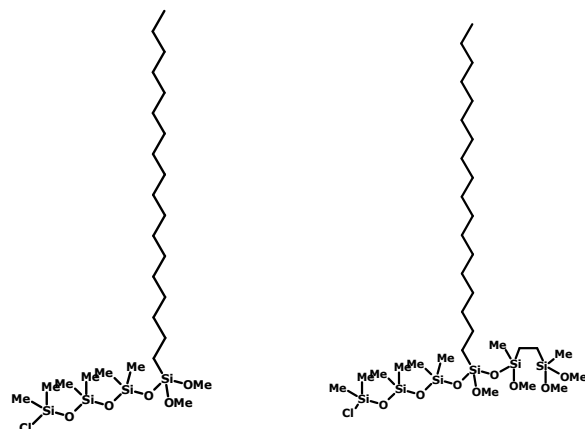


アルカリ性下における劣化
はシリカに対する加水分解 ➡ 結果としてシリカが
溶け出す。

理論段数の低下、ピークの広がり



シリカへの結合

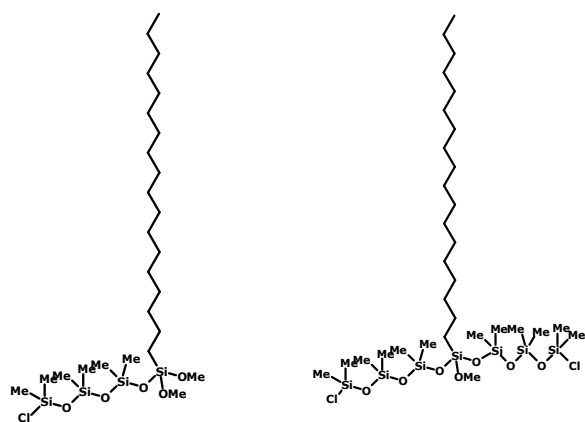
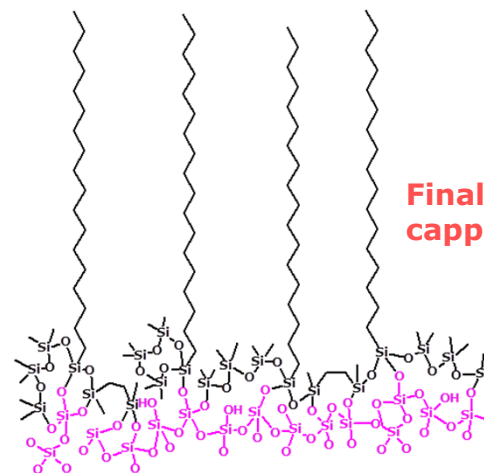


Mixture of reagent A and B

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

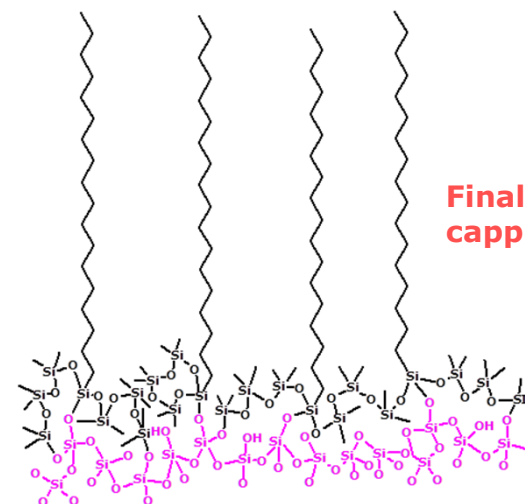


Mixture of reagent A and C

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

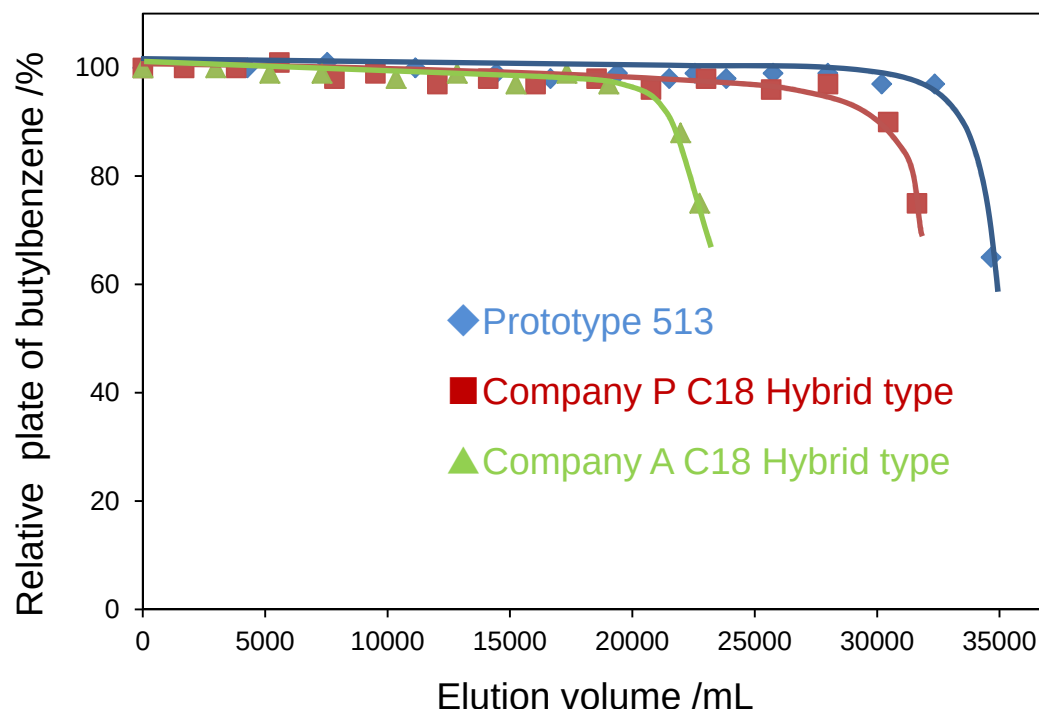
試薬B,Cを使用した方法では
限界がある



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

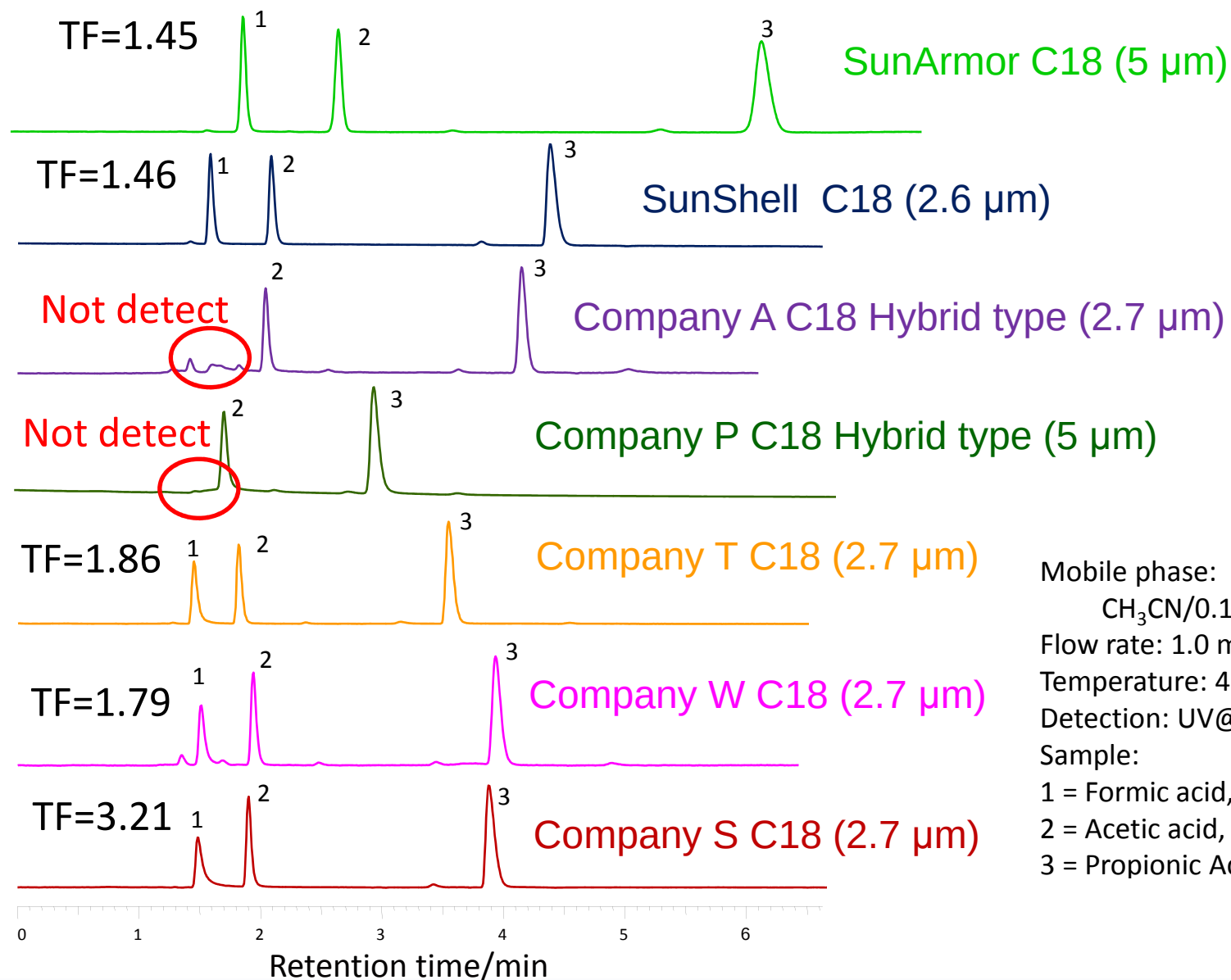
Temperature: 40 °C

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



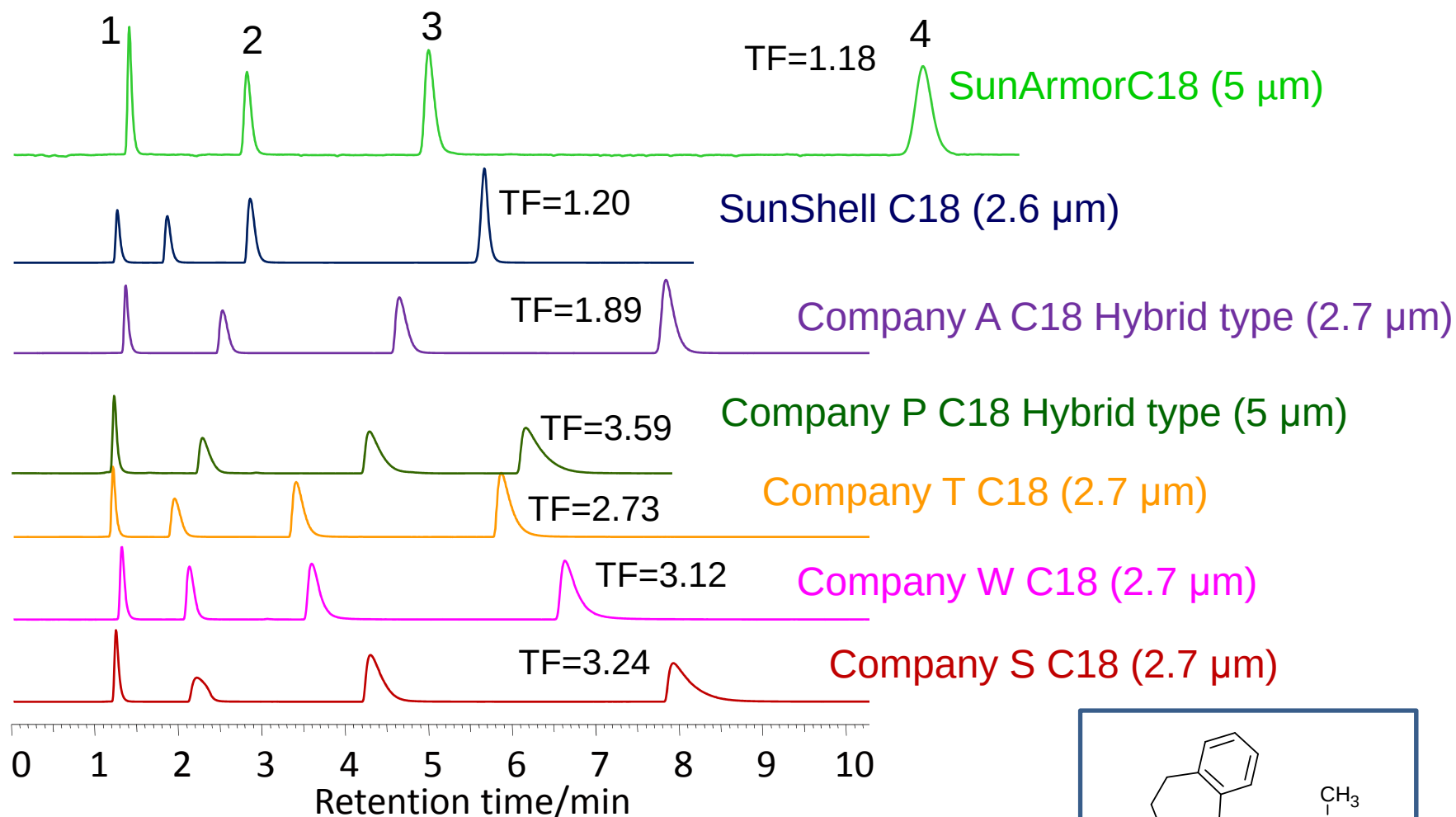
ギ酸ピークの比較



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 °C
Detection: UV@210nm
Sample:
1 = Formic acid,
2 = Acetic acid,
3 = Propionic Acid

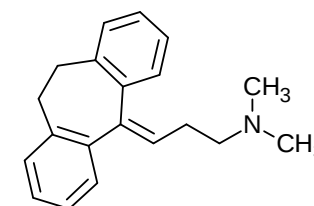


塩基性化合物アミトリプチリンの比較



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

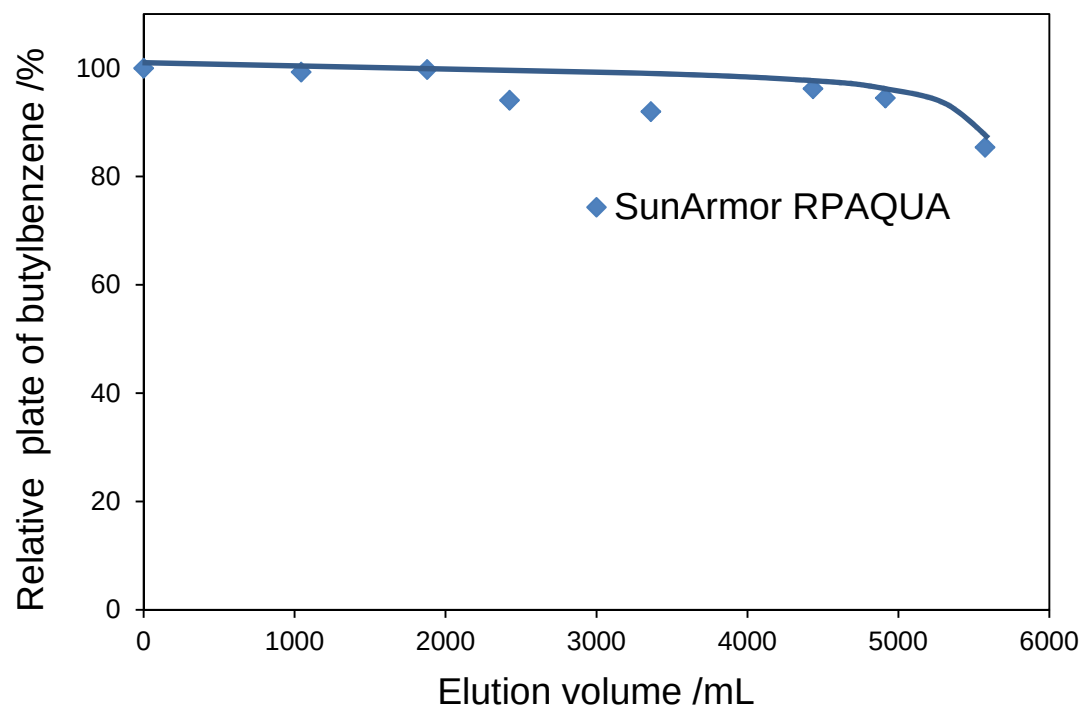
Sample: 1=Uracil, 2=Propranolol, 3= Nortriptyline, 4=Amitriptyline



Amitriptyline



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: CH₃CN/H₂O=70/30

Flow rate: 0.2 mL/min

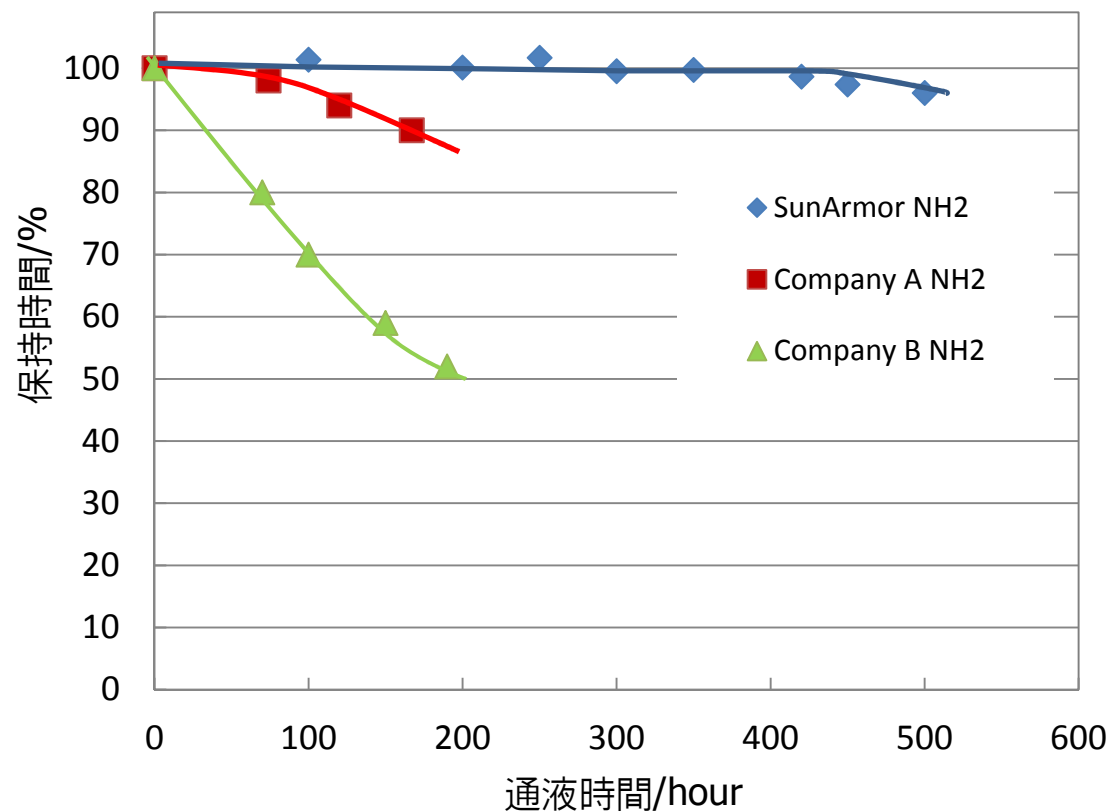
Temperature: 40 °C

Sample: acenaphthene

有機溶媒を用いないpH10の移動相でも高い耐アルカリ性



NH₂カラムの耐久性比較

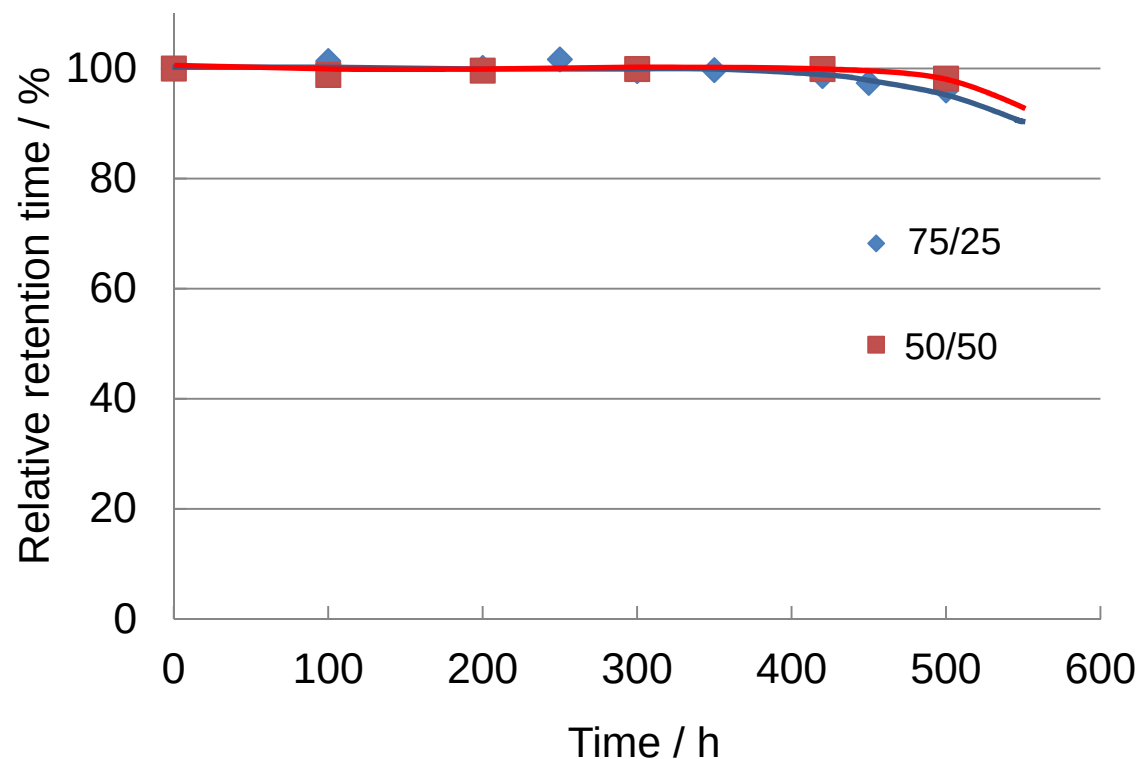


Durable test condition
Column size: 250 x 4.6 mm
Mobile phase: CH₃CN/water, =75/25
Flow rate: 1 mL/min
Temperature: 40 °C
Detection: RI, Sample: Sucrose

一般的なアミノプロピルカラムの二倍の
耐久性を実現



SunArmorNH₂の耐久性



Durable test condition
Column size: 250 x 4.6 mm
Mobile phase: CH₃CN/water,
=75/25 or 50/50
Flow rate: 1 mL/min
Temperature: 40 °C
Detection: RI, Sample: Sucrose

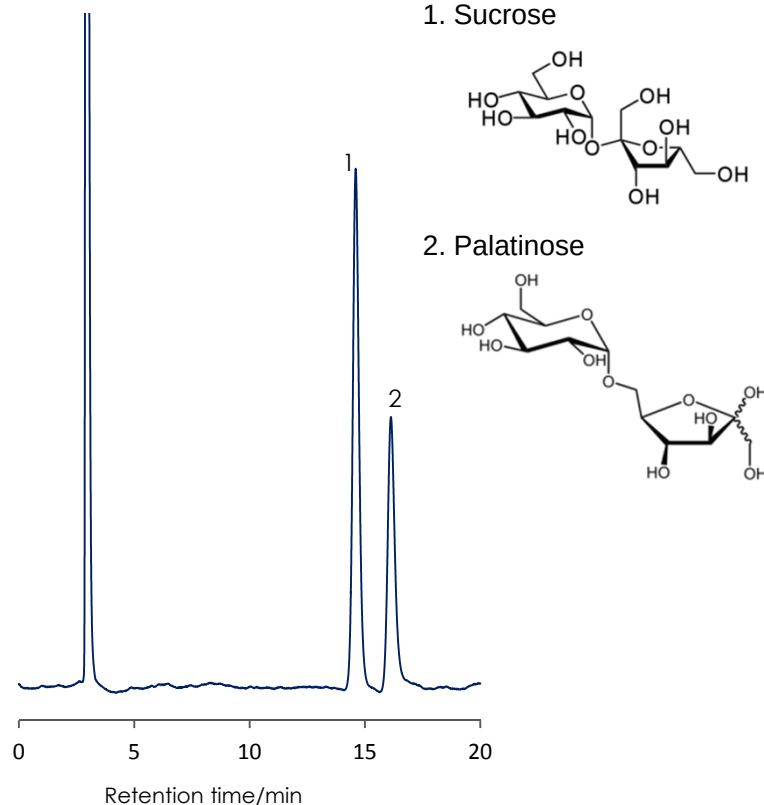
移動相中の水の割合が増えても耐久性を
維持



アプリケーション

糖の分離に！

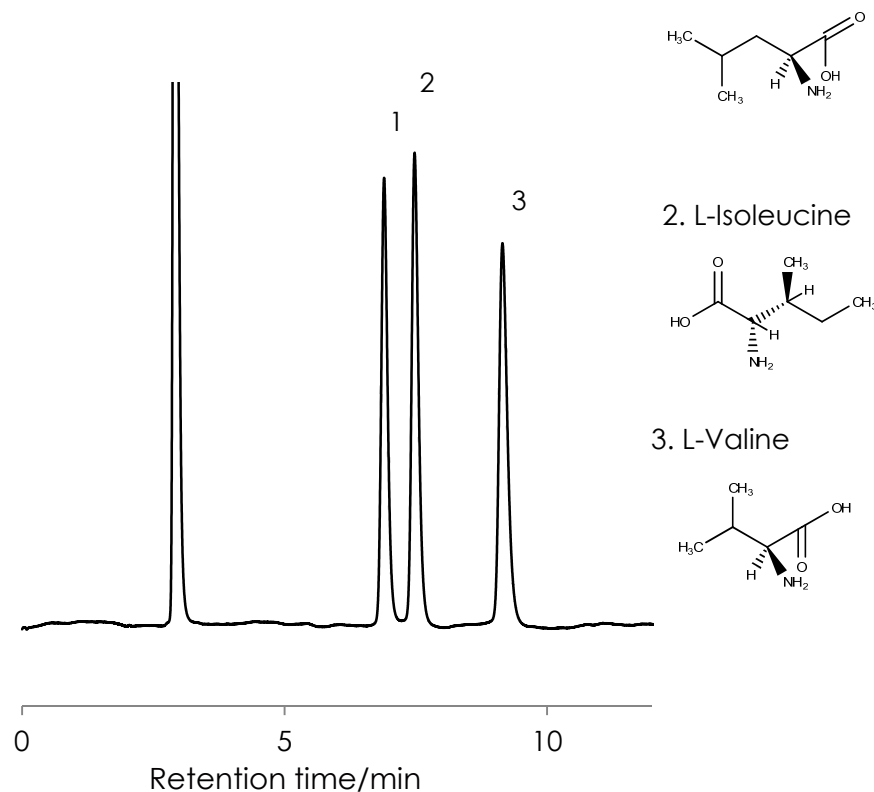
スクロースとパラチノースの分離



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

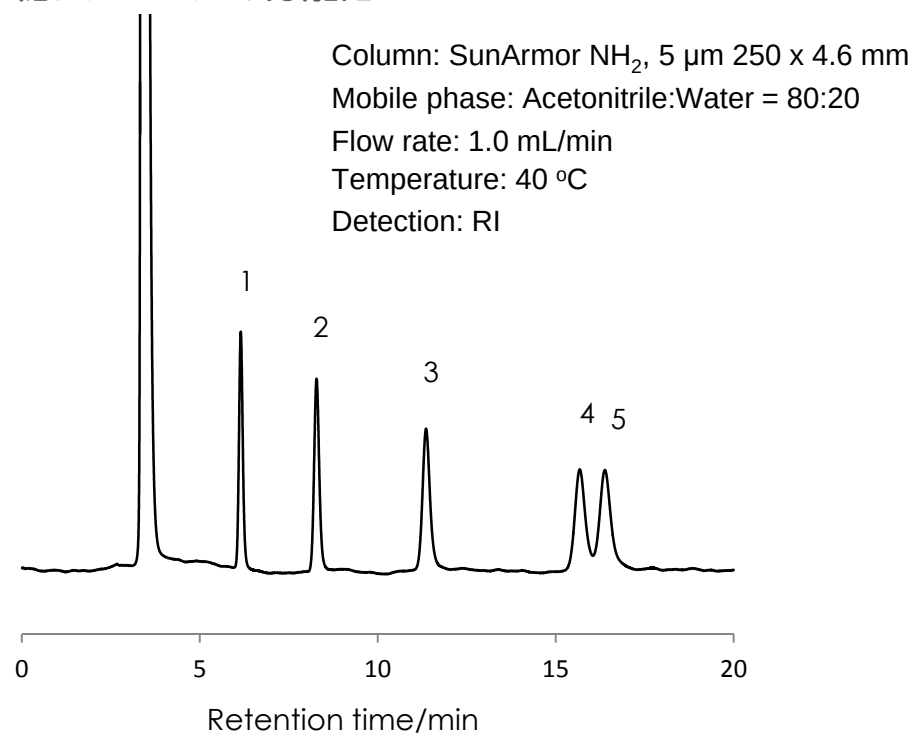


Column: SunArmor NH₂, 5 μm 250 x 4.6 mm
Mobile phase:
Acetonitrile:10mM ammonium acetate=70:30
Flow rate: 1.0 mL/min
Temperature: 40 °C
Detection: RI



アプリケーション2

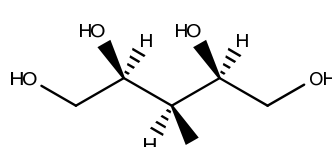
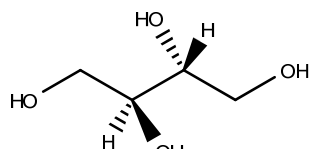
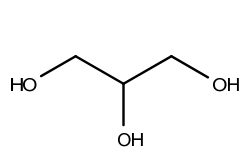
糖アルコールの分離に！



1. Glycerine

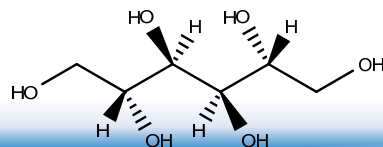
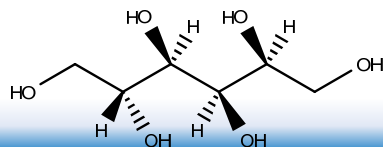
2. Erythritol

3. Xylitol

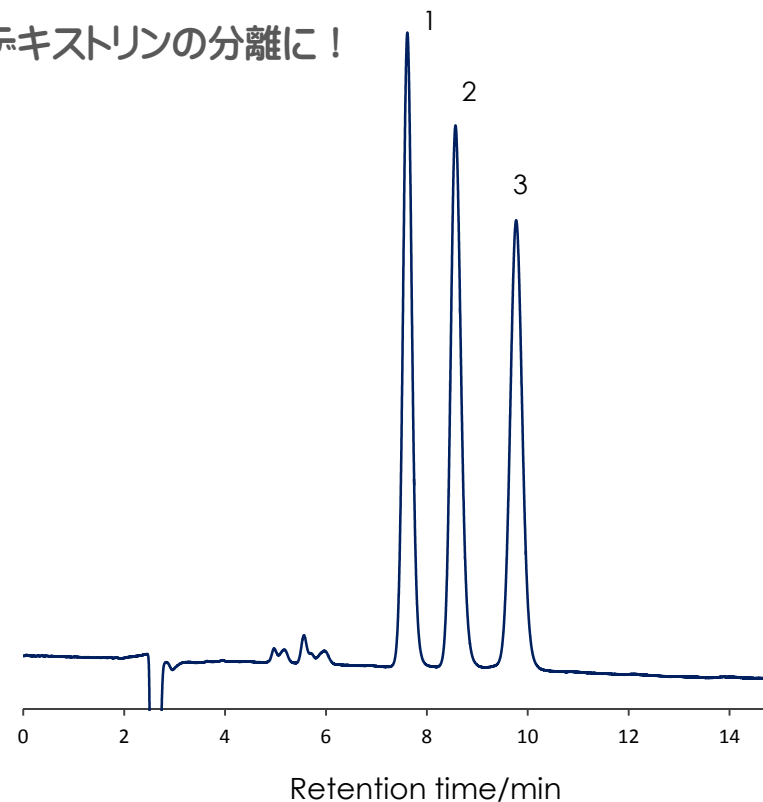


4. Sorbitol

5. Mannitol



デキストリンの分離に！



Column: SunArmor NH₂, 5 μm 250 x 4.6 mm
Mobile phase: Acetonitrile/Water = 60/40
Flow rate: 1.0 mL/min, Temperature: 25 °C
Detection: RI, Sample: 1= α-Cyclodextrin, 2= β-Cyclodextrin, 3=γ-Cyclodextrin



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。