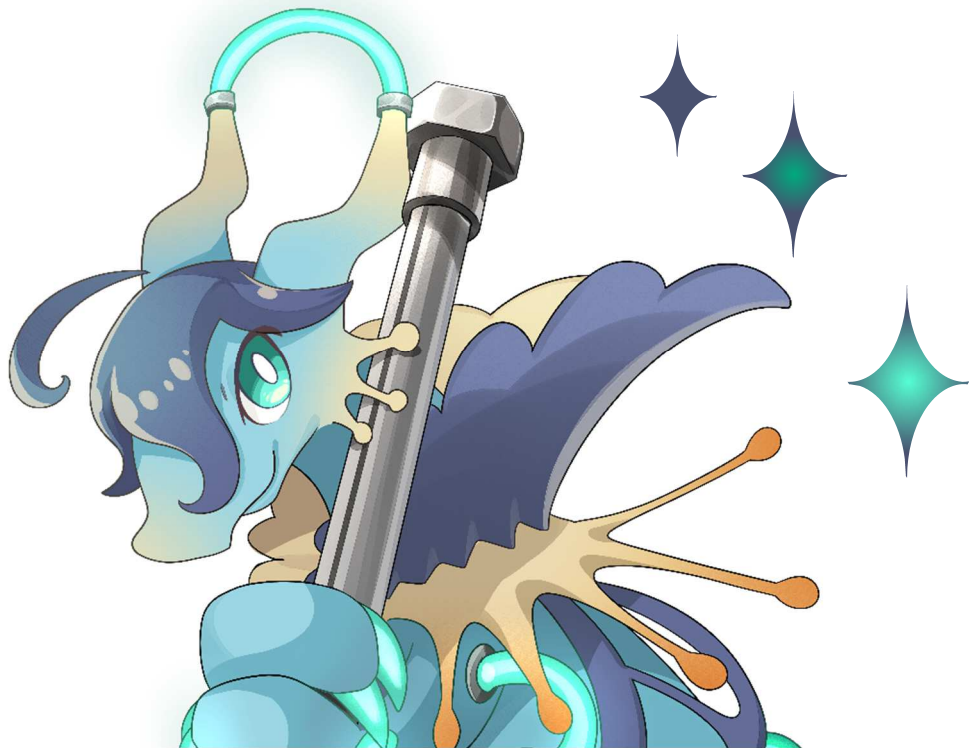


HPLCカラム最前線 !!

～ 異次元品質のウルトラハイブリッドカラム ～

ChromaNik



(株)クロマニックテクノロジーズ
カラムコンシェルジュ
小山 隆次
koyama@chromanik.co.jp



ChromaNyk
ChromaNik Technologies Inc.

株式会社クロマニックテクノロジーズ

Made in Osaka

ChromaNyk
ChromaNik Technologies Inc.



<所在地>
大阪市港区波除
6-3-1 バビル



関連会社
株式会社バイオニック
BioNik Inc.
(静岡県富士市)

本日のセミナーの流れ

1. ハイブリッドカラムの特徴
2. シリカ表面の高度不活性処理
3. **Ultra Hybrid Technology**



HPLCカラムの歴史と当社創業

年	出来事
1960年代後半	HPLCの基礎技術が相次いで発明 (スラリー充填法による微粒子カラム製造、他)
1970年代	HPLC産業の勃興 (10 μm の全多孔性粒子)
1980年代後半	5 μm の全多孔性粒子カラム が市場に浸透
1990～2000年	3 μm の全多孔性粒子カラム が市場に浸透
2003年以降	1.7–1.8 μm の全多孔性粒子カラム が市販

UHPLCの黎明期

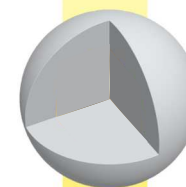
2005年 (株)クロマニックテクノロジーズ 創業

シリカ基材

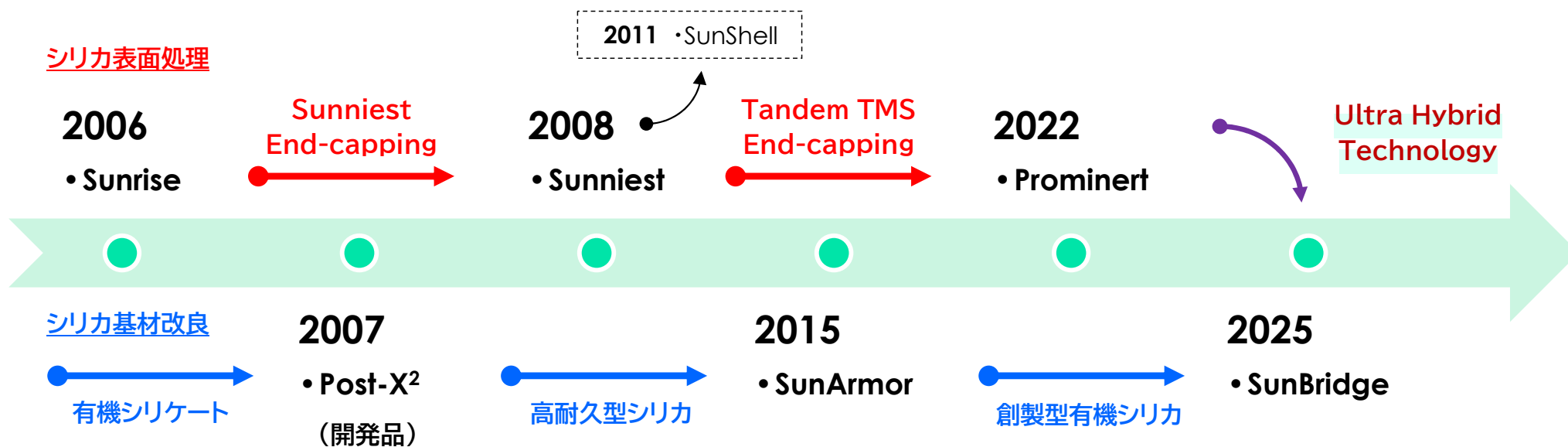
(破碎状)



(球状)



クロマニック製カラムと技術開発の歩み

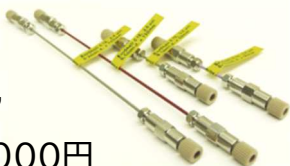


特殊カラムハードウェア

マイクロ/ナノカラム

一律,

98,000円

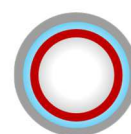


高耐圧PEEKカラム



標準品価格 + 20,000円

有機不活性管「PS inert」(ピーエス イナート)

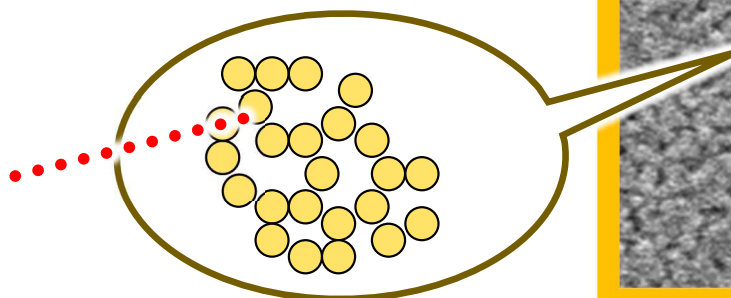
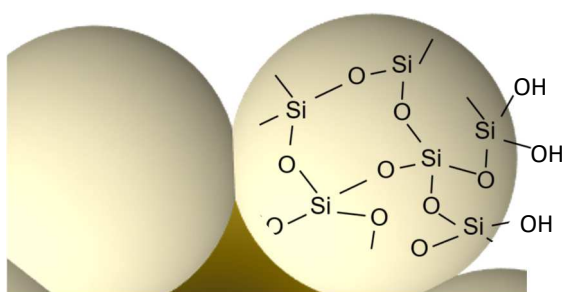
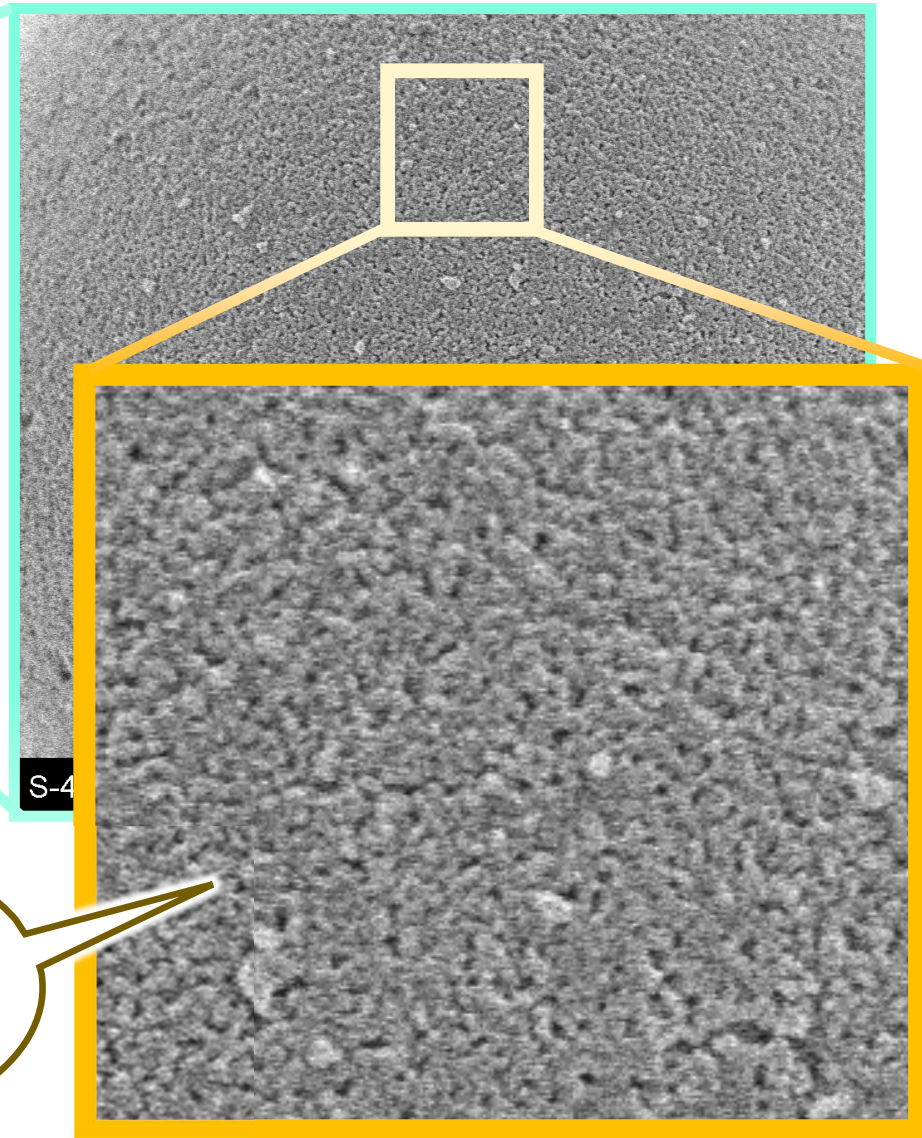
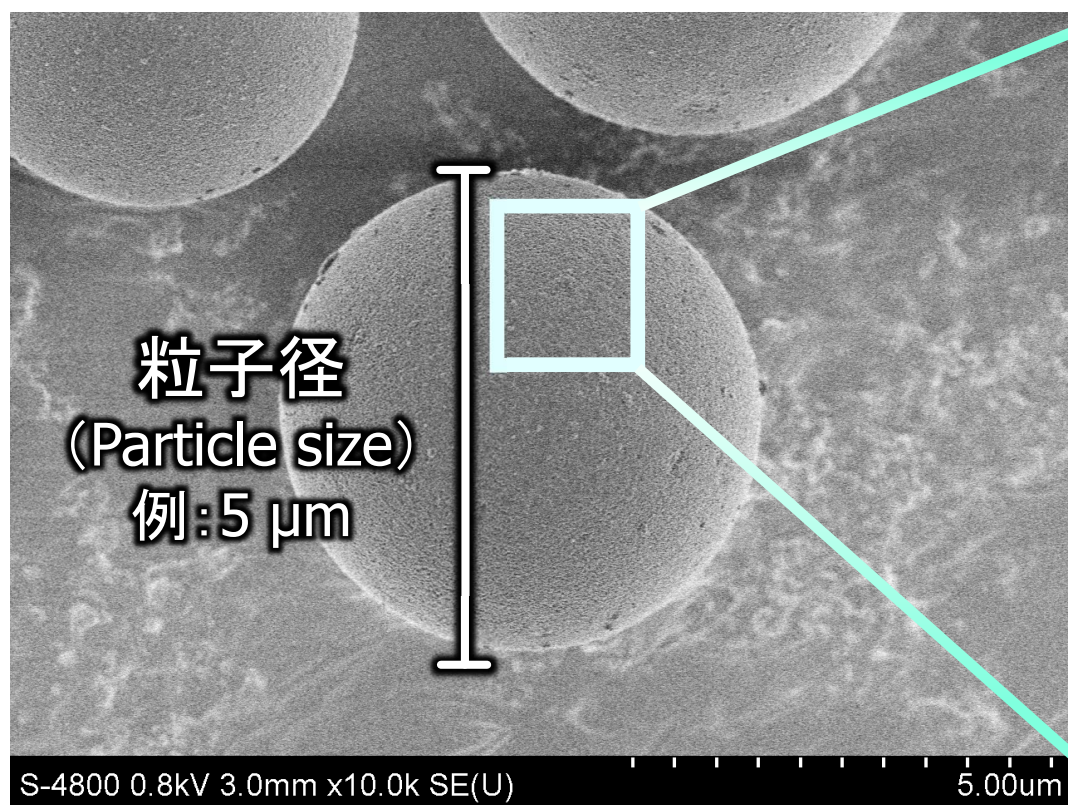


PS inert

標準品価格 + 25,000円

▶ 不活性処理、有機シリカ(ハイブリッド)を長年研究

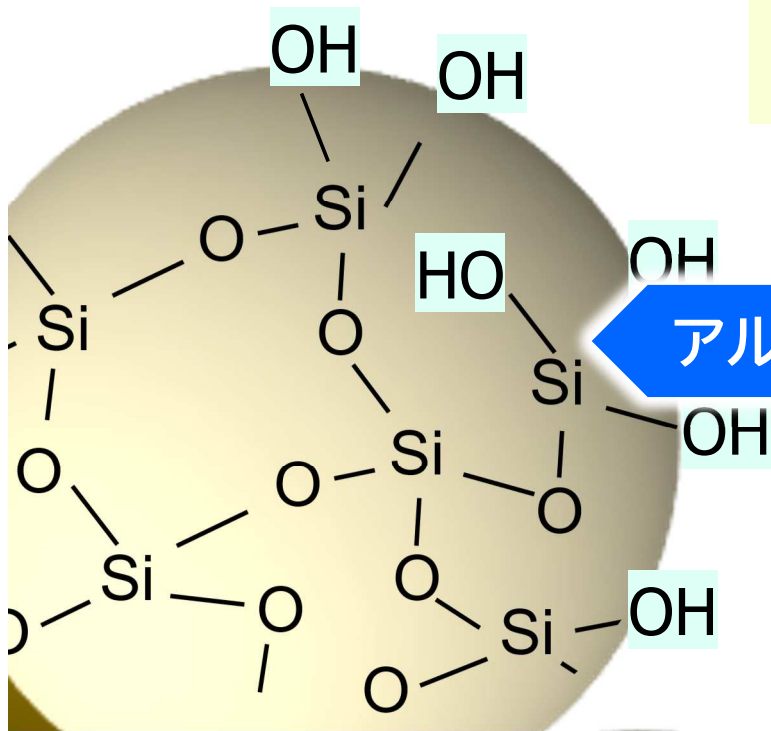
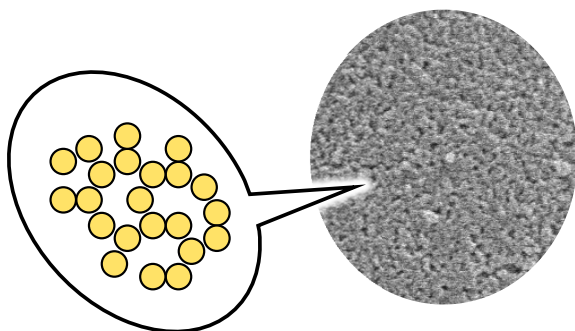
HPLC用の多孔性シリカ粒子について



▶ 無孔性シリカ(一次粒子)の凝集体 = シリカゲル

シリカと有機シリカ(ハイブリッド)の違い

■ シリカ基材



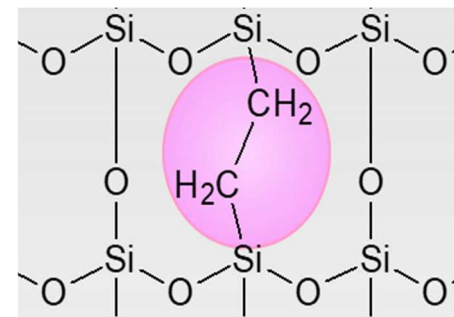
<共通>

- ・ 多孔性粒子
- ・ 微粒子化に対応
- ・ 比表面積が広い
- ・ 官能基導入が容易
- ・ 酸性酸化物

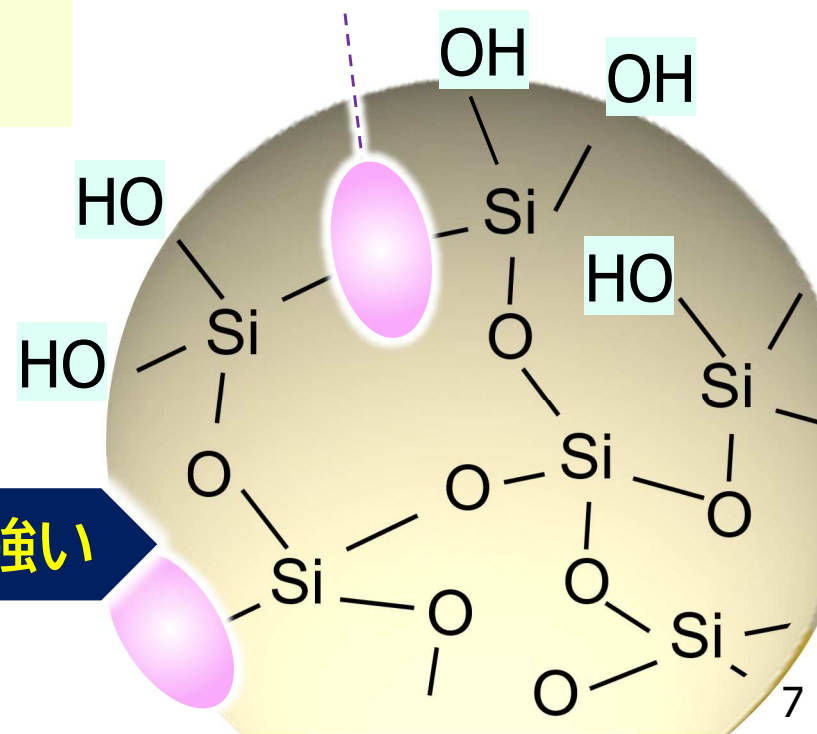
アルカリに弱い

アルカリに強い

■ 有機シリカ基材



エチレン架橋



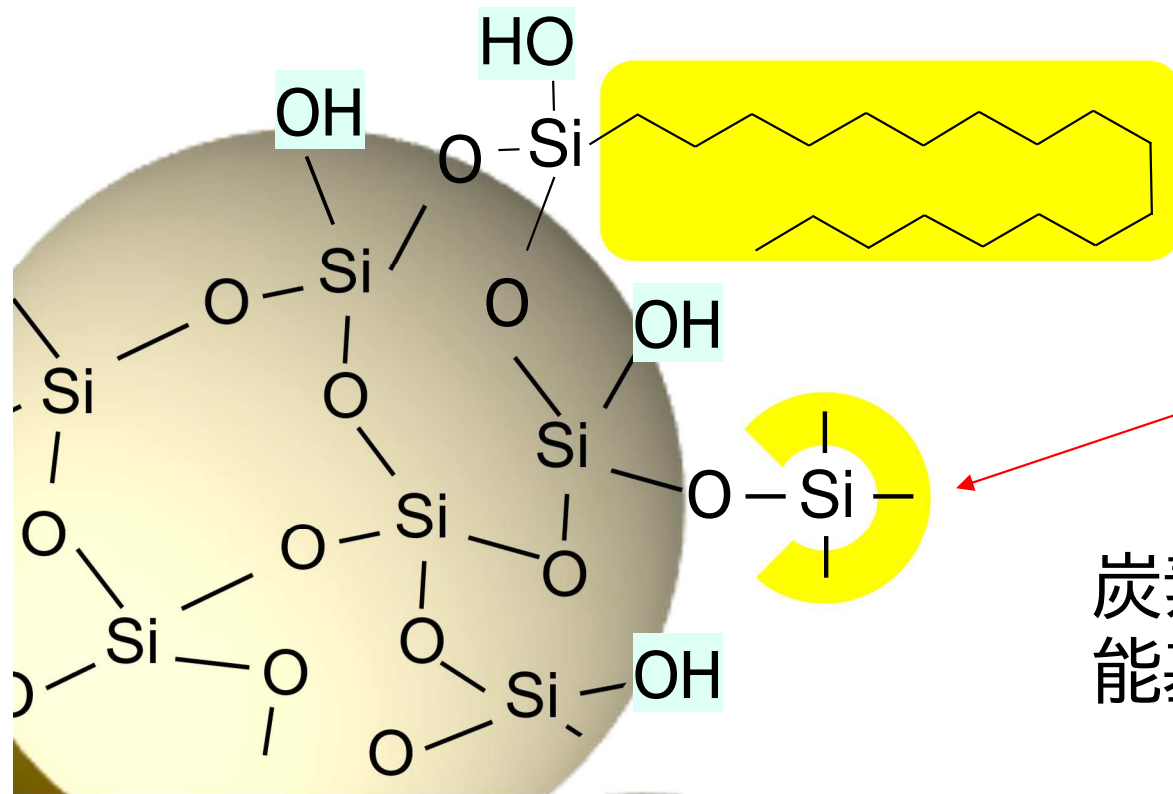
シリカ基材C18カラムの仕様(例)

基材(シリカゲル)

SiO₂純度: >99.99%, 粒子径: 5 μm, 細孔容積: 0.8 mL/g, 比表面積: 190 m²/g, 細孔径: 15 nm

修飾

修飾基: オクタデシルシリル基, 結合密度: 3.0 μmol/m², **炭素含有量: 17%**, エンドキャッピング: TMS



- ① 固定相官能基の修飾
- ② エンドキャッピングなどの不活性処理

炭素含有量を反映する有機官能基は全て**表面処理**に由来

ハイブリッド基材C18カラム

ハイブリッドカラム:

エチレン架橋型シリカゲルを基材に
用いたカラム（有機シリカカラム）

※カラム仕様記載の炭素含有量(例: 17%)は
基材内部と表面修飾相当分の合算値となる。

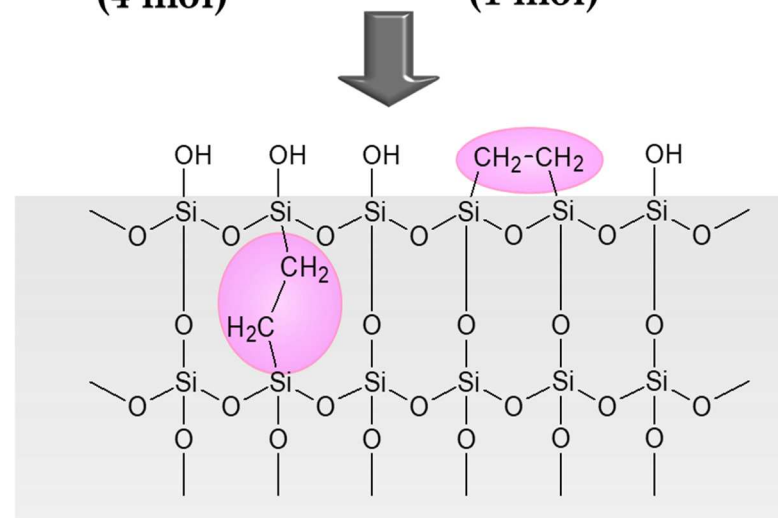
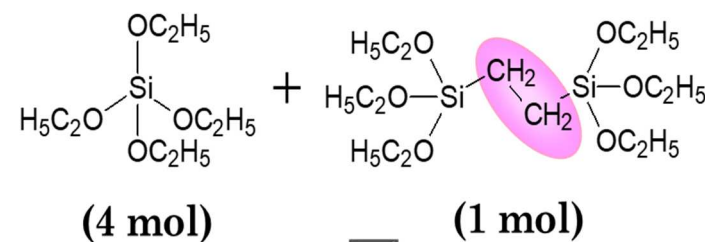
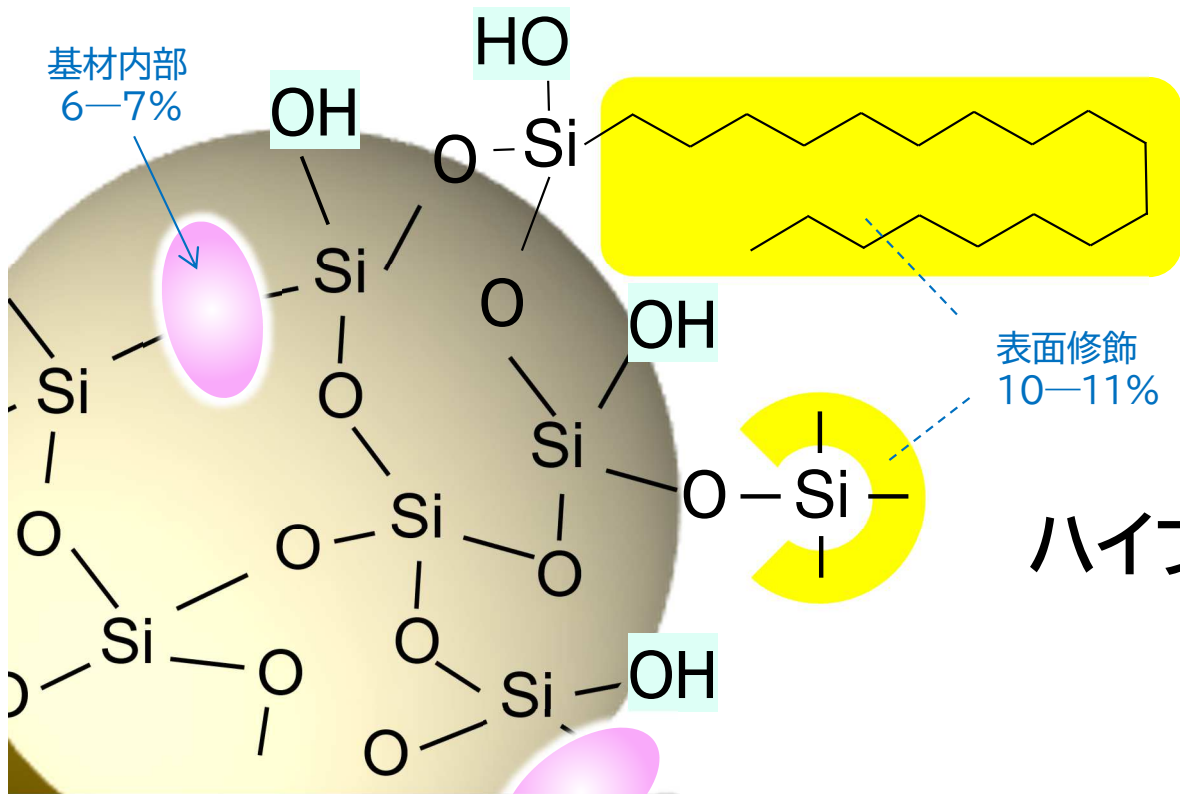


図. ハイブリッド基材の形成イメージ

ハイブリッド基材(無機 + 有機)
+ 表面修飾(有機)

ハイブリッドカラム（～2007年, 2015年）

Post-X²(開発品), **SunArmor**

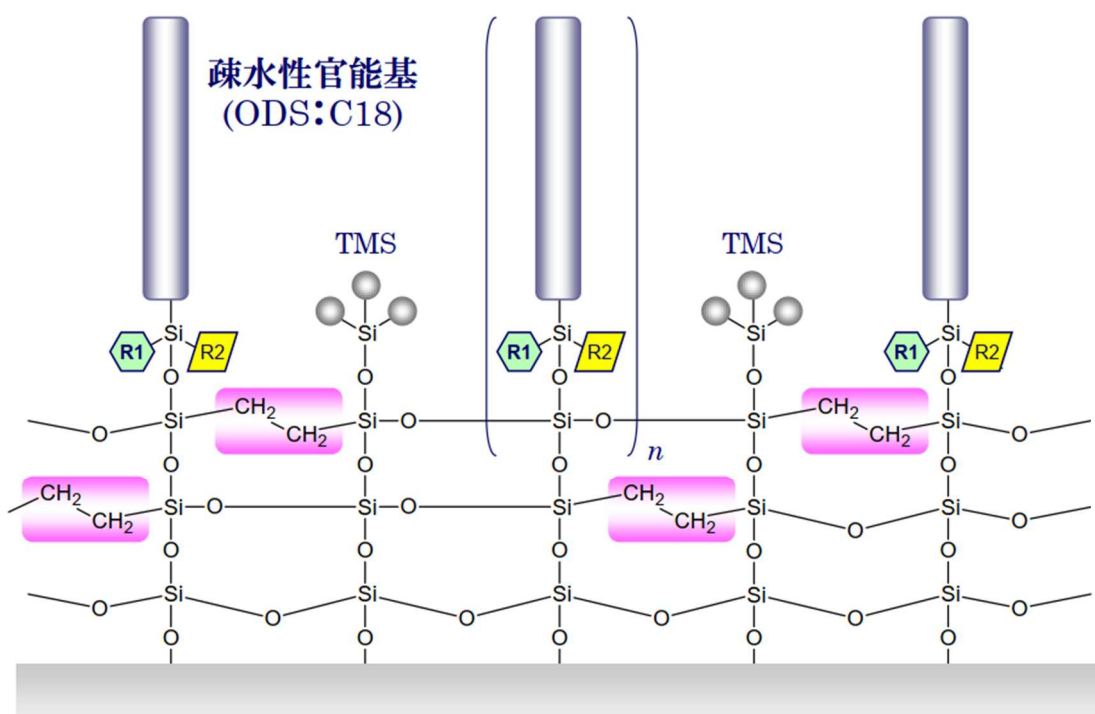


図. ハイブリッドシリカ表面（グラフト型）

日本薬学会127回年会（2007年3月28日）

**有機シリケートグラフト型
高耐熱性C18カラムの開発**

ポリマーテクノロジーとの融合による
シリカベースのグラフト型逆相固定相を開発
ポリマーに匹敵する高耐熱・高アルカリ性を実現！

株式会社 クロマニック テクノロジーズ

SunArmor: 高耐久型シリカ(2015年上市)



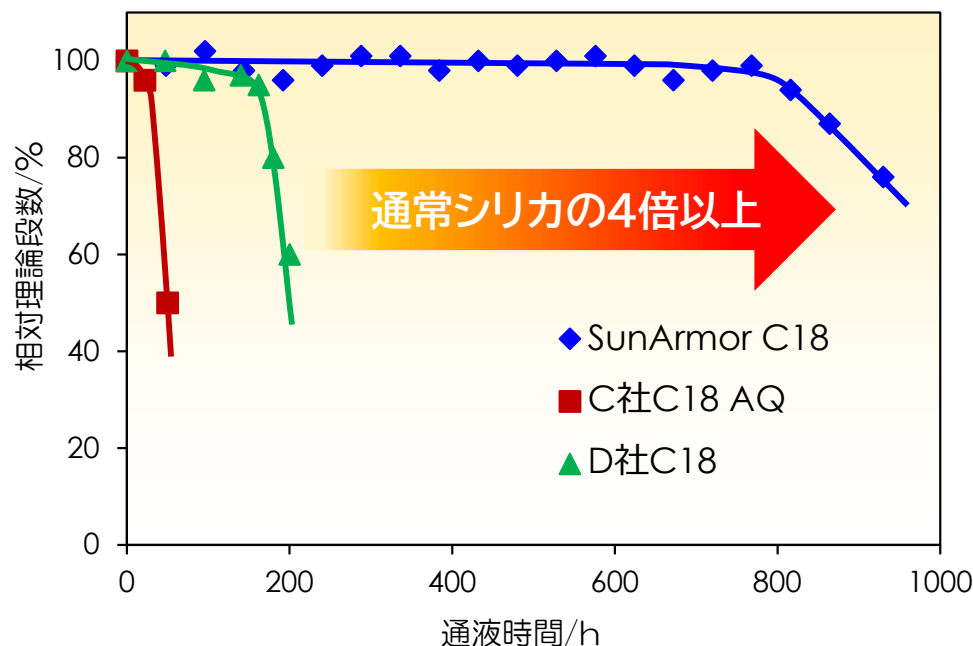
▶ シリカゲル表面を改質して、有機シリカ層を形成

ハイブリッド基材の効果(SunArmor)

高温耐久性
(pH 6.8, 80°C)

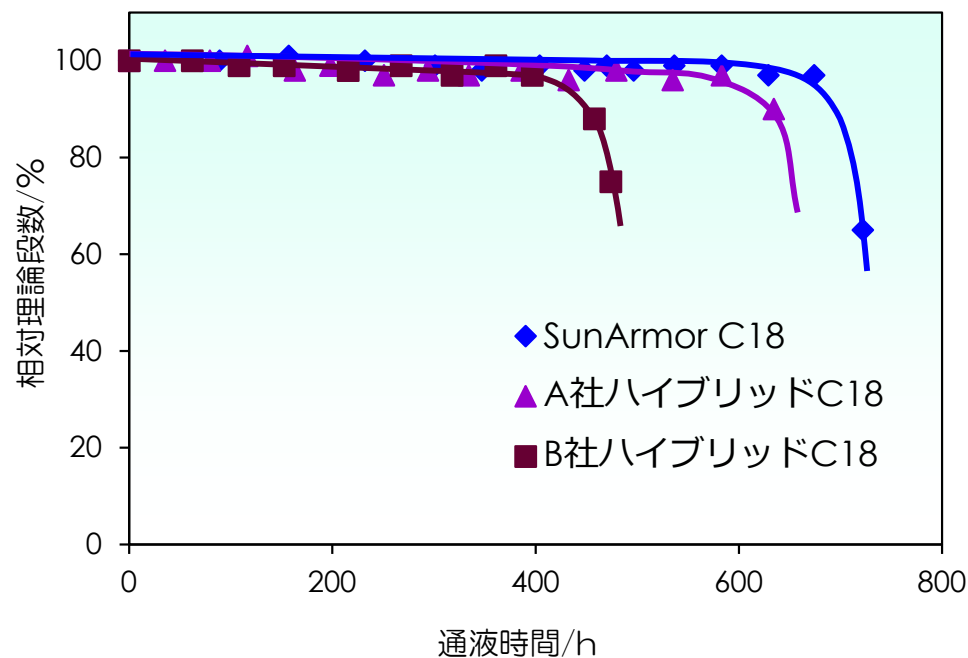


アルカリ耐久性
(pH 10.5, 60°C)



中性性移動相通液条件
カラムサイズ: 50 x 2.1 mm
移動相: メタノール/10 mM 酢酸
アンモニウム(pH 6.8) = 30/70
流速: 0.2 mL/min
カラム温度: 80 °C

理論段数測定条件
カラムサイズ: 50 x 2.1 mm
移動相: アセトニトリル/水 = 60/40
流速: 0.2 mL/min
カラム温度: 40 °C
試料: ブチルベンゼン

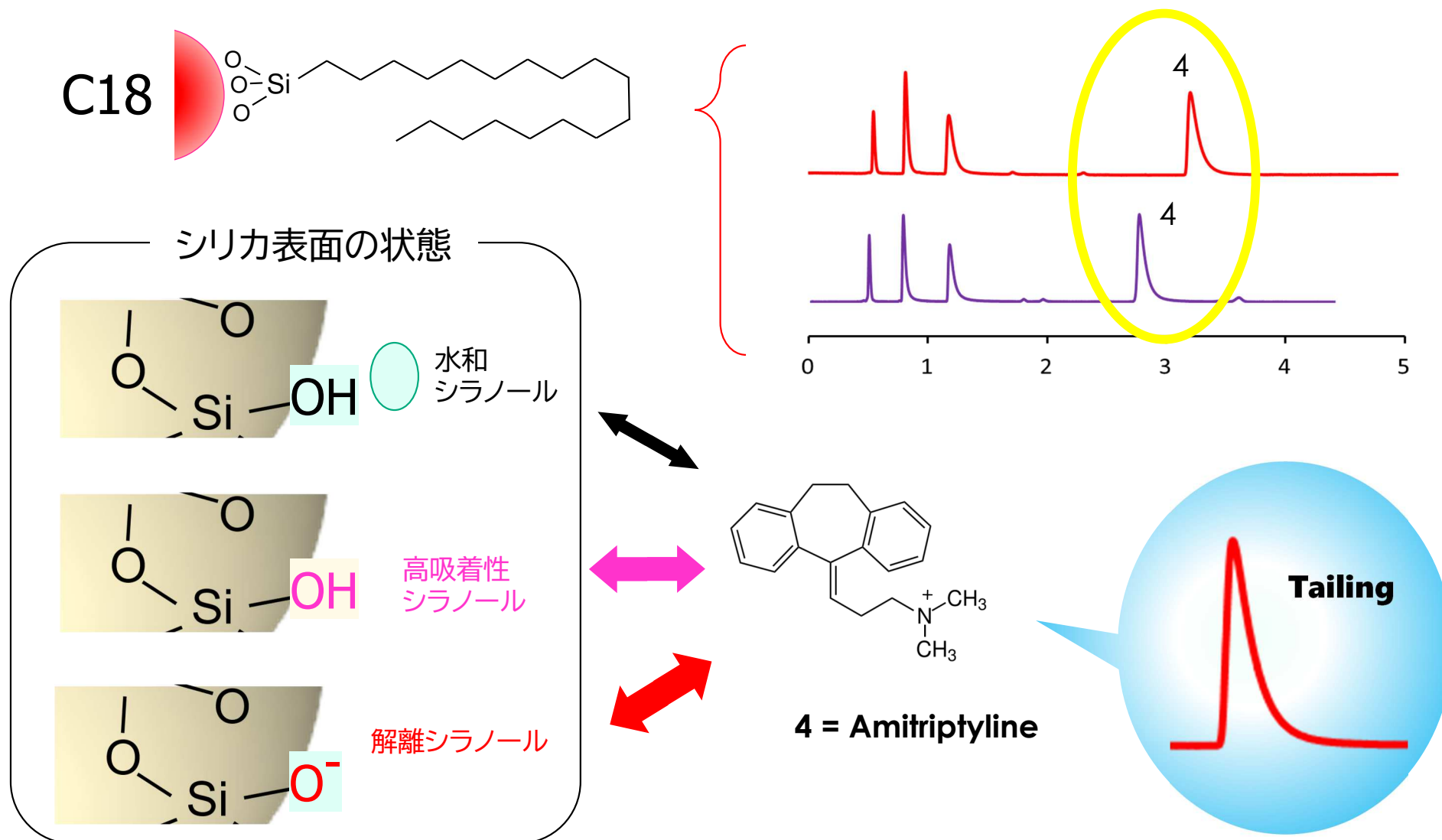


アルカリ性移動相通液条件
カラムサイズ: 50 x 2.1 mm
移動相: メタノール/10 mM 重炭酸
アンモニウム(pH 10.5, アンモニア水
で調整) = 30/70, 流速: 0.8 mL/min
カラム温度: 60 °C

理論段数測定条件
カラムサイズ: 50 x 2.1 mm
移動相: アセトニトリル/水 = 60/40
流速: 0.2 mL/min
カラム温度: 40 °C
試料: ブチルベンゼン

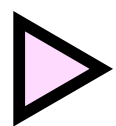
▶ 表面改質型ハイブリッドカラムは安定性が高い。

シラノール・塩基性化合物間の相互作用

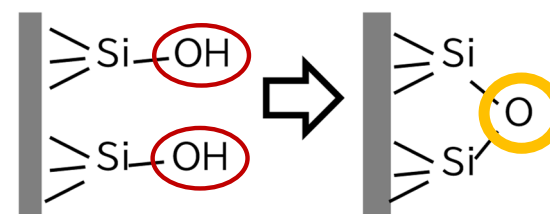


▶ 残存シラノール基が 不均一な相互作用を与える。

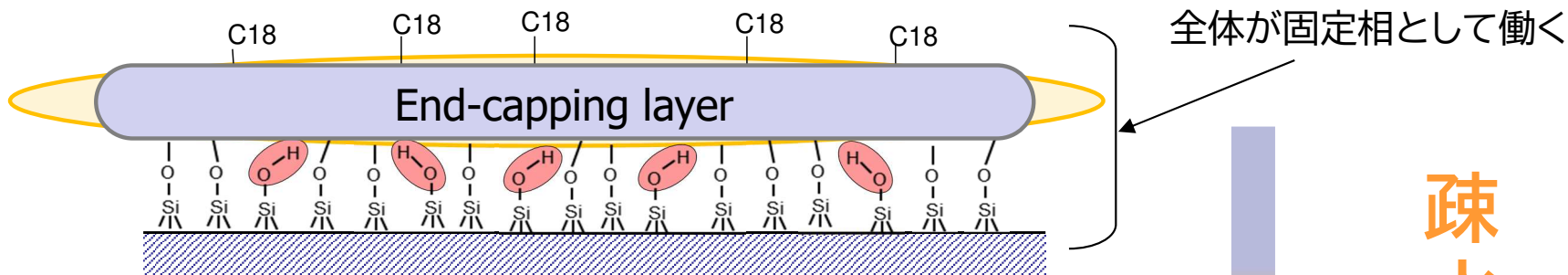
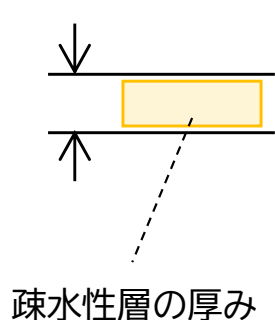
処理法 **A** 高温エンドキャッピング法



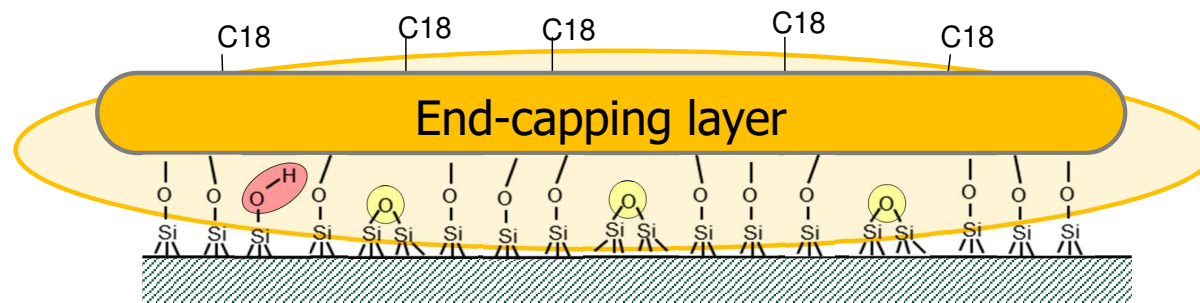
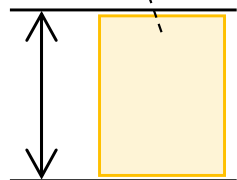
高温条件でエンドキャッピングを実施(脱水シロキサン結合化)



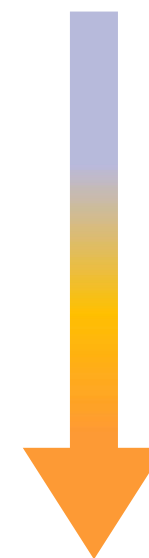
通常のエンドキャッピング



弊社独自の高温エンドキャッピング



Silanol Activity Control Technology (SAC) によるシラノール基のシロキサン結合化



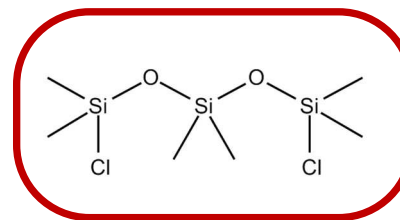
疎水性



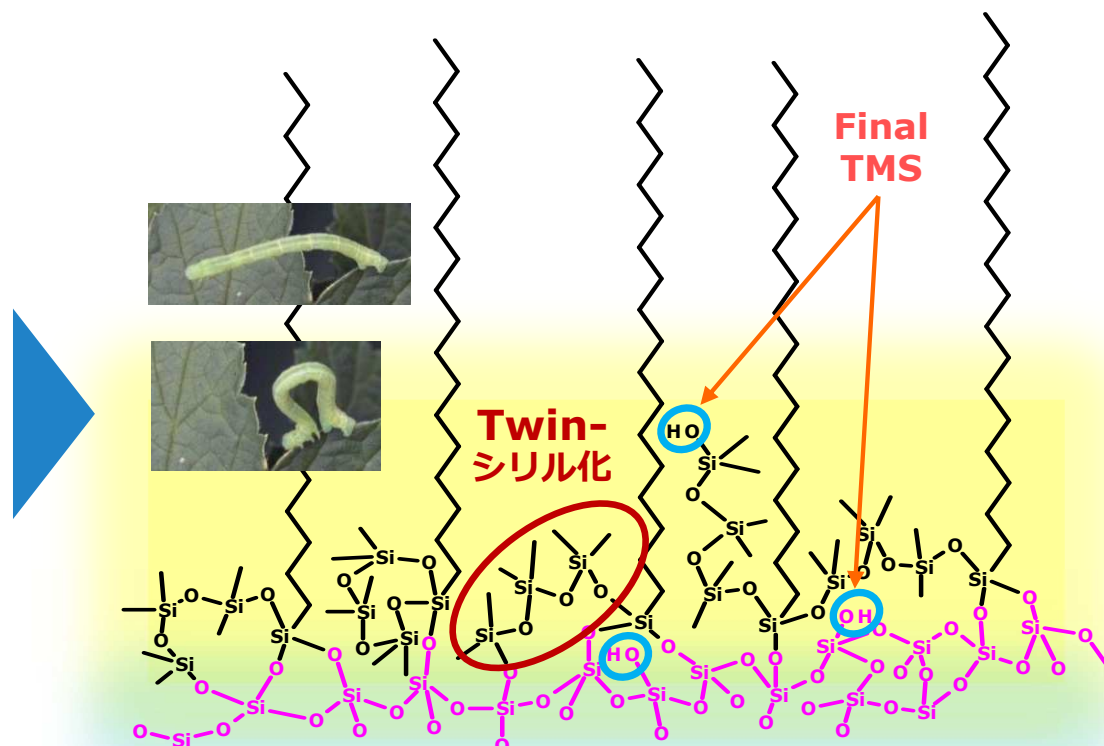
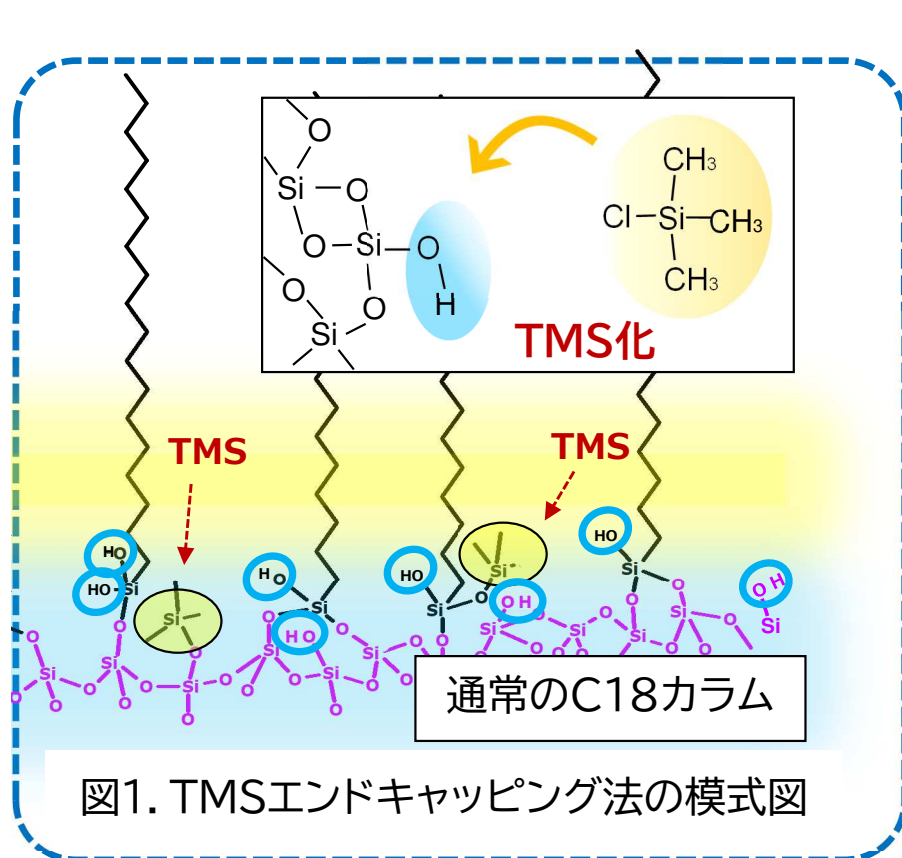
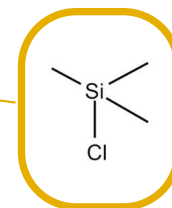
▶ エンドキャッピング層の下部(シリカ表層)を疎水化

処理法 **B** ダブルエンドキャッピング法

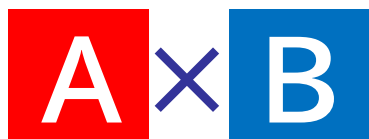
▶ 二座式シリル化法と、
TMS化の重ね合せ



2種のエンド
キャッピング
試薬

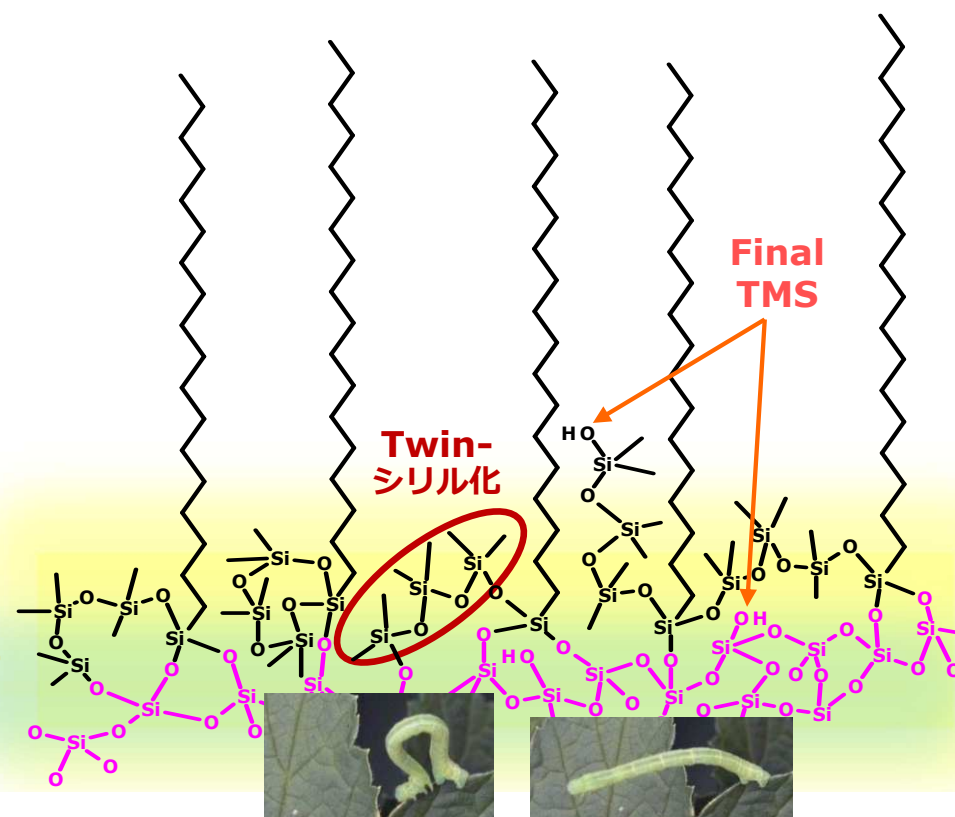
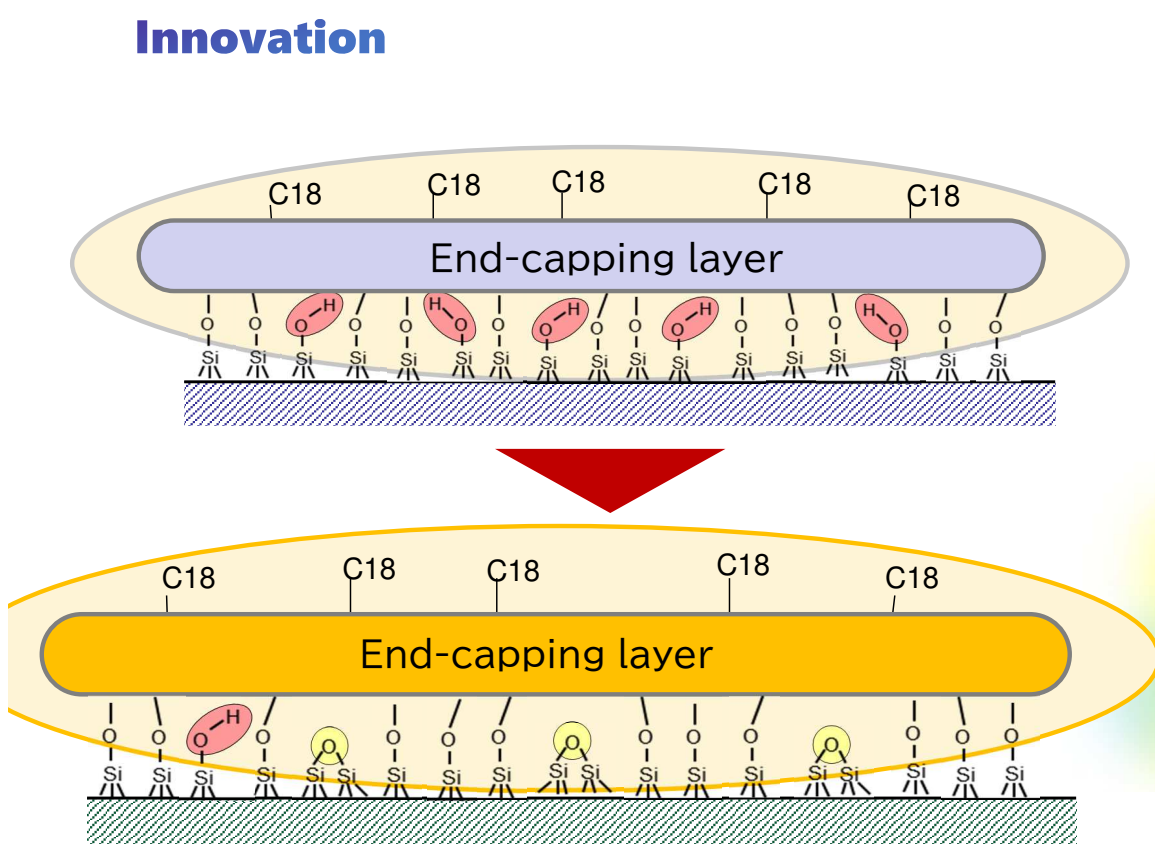


▶ 2種の試薬で 広範なエンドキャッピング層を形成



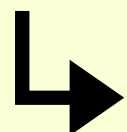
シリカ高度不活性化法の確立

Innovation

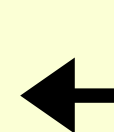


高温エンドキャッピング

ダブルエンドキャッピング

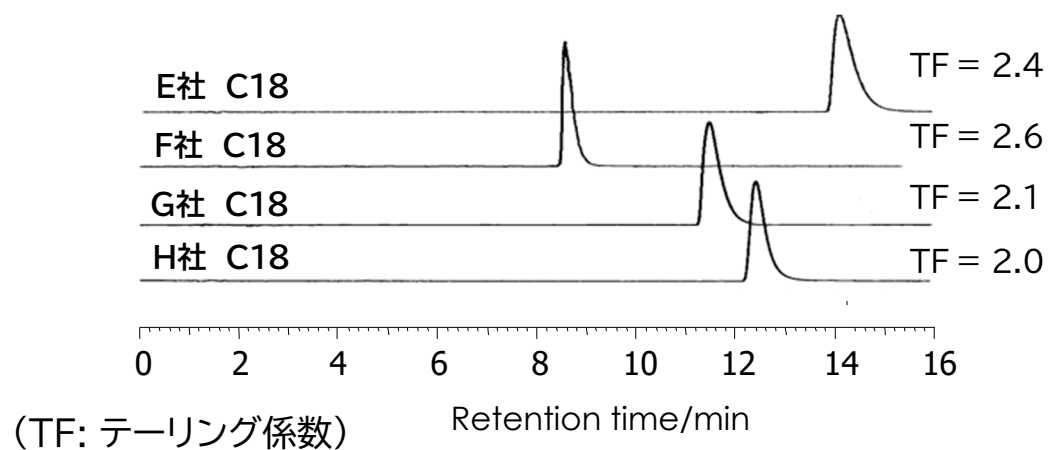
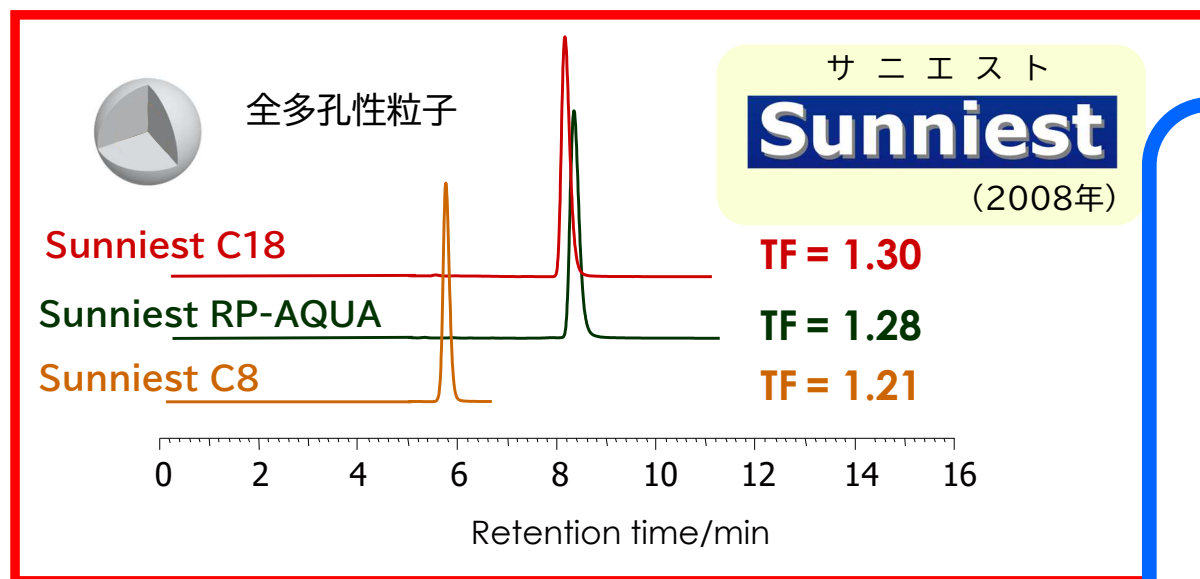


サニエスト
基盤技術: **Sunniest end-capping** (2008年)

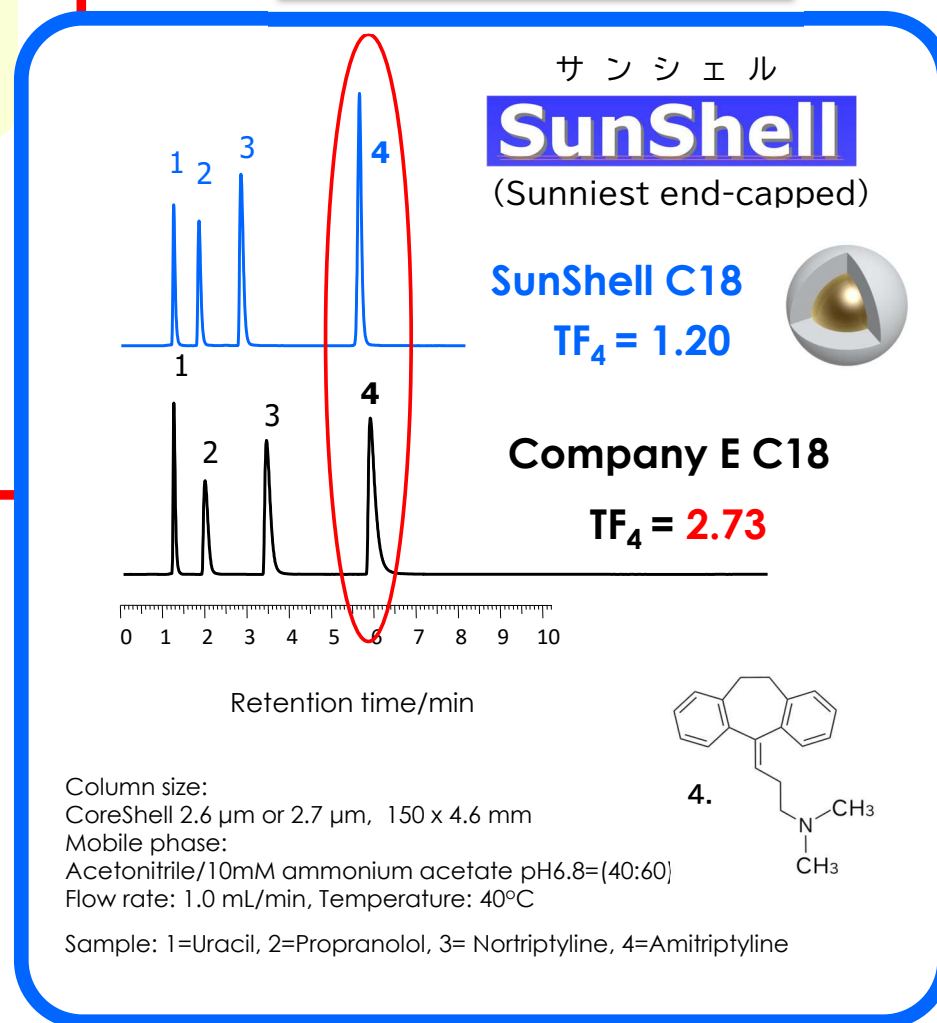


▶ 重層的な不活性化で 残存シラノール影響を**最小化**

高度不活性化の効果：ピーク形状の改善



塩基性化合物



▶ 塩基性化合物ピーク形状を改善 (コアシェルカラムも)

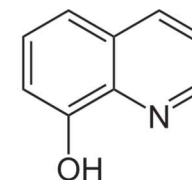
高度不活性化の効果：ピーク形状の改善

金属配位性化合物

基材に内在する金属の影響を抑制

金属吸着性試験条件

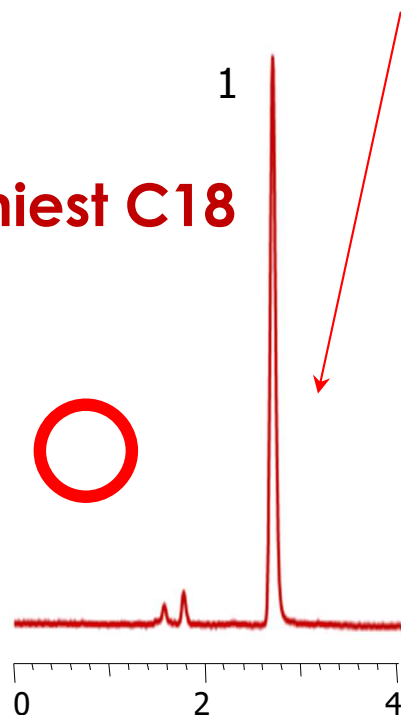
Column size: 4.6x150 mm
 Mobrile phase:
 MeOH/20 mM H₃PO₄=10/90
 Flow rate: 1.0 ml/min
 Temperature: 40°C
 Detection: UV@250 nm
 Sample: 1 = Oxine



1. Oxine

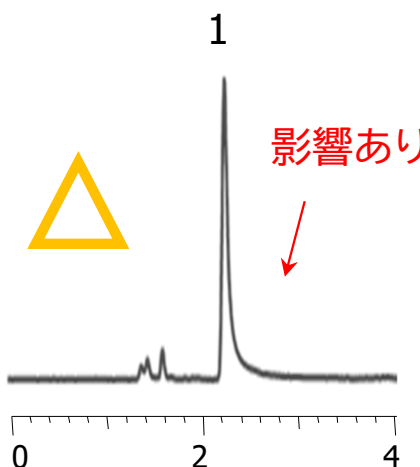
吸着性指標
化合物

Sunniest C18



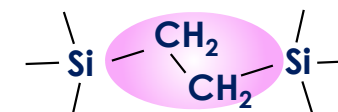
Retention time/min

他社 C18

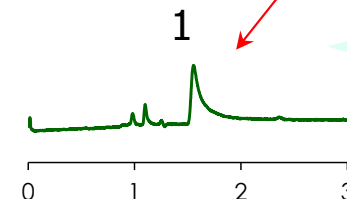


影響あり

E社 C18 (ハイブリッドカラム)



影響大



Retention time/min

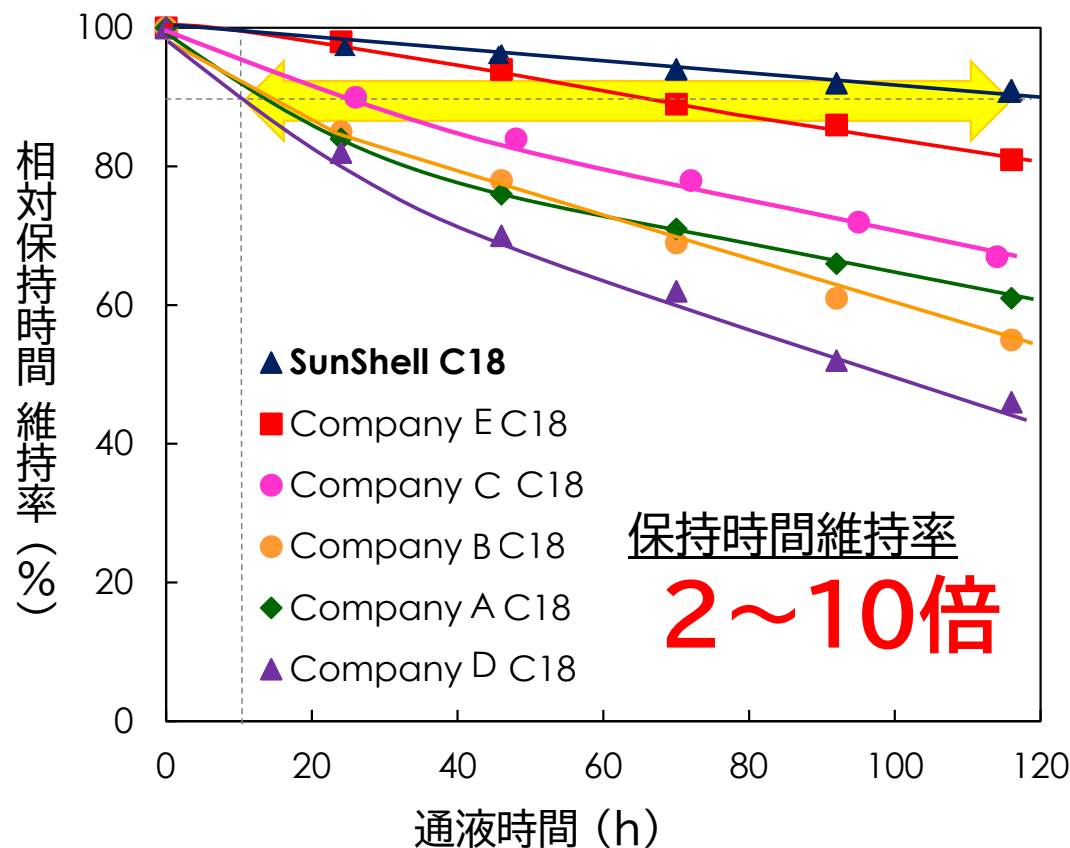
高耐久性基材
(ハイブリッド)
とカラムの吸
着性は別問題

Column size: 2.1x150 mm
 Flow rate: 0.2 mL/min
 他条件は、上記に同じ

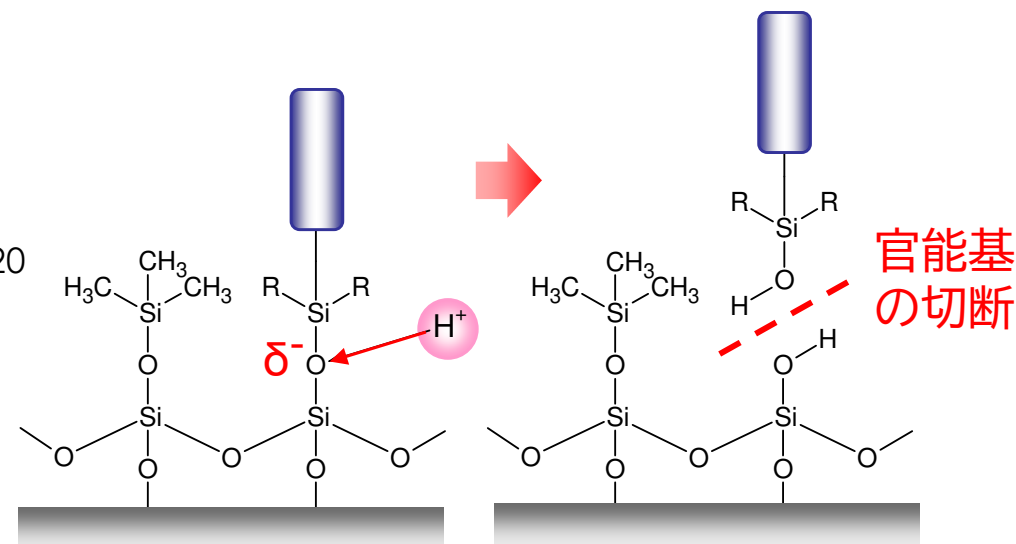
▶ 適切な表面処理(エンドキャッピング)が改善に重要

高度不活性化の効果：耐酸性

pH 1



比較カラム	pH 範囲 (カタログ記載)
▲ SunShell C18	1.5 - 10
■ Company E C18	2 - 9
● Company C C18	2 - 8
◆ Company A C18	1.5 - 10
● Company B C18	1 - 11
▲ Company D C18	2 - 9



酸耐久性試験条件

Mobile phase: CH₃CN/1.0% TFA (pH1) = 10/90
 Flow rate: 0.4 mL/min Temperature: 80 °C

保持時間測定条件

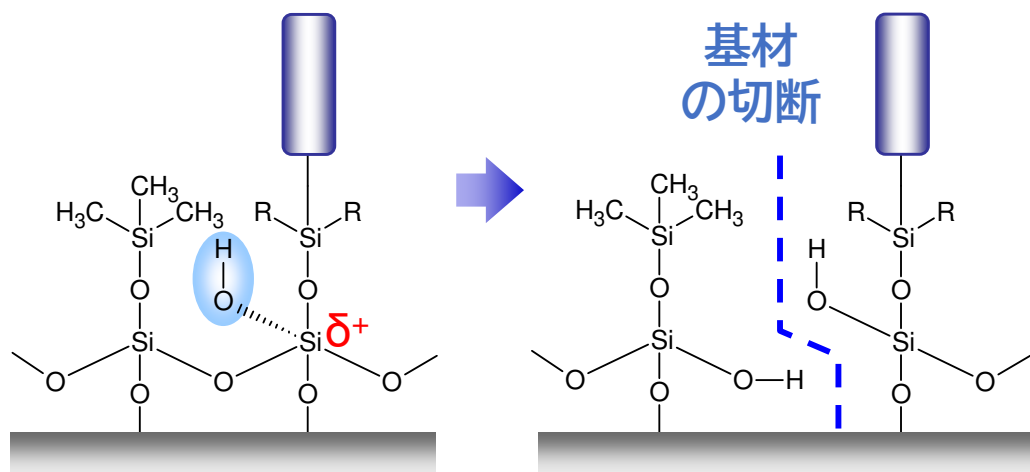
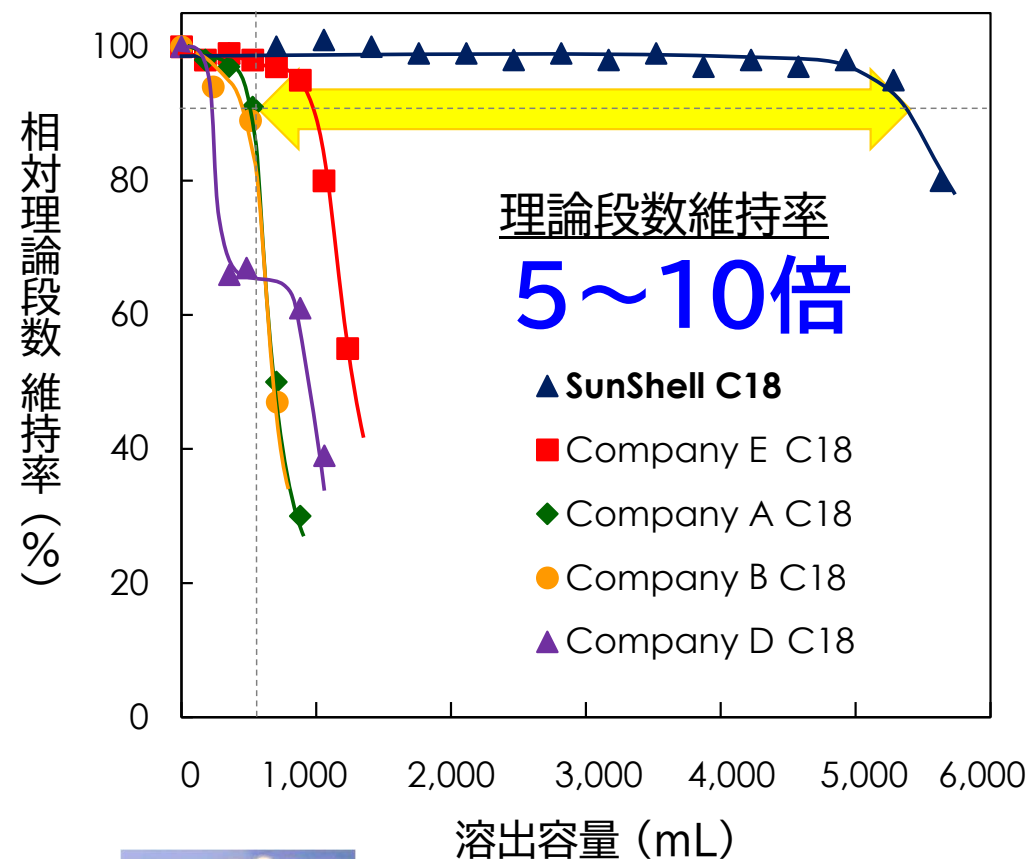
Mobile phase: CH₃CN/H₂O=60/40
 Flow rate: 0.4 mL/min Temperature: 40 °C
 Sample: 1 = Uracil 2 = Butylbenzene

劣化の特徴

酸加水分解によって保持力が減少

高度不活性化の効果：耐アルカリ性 pH 10

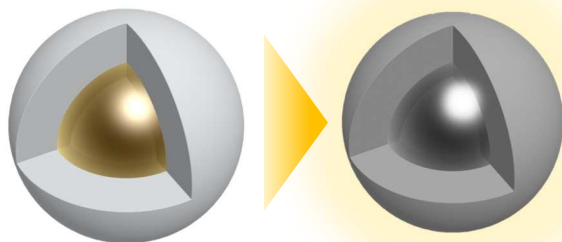
比較カラム	pH 範囲 (カタログ記載)
▲ SunShell C18	1.5 – 10
■ Company E C18	2 – 9
◆ Company A C18	1.5 – 10
● Company B C18	1 – 11
▲ Company D C18	2 – 9



劣化の特徴

アルカリ溶解(凹み)に伴い理論段数が減少

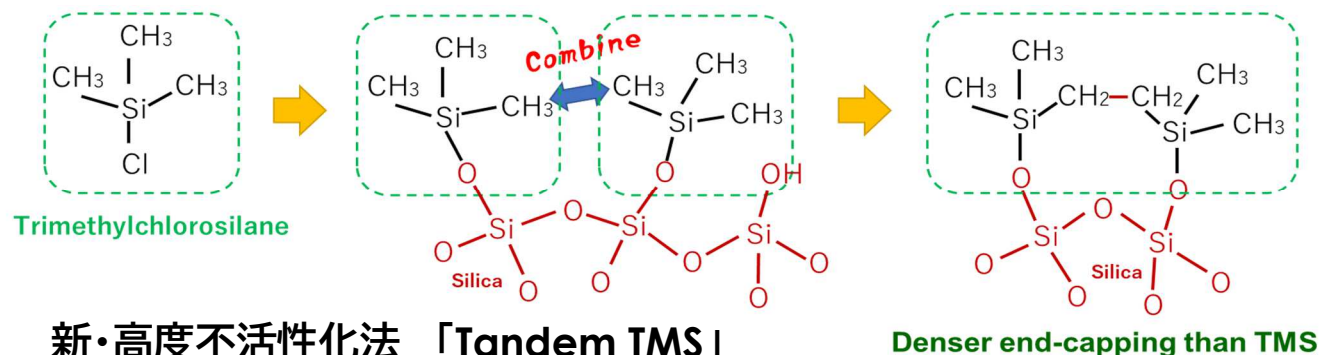
高度不活性化法のさらなる進化 (2022-)



適用カラム

* Tandem TMS end-capping

The ultimate end-capping method at the present



プロミナート
ProMinert

—— 汎用HPLCの可能性を拓げる3.5 μm粒子カラム

アーマーシェル
ArmorShell C18

—— コアシェルSunShell C18の耐久性を2倍に向上

SunShell Bio C18

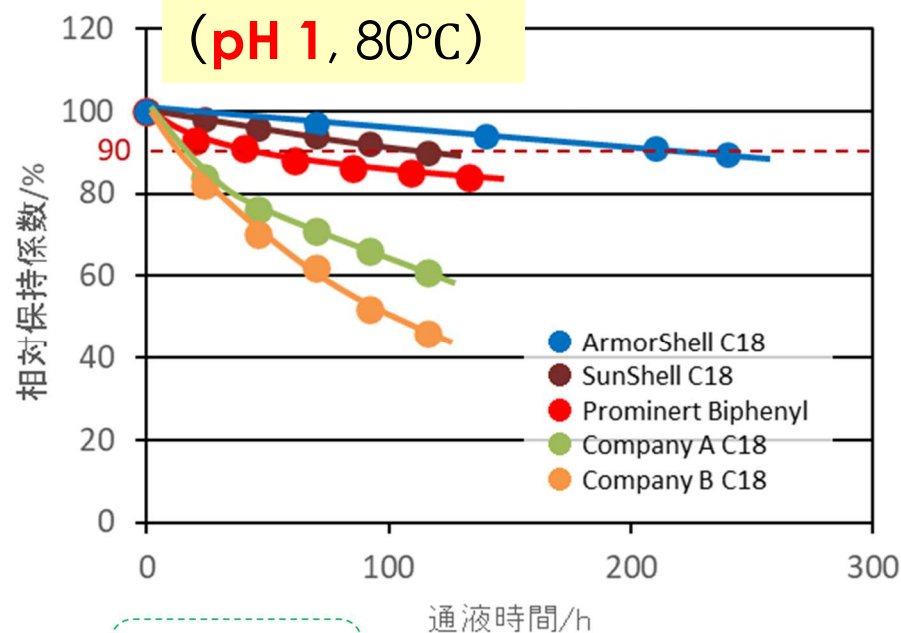
—— 100 nmワイドポア設計の中分子専用カラム

2倍の耐久性、高密度エンドキャッピング

ArmorShell C18

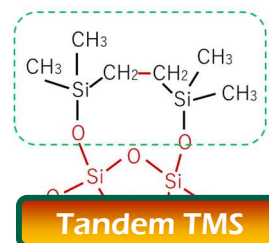
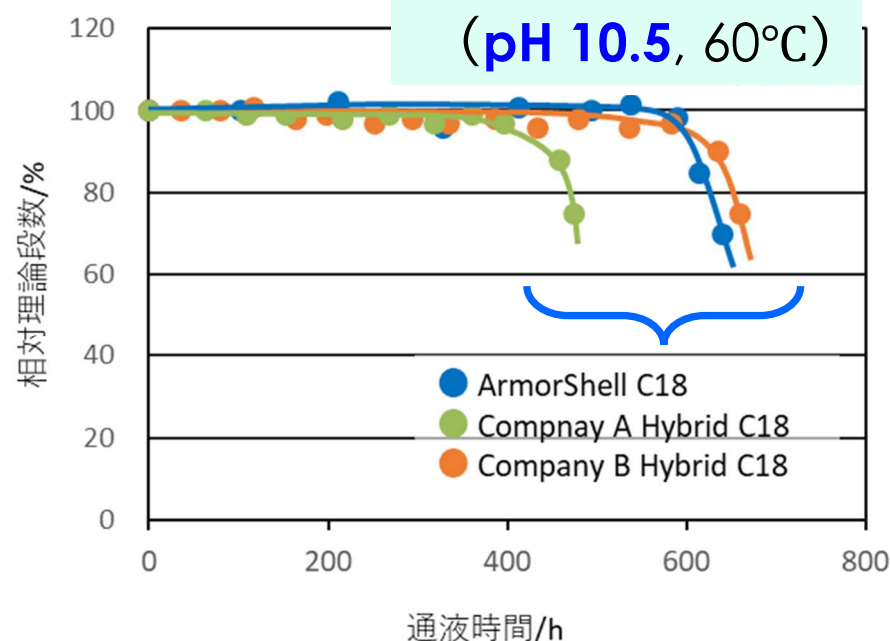
耐酸試験

(pH 1, 80°C)



耐アルカリ試験

(pH 10.5, 60°C)



新・不活性化法の適用により pH安定性を大幅に強化

▶ コアシェルの高効率性 + ハイブリッドの高耐久性
(表面改質型)

エンドキャッピングか、ハイブリッドか？

ArmorShell C18

アーマーシエル

プロミナート

プロミナート

ProMinert

高密度シリカ表面処理

ArmorShell Prominert 他

サンアーマー

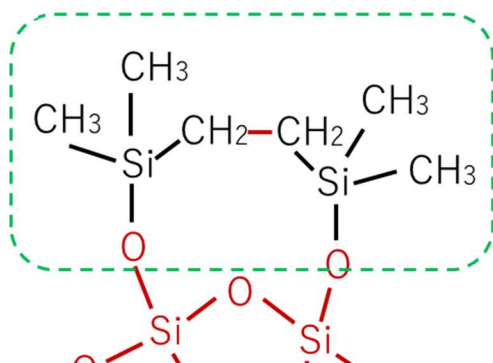
SunArmor

パーシャルハイブリッド

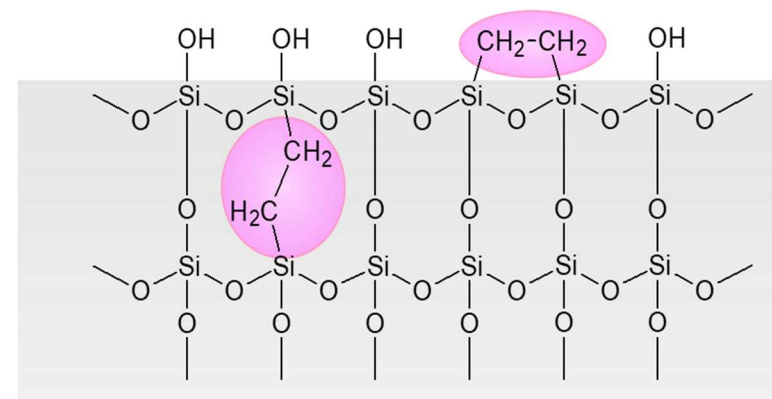
(Post- X^2)
SunArmor

シリカ表面の改質処理

耐久性
は
同程度

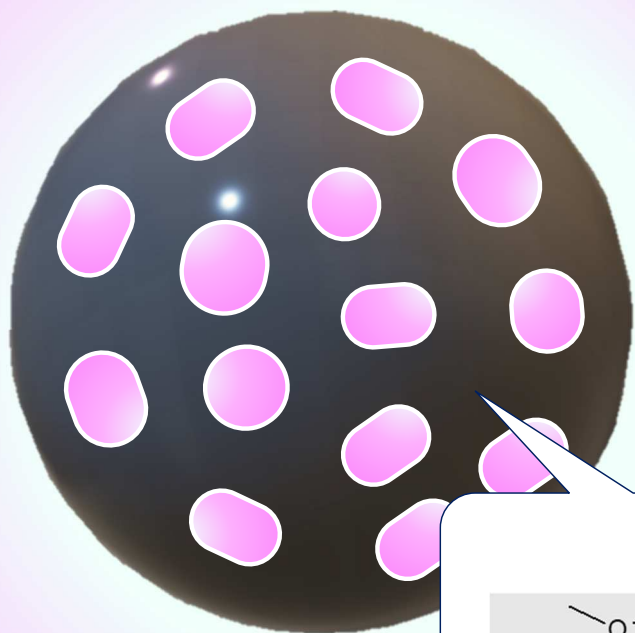


Tandem TMS



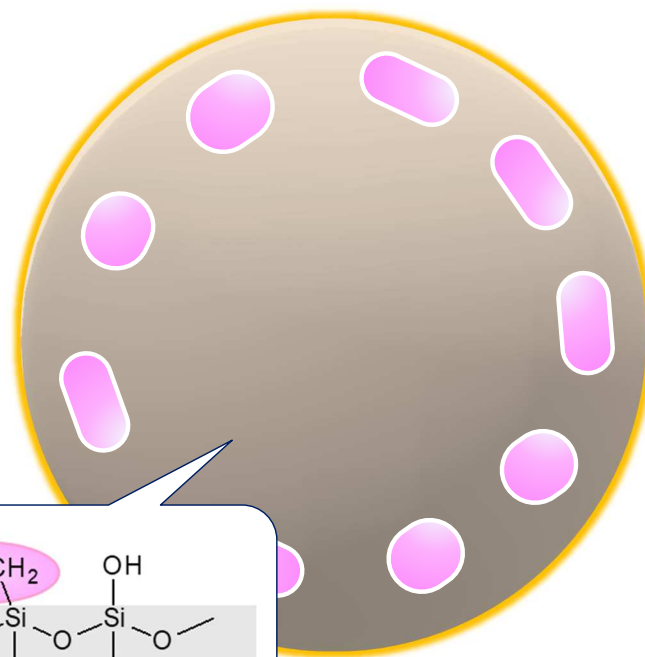
全多孔性ハイブリッドカラムの2系統

全多孔性フルハイブリッド粒子

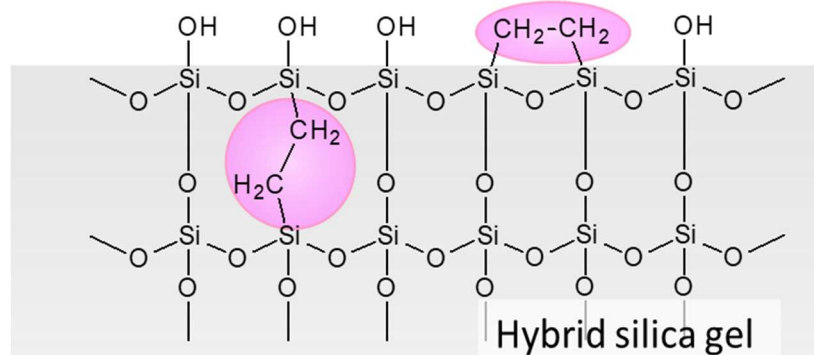


創製型

全多孔性パーシャルハイブリッド粒子

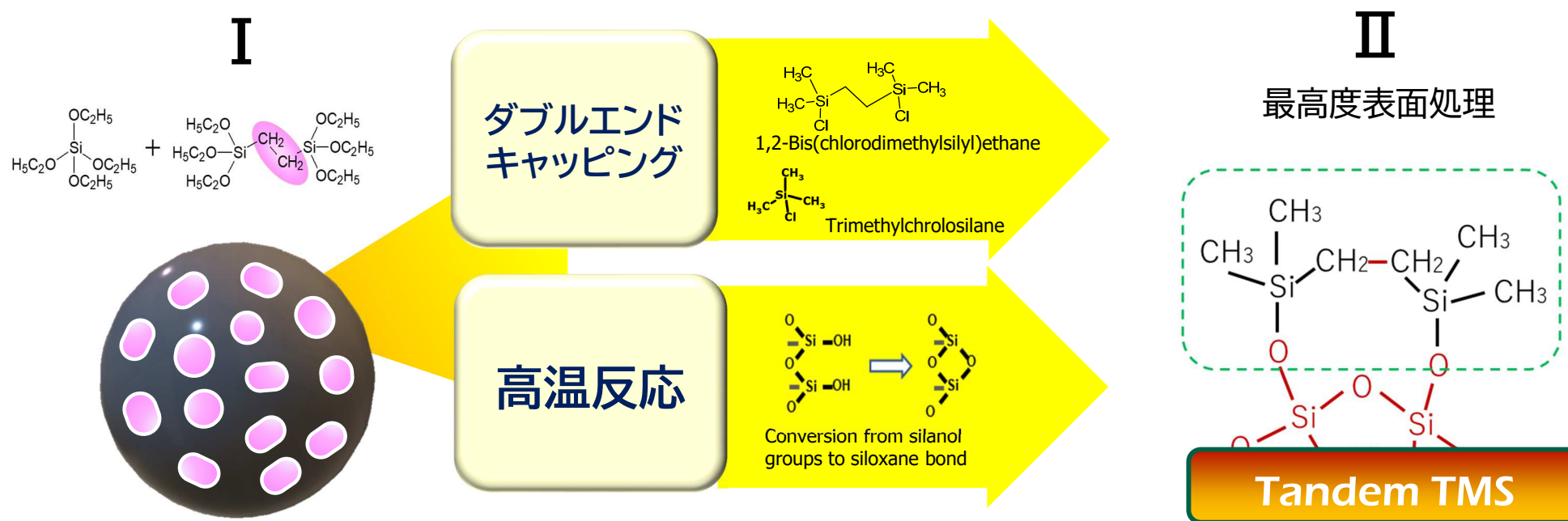


表面改質型



▶ 多くの市販ハイブリッドカラムは 表面改質型(右)

新型ハイブリッドカラム開発コンセプト



I. フルハイブリッド基材（創製型の有機シリカ）

II. 最新エンドキャッピング法（Tandem TMS）

▶ **ウルトラハイブリッド** な 新時代C18カラムを開発

SunBridge C18 5 μm 【2025年2月発売】

サンブリッジ



Ultra Hybrid Technology

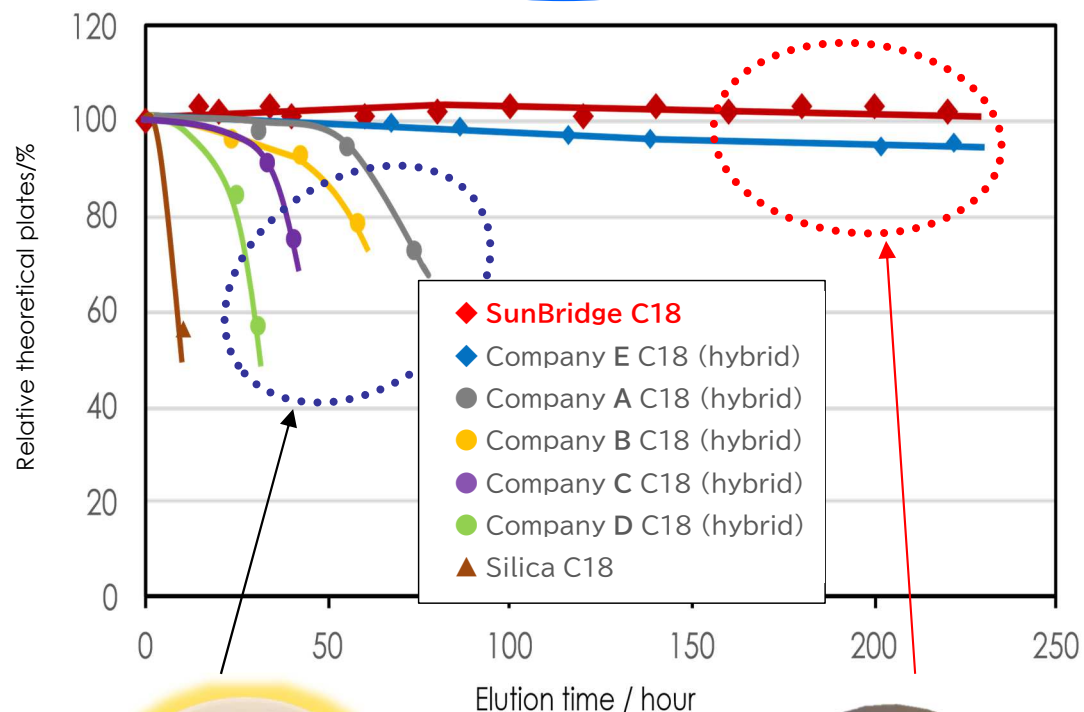
- **高耐久** — 異次元の耐久性能
- **低吸着** — 良好なピーク形状
- **高安定** — 迅速な平衡化



SunBridge C18 5 μm

— 高耐久 —

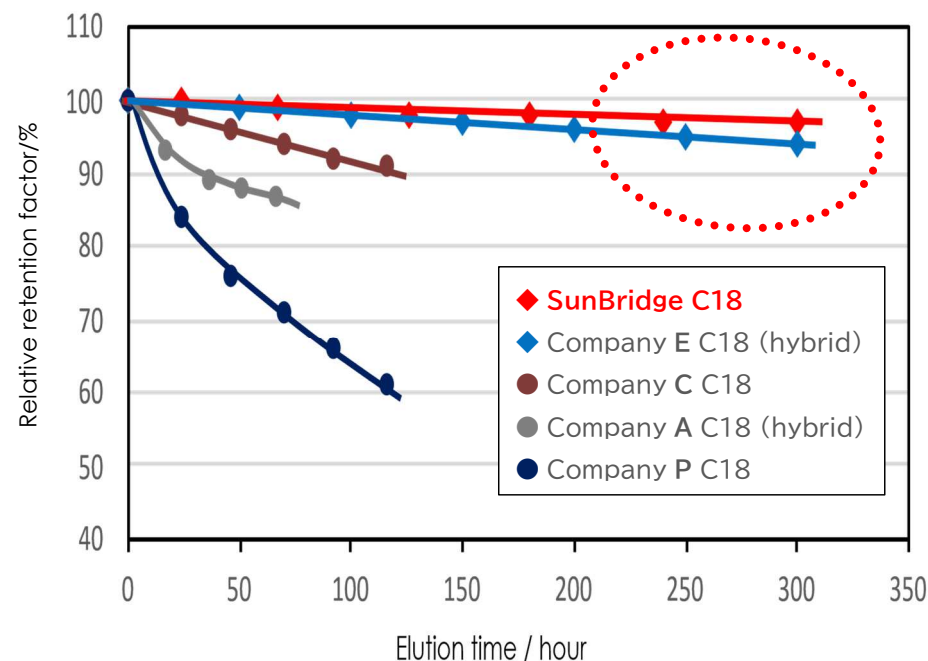
pH 11.5



パーシャルハイブリッド
(高耐久型シリカを含む)

フルハイブリッド
(創製型有機シリカ)

pH 1.0



SunBridgeは高pH, 低pH条件
ともに最高の耐久性を示した。

* 詳細条件はカタログを参照下さい。

▶ フルハイブリッドはアルカリ耐久性が極めて高い。

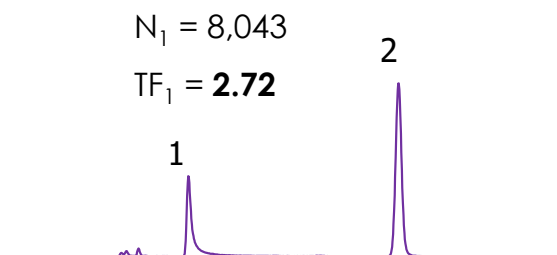
SunBridge C18 5 μm — 低吸着 —

金属配位性化合物

(N: 理論段数, TF: テーリング係数、シンメトリー係数)

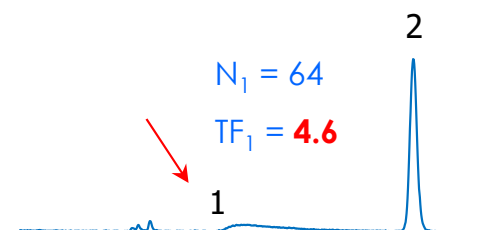
E社 C18 3.5 μm

(フルハイブリッド)

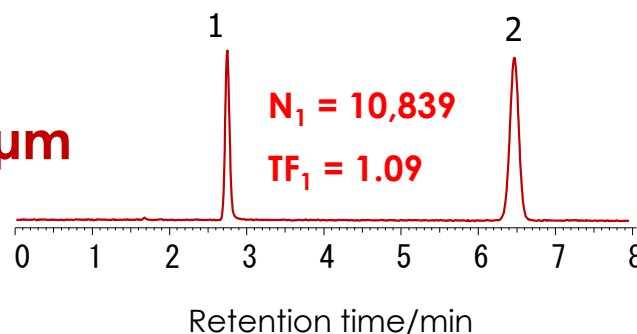


E社 C18 5 μm

(フルハイブリッド)

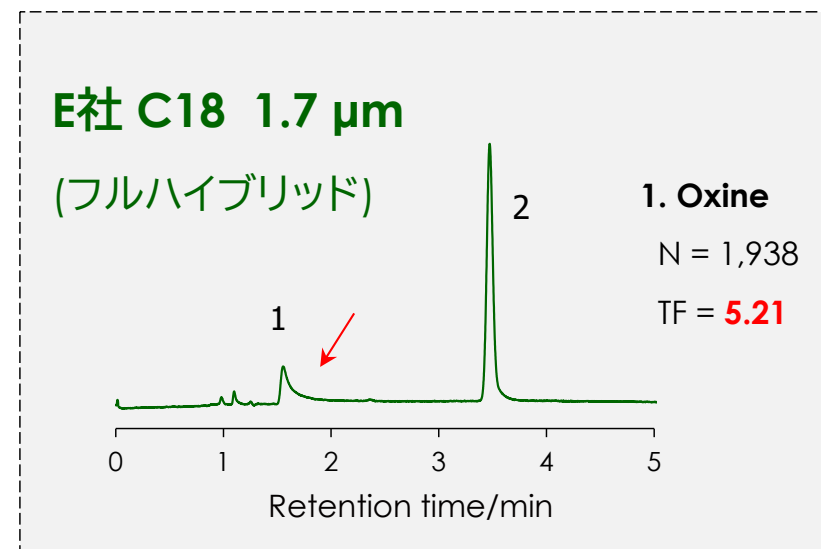


SunBridge C18 5 μm

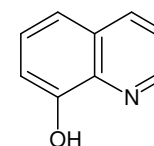


E社 C18 1.7 μm

(フルハイブリッド)



1. Oxine



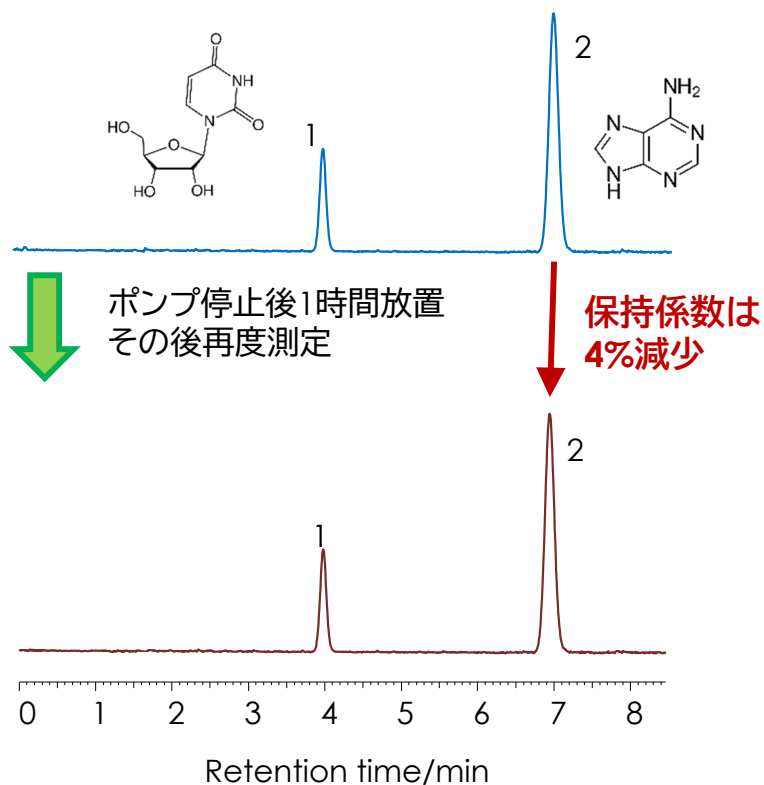
金属配位性の
指標化合物

* 詳細条件はカタログを参照下さい。

▶ E社(フルハイブリッド)が抱える吸着課題を解消

SunBridge C18 5 μm — 高安定 —

SunBridge C18 5 μm



Company E Hybrid C18 5 μm

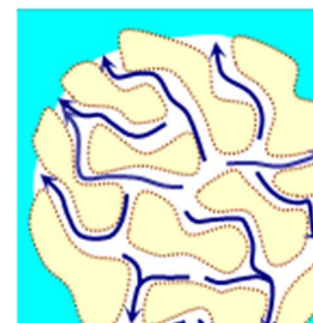
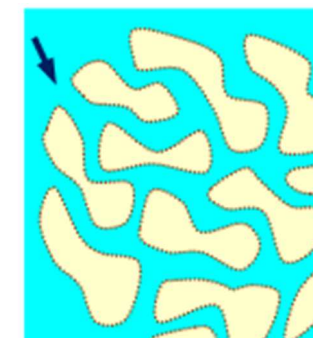
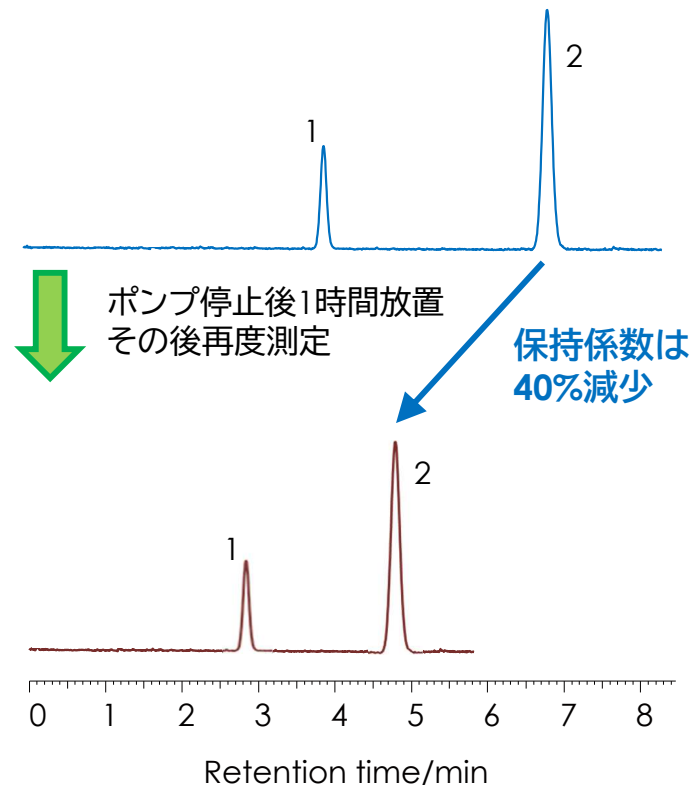


図. 細孔からの水の
抜け出しイメージ

Sample:
1 = Uridine
2 = Adenine

移動相: 10 mM phosphate buffer pH 7.0

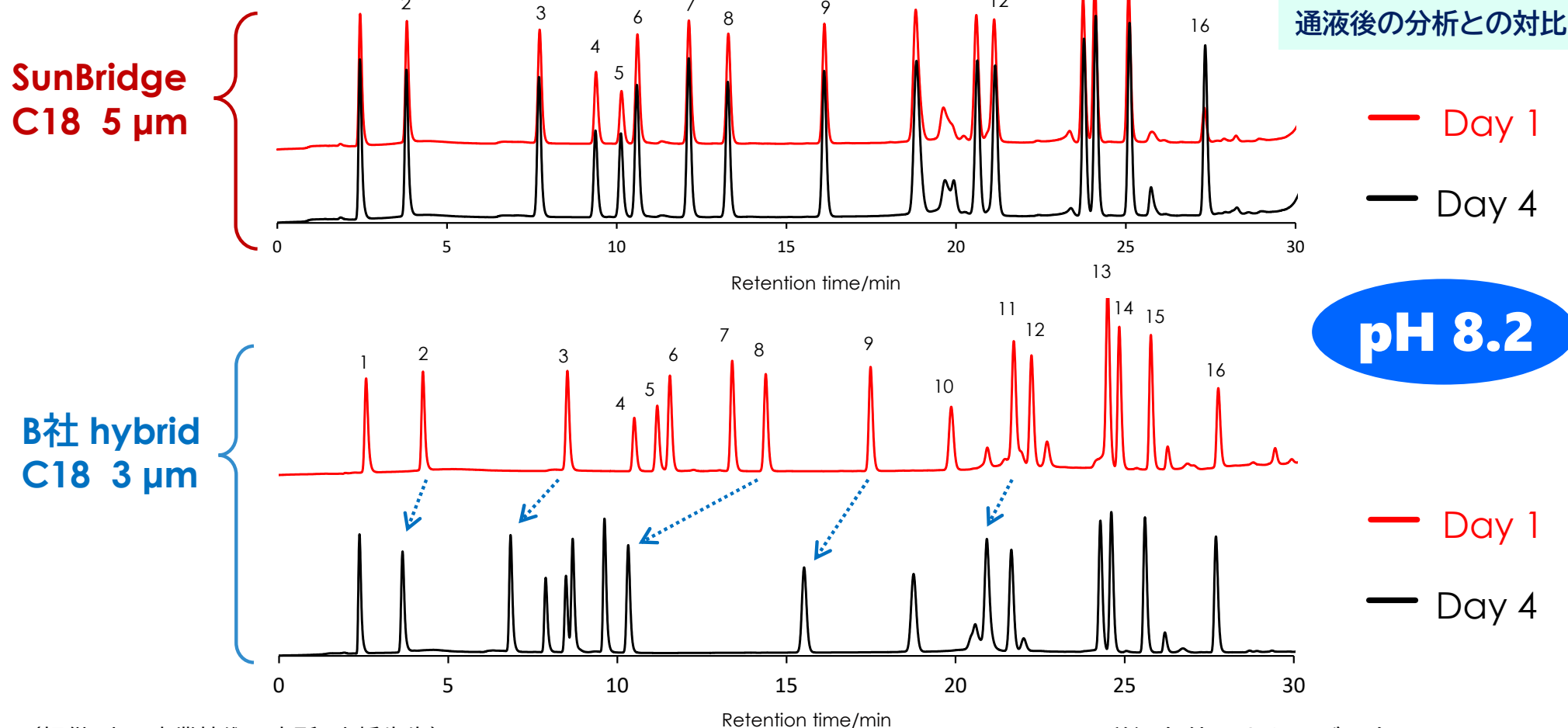
* 詳細条件はカタログを参照下さい。

▶ 水系100%条件の使用時にも保持再現性が良好

SunBridge C18 5 μm 分析例: アミノ酸

■ OPA誘導体化アミノ酸の分析

塩基性移動相(pH 8.2)
で3日間静置→10分間
通液後の分析との対比



(提供:大阪産業技術研究所 大橋先生)

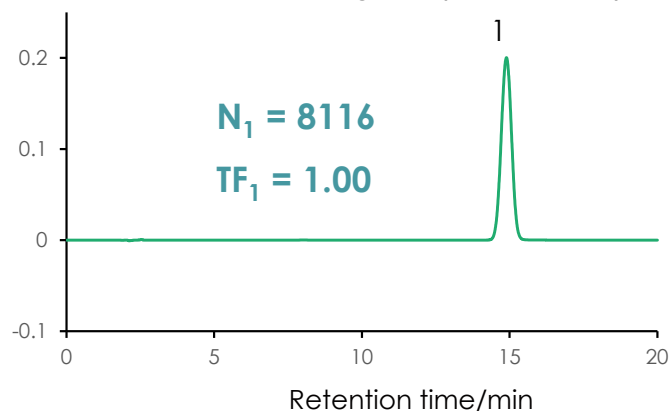
*詳細条件はカタログを参照下さい。

▶ 負荷のかかる塩基性条件下でも、平衡化が迅速

SunBridge C18 5 μ m 分析例：生薬

■ 生薬の分析(日本薬局方カッコン)

○ 標準溶液：プエラリン 0.1 mg/mL (50% MeOH)



(N: 理論段数, TF: エーリング係数、シンメトリー係数)

【日本薬局方(JP18)規定】

$N \geq 3000$, $TF \leq 2.0$

< 第18改正日本薬局方に基づく試験条件 >

Column: SunBridge C18 5 μ m, 150 x 4.6 mm

Mobile phase:

50 mM Sodium Dihydrogen Phosphate aq. / Acetonitrile = 9 / 1

Flow rate: 0.885 mL/min (プエラリンの保持時間: 約15分)

Injection volume: 10 μ L, Temperature: 40 °C

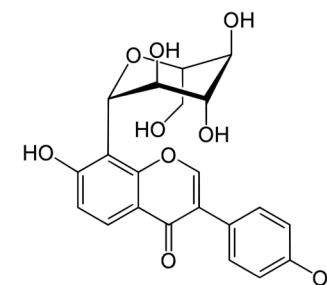
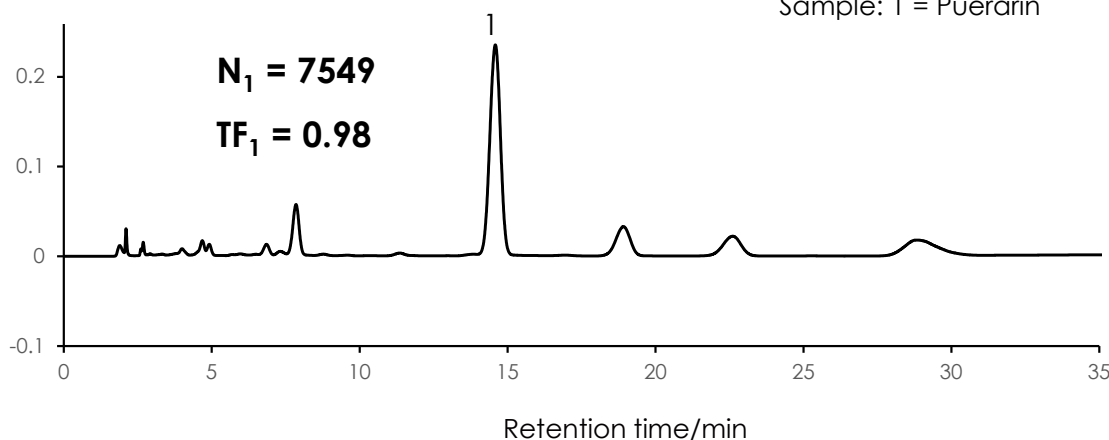
Detection: UV@250 nm (PDA)

Instrument: Waters Acquity UPLC H-Class

Sample: 1 = Puerarin



● 試料溶液：日局カッコン 0.3 g/100 mL (50% MeOH)



1. Puerarin

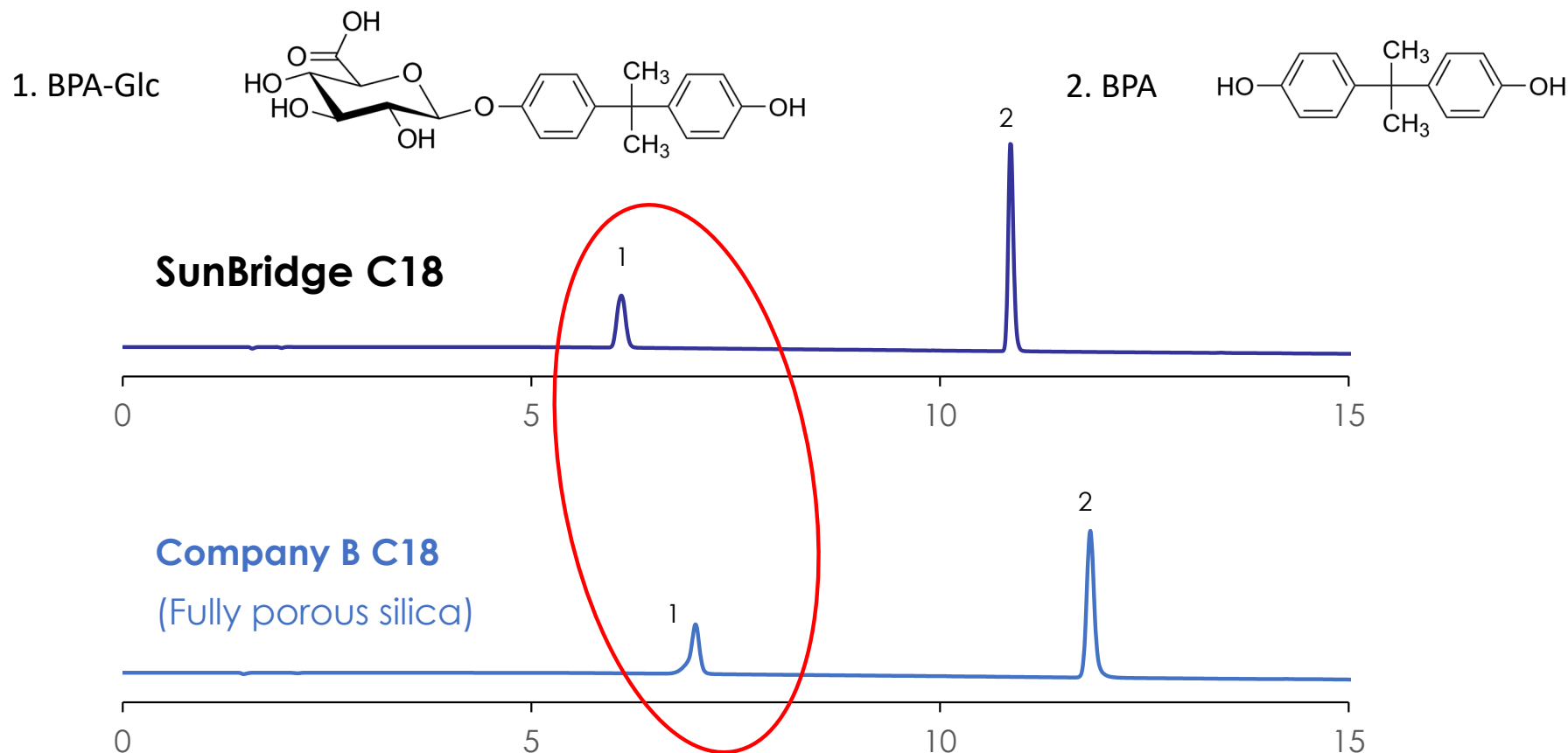
(提供：イスクラ産業株式会社)

* 詳細条件はカタログを参照下さい。

▶ 配糖体ピークの対称性が良好 & 高理論段数

SunBridge C18 5 μm 分析例：抱合体

■ビスフェノールAとグルクロン酸抱合体の分離



* 詳細条件はアプリケーションデータ集ver.5、又は当社ホームページより App. No.1179をご閲覧下さい。

▶ SunBridgeは極性化合物のピーク形状が良好

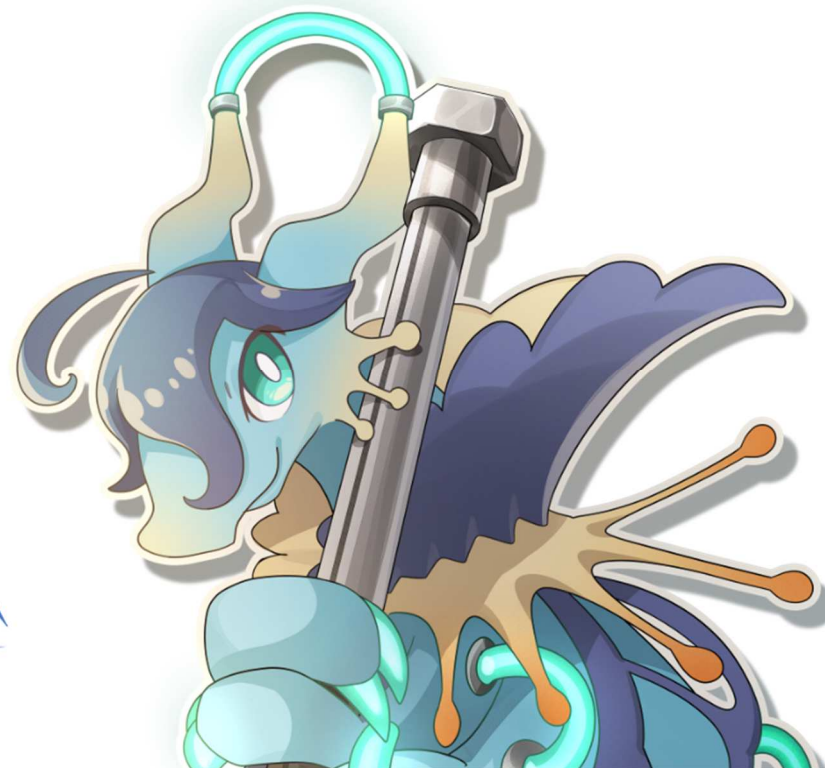
SunBridge ウルトラハイブリッド C18

【2025年、今後のスケジュール】

(4月) SunBridge C18 3 μm 正式発売開始

(9月) SunBridge C18 1.8 μm 発売予定

(X月) SunBridge「新固定相」発表予定



ともに クロマトグラフィーの未来を！



*A Year to
Accelerate Innovation*