

# Stabilität von kieselgelbasierten RP-Phasen im basischen Milieu

Helmut Riering, Düren/D, Natalie Bilmann, Düren/D, Maria Ganin, Düren/D  
Dr. H. Riering, MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG, Valencienner Str. 11, 52355 Düren/D



## Einleitung

Kieselgele, insbesondere sphärische Materialien, sind bedingt durch ihre mechanische Stabilität, Porosität, enge Partikelgrößenverteilung und Oberflächenmodifizierbarkeit die am meisten eingesetzten Sorbentien in der HPLC [1]. Ihre Verwendung wird allerdings durch die eingeschränkte Stabilität bei niedrigen und hohen pH-Werten limitiert. Da Protonierungs- bzw. Deprotonierungsreaktionen durch den pH-Wert beeinflusst werden, wird die Polarität ionisierbarer Analyten und damit auch ihre Chromatographie stark beeinflusst. Die Entwicklung von pH-stabilen Kieselgelen ist daher von hoher Bedeutung.

In dieser Arbeit wird in Anlehnung an Kirkland et al [2] eine einfache photometrische Methode zur Untersuchung der Stabilität verschiedener RP-Kieselgele bei hohen pH-Werten vorgestellt. Sie ermöglicht die Bestimmung des aufgelösten Kieselgels ohne zeit- und ressourcenbindende chromatographische Untersuchungen.

## Experimentelles

Abb. 1: Verwendetes Equipment für die photometrische Kieselsäurebestimmung



Die Messmethode basiert auf einem kommerziell erhältlichen photometrischen Test für die Wasseranalytik (NANOCOLOR® Kieselsäure, REF 91848, MACHEREY-NAGEL). Ein Photometer (NANOCOLOR® VIS, MACHEREY-NAGEL) mit einer Rechteckküvette aus Quarz wurde zur Bestimmung der Extinktion eingesetzt. Abb. 1 zeigt das verwendete Equipment. Zum Ansetzen der Lösungen wurde kieselensäurefreies Wasser verwendet.

Als photometrisch messbaren Ersatz eines HPLC-Eluentens wird eine basische Mischung aus 10 mL Pyrrolidinlösung (1 mol/L), 20 mL Methanol und 70 mL Wasser (Lsg. A) verwendet. Die eingesetzten Kieselgele und deren Modifizierungen sind in Tab. 1 aufgeführt.

Der Siliciumstandard (1000 mg/L SiO<sub>2</sub>) wurde von der Fa. Merck (REF 1.70236.0500) bezogen und mit kieselensäurefreiem Wasser verdünnt. Die Abbildung 2 zeigt die Kalibrierkurve für diese Messmethode.

## Probenbehandlung

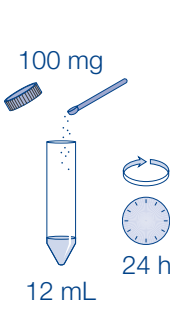
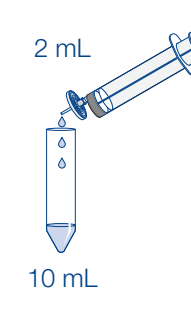
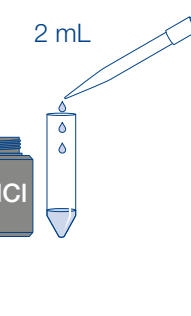
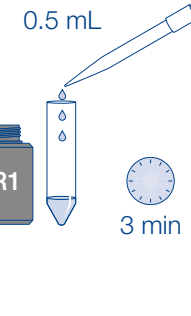
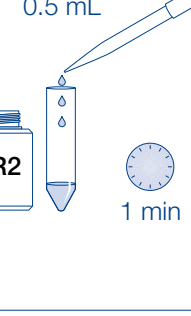
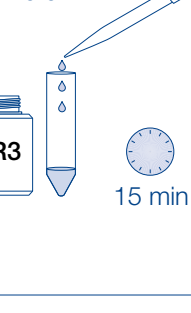
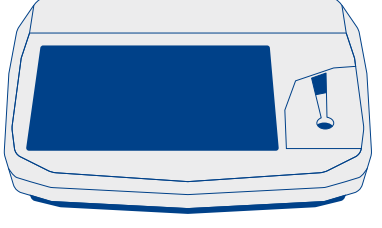
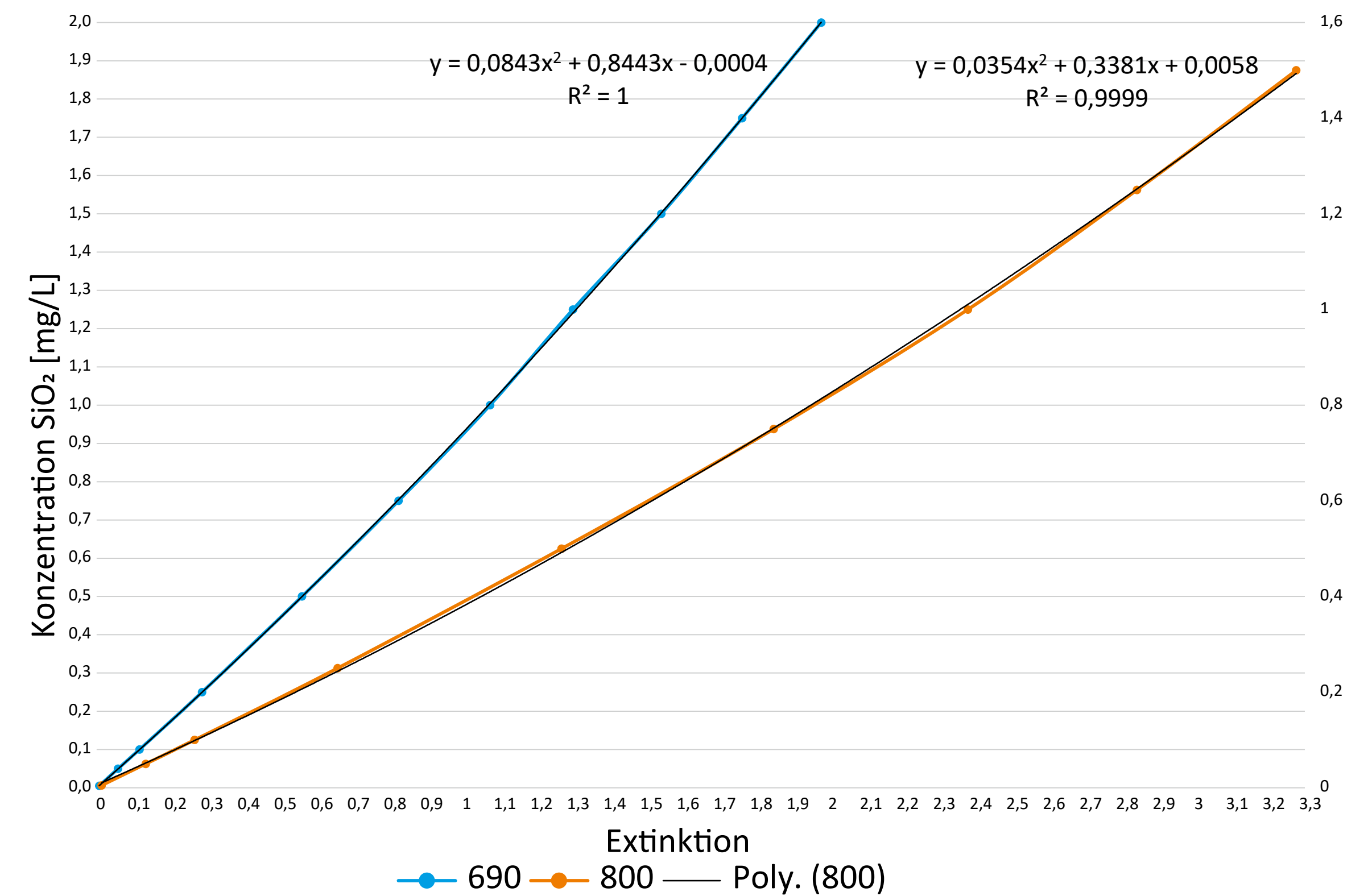
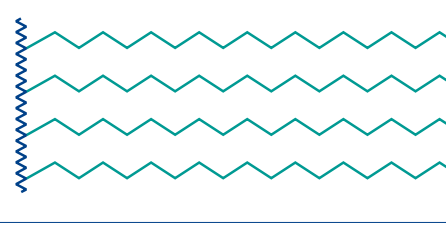
-  • 100 mg der Kieselgelprobe werden in 12 mL der Lsg A suspendiert und 24 h inkubiert.
-  • Die Lösung wird mit dem Spritzenvorsatzfilter CHROMAFIL® Xtra PET-20/13 (729222, MACHEREY-NAGEL) filtriert.
-  • Zu 10 mL der filtrierten Lösung werden 2 mL 0,5 M HCl zugesetzt.
-  • Es wird mit 0,5 mL Reagenz R1 versetzt und 3 min gewartet.
-  • Es werden 0,5 mL Reagenz R2 zugesetzt und 1 min gewartet.
-  • Es werden 0,5 mL Reagenz R3 zugesetzt.
-  • Nach 15 min wird die Extinktion bei 690 und 800 nm gemessen.

Abb. 2: Kalibrierkurve zur Bestimmung von Siliziumdioxid in dem verwendeten Eluentensystem



## Ergebnisse

Tab. 1: Oberflächenmodifizierungen der eingesetzten Kieselgele

RP-Kieselgel	Modifizierung	Gehalt SiO <sub>2</sub> [mg/L]
 NUCLEODUR® 100-5 C <sub>18</sub> ec	Standard C <sub>18</sub> -Modifizierung mit trifunktionellem Silan	0.60
 NUCLEODUR® 100-5 C <sub>8</sub> ec	Standard C <sub>8</sub> -Modifizierung mit trifunktionellem Silan	0.74
 NUCLEODUR® Gravity C <sub>18</sub>	Monomer belegte, dichte C <sub>18</sub> -Modifizierung, quervernetzt	0.15
 NUCLEODUR® Gravity-SB	C <sub>18</sub> -Modifizierung mit sterisch anspruchsvollen Substituenten am Silan	0.25
 NUCLEODUR® C <sub>18</sub> Isis	Polymermodifizierte C <sub>18</sub> -Phase	0.10
 NUCLEOSHELL® RP 18	Monomer belegte C <sub>18</sub> Modifizierung, quervernetzt	0.05
 NUCLEOSHELL® RP 18plus	C <sub>18</sub> -Modifizierung mit sterisch anspruchsvollen Substituenten am Silan	0.11
 NUCLEOSIL® 100-5 C <sub>18</sub>	Standard C <sub>18</sub> -Modifizierung mit trifunktionellem Silan	1.90
 NUCLEOSIL® 100-5 C <sub>18</sub> HD	Sehr dichte C <sub>18</sub> -Modifizierung mit monofunktionellem Silan	0.18
 NUCLEOSIL® 100-5C <sub>18</sub> AB	Polymermodifizierte C <sub>18</sub> -Phase	0.11

## Zusammenfassung

Die hier vorgestellte photometrische Methode erlaubt eine Abschätzung der Löslichkeit von Kieselgel unter basischen Bedingungen. Der Messbereich der Methode ist mit 0,005–10 mg/L SiO<sub>2</sub> für eine direkte Messung von Kieselsäure in HPLC-Eluaten zu hoch. Außerdem sinkt beim Zusatz von Methanol die Empfindlichkeit. Durch die Verlängerung der Inkubationszeit auf 24 h können jedoch messbare Konzentrationen erreicht werden. Der apparative Aufwand dieser Methode ist relativ gering und es lassen sich in kurzer Zeit viele Proben vermessen.

Die Standardmodifizierungen NUCLEODUR® 100-5 C<sub>18</sub> ec, NUCLEODUR® 100-5 C<sub>8</sub> ec und NUCLEOSIL® 100-5 C<sub>18</sub> ec zeigen recht hohe Konzentrationen an aufgelöster Kieselsäure. Eine Reduzierung gelingt durch Einsatz von Silanen mit sterisch anspruchsvollen Substituenten (z. B. Isobutylgruppen) bei NUCLEODUR® Gravity-SB und NUCLEOSHELL® RP 18plus. Die dichten hydrophoben Belegungen von NUCLEODUR® Gravity C<sub>18</sub>, NUCLEOSHELL® RP 18 sowie NUCLEOSIL® 100-5 C<sub>18</sub> HD bieten ebenfalls einen guten Schutz vor Auflösung der Kieselgelmatrix. Auch gut schneiden die polymermodifizierten Modifizierungen NUCLEODUR® C<sub>18</sub> Isis sowie NUCLEOSIL® 100-5 C<sub>18</sub> AB ab. Dies ist möglicherweise auf eine schlechte Benetzung dieser Phasen mit dem basischen Eluenten (Lsg. A) zurückzuführen. Durch Messungen mit höheren Methanol- bzw. Acetonitrilanteilen soll dies überprüft werden.

Das gute Abscheiden der Core-Shell Kieselgele dürfte auf die geringe, aber hoch effiziente, spezifische Oberfläche dieses Materials zurückzuführen sein.

## Literatur

- [1] L. R. Snyder et al. Practical HPLC Method Development, 2. Auflage, John Wiley & Sons, New York 1997, 178.
- [2] J. J. Kirkland et al, J. Chromatogr. Sci. 34 (1996) 309.

